



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 699 09 775 T2 2004.06.03**

(12)

Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 1 075 259 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **699 09 775.4**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/NO99/00136**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **99 933 293.5**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 99/058122**

(86) PCT-Anmeldetag: **23.04.1999**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **18.11.1999**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **14.02.2001**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **23.07.2003**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **03.06.2004**

(51) Int Cl.⁷: **A61K 31/19**

**A61K 31/20, A23L 1/29, C07C 327/06,
C07C 391/00, A61P 43/00, A61P 3/08,
A61P 3/10**

(30) Unionspriorität:

PCT/NO98/00143 08.05.1998 WO

(73) Patentinhaber:

Thia Medica AS, Bergen, NO

(74) Vertreter:

Flügel Preissner Kastel, 81929 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

BERGE, Rolf, N-5152 Bones, NO

(54) Bezeichnung: **NEUE FETTANALOGIE ZUR BEHANDLUNG VON DIABETES**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft neue Fettsäureanaloga, die für die Behandlung und/oder Verhinderung von Diabetes verwendet werden können. Die Erfindung betrifft weiterhin eine Nahrungsmittelzusammensetzung, die derartige Fettsäureanaloga enthält.

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

[0002] Diabetes mellitus und die damit zusammenhängenden Komplikationen werden heutzutage als dritt häufigste Todesursache in Kanada und den Vereinigten Staaten angesehen, übertroffen nur von Krebs und kardiovaskulären Erkrankungen.

[0003] Die Behandlung mit modifizierten Fettsäuren stellt einen neuen Weg zur Behandlung dieser Krankheiten dar.

[0004] EP 345 038 und PCT/Nr.95/00195 beschreiben die Verwendung von nicht- β -oxidierbaren Fettsäureanaloga.

[0005] Es ist nun festgestellt worden, dass es für diese Verbindungen ein breiteres Gebiet von Anwendungen gibt.

[0006] Weiterhin haben wir nunmehr neue Fettsäureanaloga synthetisiert und charakterisiert, die einen Wirkung bei Diabetes zeigen.

[0007] Die Ergebnisse von Ernährungsversuchen mit der Fettsäure zeigen, dass diese Verbindungen die Fettgewebemasse und das Körpergewicht senken und somit wirksame Arzneimittel für die Behandlung von Fettleibigkeit und Übergewicht sind.

[0008] Weiterhin haben wir gezeigt, dass die Fettsäureanaloga wirksame Verbindungen gegen Diabetes sind, die einen großen Einfluß auf die Konzentration von Glucose und Insulin haben.

[0009] Weiterhin ist nachgewiesen worden, dass die Verbindungen eine vorteilhafte Wirkung bei der Erweiterung verengter Herzkranzgefäße (engl. Restenosis) haben und gute antioxidative Eigenschaften aufweisen.

[0010] Diabetes mellitus und seine Komplikationen werden derzeit als dritt häufigste Todesursache in Kanada und den Vereinigten Staaten angesehen, übertroffen nur von Krebs und kardiovaskulären Erkrankungen. Obwohl die akuten und oft tödlichen Symptome von Diabetes durch die Behandlung mit Insulin kontrolliert werden können, verringern Langzeitkomplikationen die Lebenserwartung um ein Drittel. Verglichen mit der Häufigkeit bei gesunden Menschen ohne Diabetes ist bei Diabetes-Patienten die Häufigkeit eines Erblindens um das 25fache, von Nierenerkrankungen um das 17fache, von Gangrän um das 5fache und von Herzerkrankungen um das 2fache erhöht.

[0011] Es gibt 2 Hauptformen des Diabetes mellitus. Die eine ist der Typ-I-Diabetes, der auch als Insulin-abhängiger Diabetes mellitus (IDDM) bekannt ist, und die andere ist der Typ-II-Diabetes, der auch als nicht-insulinabhängiger Diabetes (NIDDM) bekannt ist. Die meisten Patienten mit IDDM zeigen ein gemeinsames Krankheitsbild: das nahezu vollständige Verschwinden der Insulin-erzeugenden β -Zellen der Bauchspeicheldrüse, das zu einer Hyperglykämie führt.

[0012] Es konnten viele Beweise dafür gesammelt werden, dass der IDDM in den meisten Fällen die Folge einer zunehmenden Zerstörung der β -Zellen in einer symptomfreien Phase ist, die oft mehrere Jahre dauert. Die prädiabetische Phase kann durch den Nachweis zirkulierender Autoantikörper gegen Inselzellen und Autoantikörper gegen Insulin erkannt werden.

[0013] Es gibt einen Bedarf an Verbindungen, die nicht toxisch sind und keine Nebenwirkungen haben, die aber den klinischen IDDM und NIDDM verhindern.

[0014] Typ-I-Diabetes: schwerer Diabetes mellitus, tritt üblicherweise abrupt bei Jugendlichen auf, ist durch niedrige Plasmainsulinspiegel, Polydipsie, Polyurie, erhöhten Appetit, Gewichtsverlust und in Episoden auftretende Ketoazidose charakterisiert.

[0015] Typ-II-Diabetes: eine häufig mild verlaufende Form des Diabetes mellitus, setzt oft nach und nach in mehreren Schritten ein, üblicherweise bei Erwachsenen, ist durch normale bis hohe absolute Insulinspiegel im Plasma gekennzeichnet, die in bezug auf die Glucosespiegel im Plasma relativ niedrig sind; wird auch als NIDDM bezeichnet.

[0016] Typ-I- und Typ-II-Diabetes werden nach einer ätiologischen Klassifizierung als "primärer" Diabetes betrachtet.

[0017] Zum sekundären Diabetes gehören der durch Pankreaserkrankungen, der durch extrapankreatische/endokrine Erkrankungen und der durch Arzneimittel hervorgerufene Diabetes. Außerdem werden einige Typen von Diabetes als Sonderformen klassifiziert. Hierzu gehören der lipoatrophische Diabetes, der myotonische Diabetes und der Diabetes, der durch eine Schädigung der Insulinrezeptoren verursacht wird.

[0018] Berücksichtigt man die große Häufigkeit von Diabetes in unserer Gesellschaft und die schwerwiegenden Folgen, die damit verbunden sind, die weiter oben diskutiert wurden, könnte jedes therapeutische Arzneimittel, das potentiell brauchbar ist für die Behandlung und die Verhinderung dieser Krankheit, von größtem Vor-

teil für die Gesundheit sein. Es gibt auf diesem Fachgebiet einen Bedarf an einem Arzneimittel, das die Glucosekonzentration im Blut von Diabetes-Patienten ohne größere schädliche Nebenwirkungen senkt.

[0019] Es ist daher eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Behandlungsregime anzugeben, das für die Senkung des Blutzuckers brauchbar ist.

[0020] Es ist eine weitere Aufgabe der Erfindung, ein Behandlungsregime anzugeben, das brauchbar ist für die Senkung der Insulinmenge im Blut und die Verbesserung der Wirkung des verbleibenden Insulins.

WIRKMECHANISMEN

[0021] Kleinere Änderungen natürlicher Fettsäuren durch den Einbau von Schwefel, Selen oder Sauerstoff, die ein oder mehrere Kohlenstoffatome im Rückgrat der Fettsäure ersetzen. Die Verbindungen, die durch die Formel I definiert werden, haben Eigenschaften, durch die sie eine einzigartige Kombination von biologischen Wirkungen erhalten.

[0022] Tetradecylthioessigsäure (TTA) ist am sorgfältigsten studiert worden, und wir haben in verschiedenen Tierversuchen mehrere vorteilhafte Wirkungen gezeigt.

[0023] Die Studien haben gezeigt, dass TTA Eigenschaften aufweist, die den Eigenschaften natürlicher Fettsäuren sehr ähnlich sind, wobei der Hauptunterschied darin liegt, dass TTA nicht durch das mitochondriale β -Oxidationssystem oxidiert wird. Es wurde jedoch gezeigt, dass das Vorhandensein der Verbindungen der vorliegenden Erfindung die β -Oxidation anderer Verbindungen (nicht-substituierter Fettsäuren) verstärkt.

[0024] Die 12wöchige Verabreichung von TTA an Ratten führte annähernd zu einer Verdopplung der Konzentration an einfach ungesättigten Fettsäuren (hauptsächlich Ölsäure) in der Leber und im Plasma, während die Konzentration an mehrfach ungesättigten Fettsäuren (im wesentlichen Linolsäure und DHA) abnahm. Demnach verändert die Verbindung der vorliegenden Erfindung die Zusammensetzung der Lipide in verschiedenen Geweben. Es wurde auch gezeigt, dass die vorliegenden Verbindungen den Fettgehalt verändern, und es wird erwartet, dass die vorliegenden Verbindungen auch die Fettverteilung ändern werden.

[0025] Die Verfütterung von TTA in mäßig großen Dosierungen an Tiere wie Ratten, Mäuse, Kaninchen und Hunde führte zu einer Abnahme der Konzentration an Cholesterin und Triacylglycerin im Plasma innerhalb einer einige Tage dauernden Behandlung. Wir haben den gleichen Effekt für TSA nachgewiesen, und es konnte gezeigt werden, dass Verbindungen der vorliegenden Erfindung, die Schwefel in Position 5 oder 7 als Substituenten enthalten, die β -Oxidation verstärken, und es wird daher erwartet, dass auch diese Fettsäureanaloga die Plasmaspiegel an Triglyceriden und Cholesterin senken. TTA und TSA sind in dieser Hinsicht wesentlich wirksamer als mehrfach ungesättigte Fettsäuren, wie EPA.

[0026] Wie weiter oben erwähnt wurde, besteht ein wesentlicher Mechanismus der Wirkung von 3-Thiafettsäuren in einer deutlich erhöhten mitochondrialen Fettsäureoxidation, die die Verfügbarkeit von Fettsäuren für die Veresterung senkt. Die Synthese von Triacylglycerin und Cholesterin ist verringert, und die Sekretion von VLDL aus der Leber ist geringer (10). Diese hat eine Verringerung der Produktion von LDL zur Folge. All diese Effekte scheinen zumindest teilweise durch PPA-Rezeptoren (peroxisome proliferator activated receptors, PPAR) vermittelt zu werden, überall vorkommende Transkriptionsfaktoren, die an der Steuerung des Lipid-Stoffwechsels beteiligt sind. Wir haben gezeigt, dass TTA ein starker Ligand von PPAR α ist, bei dem es sich um einen Transkriptionsfaktor handelt, der den Abbaustoffwechsel von Fettsäuren und Eicosanoiden steuert, und ein weniger starker Ligand von PPAR γ , der an der Steuerung der Differenzierung von Adipocyten beteiligt ist.

[0027] Fettleibigkeit ist ein verbreitetes Merkmal des nicht-insulinabhängigen Diabetes mellitus (NIDDM) und ein Risikofaktor für dessen Entwicklung. NIDDM ist häufig mit Bluthochdruck, Dyslipidämie, erhöhten Plasmaspiegeln an freien Fettsäuren und einer erhöhten Gefahr von kardiovaskulären Erkrankungen verbunden. NIDDM-Patienten sind durch eine Resistenz gegen die Insulinwirkung bei der Aufnahme von Glucose in periphere Gewebe und eine Fehlsteuerung der Insulinsekretion gekennzeichnet.

[0028] Wir haben gezeigt, dass die Hyperinsulinämie durch TTA verringert wird und dass mit TTA die Wirkung von Insulin auf den Glucoseverbrauch deutlich verbessert werden kann. TTA verhinderte auch eine Diätbedingte Insulinresistenz. Im Gegensatz zu den vorher bekannten antidiabetisch wirkenden Glitazonen führte TTA nicht zu einer Zunahme des Körpergewichts.

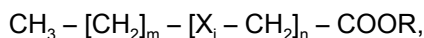
[0029] Diese Effekte können zumindest teilweise durch einen erhöhten Zustrom von Fettsäuren in die Leber und eine verstärkte Fettsäureoxidation in der Leber erklärt werden. Die Daten weisen demnach auf eine Bedeutung von TTA sowohl für die Fett- als auch die Glucose-Homöostase in vivo hin.

[0030] Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung können als Antidiabetika verwendet werden, die die Glucosekonzentration im Blut senken. Wir haben auch gezeigt, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen die Plasmakonzentration an Insulin in hyperinsulinämischen Tieren senken. Bei Tieren, die eine verringerte Empfindlichkeit gegenüber Insulin haben, konnte gezeigt werden, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen die Wirkung von endogenem Insulin verstärken.

DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0031] Die vorliegende Erfindung offenbart, dass modifizierte Fettsäureanaloga in nicht-cytotoxischen Konzentrationen für die Behandlung und/oder Vermeidung von Diabetes verwendet werden können.

[0032] Die vorliegende Erfindung betrifft demnach die Verwendung der Fettsäureanaloga der allgemeinen Formel (I)



in der bedeuten:

- n eine ganze Zahl von 1 bis 12,
- m eine ganze Zahl von 0 bis 23,
- i eine ungerade Zahl, die die Position relativ zu COOR angibt,
- X_i unabhängig voneinander Reste, die unter O, S, SO, SO_2 , Se und CH_2 ausgewählt werden,
- R Wasserstoff oder C_{1-4} -Alkyl,

mit der Maßgabe, dass mindestens einer der Reste X_i nicht CH_2 bedeutet, oder eines Salzes, einer Vorstufe (Prodrug), eines Komplexes davon zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung für die Behandlung und/oder die Vermeidung von Diabetes.

[0033] Die Erfindung betrifft insbesondere die Verwendung einer Verbindung der allgemeinen Formel I, wobei es sich bei dem Diabetes um den Typ-I-Diabetes handelt.

[0034] Eine bevorzugte Ausführungsform der Erfindung betrifft die Verwendung einer Verbindung der allgemeinen Formel I, wobei es sich bei dem Diabetes um den Typ-II-Diabetes handelt.

[0035] Weitere Ausführungsformen betreffen Diabetes-Typen, die unter sekundären Diabetes-Formen, wie dem durch Pankreaserkrankungen, dem extrapankreatisch durch endokrine Erkrankungen und dem durch Arzneimittel hervorgerufene Diabetes, sowie Sonderformen des Diabetes, wie lipoatrophischem Diabetes, myatonischem Diabetes und dem Diabetes, der durch eine Beschädigung der Insulinrezeptoren verursacht wird, ausgewählt werden.

[0036] Eine erfindungsgemäße Ausführungsform betrifft die Verwendung einer Verbindung der Formel I, für die $m \geq 13$ ist.

[0037] Nach einer bevorzugten Ausführungsform umfaßt die Erfindung Verbindungen der Formel I, für die $\text{X}_{i=3}$ unter O, S, SO, SO_2 und Se ausgewählt wird und wobei $\text{X}_{i=5-25}$ CH_2 bedeutet.

[0038] Tetradecylthioessigsäure (TTA) und Tetradecylselenessigsäure (TSA), d. h. $\text{X}_{i=3}$ bedeutet Schwefel bzw. Selen, sind besonders bevorzugte Verbindungen.

[0039] In Zusammenhang mit dem oben angegebenen Verfahren betreffen bevorzugte Ausführungsformen Verwendungen, bei denen

- das Tier ein Mensch ist,
- das Tier ein landwirtschaftliches Nutztier ist, wie hühnerartige Vögel, rinderartige, schafartige, ziegenartige oder schweineartige Säugetiere,
- das Tier ein Haustier oder Heimtier ist, wie Hunde oder Katzen.

[0040] Die Verwendung betrifft die Verabreichung einer therapeutisch wirksamen Konzentration an einen Patienten, der eine solche Behandlung braucht, die im Blut des Tieres während der Zeitspanne der Verabreichung im wesentlichen kontinuierlich/konstant gehalten wird.

[0041] Die Erfindung betrifft weiterhin eine pharmazeutische Zusammensetzung für die Vermeidung und/oder die Behandlung eines diabetischen Zustands. Die pharmazeutische Zusammensetzung enthält vorzugsweise die Fettsäureanaloga im Gemisch mit einem pharmazeutisch akzeptablen Träger oder Exciapiens.

[0042] Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung der Fettsäureanaloga der allgemeinen Formel (I) für die Herstellung einer Zusammensetzung für die Behandlung und/oder die Vermeidung von Hyperglykämie, Hyperinsulinämie oder verminderter Empfindlichkeit für Insulin in einem Tier.

[0043] Die Erfindung betrifft weiterhin eine Nahrungsmittelzusammensetzung, die eine Menge an Fettsäureanaloga der allgemeinen Formel (I) enthält, die wirksam ist für die Verringerung oder die Vermeidung einer Zunahme der Glucosekonzentration im Blut eines Menschen oder eines Tieres.

FIGURENBESCHREIBUNG

[0044] **Fig. 1** zeigt den Einfluß von TTA auf die Gewichtszunahme bei Ratten, die eine Diät mit einem hohem Fettgehalt erhalten.

[0045] **Fig. 2** zeigt den Einfluß von TTA auf die Gewichtszunahme bei Ratten, die eine Diät mit einem hohen

Saccharosegehalt erhalten.

[0046] **Fig. 3** zeigt, dass die Behandlung mit TTA der durch eine Diät mit hohem Fettgehalt hervorgerufenen Hyperinsulinämie vorbeugt.

[0047] **Fig. 4** zeigt, dass die Behandlung mit TTA der durch eine Diät mit hohem Fettgehalt hervorgerufenen Insulinresistenz vorbeugt.

[0048] **Fig. 5** zeigt, dass die Behandlung mit TTA die Insulin- und die Glucosekonzentration im Blut von 5 Wochen alten Zucker-Ratten vom fa/fa-Typ senkt.

[0049] **Fig. 6** zeigt, dass die Behandlung mit TTA die Insulin- und die Glucosekonzentration im Blut von 4 Monate alten Zucker-Ratten vom fa/fa-Typ senkt.

[0050] **Fig. 7** zeigt, dass die Behandlung mit TTA die Plasmainsulinantwort auf Glucose verringert.

[0051] **Fig. 8** zeigt, dass TTA die mitochondriale β -Oxidation verstärkt.

VERABREICHUNG DER ERFINDUNGSGEMÄSSEN VERBINDUNGEN

[0052] Als pharmazeutisches Arzneimittel können die erfindungsgemäßen Verbindungen dem Tier unmittelbar durch eine beliebige geeignete Technik verabreicht werden, einschließlich der parenteralen, intranasalen, oralen Verabreichung oder der Verabreichung durch Absorption durch die Haut. Sie können lokal oder systemisch verabreicht werden. Die spezifische Art und Weise der Verabreichung jedes Mittels hängt unter anderem von der medizinischen Vorgeschichte des Tieres ab.

[0053] Beispiele für die parenterale Verabreichung schließen die subkutane, die intramuskuläre, die intravenöse, die intraarterielle und die intraperitoneale Verabreichung ein.

[0054] Als allgemeiner Vorschlag liegt die insgesamt verabreichte pharmazeutisch wirksame Menge jeder parenteral verabreichten Verbindung pro Dosis vorzugsweise im Bereich von etwa 5 bis 1000 mg/kg/Tag des Patientenkörpergewichts, obwohl die Menge, wie weiter oben festgestellt wurde, in hohem Maße dem therapeutischen Ermessen unterliegt. Für TTA wird erwartet, dass eine Dosis von 100–500 mg/kg/Tag bevorzugt ist, und für TSA kann die Dosierung wahrscheinlich im Bereich von 10 bis 100 mg/kg/Tag liegen.

[0055] Bei kontinuierlicher Gabe werden die Verbindungen der vorliegenden Erfindung typischerweise durch 1–4 Injektionen pro Tag oder durch kontinuierliche subkutane Infusionen, z. B. unter Verwendung einer Minipumpe, verabreicht. Eine intravenös zu verabreichende Lösung, die in einem Beutel enthalten ist, kann ebenfalls verwendet werden.

[0056] Für die parenterale Verabreichung werden die Verbindungen der vorliegenden Erfindung gemäß einer Ausführungsform im allgemeinen formuliert, indem sie im gewünschten Reinheitsgrad in einer Dosiereinheit in einer injizierbaren Form (Lösung, Suspension oder Emulsion) mit einem pharmazeutisch akzeptablen Träger vermischt werden, d. h. einem Träger, der für die Empfänger in den eingesetzten Dosierungen und Konzentrationen nicht toxisch ist und mit den anderen Bestandteilen der Formulierung kompatibel ist.

[0057] Die Formulierungen werden im allgemeinen durch homogenes und inniges Inkontaktbringen der Verbindungen der vorliegenden Erfindung mit flüssigen Trägern oder fein zerkleinerten festen Trägern oder beidem hergestellt. Das Produkt wird dann erforderlichenfalls in die Form der gewünschten Formulierung gebracht. Der Träger ist vorzugsweise ein parenteraler Träger, noch bevorzugter eine Lösung, die mit dem Blut des Empfängers isotonisch ist. Beispiele für derartige Träger (Vehikel) sind Wasser, Kochsalzlösungen, Ringers Lösung und Dextroselösungen. Nicht-wässrige Vehikel, wie ein fettiges Öl und Ethyloleat, sind in diesem Zusammenhang ebenfalls brauchbar, ebenso Liposomen.

[0058] Der Träger kann in geeigneter Weise kleinere Mengen von Zusatzstoffen enthalten, wie Substanzen, die die Isotonie und die chemische Stabilität verbessern. Derartige Materialien sind in den eingesetzten Dosierungen und Konzentrationen nicht-toxisch für die Empfänger und schließen ein: Puffer, wie Phosphat, Citrat-, Succinat-, Essigsäurepuffer und Puffer anderer organischer Säuren oder ihrer Salze; Antioxidantien, wie Ascorbinsäure; Immunglobuline; hydrophile Polymere, wie Polyvinylpyrrolidon; Aminosäuren, wie Glycin, Glutaminsäure, Asparaginsäure oder Arginin; Monosaccharide, Disaccharide und andere Kohlenhydrate einschließlich Cellulose und ihrer Derivate, Glucose, Mannose und Dextrine; Chelatbildner, wie EDTA; Zuckeralkohole, wie Mannit oder Sorbit, Gegenionen wie Natrium; und/oder nichtionische grenzflächenaktive Stoffe, wie Polysorbate, Poloxamere und PEG.

[0059] Für orale pharmakologische Zusammensetzungen können Trägermaterialien wie z. B. Wasser, Gelatine, Gummen, Lactose, Stärken, Magnesiumstearat, Talk, Öle, Polyalkylenglykol, Paraffinöl (Petrolatum) und dergleichen verwendet werden. Derartige pharmazeutische Zubereitungen können in Form von Dosiereinheiten vorliegen und können zusätzlich andere therapeutisch wertvolle Substanzen oder herkömmliche pharmazeutische Hilfsstoffe, wie Konservierungsmittel, Stabilisierungsmittel, Emulgatoren, Puffer und dergleichen enthalten. Die pharmazeutischen Zubereitungen können in herkömmlichen flüssigen Formen, wie Tabletten, Kapseln, Dragees, Ampullen und dergleichen, in herkömmlichen Dosierformen, wie Trockenampullen und Suppositorien und dergleichen vorliegen.

[0060] Die Behandlung mit den vorliegenden Verbindungen kann ohne diätetische Beschränkungen, wie ei-

ner Begrenzung der täglichen Nahrungs- und Kalorienaufnahme, erfolgen, oder es können derartige Beschränkungen vorgeschrieben werden, je nachdem, was für den einzelnen Patienten wünschenswert ist.

[0061] Die Erfindung kann besser unter Bezugnahme auf die folgenden Beispiele verstanden werden. Diese Beispiele dürfen aber nicht als Einschränkung des Gegenstands und des Schutzbereichs der Erfindung verstanden werden.

EXPERIMENTELLER TEIL VERFAHREN

Fettleibige Zucker-Ratten (fa/fa-Typ)

[0062] Die fettleibigen Zucker-Ratten (fa/fa-Typ), die in dieser Studie verwendet werden, wurden in der U 465 INSERM Tierfarm ausgehend von Paaren gezüchtet, die ursprünglich vom Harriet G. Bird Laboratory (Stow, MA, USA) geliefert wurden. Soweit nichts anderes angegeben wird, wurden die Tiere unter konstanten Hell-Dunkel-Zyklen (Licht vom 7 Uhr morgens bis 19 Uhr abends) bei einer Temperatur von $21 \pm 1^\circ\text{C}$ gehalten, und sie hatten freien Zugang zu Futter und Wasser. Pro Käfig wurden drei Tiere gehalten. Die Gewichtszunahme wurde täglich aufgezeichnet.

Wistar-Ratten

[0063] Männliche Wistar-Charles-River-Ratten mit einem Gewicht von 280–358 g wurden vom AnLab Ltd. bezogen (Prag, Tschechische Republik) und in Drahtkäfigen in einem hinsichtlich Temperatur ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) und Licht (Licht von 7 Uhr morgens bis 19 Uhr abends) kontrollierten Raum gehalten. Sie hatten freien Zugang zu Futter und Wasser. Pro Käfig wurden drei Tiere gehalten. Die Gewichtszunahme und die Futteraufnahme wurden täglich aufgezeichnet.

Diäten (angegeben in Gew-%) die während der Fütterungsversuche verwendet wurden:

Standardfutterdiät:

[0064] An Ratten wurde das Standard-Labor-Ratten-Futter ST1 von Velaz, Prag, Tschechische Republik, verfüttert.

- Diät mit hohem Saccharosegehalt (abgekürzt: HS): 50,3% Saccharose, 4,8% Gelatine, 3,2% Heu, 2,3% Vitamine und Mineralien, 8,7% Hefe, 8,7% Trockenmilch, 12,3% Casein, 9% Rindertalg, 1% Sonnenblumenöl.
- HS + TTA: wie HS, zusätzlich 0,3% TTA, gelöst im Rindertalg.
- HS + Fischöl (FO): Der Rindertalg und das Sonnenblumenöl werden durch 10% Triomar ersetzt. Triomar wird von Pronova Biocare, Norwegen, bezogen und enthält 33,4% EPA, 3,1% DPA und 20,2% DNA.
- Diät mit hohem Fettgehalt (abgekürzt HF): 1,9% Gelatine, 5,7% Weizenkleie, 7,7% Vitamine und Mineralien, 25,4% Maisstärke, 25,7% Casein, 26,8% Rindertalg und 7,1% Sonnenblumenöl.
- HF + TTA: wie HF, zusätzlich 0,4% TTA, gelöst im Rindertalg.
- HF + FO: 10% Rindertalg werden durch 10% Triomar ersetzt.

Intravenöse Glucosetoleranztests

[0065] Männliche Zuckerratten (fa/fa-Typ) (5 Wochen alt) wurden nach 5stündigem Fasten durch intraperitoneale Injektion von Natriumpentobarbital (50 mg/kg) narkotisiert. Den Ratten wurde Glucose (0,55 g/kg) in die Vena saphena injiziert, und Blutproben wurden aus der Schwanzvene 0, 5, 10, 15, 20 und 30 min nach der Verabreichung der Glucose in Heparin-Röhrchen entnommen. Die Proben wurden auf Eis aufbewahrt, zentrifugiert, und das Plasma wurde bis zur Analyse bei -20°C gelagert.

Hyperinsulinämisch-euglykämische Clamp-Technik:

[0066] Nach 21 Tage auf ihrer jeweiligen Diät (siehe oben) wurden die Ratten durch Injizieren von Xylazinhydrochlorid (Rometar SPOFA, Prag, Tschechische Republik; 10 mg/ml) und Ketaminhydrochlorid (Narkamon SPOFA, Prag, Tschechische Republik; 75 mg/ml) narkotisiert, wonach nach dem von Koopmans et al. (Koopmans, S. J., et al., Biochim. Biophys. Acta, 1115, 2130–2138, 1992) beschriebenen Verfahren Karotisarterien- und Jugularvenenkanülen dauerhaft angelegt werden. Die Ratten mit den angelegten Kanülen durften sich nach dem chirurgischen Eingriff über einen Zeitraum von zwei Tagen erholen, bevor die Studien unter Anwendung der Clamp-Technik gemäß Kraegen et al. (Kraegen, E. W., et al., Am. J. Physiol., 248 E353–E362, 1983) durchgeführt wurden. Dann, am dritten Tag nach dem chirurgischen Eingriff, wurde nicht eingeschränkter und

wachen Ratten eine kontinuierliche Infusion von Schweineinsulin (Actrapid, Novo Nordisk, Dänemark) in einer Dosis von 6,4 mU pro kg pro Minute verabreicht, um Plasmainsulinspiegel im oberen physiologischen Bereich zu erzielen. Die Glucosekonzentration im arteriellen Blut wurde beim Grundfastenniveau durch variable Infusionen einer 30%-(G/V)-Glucoselösung (Leciva, Prag, Tschechische Republik) festgesetzt. Blutproben für die Bestimmung der Glucose- und der Insulinkonzentration im Blut wurden alle 15 min ab dem Beginn der Glucoseinfusion genommen. Nach 90 min wurden die Ratten von den Infusionen getrennt und sofort geköpft. Blut wurde für die Plasmatrennung gesammelt, Leberproben und epididymale Fettgewebeproben wurden präpariert und gewogen.

Messung der Plasmaparameter

[0067] Unter Verwendung von enzymatischen Verfahren wurde die Konzentration an Glucose (GLU, Boehringer Mannheim, Deutschland), an freien Fettsäuren (NEFA, C ACS-ACOD Kit; Wako Chemicals, Dalton, USA) und an β -Hydroxybutyrat (310-A-Kit; Sigma Diagnostics Inc., St. Louis, USA) gemessen. Die Insulinkonzentrationen wurden mit einem Radioimmunoassay (von CIS Bio International, Gif sur Yvette, Frankreich) unter Verwendung von Ratteninsulin als Standard in den Zucker-Ratten bestimmt. In den Wistar-Charles-River-Ratten wurden die Glucosekonzentrationen im Plasma mit Hilfe eines "Beckman Glucose Analyzers" (Fullerton, CA, USA) gemessen. Die Insulinspiegel im Plasma wurden unter Verwendung eines RIA-Kits von Linco Research Inc. (St. Charles, MO, USA) gemessen. Die Phospholipide wurden nach dem enzymatischen Verfahren von bioMérieux, Marcy-l'Etoile, Frankreich gemessen, Triacylglycerin nach dem Technicon-Verfahren Nr. SA4-0324L90, USA, und Cholesterin nach dem Technicon-Verfahren Nr. SA4-0305L90, USA.

Herstellung von post-nukleären und mitochondrialen Fraktionen und Messung von Enzymaktivitäten

[0068] Die frisch isolierte Leber einzelner alter Zucker-Ratten wurde in eisgekühltem Saccharose-Puffer (0,25 M Saccharose, 10 mM HEPES (pH 7,4) und 2 mM EDTA) homogenisiert. Postnukleäre und mitochondriale Fraktionen wurden unter Verwendung einer präparativen Differentialzentrifugation nach De Duve et al. (De Duve, C., et al., Biochem. J., 60, 604–617, 1955.) hergestellt. Abänderungen, Reinheit und Ausbeute entsprechen einem bereits früher beschriebenen Verfahren (Garras, A., et al., Biochim. Biophys. Acta, 1255, 154–160, 1995). Säurelösliche Produkte wurden in post-nukleären und mitochondrialen, angereicherten Fraktionen unter Verwendung von [$1\text{-}^{14}\text{C}$]-Palmitoyl-CoA und [$1\text{-}^{14}\text{C}$]-Palmitoyl-L-carnitin (Radiochemical Centre, Amersham, England) als Substraten auf eine bereits beschriebene Weise gemessen (Willumsen, N., et al., J. Lipid Res., 34, 13–22, 1993). Carnitin-palmitoyltransferase-I-Aktivitäten und -II-Aktivitäten wurden in den post-nukleären und mitochondrialen Fraktionen im wesentlichen nach dem von Bremer beschriebenen Verfahren (Bremer, J. Biochim. Biophys. Acta, 665, 628–631 1981) gemessen, und 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA-Synthase wurde gemäß Clinkenbeard et al. (Clinkenbeard, K. D., et al., J. Biol. Chem., 250, 3108–3116, 1975) in den mitochondrialen Fraktionen gemessen.

RNA-Analyse

[0069] RNA-Extraktion (Chromczynski, P., et al., Anal. Biochem., 162, 156–159, 1987), Northern-Blot-Analyse und Slot-Blotting von RNA auf Nylon-Filter und Hybridisierung mit immobilisierter RNA wurden nach Verfahren durchgeführt, die bereits früher beschrieben wurden (Vaagenes, N., et al., Biochem. Pharmacol., 56, 1571–1582, 1998). Die folgenden cDNA-Fragmente wurden als Sonden verwendet: CPT-I (Esser, V. et al., J. Biol. Chem., 268, 5817–5822, 1993), CPT-II (Woeltje, K. F., et al., J. Biol. Chem., 265, 10720–10725, 1990), 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA-Synthase (Ayte, J. of al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, 3874–3878, 1990), und Hormon-sensitive Lipase (Holm, C., et al., Biochim. Biophys. Acta, 1006, 193–197, 1989). Die relativen Niveaus der RNA-Expression wurden als die Mengen an radioaktiver Probe abgeschätzt, die mit entsprechenden Niveaus an 28S-rRNA hybridisierten.

ERGEBNISSE

Beispiel 1 Herstellung und Charakterisierung der Verbindung

a) Synthese der neuen Verbindungen

[0070] Fettsäuren mit dem Heteroatom in verschiedenen Positionen wurden gemäß der allgemeinen Beschreibung für 3-substituierte Analoga (siehe weiter unten) mit der folgenden Abänderung synthetisiert.

[0071] Alkyl-Hal wurde durch Alkanoyl-Hal ersetzt, und HS-CHCOOR wurde durch Alkyl-SH ersetzt.

[0072] Die folgenden Fettsäureanaloga wurden hergestellt und charakterisiert:

Verbindung	Reagenzien	Schmelzpunkt (°C)
Dodecanylthiobutansäure	4-Brombutansäure + Dodecanylthiol	54-55
Decanylthiohexansäure	6-Bromhexansäure + Decanylthiol	50-51
Octanylthiooctansäure	8-Bromoctansäure + Octanylthiol	39-40

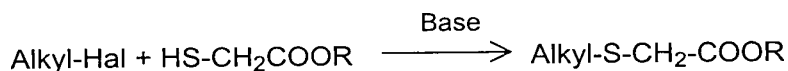
[0073] Die Reinigung der Produkte erfolgte wie weiter unten beschrieben wird. Reinheit > 95%. Die Struktur wurde massenspektroskopisch überprüft.

b) Synthese der 3-substituierten Fettsäureanaloge

[0074] Die erfindungsgemäß verwendeten Verbindungen, in denen der Substituent $X_{i=3}$ ein Schwefelatom oder ein Selenatom ist, können nach dem folgenden allgemeinen Verfahren hergestellt werden:

X ist ein Schwefelatom:

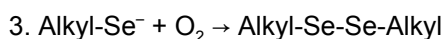
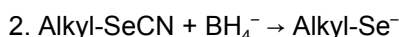
[0075] Die erfindungsgemäß verwendete Schwefel-substituierte Verbindung kann durch das allgemeine, im folgenden angegebene Verfahren hergestellt werden:



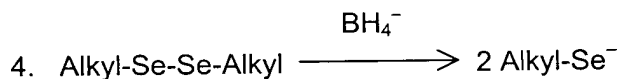
[0076] Die Schwefelverbindung, nämlich Tetradecylthioessigsäure (TTA), $(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{-S-CH}_2\text{-COOH})$ wurde wie in EP-0 345 038 beschrieben hergestellt.

X ist ein Selenatom:

[0077] Die erfindungsgemäß verwendete Selen-substituierte Verbindung kann nach dem folgenden allgemeinen Verfahren hergestellt werden:



[0078] Diese Verbindung wird durch vorsichtige Kristallisation aus Ethanol oder Methanol gereinigt.



[0079] Die Endprodukt, z. B. $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{-Se-CH}_2\text{-COOH}$, wenn Alkyl Tetradecyl ist, (Tetradecylselenessigsäure (TSA)) kann durch Umkristallisieren aus Diethylether und Hexan gereinigt werden. Das Produkt kann vollständig durch NMR- und IR-Spektroskopie und eine Molekulargewichtsbestimmung charakterisiert werden.

[0080] Die Verfahren zur Synthese und Isolierung dieser Schwefel- und Selenverbindungen und der Verbindung, für die X in der Formel I Sauerstoff (O), Schwefel-I-oxid (SO) und Schwefeldioxid (SO_2) bedeutet, werden in dem Europäischen Patent Nr. 345 038 und in der Internationalen Patentanmeldung WO 97/0363 beschrieben.

Beispiel 2

Untersuchung der Toxizität von TTA

- [0081] Eine 28 Tage dauernde Toxizitätsstudie bei Hunden gemäß den GLP-Richtlinien wurde von Corning Hazelton (Europe), England, durchgeführt. Die orale Verabreichung von TTA in einer Dosierung von bis zu 500 mg/kg/Tag wurde im allgemeinen gut vertragen. Einige Lipidbezogene Parameter wurden in den Tieren, die hohe Dosierungen erhielten, gesenkt. Dies steht im Einklang mit der pharmakologischen Wirkung von TTA.
- [0082] Die Dosierung von 500 mg/kg/Tag führte auch zu einer Abnahme des Körpergewichts. Es gab keine Hinweise auf eine Toxizität bei Dosierungen im Bereich von 50 oder 500 mg/Tag/kg.
- [0083] Untersuchungen zur mutagenen Wirkung wurden von Covance Laboratories Limited, England, durchgeführt. Diese führten zu der Schlußfolgerung, dass TTA und TSA keine Mutationen in Stämmen von *Salmonella typhimurium* und *Escherichia coli* hervorrufen. Außerdem war TTA nicht mutagen, wenn es in Lymphomzellen der Maus und L5178Y getestet wurde.
- [0084] Die Konzentration der in *S. typhimurium* und *E. coli* getesteten Verbindungen betrug 3–1000 mg/Platte (TTA) 2–5000 mg/Platte (TSA). In Mauslymphomzellen, L5178Y, betrug die Konzentration 2,5–50 mg/ml.
- [0085] TTA und TSA haben sich in diesen Tests als nicht mutagen erwiesen. TSA und TTA wurden hinsichtlich chromosomaler Abweichungen in kultivierten Eierstockzellen von chinesischen Hamstern getestet, in den getesteten Dosierungen (12–140 mg/ml) wurden keine Abweichungen hervorgerufen.
- [0086] Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung sind daher potentiell als pharmazeutische Verbindungen brauchbar.

Beispiel 3

TTA hat eine Lipid-senkende Wirkung auf fettleibige Tiere

- [0087] Männliche fettleibige Zucker-Ratten (fa/fa-Typ), die zu Beginn des Experiments 100 g wogen, wurden paarweise in Drahtkäfigen in einem Raum gehalten, in dem ein Hell-Dunkel-Wechsel in einem 12-Stunden-Rhythmus durchgeführt wurde und der auf konstant $20 \pm 3^\circ\text{C}$ temperiert war. Die Tiere wurden mindestens eine Woche an diese Bedingungen gewöhnt, bevor das Experiment begonnen wurde.
- [0088] TTA (Tetradecylthioessigsäure), die gemäß dem weiter oben beschriebenen Verfahren hergestellt wurde, und Palmitinsäure (Vergleich) wurden in 0,5% (G/V) Carboxymethylcellulose (CMC) suspendiert. In beiden Gruppen wurden je sechs Tiere verwendet. TTA (Tetradecylthioessigsäure) und Palmitinsäure wurden in einer Dosis von 300 mg/Tag/kg Körpergewicht durch Intubieren des Magens (Sondenernährung) einmal täglich über insgesamt 10 Tage verabreicht. Die Ratten erhielten in den letzten 2 Stunden vor der Beendigung des Experiments keine Nahrung mehr. Blut und Organe wurden gesammelt. Die Lipid-Konzentrationen im Plasma wurden unter Verwendung eines Autoanalyzers bestimmt, was in dem die Verfahren betreffenden Abschnitt beschrieben wurde. Dabei wurden die in Tabelle 1 dargestellten Ergebnisse erhalten.

Tabelle 1

Auswirkung von TTA auf die Lipidkonzentration in fettleibigen Zucker-Ratten (fa/fa-Typ)			
Abnahme der Lipidkonzentration im Plasma (%, bezogen auf den Vergleich)			
	Triglyceride	Cholesterin	Phospholipide
TTA	72	73	71

- [0089] Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass die TTA die Konzentration der Triglyceride, des Cholesterins und der Phospholipiden im Plasma senkt.

Beispiel 4

TTA und TSA haben eine Lipid-senkende Wirkung auf normale Tiere (Wistar-Ratten)

- [0090] Männliche Wistar-Ratten mit einem Gewicht von 180–200 g zu Beginn des Experiments wurden ein-

zeln in Drahtkäfigen in einem Raum gehalten, in dem ein Hell-Dunkel-Wechsel in einem 12-Stunden-Rhythmus durchgeführt wurde und der auf konstant $20 \pm 3^\circ\text{C}$ temperiert war. Die Tiere wurden mindestens eine Woche an diese Bedingungen gewöhnt, bevor das Experiment begonnen wurde.

[0091] TTA, TSA und Eicosapentaensäure (EPA) wurden in 0,5% (G/V) Carboxymethylcellulose (CMC) suspendiert. Sechs Tiere wurde für jede Behandlung verwendet, und als Vergleich wurde den Ratten eine 0,5% CMC-Lösung verabreicht. Nach der Verabreichung der Testverbindung wurden die Ratten 12 h ohne Nahrungsaufnahme gehalten und dann mit Halothan narkotisiert. EPA und die Fettsäurederivate wurden durch Intubieren des Magens (Sondenernährung) einmal täglich über insgesamt 7 Tage verabreicht. Blutproben wurden durch Herzpunktion gesammelt, und die Lipidkonzentrationen im Plasma wurden so bestimmt, wie es in dem die Verfahren betreffenden Abschnitt beschrieben wird. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 enthalten.

Tabelle 2

Einfluß von TTA, TSA und EPA auf die Lipidspiegel im Plasma von Ratten			
Verbindung	Dosis mg/Tag/kg Körpergewicht	Plasmalipide (% Abnahme, bezogen auf den Vergleich)	
		Triglyceride	Cholesterin
TSA	15	25	20
EPA	1500	20	18
TTA	150	45	30

[0092] Tabelle 2 zeigt, dass TTA eine gute lipidsenkende Wirkung im Blut von Ratten hat. Es zeigt sich, dass eine 100fach größere Dosis an EPA erforderlich ist, um die gleiche Abnahme der Lipidkonzentration im Plasma, wie sie mit TSA erzielt wird, zu erreichen. Außerdem sind die substituierten Fettsäureverbindungen der vorliegenden Erfindung wesentlich wirksamer als reines EPA und Fischöl bei der Senkung der Plasmalipide. Sie sind daher potentiell als medizinische Verbindungen brauchbar.

Beispiel 5

Wirkung von TTA bei einer sehr fetthaltigen Ernährung von Wistar-Charles-River-Ratten

[0093] Männliche Wistar-Charles-River-Ratten (280–360 g) wurden mit 3 verschiedenen Diäten (siehe Verfahren) über einen Zeitraum von 3 Wochen ad libitum (nach Belieben) gefüttert. Anschließend wurden sie durch Köpfen getötet, Lebergewebe und epididymales Fettewebe wurden herausgeschnitten und gewogen.

[0094] Durch die Fütterung der Wistar-Ratten mit einer Diät mit hohem Fettgehalt wurden das epididymale und das retroperitoneale Fettgewicht erhöht. Die Behandlung mit TTA verhinderte die Zunahme der Masse des Fettgewebes, und dieser Effekt war unabhängig vom Futterverbrauch, der identisch war (Diät mit hohem Fettgehalt: $15,1 \pm 1,1$ gegenüber Diät mit hohem Fettanteil + TTA: $14,8 \pm 1,3$ g/Ratte/Tag).

Tabelle 3

Einfluß der Diät mit hohem Fettgehalt, mit und ohne TTA-Ergänzung, über 3 Wochen, auf die Zunahme des Körpergewichts, des Lebergewichts und des Gewichts des Fettgewebes bei Wistar-Charles-River-Ratten, die mit einer Diät mit hohem Fettgehalt gefüttert werden			
Parameter	Ernährung mit Standardfutter	Diät mit hohem Fettgehalt – TTA	Diät mit hohem Fettgehalt + TTA
Epididymales Fettgewebe (g)	3,0 ± 0,1	5,3 ± 0,3	3,1 ± 0,2
Epididymales Fettgewebe/Körpergewicht (%)	0,8 ± 0,03	1,3 ± 0,1	1,0 ± 0,1
Retroperitoneales Fettgewebe (g)	2,2 ± 0,2	5,5 ± 0,3	2,7 ± 0,2
Retroperitoneales Fettgewebe /Körpergewicht (%)	0,6 ± 0,1	1,4 ± 0,1	0,8 ± 0,05
Daten werden als Mittelwerte ± Standardfehler des Mittelwerts (SFM) angegeben			

Beispiel 6

TTA senkt das Gesamtkörpergewicht normaler Ratten

[0095] 2 Gruppen von 6 männlichen Wistar-Ratten wurden zufällig ausgewählt und hinsichtlich der Entwicklung ihres Gewichts über einen Zeitraum von 12 Wochen studiert. Zu Beginn des Experiments wurde das Körpergewicht jeder Wistar-Ratte bestimmt. Alle Tiere in beiden Gruppen erhielten individuell die gleiche Menge an Futter (Ernährung) während des Versuchszeitraums von 12 Wochen. Alle Tiere in einer der beiden Gruppen erhielten oral das Arzneimittel, das TTA enthält, verabreicht. Die andere Gruppe war die Vergleichsgruppe (CMC). Nach einem Zeitraum von 12 Wochen wurde das Körpergewicht der Ratten wieder bestimmt.

[0096] Die in Tabelle 4 enthaltenen Ergebnisse zeigen, dass die orale Verabreichung von TTA zu einer deutlichen Abnahme des Gewichts führt.

Tabelle 4

Einfluß von TTA auf das Körpergewicht männlicher Wistar-Ratten nach einer 12wöchigen Behandlung	
	Zunahme des Körpergewichts (Gramm)
Vergleich (Ratten, nicht mit TTA behandelt)	293 ± 27
TTA	234 ± 20

Beispiel 7

Einfluß von TTA auf Wistar-Charles-River-Ratten, die mit einer Diät mit hohem Fettgehalt ernährt werden

[0097] **Fig. 1** zeigt die kumulativen Werte für die Gewichtszunahme (g)/Gesamtaufnahme an Futter (g) während 3 Wochen. Die Werte wurden berechnet, indem die tägliche mittlere Gewichtszunahme genommen wurde und durch die mittlere Futtermenge, die an diesem Tag verbraucht wurde, dividiert wurde. Für die Abkürzungen und die Aufzählung der Diäten siehe den die Verfahren betreffenden Abschnitt.

[0098] Die Zusammensetzung der verschiedenen Diäten ist in dem die Verfahren betreffenden Abschnitt angegeben.

Beispiel 8

Einfluß von TTA auf Wistar-Charles-River-Ratten, die mit einer Diät mit hohen Saccharosegehalt gefüttert werden

[0099] **Fig. 2** zeigt die kumulativen Werte für die Gewichtszunahme (g)/Gesamtaufnahme an Futter (g) während 3 Wochen. Die Werte wurden berechnet, indem die tägliche mittlere Gewichtszunahme genommen wurde und durch die mittlere Futtermenge, die an diesem Tag verbraucht wurde, dividiert wurde.

[0100] Für die Abkürzungen und die Aufzählung der Diäten siehe den die Verfahren betreffenden Abschnitt.

[0101] Die Zusammensetzung der verschiedenen Diäten ist in dem die Verfahren betreffenden Abschnitt angegeben.

Beispiel 9

Einfluß von TTA auf die Zunahme des Körpergewichts, das Gewicht der Leber und des Fettgewebes bei fettleibigen Tieren

[0102] Die TTA wurde auch hinsichtlich ihrer Wirkung auf das Gewicht der Leber und des Fettgewebes getestet. Die Ergebnisse werden in Tabelle 5 angegeben.

[0103] 5 Wochen alte männliche fettleibige Zucker-Ratten (fa/fa-Typ) wurden mit TTA, 300/kg/Tag, die in 0,5% CMC suspendiert sind, gefüttert. Vergleichstiere erhielten nur CMC. Nach 11 Tage dauernder Behandlung wurden die Ratten durch Brechen des Genicks getötet, Lebergewebe und epididymales Fettgewebe wurden herausgeschnitten und gewogen. Die Werte stellen Mittelwerte \pm Standardabweichung (SA) von 6 Tieren in der Vergleichsgruppe und 6 Tieren in der experimentellen Gruppe dar.

Tabelle 5

Einfluß von TTA auf die Zunahme des Körpergewichts, auf das Gewicht der Leber und von Fettgewebe bei jungen fettleibigen Zucker-Ratten (fa/fa-Typ)		
Parameter	Vergleich	Behandelt
Gewicht der Leber (g)	7,79 \pm 0,26	10,6 \pm 0,70
Epididymales Fettgewebe/Körpergewicht %	0,98 \pm 0,02	0,78 \pm 0,02
Körpergewichtszunahme (g/Tag)	5,91 \pm 0,37	6,23 \pm 0,28

Beispiel 10

TTA sorgt für eine Gewichtsabnahme bei Hunden

[0104] 3 männliche Hunde (4–6 Monate alt) wurden während des Tages einzeln gehalten. Jedem Tier wurden jeden Morgen nach der Dosierung 400 g SQC-Diät A angeboten, und zurückbleibende Reste wurden am Nachmittag entfernt. Das Arzneimittel wurde in Kapseln einmal täglich über einen Zeitraum von 28 Tagen verabreicht.

Tabelle 6

Mittleres Körpergewicht männlicher Hunde, die mit 500 mg/kg/Tag TTA über einen Zeitraum von 4 Wochen behandelt wurden					
Woche	0	1	2	3	4
Körpergewicht (kg)	9,22 \pm 1,77	8,95 \pm 1,61	8,75 \pm 1,58	8,58 \pm 1,66	8,55 \pm 1,74

Beispiel 11

Die Behandlung mit TTA verhindert die durch die HF-Diät in normalen Ratten hervorgerufene Hyperinsulinämie

[0105] Ratten mit einem Gewicht von 280–360 g wurden in 3 Gruppen aufgeteilt ($n = 6$) und mit drei verschiedenen Diäten gefüttert: Standard-Ratten-Futter, Diät mit hohem Fettgehalt (HF) und HF-Diät, die mit TTA ergänzt ist. Nach 21 Tagen bei der jeweiligen Diät wurden Blutproben aus der Schwanzvene genommen, nachdem die Tiere über Nacht gefastet hatten. Die Daten werden als Mittelwert \pm SFM angegeben. Die Ergebnisse wurden durch ANOVA analysiert, und verschiedene Buchstaben geben die statistische Signifikanz wieder ($p < 0,05$).

[0106] **Fig. 3** zeigt, dass durch die Behandlung mit TTA die in Wistar-Charles-River-Ratten durch eine Diät mit hohem Fettgehalt hervorgerufene Hyperinsulinämie verhindert werden kann.

Beispiel 12

Die Behandlung mit TTA verhindert in normalen Ratten die durch eine HF-Diät verursachte Insulinresistenz

[0107] Ratten mit einem Gewicht von 330 ± 20 g wurden in 3 Gruppen ($n = 9$) aufgeteilt und mit drei verschiedenen Diäten gefüttert. Standard-Ratten-Futter, Diät mit hohem Fettgehalt (HF) und HF, das mit TTA ergänzt war. Nach 21 Tagen unter der jeweiligen Diät wurde ein 90minütiger hyperinsulinämisch-euglykämischer Clamp-Versuch mit nicht eingeschränkten wachen Ratten durchgeführt, wie er in dem Abschnitt "Materialien und Verfahren" beschrieben wird. Die Glucose-Infusions-Geschwindigkeit (GIR) wurde anhand des Zeitraums des Clamp-Versuchs ermittelt, ab dem die Glykämie stabilisiert war, d. h. 45–90 min nach dem Beginn des Clamp-Versuchs. Die Daten werden als Mittelwert \pm SFM dargestellt.

[0108] Ein euglykämisch-hyperinsulinämisches Clamp-Protokoll wurde erstellt, um zu testen, ob die diätetische TTA-Aufnahme die Beeinträchtigung der Insulinwirkung, die durch die Diät mit hohem Fettgehalt verursacht wird, verbessern würde. Der 90minütige euglykämisch-hyperinsulinämische Clamp-Versuch führte zu Plateauspiegeln der Plasmaglucose und des Plasmainsulins, die in den drei untersuchten Gruppen nicht verschieden waren. Es gab eine beträchtliche Abnahme der exogenen Glucose-Infusions-Geschwindigkeit (GIR), die erforderlich war, um die Euglykämie in der HF-Gruppe (**Fig. 4**) aufrecht zu erhalten, verglichen mit den Wistar-Ratten, die die Standard-Diät erhielten. Interessanterweise verhinderte die Ergänzung der HF-Diät mit TTA die Entwicklung der Insulinresistenz in diesen Ratten, was durch eine völlig normale GIR bewiesen wird. Dies weist auf eine vorteilhafte Wirkung von TTA auf die in vivo-Wirkung von Insulin hin.

[0109] **Fig. 4** zeigt, dass die Behandlung mit TTA die eine Diät mit hohem Fettgehalt hervorgerufene Insulinresistenz in Wistar-Charles-River-Ratten verhindert.

Beispiel 13

Der Einfluß von TTA auf den Plasmaspiegel von Insulin und Glucose in fettleibigen Tieren

5 Wochen alte Zucker-Ratten (fa/fa-Typ)

[0110] Wie in **Fig. 5** gezeigt wird, senkte die Behandlung mit TTA die Insulinkonzentration im Blut um fast 40%, während die Glucosekonzentration im Blut um etwa 15% gesenkt wurde.

[0111] Den Ratten wurde TTA in einer Dosis von 300 mg/kg/Tag, die in 0,5% CMC ($n = 6$) suspendiert waren, durch orale Sondenernährung verabreicht. Nach 11tägiger Behandlung wurden die Ratten durch Brechen des Genicks getötet. Blutproben wurden genommen, und der Insulinspiegel und der Glucosespiegel wurden gemäß den Angaben in dem die Verfahren betreffenden Abschnitt gemessen. Die Meßwerte stellen Mittelwerte \pm SA dar.

[0112] Nach Zucker, L. M. et al. (Sparks, J. D. et al., Metabolism, 47, 1315–1324, 1998) hatten diese jungen Tiere keine Hyperglykämie entwickelt.

4 Monate alte fettleibige Zucker-Ratten (fa/fa-Typ)

[0113] **Fig. 6** zeigt den Einfluß von TTA auf den Insulinspiegel und den Glucosespiegel im Blut von 4 Monate alten Zucker-Ratten (fa/fa-Typ), d. h. von Ratten, die die Hyperglykämie entwickelt hatten (Sparks, J. D. et al., Metabolism, 47, 1315–1324, 1998).

[0114] Die Ratten erhielten eine Standarddiät, entweder mit ($n = 5$) oder ohne ($n = 6$) 0,15% TTA. Nach 21tägiger Behandlung wurden Blutproben genommen und der Insulinspiegel und der Glucosespiegel gemessen. Die Meßwerte stellen Mittelwerte \pm SA dar.

Beispiel 15

Die Behandlung mit TTA verringert die Plasmainsulinantwort auf Glucose

[0115] Um zu untersuchen, ob die Behandlung mit TTA zu einer Verbesserung der Wirkung von Insulin auf den Verbrauch der Glucose führt, wurde ein intravenöser Glucosetoleranztest (IVGTT) durchgeführt. Bei 5 Wochen alten Zucker-Ratten (fa/fa-Typ) führte die Behandlung mit TTA zu einer deutlich niedrigeren Antwort des Plasmainsulins auf die Glucose (**Fig. 7A**). Die IVGTT-Glucosekurven waren normal und vergleichbar zwischen TTA-behandelten Ratten und als Vergleich dienenden Ratten (**Fig. 7B**).

Beispiel 16

Die Wirkung von TTA auf die mitochondriale β -Oxidation

[0116] Fettleibige Zucker-Ratten (fa/fa-Typ) erhielten ein Standardfutter entweder mit (n = 6) oder ohne (n = 5) 0,15% TTA. Nach 21tägiger Behandlung wurden die Ratten durch Brechen des Genicks getötet, wonach die Leber entnommen wurde. Mitochondriale Fraktionen wurden aus jeder Leber isoliert. Die Geschwindigkeit der Fettsäureoxidation wurde unter Verwendung von [1^{14}C]-Palmitoyl-CoA oder [1^{14}C]-Palmitoyl-L-carnitin als Substrat (A) und CPT-I (B) und CPT-II (C) in den mitochondrialen Fraktionen gemessen. RNA-Reinigungs- und RNA-Hybridisierungsexperimente wurden durchgeführt. Die relativen mRNA-Konzentrationen wurden durch densitometrische Musterung der Autoradiogramme bestimmt, und die verschiedenen mRNA-Konzentrationen wurden auf die jeweilige 28S rRNA normiert, und die Mittelwerte der Vergleiche wurden auf 1 gesetzt. Die Bildung von säurelöslichen Produkten in den als Vergleich dienenden fettleibigen Tieren betrug $1,3 \pm 0,7$ und $5,3 \pm 2,2$ nmol/g Leber/min bei Verwendung von Palmitoyl-CoA bzw. Palmitoyl-L-carnitin als Substrat. Die CPT-I-Aktivität in den Vergleichsratten betrug $22 \pm 4,9$ nmol/g Leber/min, und die CPT-II-Aktivität in den als Vergleich dienenden Ratten betrug 270 ± 115 nmol/g Leber/min. Die Werte werden als Mittelwert \pm SA ausgedrückt.

[0117] Durch die Verabreichung von TTA werden die Plasmakonzentrationen an Ketonkörpern erhöht, was zu einer deutlichen Verkleinerung des FFA/Ketonkörper-Quotienten (Tabelle 7) führt. Diese Daten weisen darauf hin, dass die Behandlung von 4 Monate alten fettleibigen Zucker-Ratten (fa/fa-Typ) mit TTA die hepatische mitochondriale β -Oxidation und Ketogenese verstärkt. So nahm durch die Behandlung von fettleibigen Zucker-Ratten (fa/fa-Typ) mit TTA die Fettsäureoxidation in der Leber, gemessen mit Palmitoyl-CoA und Palmitoyl-L-carnitin als Substraten (**Fig. 8A**), um mehr als das 7fache zu. Diese Anregung der β -Oxidation wurde von einer Zunahme der Aktivität und der mRNA-Konzentration sowohl von CPT-I (**Fig. 8B**) als auch von CPT-II (**Fig. 8C**) begleitet. Zusätzlich wurden die Aktivitäten der die Geschwindigkeit begrenzenden Enzymen bei der Ketogenese erhöht (Tabelle 7).

TABELLE 7.

Einfluß von TTA auf die Plasmakonzentration an freien Fettsäuren (FFA) und Ketonkörpern (4-Hydroxybutyrat) in alten fettleibigen Zucker-Ratten				
	FFA (mÄq/L)	4-OH-Butyrat (mmol/L)	FFA/Keton-Verhältnis	HMG-CoA-Synthaseaktivität (nmol/min/mg Protein)
Vergleich	$0,76 \pm 0,13$	$1,97 \pm 0,33$	$0,40 \pm 0,10$	13 ± 4
TTA	$0,53 \pm 0,21$	$3,44 \pm 1,37$	$0,17 \pm 0,09$	27 ± 6

[0118] Die Werte stellen Mittelwerte \pm SA von sechs Tieren sowohl in der Vergleichsgruppe als auch in der experimentellen Gruppe dar. Freie Fettsäuren (FFA) und Ketonkörper (4-Hydroxybutyrat) wurden im Plasma gemessen, und 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-(HMG)-CoA-Synthase-Aktivitäten wurden in mitochondrialen Fraktionen gemessen, die aus der Leber von 21 Wochen alten männlichen fettleibigen Zucker-Ratten (fa/fa-Typ) gewonnen wurden, die entweder eine Standarddiät (Vergleich) oder eine Standarddiät, die mit 0,15% TTA angereichert war, über einen Zeitraum von 15 Tagen erhielten.

Beispiel 17

Die Wirkung von TTA auf die hepatischen Triacylglycerinspiegel

[0119] Die deutlich erhöhte mitochondriale Fettsäureoxidation, die durch TTA hervorgerufen wird, senkt die Verfügbarkeit von Fettsäuren für die Veresterung. Die Synthese von Triacylglycerin und Cholesterin ist somit reduziert, und die Sekretion von VLDL aus der Leber ist vermindert. Dies spiegelt sich in einem verminderten Triacylglycerinspiegel in der Leber, weniger Triacylglycerin im Plasma und weniger Fettgewebemasse wieder. Die Grundlipolyse und die Gesamtlipolyse sind nicht verändert (Werte nicht gezeigt), und der Quotient aus freien Fettsäuren und Ketonkörpern im Plasma ist kleiner (Werte nicht gezeigt). Dies weist auf einen erhöhten Strom der Fettsäuren aus den peripheren Geweben in die Leber für die Oxidation hin.

[0120] Selbst ein erhöhter hepatischer Triacylglycerinspiegel kann durch TTA gesenkt werden. Das Füttern von Ratten mit einem Hemmstoff der Fettsäureoxidation erhöht die Konzentration an hepatischem Triacylglycerin, was zu einer Fettleber führt. Tetradecyl-4-thiopropionsäure (TTP) ist ein Fettsäureanalogon mit einem Schwefelatom in 4-Stellung. Dieses Analogon hemmt die β -Oxidation von Fettsäuren durch die Bildung eines mitochondrialen Hemmstoffs. Die Fütterung der Ratten mit diesem Analogon führt zur Bildung von Fett. Wenn die Ratte jedoch mit einer Kombination aus TTA und TTP gefüttert wird, wird die Entstehung der Fettleber verhindert (Tabelle 8). Dies ist ein Beweis dafür, dass TTA für die Behandlung von Zuständen mit einem erhöhten hepatischen Triacylglycerinspiegel verwendet werden kann.

[0121] Männliche Wistar-Ratten hatten freien Zugang zu Wasser und die Ratten am Leben erhaltendem Futter. Sie wurden 6 Tage mit Palmitinsäure oder Fettsäureanaloga gefüttert, die in 0,5% CMC suspendiert waren. Bei einigen Experimenten wurde TTA oder TTP über einen Zeitraum von 3 Tagen gegeben, bevor beide Stoffe über einen Zeitraum von 6 Tagen zugegeben wurden. Am Ende des Experiments wurden die Ratten über Nacht ohne Nahrung gehalten, dann getötet, wonach die Leber entnommen und homogenisiert wurde. Dann wurde das in dem Homogenisat enthaltene Triacylglycerin gemessen.

Tabelle 8

Hepatischer Triacylglycerinspiegel von Ratten, die 6 Tage mit Palmitinsäure und Fettsäureanaloga behandelt wurden (TTA: 150 mg/kg/Tag; TTP: 300 mg/kg/Tag)					
3 Tage Vorfütterung				TTA	TTP
6 Tage	Palm.	TTA	TTP	TTA + TTP	TTP + TTA
TG ($\mu\text{mol/g}$)	$10,9 \pm 3,3$	$7,7 \pm 2,9$	$95,4 \pm 14,7$	$15,1 \pm 1,7$	$33,1 \pm 7,6$

Beispiel 18

[0122] Fettsäureanaloge wurden synthetisiert, in denen das Schwefelatom in Positionen verschoben ist, die weiter von der Carboxygruppe der Fettsäure entfernt sind. Wenn das Schwefelatom in Positionen in der Kohlenstoffkette mit einer ungeraden Zahl (5, 7, 9 etc.) eingebaut wird, werden diese Analoga partiell β -oxidiert. Durch die β -Oxidation werden gleichzeitig zwei Kohlenstoffatome am Carboxyende der Fettsäure entfernt, und derartige Analoga können daher β -oxidiert werden, bis sich das Schwefelatom in Position 3 befindet. Es ist daher vorstellbar, dass derartige Analoga ähnliche biologische Wirkungen wie TTA haben können.

[0123] Experimente haben gezeigt, dass Fettsäureanaloge, denen gemeinsam ist, dass sie ein Schwefelatom in einer ungeraden Position in der Kohlenstoffkette aufweisen, alle die mitochondriale β -Oxidation verstärken (Tabelle).

[0124] Die mitochondriale β -Oxidation wird wie in Beispiel 16 unter Verwendung von [$1\text{-}^{14}\text{C}$]-Palmitoyl-L-carnitin als Substrat gemessen.

Tabelle 9

Wirkung verschiedener Fettsäureanaloge auf die mitochondriale β -Oxidation in der Rattenleber				
Position des S-Atoms	3	5	7	Vergleich: Palmitinsäure
Aktivität (nmol/min/mg Protein)	$0,81 \pm 0,16$	$0,61 \pm 0,06$	$0,58 \pm 0,09$	$0,47 \pm 0,06$

Beispiel 19

[0125] Männliche fettleibige Zucker-Ratten (fa/fa-Typ), die zu Beginn des Experiments 100 g wogen, wurden paarweise in Drahtkäfigen in einem Raum gehalten, in dem ein Hell-Dunkel-Wechsel in einem 12-Stunden-Rhythmus durchgeführt wurde und der auf konstant $20 \pm 3^\circ\text{C}$ temperiert war. Die Tiere wurden mindestens eine Woche an diese Bedingungen gewöhnt, bevor das Experiment begonnen wurde.

[0126] TTA und Palmitinsäure (Vergleich) wurden in 0,5% (G/V) Carboxymethylcellulose (CMC) suspendiert und in einer Dosis von 300 mg/Tag/kg Körpergewicht durch Intubieren des Magens (Sondenernährung) einmal täglich über insgesamt 10 Tage verabreicht. Die Ratten erhielten in den letzten 2 Stunden vor der Beendigung des Experiments keine Nahrung mehr. Blut und Organe wurden gesammelt. Die Gesamtlipide wurden aus der Leber und dem Plasma extrahiert. Die Lipide wurden verdampft, verseift und verestert, bevor sie unter Verwendung eines Carlo-Erba-2900-Gaschromatographen getrennt wurden.

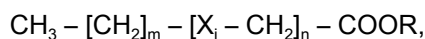
Tabelle 10

Wirkung der Verbindung I (Tetradecylthioessigsäure) auf die Fettsäurezusammensetzung in fettleibigen Zucker-Ratten (fa/fa-Typ)		
Zusammensetzung der in der Leber enthaltenen Fettsäuren (% der Gesamtmenge)		
	Ölsäure	Einfach ungesättigte Tetradecylthioessigsäure
Vergleich	$9,9 \pm 1,4$	0,0
Verbindung I	$14,9 \pm 1,0$	$1,1 \pm 0,2$
Zusammensetzung der im Plasma enthaltenen Fettsäuren (% der Gesamtmenge)		
	Ölsäure	Einfach ungesättigte Tetradecylthioessigsäure
Vergleich	$18,3 \pm 0,9$	0,0
Verbindung I	$22,1 \pm 0,5$	$0,2 \pm 0,1$

[0127] Tabelle 10 zeigt, dass durch die orale Verabreichung von TTA die Ölsäure-Konzentration sowohl in der Leber als auch im Plasma steigt. Auch ein Delta-9-ungesättigtes Produkt von TTA wurde sowohl im Plasma als auch in der Leber angereichert.

Patentansprüche

1. Verwendung der Fettsäureanaloge der allgemeinen Formel (I)



in der bedeuten:

- n eine ganze Zahl von 1 bis 12,
 - m eine ganze Zahl von 0 bis 23,
 - i eine ungerade Zahl, die die Position relativ zu COOR angibt,
 - X_i unabhängig voneinander Reste, die unter O, S, SO, SO₂, Se und CH₂ ausgewählt werden,
 - R Wasserstoff oder C₁₋₄-Alkyl,
- mit der Maßgabe, dass mindestens einer der Reste X_i nicht CH₂ bedeutet, oder eines Salzes, einer Vorstufe (Prodrug), eines Komplexes davon zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung für die Behandlung und/oder die Verhinderung von Diabetes in einem Tier.

2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei es sich bei dem Diabetes um den Typ-I-Diabetes handelt.

3. Verwendung nach Anspruch 1, wobei es sich bei dem Diabetes um den Typ-II-Diabetes handelt.

4. Verwendung nach Anspruch 1, wobei der Diabetes ein Diabetes-Typ ist, der ausgewählt wird unter sekundären Diabetes-Typen, wie dem durch Pankreaserkrankungen, dem durch extrapankreatische/endokrine Erkrankungen und dem durch Arzneimittel hervorgerufenen Diabetes, und Sonderformen des Diabetes, wie lipoatrophischem Diabetes, myatonischem Diabetes und dem Diabetes, der durch eine Schädigung der Insulinrezeptoren verursacht wird.

5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei $m \geq 13$ ist.

6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei $X_{i=3}$ unter O, S, SO, SO₂ und Se ausgewählt wird und wobei $X_{i=5-25}$ CH₂ bedeutet.

7. Verwendung nach Anspruch 6, wobei es sich bei $X_{i=3}$ um Schwefel handelt.

8. Verwendung nach Anspruch 6, wobei es sich bei $X_{i=3}$ um Selen handelt.

9. Verwendung nach Anspruch 1, wobei es sich bei dem Tier um einen Menschen handelt.

10. Verwendung nach Anspruch 1, wobei es sich bei dem Tier um ein landwirtschaftliches Nutztier handelt, wie einen hühnerartigen Vogel, ein rinderartiges, schafartiges, ziegenartiges oder schweineartiges Säugetier.

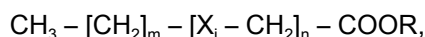
11. Verwendung nach Anspruch 1, wobei es sich bei dem Tier um ein Haustier oder Heimtier, wie einen Hund oder eine Katze, handelt.

12. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, wobei die Fettsäureanaloga in einer Weise formuliert werden, dass ihre therapeutisch wirksame Konzentration im Blut des Tieres während der Zeitspanne ihrer Verabreichung im wesentlichen kontinuierlich gehalten werden kann.

13. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 12, wobei die Zusammensetzung der Fettsäureanalogon-Zusammensetzung in Form von Dosiereinheiten vorliegt.

14. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 12, wobei die Fettsäureanaloga oral oder parenteral verabreicht werden.

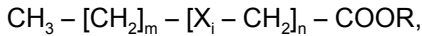
15. Verwendung der Fettsäureanaloga der allgemeinen Formel (I)



in der bedeuten:

- n eine ganze Zahl von 1 bis 12,
 - m eine ganze Zahl von 0 bis 23,
 - i eine ungerade Zahl, die die Position relativ zu COOR angibt,
 - X_i unabhängig voneinander Reste, die unter O, S, SO, SO₂, Se und CH₂ ausgewählt werden,
 - R Wasserstoff oder C₁₋₄-Alkyl,
- mit der Maßgabe, dass mindestens einer der Reste X_i nicht CH₂ bedeutet, oder eines Salzes, einer Vorstufe (Prodrug), eines Komplexes davon zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung für die Behandlung und/oder die Verhinderung der Hyperglykämie in einem Tier.

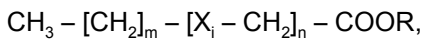
16. Verwendung der Fettsäureanaloge der allgemeinen Formel (1)



in der bedeuten:

- n eine ganze Zahl von 1 bis 12,
 - m eine ganze Zahl von 0 bis 23,
 - i eine ungerade Zahl, die die Position relativ zu COOR angibt,
 - X_i unabhängig voneinander Reste, die unter O, S, SO, SO_2 , Se und CH_2 ausgewählt werden,
 - R Wasserstoff oder C_{1-4} -Alkyl,
- mit der Maßgabe, dass mindestens einer der Reste X_i nicht CH_2 bedeutet, oder eines Salzes, einer Vorstufe (Prodrug), eines Komplexes davon zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung für die Behandlung und/oder die Verhinderung der Hyperinsulinämie in einem Tier.

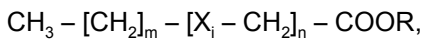
17. Verwendung der Fettsäureanaloge der allgemeinen Formel (I)



in der bedeuten:

- n eine ganze Zahl von 1 bis 12,
 - m eine ganze Zahl von 0 bis 23,
 - i eine ungerade Zahl, die die Position relativ zu COOR angibt,
 - X_i unabhängig voneinander Reste, die unter O, S, SO, SO_2 , Se und CH_2 ausgewählt werden,
 - R Wasserstoff oder C_{1-4} -Alkyl,
- mit der Maßgabe, dass mindestens einer der Reste X_i nicht CH_2 bedeutet, oder eines Salzes, einer Vorstufe (Prodrug), eines Komplexes davon zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung für die Behandlung und/oder die Verhinderung einer verringerten Empfindlichkeit für Insulin in einem Tier.

18. Pharmazeutische Zusammensetzung für die Verhinderung und/oder die Behandlung eines diabetischen Zustands in Tieren, wobei die pharmazeutische Zusammensetzung Fettsäureanaloge der allgemeinen Formel (I)



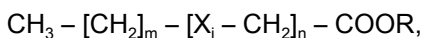
in der bedeuten:

- n eine ganze Zahl von 1 bis 12,
 - m eine ganze Zahl von 0 bis 23,
 - i eine ungerade Zahl, die die Position relativ zu COOR angibt,
 - X_i unabhängig voneinander Reste, die unter O, S, SO, SO_2 , Se und CH_2 ausgewählt sind,
 - R Wasserstoff oder C_{1-4} -Alkyl,
- mit der Maßgabe, dass mindestens einer der Reste X_i nicht CH_2 bedeutet, und mit der Voraussetzung, dass $\text{X}_{i=3}$ nicht O, S, SO, SO_2 , Se bedeutet, wenn die Formel nur 1 X_i enthält, das nicht $-\text{CH}_2-$ ist, oder ein Salz, eine Vorstufe (Prodrug) oder einen Komplex davon enthält.

19. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 18, wobei die pharmazeutische Zusammensetzung einen pharmazeutisch akzeptablen Träger oder ein pharmazeutisch akzeptables Exciplens im Gemisch mit den Fettsäureanaloge enthält.

20. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 18, wobei $m \geq 13$ ist.

21. Nahrungsmittelzusammensetzung, die Fettsäureanaloge der allgemeinen Formel (I)

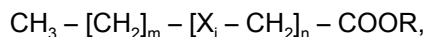


in der bedeuten:

- n eine ganze Zahl von 1 bis 12,
- m eine ganze Zahl von 0 bis 23,
- i eine ungerade Zahl, die die Position relativ zu COOR angibt,

– X_i unabhängig voneinander Reste, die unter O, S, SO, SO₂, Se und CH₂ ausgewählt werden,
 – R Wasserstoff oder C₁₋₄-Alkyl,
 mit der Maßgabe, dass mindestens einer der Reste X_i nicht CH₂ bedeutet,
 mit der Voraussetzung, dass $X_{i=3}$ nicht O, S, SO, SO₂, Se bedeutet, wenn die Formel nur 1 X_i enthält, das nicht -CH₂- ist,
 oder ein Salz, eine Vorstufe (Prodrug), einen Komplexes davon in einer Menge enthält, die wirksam für die Senkung oder die Verhinderung einer Zunahme der Konzentration von Glucose im Blut eines Menschen oder eines Tieres ist.

22. Verwendung der Fettsäureanaloge der allgemeinen Formel (I)



in der bedeuten:

– n eine ganze Zahl von 1 bis 12,
 – m eine ganze Zahl von 0 bis 23,
 – i eine ungerade Zahl, die die Position relativ zu COOR angibt,
 – X_i unabhängig voneinander Reste, die unter O, S, SO, SO₂, Se und CH₂ ausgewählt werden,
 – R Wasserstoff oder C₁₋₄-Alkyl,
 mit der Maßgabe, dass mindestens einer der Reste X_i nicht CH₂ bedeutet, und
 oder eines Salzes, einer Vorstufe (Prodrug), eines Komplexes davon zur Herstellung einer Zusammensetzung für die Senkung der Konzentration von Glucose im Blut eines Menschen oder eines Tieres.

23. Verwendung nach Anspruch 22, wobei $m \geq 13$ ist.

24. Verwendung nach Anspruch 22, wobei $X_{i=3}$ unter O, S, SO, SO₂ und Se ausgewählt ist und wobei $X_{i=5-25}$ CH₂ bedeutet.

25. Verwendung nach Anspruch 24, wobei es sich bei $X_{i=3}$ um Schwefel handelt.

26. Verwendung nach Anspruch 24, wobei es sich bei $X_{i=3}$ um Selen handelt.

27. Verwendung nach Anspruch 22, wobei es sich bei dem Tier um einen Menschen handelt.

Es folgen 8 Blatt Zeichnungen

Fig. 1

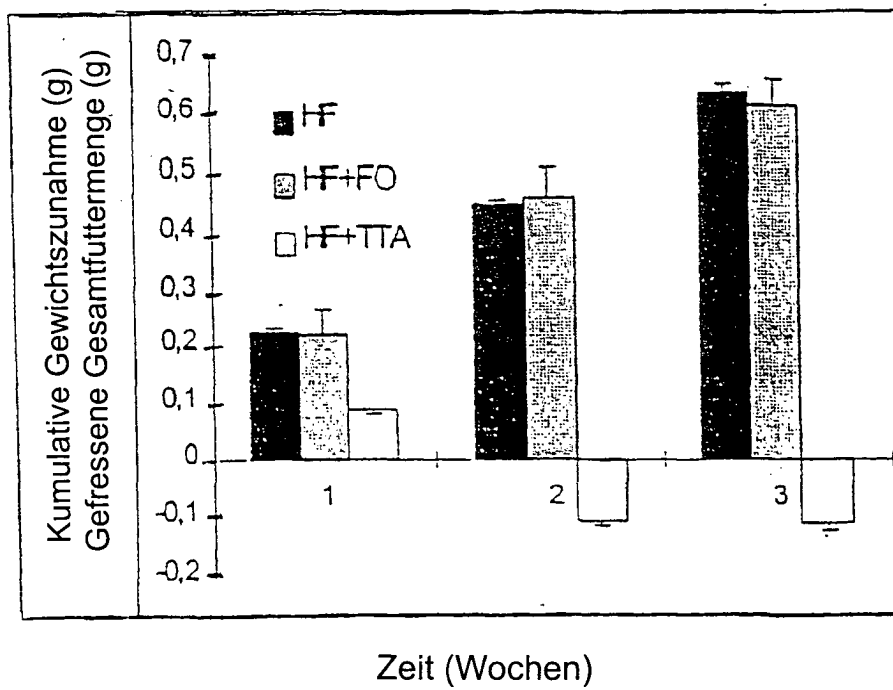


Fig. 2

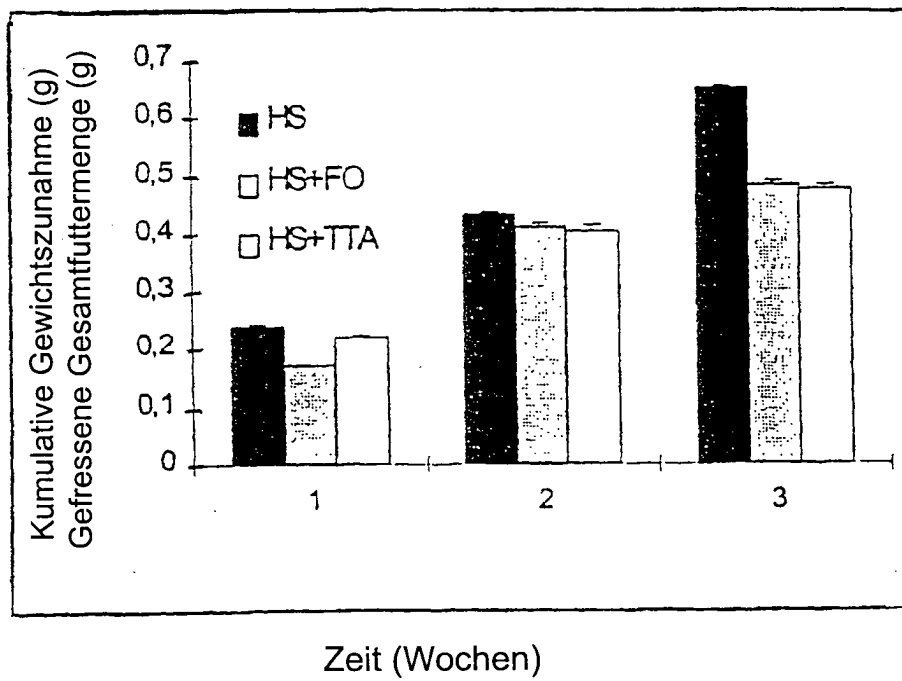


Fig. 3

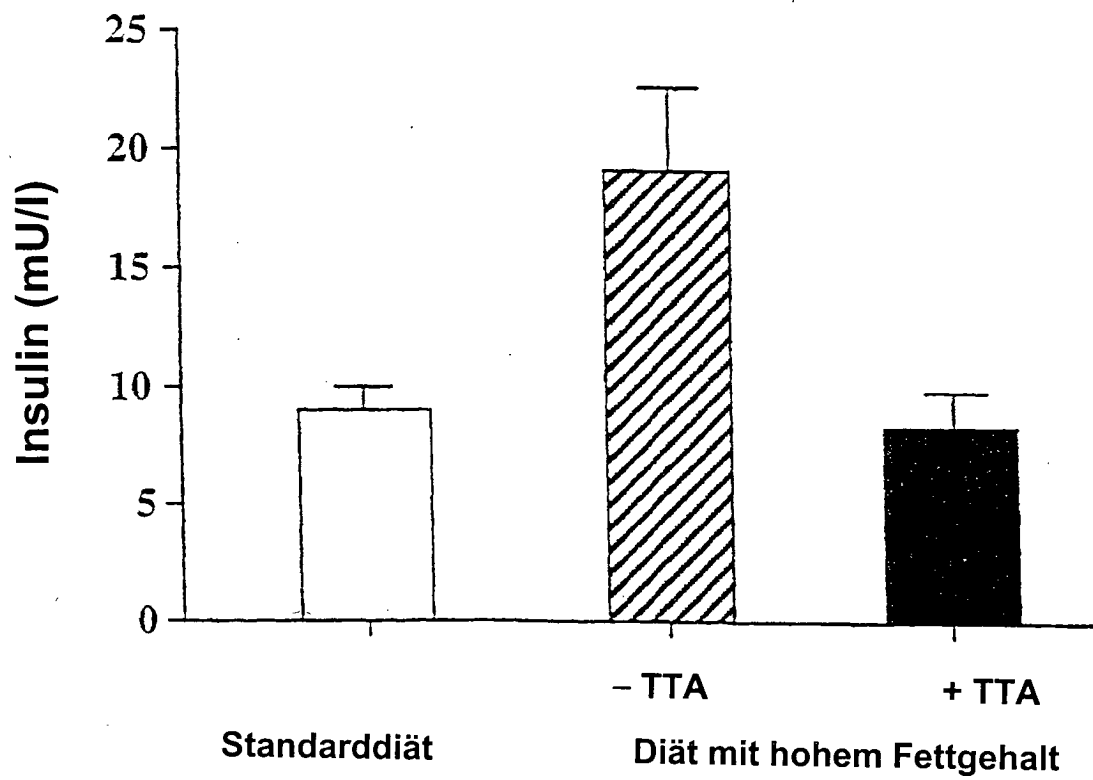


Fig. 4

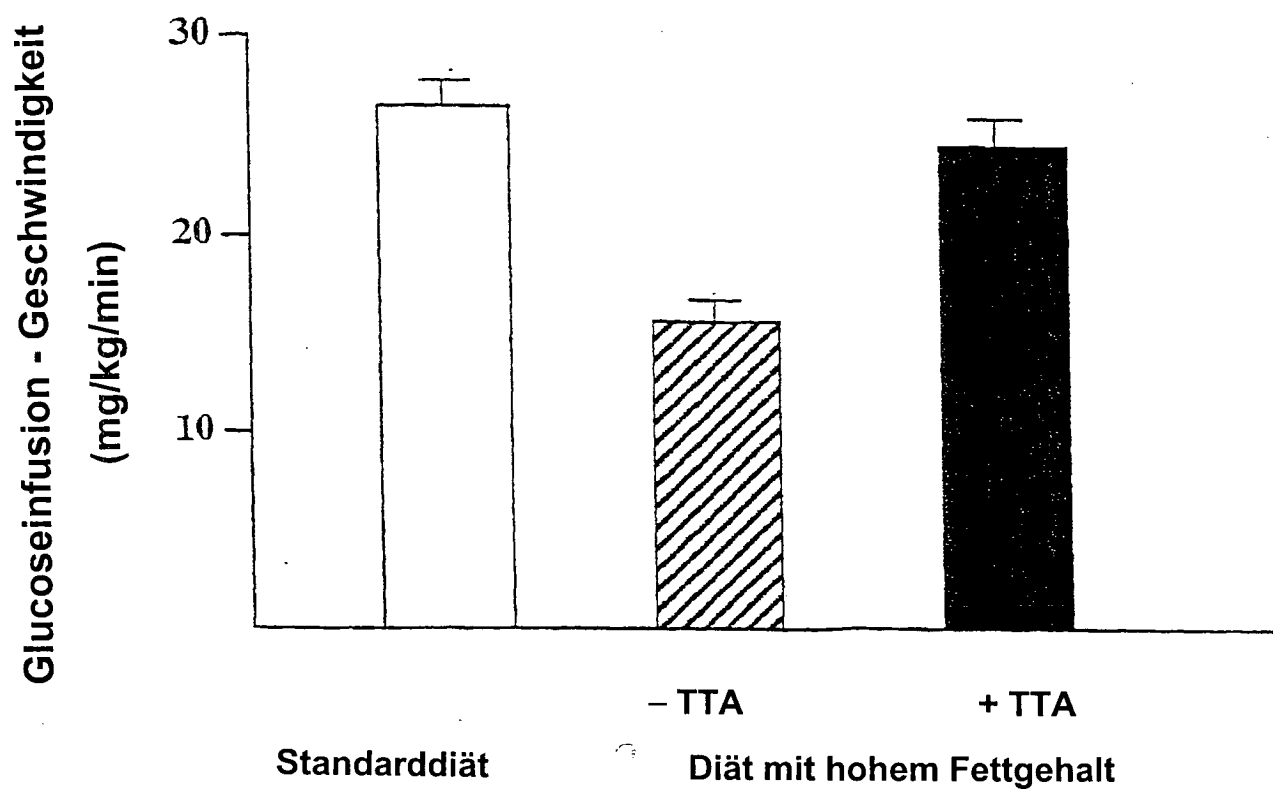


Fig. 5

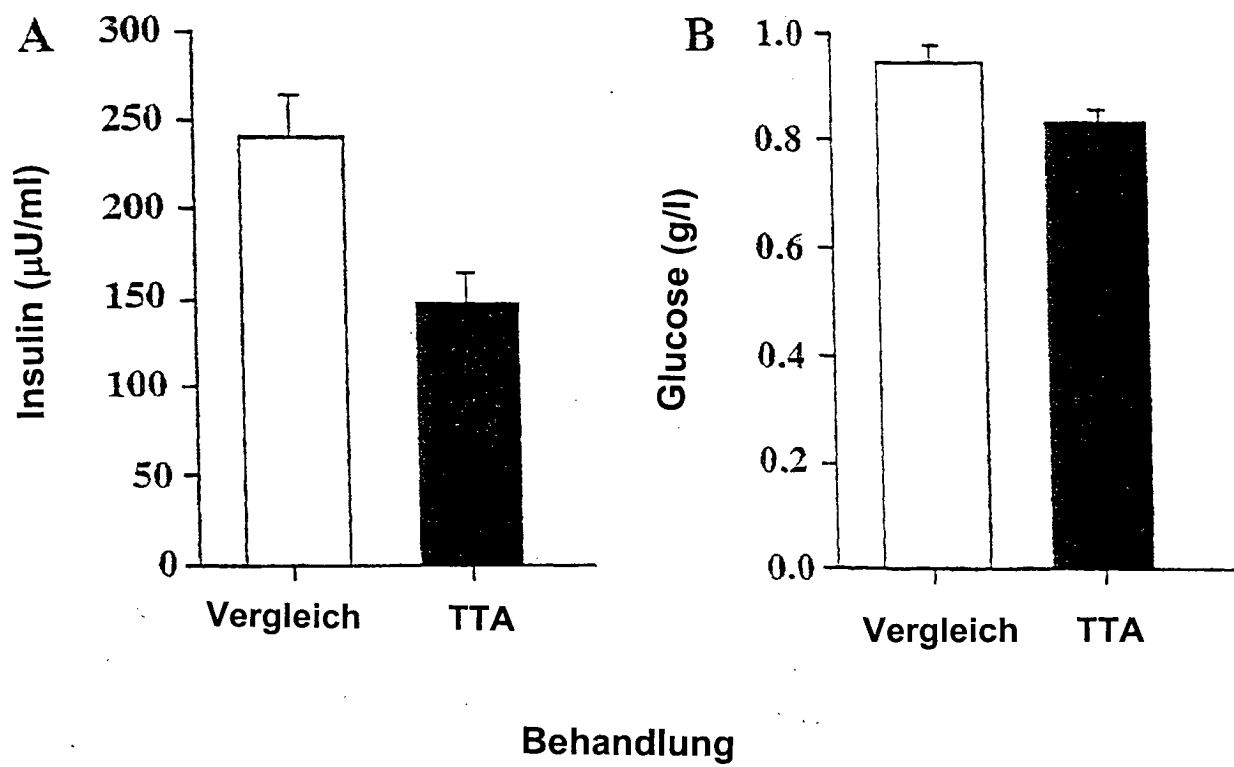
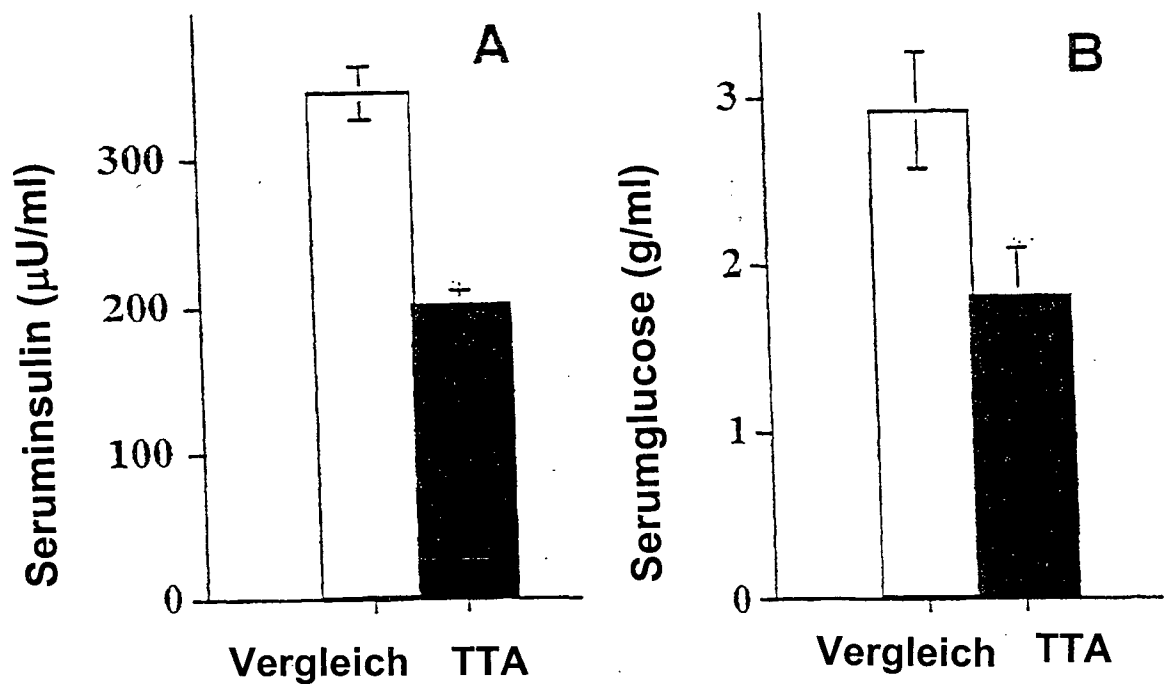
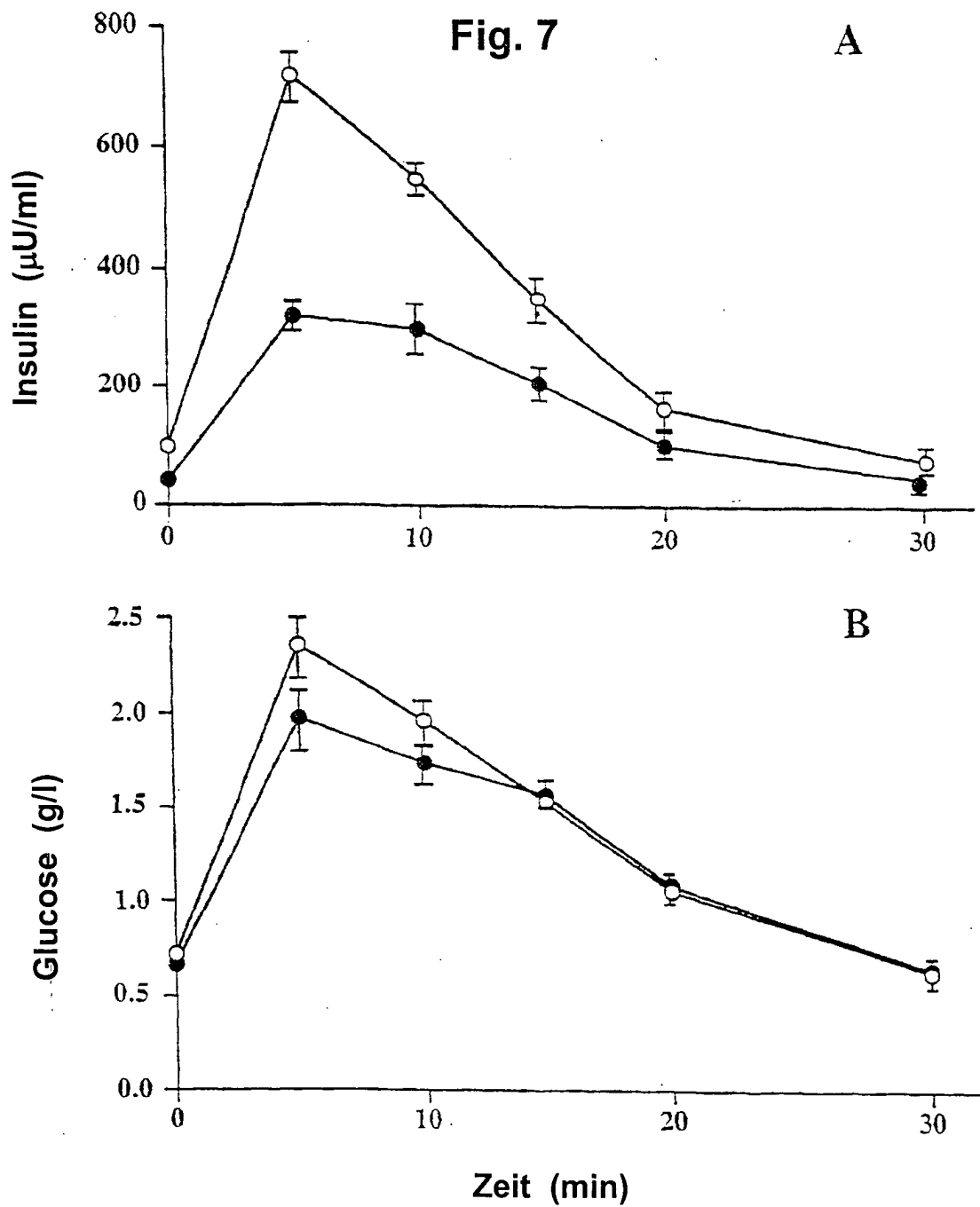


Fig. 6





Insulin	Vergleich	TTA
AUC:	7309 ± 1796	3575 ± 856
Glucose	Vergleich	TTA
AUC:	21.2 ± 2.4	19.5 ± 4.3

