



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0920351-6 B1



(22) Data do Depósito: 16/10/2009

(45) Data de Concessão: 29/09/2020

(54) Título: COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA PREVENÇÃO E TRATAMENTO DE DIABETES OU OBESIDADE

(51) Int.Cl.: A61K 31/4965.

(30) Prioridade Unionista: 17/10/2008 KR 10-2008-0101932.

(73) Titular(es): DONG-A ST CO., LTD..

(72) Inventor(es): CHANG YELL SHIN; SONG-HYEN CHOI; YU NA CHAE; GOOK JUN AHN; MOON-HO SON; EUN KYOUNG YANG; WOO YOUNG KWAK; JONG PIL MIN; TAE HYUN YOON; HEUNG JAE KIM; SOON HOE KIM; MOOHI YOO.

(86) Pedido PCT: PCT KR2009005970 de 16/10/2009

(87) Publicação PCT: WO 2010/044637 de 22/04/2010

(85) Data do Início da Fase Nacional: 18/04/2011

(57) Resumo: COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA PREVENÇÃO E TRATAMENTO DE DIABETES OU OBESIDADE COMPREENDENDO UM COMPOSTO QUE INIBE A ATIVIDADE DE DIPEPTIDIL PEPTIDASE-IV, E OUTROS AGENTES ANTIDIABÉTICOS OU ANTI-OBESIDADE COMO INGREDIENTES ATIVOS. A presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica para a prevenção e tratamento de diabetes ou obesidade compreendendo como ingredientes ativos um composto que inibe a atividade de dipeptidil peptidase-IV(DPP-IV), um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo, um hidrato do mesmo, ou um solvato do mesmo, e um ou mais outros agentes antidiabéticos ou antiobesidade. A composição farmacêutica exibe excelente tolerância à glicose e pode ser útil na prevenção e tratamento de diabetes, obesidade, e similares por eficazmente inibir os níveis de glicose sanguínea e reduzir a massa de gordura.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**COM-
POSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA PREVENÇÃO E TRATAMENTO
DE DIABETES OU OBESIDADE**".

CAMPO TÉCNICO

[001] A presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica para a prevenção e tratamento de diabetes ou obesidade compreendendo como ingredientes ativos um composto que inibe a atividade de dipeptidil peptidase-IV (DPP-IV), um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo, um hidrato do mesmo, ou um solvato do mesmo, e um ou mais outros agentes antidiabéticos ou antiobesidade.

TÉCNICA ANTECEDENTE

[002] Dipeptidil peptidase-IV (Posteriormente, referida como DPP-IV) é uma enzima que é geralmente identificada como EC 3.4.14.5 por classificação de enzima, funcionalmente pertence à serina protease (Barrett A. J. et al, Arch. Biochem. Biophys., 1995, 247-250), e cliva o dipeptídeo de terminal N de peptídeos que começam com a sequência H-Xaa-Pro-Y (ou H-Xaa-Ala-Y em que Xaa representa qualquer aminoácido lipofílico, Pro representa prolina, e Ala representa alanina) (Heins J., et al., Biochim. et Biophys. Acta 1988, 161), e é também conhecida como DP-IV, DP-4, ou DAP-IV. A enzima é amplamente distribuída e encontrada em uma variedade de tecidos mamíferos tais como rim, fígado e intestino delgado (Hegen M. et al., J. Immunol., 1990, 2908-2914). DPP-IV foi primeiro identificada como uma proteína ligada à membrana. Mais recentemente, uma forma solúvel da mesma foi identificada (Duke-Cohan J. S. et al., J. Biol. Chem., 1995, 14107-14114). De acordo com os estudos e relatórios que foram recentemente publicados, foi revelado que uma tal forma solúvel de DPP-IV tem a mesma estrutura e função como uma forma ligada à membrana da enzima e é encontrada sem um certo domínio ligado à membrana no sangue (Christine D. et. al, Eur. J. Biochem.,

2000, 5608-5613).

[003] Interesse inicial em DPP-IV tem focalizado sobre seu papel na ativação de linfócitos T. DPP-IV responsável pela ativação de linfócitos T foi especificamente designada como CD26. Com o relatório mostrando que CD26 liga-se a ou interage com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) (Guteil W. G. et al, Proc. Natl. Acad. Sci., 1994, 6594-6598), foi proposto que inibidores de DPP-IV podem ser úteis no tratamento de AIDS (Doreen M. A. et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1996, 2745-2748).

[004] Além de um papel crucial participando no sistema imune, a função principal de DPP-IV origina-se de sua atividade peptidolítica como descrito acima. Atenção foi particularmente dada ao papel de DPP-IV quando é descoberto que a DPP-IV é uma enzima chave implicada na degradação de proteína 1 semelhante a glucagon (posteriormente, referida como "GLP-1") no intestino delgado (Mentlein R. et al., Eur. J. Biochem., 1993, 829-835). GLP-1 é um hormônio de peptídeo de 30 aminoácidos que é secretado por células L intestinais como uma resposta à ingestão de alimento do intestino delgado (Goke R. et al, J. Biol. Chem., 1993, 19650-19655). Uma vez que este hormônio é conhecido ter efeitos potencializadores sobre a ação de insulina no controle de níveis de glicose sanguínea pós-prandiais (Hoist J. J. et al., Diabetes Care, 1996, 580-586), foi postulado que inibidores de DPP-IV podem também ser vantajosamente empregados no tratamento de diabetes tipo 2. Com base nesta suposição, uma forma precoce do inibidor de DPP-IV foi desenvolvida com alguns relatórios demonstrando a eficácia terapêutica de um medicamento em experimentos animais (Pauly R. P. et al., Metabolism, 1999, 385-389). Além disso, camundongos ou ratos deficientes de DPP-IV mantiveram a atividade de GLP-1 e níveis de insulina elevados, resultando em níveis de glicose sanguínea diminuídos e uma tal mutação ou interrupção genética do gene

de DPP-IV não exibiu nenhum efeito significativo sobre a sobrevivência de animais individuais (Marguet D. et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 2000, 6874-6879). Como uma consequência, foi proposto que DPP-IV é exequível como um agente terapêutico potente para o tratamento de diabetes tipo 2, o que resultou em pesquisa acelerada e desenvolvimento do inibidor de DPP-IV.

[005] Ligação de GLP-1 com um receptor em uma variedade de tecidos resulta em saciedade (sensação de plenitude), esvaziamento gástrico retardado, e desenvolvimento facilitado de células beta pancreáticas. Portanto, experiências clínicas para o tratamento da diabetes tipo 2 como descrito acima estão gradualmente crescendo através da administração intravenosa de GLP-1 por si só (Verdich C. et al, J. Clin. Endocrinol. Metab., 2001, 4382-4389). Uma meia-vida *in vivo* de GLP-1 é meramente 2 min (Kieffer T. J., et al., Endocrinology, 1995, 3585-3596), desse modo uma tal meia-vida curta é um obstáculo principal ao uso direto de GLP-1 como um agente terapêutico. Desde então, numerosos grupos e instituições de pesquisa têm feito muitas experiências com respeito à derivatização de GLP-1, resultando em desenvolvimento e comercialização de um peptídeo que é capaz de prolongar a meia-vida *in vivo* curta (Deacon C. F., Diabetes, 2004, 2181-2189). Entretanto, um tal derivado de GLP-1 ainda sofre de uma limitação fundamental pelo fato de que ele é uma formulação injetável. Além disso, muito interesse foi cada vez mais focalizado no desenvolvimento de um inibidor de DPP-IV eficiente, devido ao fato de que o GLP-1 ativo (7-36) é degradado por DPP-IV e em seguida convertido em GLP-1 inativo (9-36) somente dentro de um curto período de tempo, por exemplo, 2 minutos.

[006] O início no desenvolvimento de inibidores de DPP-IV foi similar à tendência de desenvolvimento de outros inibidores. Isto é, a maioria dos resultados de pesquisa foi para os análogos de substrato.

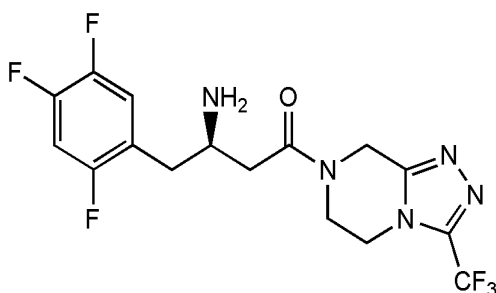
O representativo destes análogos de substrato é um dipeptídeo derivado que foi obtido como o produto da pesquisa anterior que foi realizada sobre o núcleo origem tendo uma estrutura similar àquele da Prolina (Pro), com base no fato de que DPP-IV exibe afinidade pronunciada para um peptídeo contendo um certo aminoácido Prolina (Chinnaswamy T. et al, J. Biol. Chem., 1990, 1476-1483). Exemplos típicos de estruturas similares à prolina incluem pirrolidida e tiazolidida, e derivados contendo estes compostos de origem de núcleo exibem atividade inibitória competitiva reversível para a enzima DPP-IV (Augustyns K J L., et al, Eur. J. Med. Chem., 1997, 301-309). Entre os produtos de tal pesquisa extensiva e desenvolvimento, existem experimentos de continuação sobre o mecanismo de ação e eficácia de certos compostos, especificamente Val-Pyr (Valina-Pirrolidida), Ile-Thia (Isoleucina-Tiazolidida), e similares. Particularmente, muita atenção tem sido focada na Ile-Thia, por que a estrutura de Val-Pyr exibiu atividade inibitória relativamente pobre sobre DPP-IV (Hanne B. R., et al, Nat. Struct. Biol., 2003, 19-25), que como tal incitou pesquisa intensiva e estudo sobre derivados do composto de Ile-Thia.

[007] Além dos compostos derivados focados e obtidos pela pesquisa e estudo acima mencionados, um composto tendo atividade mais proeminente foi a série de tiazolidida de beta-aminoácido que Merck & Co. Inc. tentou desenvolver, entretanto, de acordo com os resultados de experimentos farmacodinâmicos e farmacocinéticos realizados em ratos, o composto obtido exibiu biodisponibilidade significativamente baixa em conjunto com uma limitação evidente na inibição de atividade enzimática (Jinyou Xu, et al, Bioorg. Med. Chem. Lett., 2004, 4759-4762). Como uma consequência, outro desenvolvimento sobre compostos desta série foi descontinuado devido a profundas desvantagens.

[008] Durante a investigação acima mencionada, Merck noticiou

que um beta-aminoácido, em adição a um núcleo origem de tiazolidida, é também um fator essencial tendo efeitos significantes sobre o inibidor de atividade de DPP-IVy. Esta descoberta foi aplicado ao método para substituição do núcleo origem de tiazolidida com um diferente composto de núcleo origem (Linda L. B., et al, Bioorg. Med. Chem. Lett., 2004, 4763-4766). Com tal pesquisa subsequente, uma variedade de derivados tendo substituição do núcleo origem de tiazolidida com um núcleo origem de piperazina foi sintetizada com teste de eficácia de fármaco e estudos farmacodinâmicos. Infelizmente, os derivados de piperazina de Merck ainda sofreram de biodisponibilidade significativamente pobre. De acordo com a otimização do composto para enfrentar tal desvantagem, sitagliptina, o produto MK-0431 (nome comercial: JANUVIA), foi desenvolvido com modificação de uma porção de piperazina para uma porção de triazolopiperazina. Este produto é atualmente comercialmente disponível sob nova aprovação de fármaco pelo US FDA em 2006.

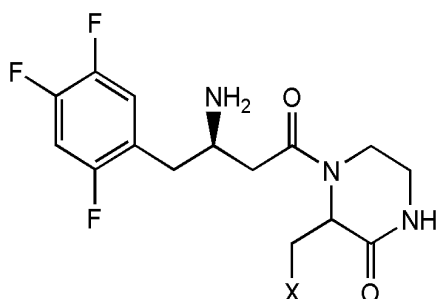
[Sitagliptina]



[009] Desse modo, os presentes inventores descobriram que quando uma substituição incluindo um heteroátomo é feita sobre uma porção de piperazinona, o composto desse modo modificado não somente tem excelente atividade inibidora de DPP-IVy, porém também é capaz de obter biodisponibilidade significativamente melhorada, em comparação com inibidores convencionais de DPP-IV, então bem-sucedido em síntese de um novo composto heterocíclico contendo um grupo beta-amino, e completou uma invenção de um composto repre-

sentado pela seguinte fórmula 1. Com base nisto, seu pedido foi depositado como Pedido de Patente Coreano No. 2007-0038462.

Fórmula 1



[0010] (Na fórmula 1, X é OR¹, SR¹, ou NR¹R², em que R¹ e R² são independentemente uma C₁~C₅ alquila inferior, ou R¹ e R² de NR¹R² podem formar um anel de 5 membros a 7 membros contendo um elemento hetero de O.)

[0011] Além dos inibidores de DPP-IV que estão atualmente sob desenvolvimento ativo, agentes terapêuticos de diabetes ou obesidade que são clinicamente usados ou sob desenvolvimento incluem inibidores de α -glicosidase, Biguanidas, secretagogos de insulina, sensibilizadores de insulina, antagonistas de receptor canabinoide do tipo 1, e similares.

[0012] Inibidores de α -glicosidase exibem a ação de retardo da absorção de carboidrato do intestino delgado e incluem acarbose, voglibose, emiglitato, miglitol, e similares. Exemplos de biguanidas incluem metformina, fenformina, ou buformina. Secretagogos de insulina podem ser divididos em espécies de sulfonilureia e não-sulfonilureia. Exemplos de espécies de sulfonilureia incluem glibenclamida (gliburida), glipizida, gliclazida, glimepirida, tolazamida, tolbutamida, acetexamida, carbutamida, clorpropamida, glibornurida, gliquidona, glisentida, glisolamida, glisoxepida, gliclopiamida, glicilamida, glipentida, e similares. Exemplos de espécies de não-sulfonilureia incluem repaglinida, nateglinida, e similares.

[0013] Metformina, uma representativa Biguanida, é um agente

hipoglicêmico que regula altos níveis de glicose sanguínea sem estimular a secreção de insulina do pâncreas, e é vantajoso pelo fato de que o fármaco pode ser aplicado a pacientes diabéticos obesos por que a metformina não está associada com o ganho de peso e aplicada também a pacientes que não são suscetíveis a fármacos de sulfonilureia devido a seu diferente mecanismo de ação. Embora o mecanismo de ação de metform não seja claramente conhecido, o fármaco somente reduz níveis de glicose sanguínea de pacientes diabéticos, sem afetar os níveis de glicose sanguínea de indivíduos normais, e não tem qualquer ação de estimulação de células β no pâncreas para estimular a secreção de insulina em comparação com fármacos de sulfonilureia. É conhecido que a metformina aumenta a ação de insulina em células periféricas, tais como fígado e músculos e diminui a produção de glicose do fígado, e foi reportado em alguns estudos que a metformina age em músculos esqueléticos e aumenta o movimento de glicose através da membrana celular. Além disso, o fármaco é caracterizado por melhorar a dislipidemia para reduzir os níveis de colesterol LDL e triglicérido. Clinicamente, a metformina pode ser administrada em uma dose relativamente alta, até 200 mg por dia, e duas vezes ao dia, por exemplo, manhã e tarde. Quando a metformina é administrada em excesso de 2.000 mg, ela é administrada com refeição, três vezes ao dia, e a dose máxima por dia é de 2.500 mg.

[0014] Quando a metformina é aplicada a pacientes diabéticos com sobrepeso, ela é avaliada como um excelente agente terapêutico de diabetes. Entretanto, cuidado deve ser tomado por que seus efeitos colaterais adversos podem ser acompanhados por distúrbios do sistema gastrointestinal, tais como diarreia, náusea, vômito, e similares, distúrbios do sistema sanguíneo, tais como deficiência de vitamina B12 e similares, acidose láctica que é uma severa complicação metabólica que é rara, porém pode induzir a 50% de mortalidade por acúmulo in-

terno de metformina, e similares.

[0015] Sensibilizadores de insulina são fármacos relativamente recentemente desenvolvidos, têm uma estrutura de tiazolidina-diona (TZD), e agem sobre receptores ativados por proliferador de peroxisoma (PPARs). Exemplos de sensibilizadores de insulina incluem troglitazona, ciglitazona, rosiglitazona (AVNADIA), pioglitazona (ACTOS), englitazona, e similares. Além deles, vários estudos estão em andamento.

[0016] Antagonistas de receptor-1 de canabinoide são fármacos-alvos relativamente recentemente desenvolvidos, inibem a atividade excessiva de endocanabinoide para regular o equilíbrio de peso e energia corporal, bem como o metabolismo de glicose e lipídeo, e agem sobre o receptor-1 de canabinoide (receptor CB1) presente nos sistemas nervosos central e periférico.

[0017] Exemplos de antagonistas de receptor canabinoide do tipo 1 incluem Rimonabanto (ACOMPLIA), Otenabante, Ibinabante, Surinabante, e similares. Além deles, vários estudos estão em andamento.

[0018] Entretanto, por que a diabetes ou obesidade é uma doença crônica, e suas condições são complicadas, existem muitos casos em que os sintomas da doença estão em progresso, acompanhados por várias complicações. Portanto, é necessário escolher uma medicação mais apropriada para as condições do paciente individual. Quando medicações individuais são administradas sozinhas, existem casos em que efeitos suficientes podem ser obtidos de acordo com seus sintomas. Além disso, existem muitos casos em que é difícil na prática clínica escolher uma medicação devido a muitos problemas tais como aumento em dose ou ocorrência de efeitos colaterais adversos que resultam de administração prolongada. Desse modo, em vez de métodos para a administração de um único fármaco, vários métodos para administração de um ou mais fármacos com diferentes mecanismos

em combinação foram recentemente sugeridos.

[0019] Em particular, estudos sobre literaturas de administração combinada de inibidores de DPP-IV e agentes terapêuticos de diabetes convencionais mostram que uma composição farmacêutica preparada por mistura de 3 ~ 20% (peso/peso) of sitagliptina, 25 ~ 94% (peso/peso) de metformina, 0,1 ~ 10% (peso/peso) de um lubrificante, e 0 ~ 35% (peso/peso) de um aglutinante é descrita. No caso de vidagliptina que é um composto comercialmente disponível como um nome comercial de Galvus de Novartis, pílulas combinadas de vildagliptina e metformina em relações de 50 ~ 98%, 60 ~ 98%, 70 ~ 98%, ou 80 ~ 98% são descritas na Publicação Internacional Gazette WO 07/078726, e pílulas combinadas de vidagliptina e pioglitazona, um agonista de PPAR, por método de compressão direta são descritos na Publicação Internacional Gazette WO 06/135693. Entretanto, estas literaturas descrevem relações de composição farmacêuticamente ideais em uma preparação incluindo um inibidor de DPP-IV e metformina ou um agonista de PPAR, em vez de efeitos sinérgicos dos dois fármacos.

[0020] Além disso, é descrito em JPET (2004), 310.614-619 que um inibidor de DPP-IV valina-pirrolidina (val-pyr), quando administrado a um animal em combinação com metformina, aumentou os níveis de proteína similar ao glucagon, diminuiu a ingestão de alimento e ganho de peso, e sinérgicamente melhorou a tolerância à glicose.

[0021] É descrito em Life Science (2007), 81, 72-79 que a administração combinada de vildagliptina e rosiglitazona realizou significativa melhora em glicose de soro, triglicérido, e tolerância a glicoses, e efeitos colaterais adversos preexistentes, tais como edema de rosiglitazona e similares, foram aliviados por administração combinada de vildagliptina.

[0022] É identificado na Publicação Internacional Gazette WO

04/052362 que, como um resultado da tolerância à glicose, teste sobre vildagliptina e um fenofibrato micronizado agonista de PPAR, a área sob a curva (AUC) foi diminuída em 18% com administração única de vildagliptina e em 7% com administração única de fenofibrato, enquanto que a AUC foi diminuída em 33%, a sensibilidade à insulina foi melhorada, e o ganho de peso foi reduzido com uma administração combinada dos dois fármacos.

[0023] É mencionado em J. Pharmacol Sci. (2007), 104, 29-38 que níveis elevados pós-prandial de glicose sanguínea são eficazmente diminuídos com uma administração combinada de E3024 que é um inibidor de DPP-IV, voglibose que é um inibidor de α -glicosidase, e acarbose, e em JPET (2007), 320(2), 738-746 que quando E3024 é administrado em combinação com glibenclamida ou nateglinida, que é um tipo de secretagogo de insulina, os níveis de glicose elevados pós-prandiais são também eficazmente diminuídos.

[0024] É mencionado na Publicação de Patente Coreana Nº 2003-0019440 que, quando um composto descrito na Publicação Internacional Gazette WO 99/061431 é administrado em combinação com um agente terapêutico de diabetes convencional, a atividade de DPP-IV plasmático, a concentração de hemoglobina (HbA1C, %), e glicose plasmática são significativamente reduzidas.

[0025] É descrito na Publicação Internacional Gazette WO 07/074884 que, quando a alogliptina é administrada em combinação com voglibose, pioglitazona, e similares, os efeitos protetores do pâncreas são realçados.

[0026] É mencionado na Publicação Internacional Gazette WO 07/006769 que a vildagliptina e rimonabanto, que são antagonistas de receptor canabinoide do tipo 1, são administrados em combinação, os níveis de glicose sanguínea e lipídeo e peso são eficazmente melhorados, e descrito no WO 06/119260 que, quando sitagliptina e um an-

tagonista de receptor canabinoide do tipo 1 são administrados em combinação, tolerância à glicose e resistência à insulina são melhorados.

[0027] Desse modo, os presentes inventores desenvolveram um composto de fórmula 1, que é um novo inibidor de DPP-IV, descobriram que quando o composto é administrado em combinação com um agente antidiabético ou antiobesidade, uma excelente tolerância à glicose é exibida, níveis de glicose sanguínea são eficazmente inibidos, e a massa gordurosa é reduzida, desse modo induzindo à conclusão da presente invenção.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

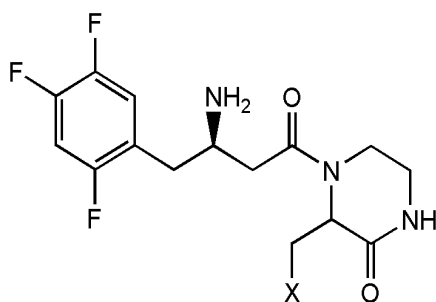
PROBLEMA TÉCNICO

[0028] Um objetivo da presente invenção é fornecer uma composição farmacêutica para a prevenção e tratamento de diabetes ou obesidade compreendendo como ingredientes ativos um composto que inibe a atividade de dipeptidil peptidase-IV e outros agentes antidiabéticos ou antiobesidade.

SOLUÇÃO TÉCNICA

[0029] De acordo com a presente invenção, uma composição farmacêutica para a prevenção e tratamento de diabetes ou obesidade compreendendo como ingredientes ativos (1) um composto representado pela seguinte fórmula 1, um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo, um hidrato do mesmo, ou um solvato do mesmo, e (2) um ou mais outros agentes antidiabéticos ou antiobesidade.

Fórmula 1



(Na fórmula 1, X é como definido aqui).

EFEITOS VANTAJOSOS

[0030] De acordo com a presente invenção, uma composição farmacêutica compreendendo como ingredientes ativos um composto que é um tipo de um novo inibidor de DPP-IV e um ou mais outros agentes antidiabéticos ou antiobesidade pode ser útil na prevenção e tratamento de diabetes, obesidade, e similares por administração da composição para realçar os efeitos de tolerância à glicose, inibição de níveis de glicose sanguínea, e redução de efeitos de massa de gordura, comparada a outros agentes antidiabéticos ou antiobesidade convencionais.

DESCRIÇÃO DE DESENHOS

[0031] A figura 1 é um isoblograma mostrando efeitos antidiabéticos de composições mistas contendo um composto de fórmula 1 e metformina;

[0032] figura 2 é um gráfico mostrando a porcentagem de inibição dos componentes somente e uma composição mista de um composto de fórmula 1 e metformina em várias doses de administração de animal;

[0033] figura 3 é um gráfico mostrando a porcentagem de inibição em termos de melhora em tolerância à glicose de uma única dose de composto 1, metformina, e uma composição mista em várias relações de dose de administração de animal de 1:50 a 1:150 em camundongos obesos;

[0034] figura 4 é um gráfico mostrando a porcentagem de inibição em termos de glicose plasmática de um composto 1, metformina, e uma composição mista por administração em várias relações de dose de administração de animal de 1:50 a 1:150 durante duas semanas em camundongos obesos;

[0035] figura 5 é um gráfico mostrando a porcentagem de inibição

em termos de glicose sanguínea de um composto 1, um agonista de PPAR γ , e uma composição mista por administração em várias relações de dose de administração de animal de 1:0,01 a 1:0,4 durante sete dias em camundongos diabéticos;

[0036] figura 6 é um gráfico mostrando a porcentagem de inibição em termos de glicose sanguínea de um composto 1, um agente de série de sulfonil ureia, e uma composição mista por administração em várias relações de dose de 1:0,2 a 1:3,2;

[0037] figura 7 é um gráfico mostrando a porcentagem de inibição em termos de melhora em tolerância à glicose de um composto 1, um inibidor de α -glicosidase, e uma composição mista por administração em várias relações de dose de 1:0,03 a 1:0,18; e

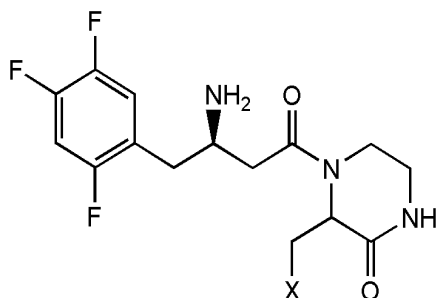
[0038] figura 8 é um gráfico mostrando a porcentagem de inibição em termos de melhora em tolerância à glicose de um composto 1, um antagonista de receptor canabinoide do tipo 1, uma composição mista por administração em várias relações de dose de 1:1 a 1:10.

MELHOR MODO

[0039] Posteriormente, a presente invenção será descrita em detalhes.

[0040] A presente invenção fornece uma composição farmacêutica para a prevenção e tratamento de diabetes ou obesidade compreendendo como ingredientes ativos (1) um composto representado pela seguinte fórmula 1, um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo, um hidrato do mesmo, ou um solvato do mesmo, e (2) um ou mais outros agentes antidiabéticos ou antiobesidade.

Fórmula 1



- [0041] Na fórmula 1,
- [0042] X é OR¹, SR¹, ou NR¹R²,
- [0043] em que R¹ e R² são independentemente uma C₁~C₅ alquila inferior, ou R¹ e R² de NR¹R² podem formar um anel de 5 membros a 7 membros contendo um elemento hetero de O.
- [0044] A C₁~C₅ alquila inferior na fórmula 1 pode incluir uma C₁ a C₅ alquila e uma cicloalquila.
- [0045] O composto representado pela fórmula 1 pode ter dois centros assimétricos, e desse modo pode ter centros assimétricos no carbono β e no carbono de posição 3 de piperazina. Portanto, o centro pode estar presente na forma de um único diastereômero, racemato, mistura racêmica ou mistura diastereoisomérica, todos dos quais podem ser incluídos no composto representado pela fórmula 1 de acordo com a presente invenção.
- [0046] Além disso, o composto representado pela fórmula 1 da presente invenção pode estar parcialmente presente como um tautômero, e tautômeros individuais bem como misturas dos mesmos podem ser incluídas no composto da presente invenção.
- [0047] O estereômero da presente invenção pode ser obtido por síntese estereoseletiva de acordo com um método convencional conhecido na técnica, usando um material de partida opticamente puro ou um reagente conhecido.
- [0048] Exemplos preferíveis do composto representado pela fórmula 1 da presente invenção são como segue.

- 1) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-bu-
toximetil)piperazin-2-ona;
- 2) (S)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-bu-
toximetil)piperazin-2-ona;
- 3) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3- (me-
toximetil)piperazin-2-ona;
- 4) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3- (iso-
propoximetil)piperazin-2-ona;
- 5) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3- (ci-
clopentiloximetil)piperazin-2-ona;
- 6) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3- [(die-
tilamino)metil]piperazin-2-ona;
- 7) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-
[(etilmetilamino)metil]piperazin-2-ona;
- 8) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3- (mor-
folinometil)piperazin-2-ona;
- 9) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-bu-
tiltiometil)piperazin-2-ona.

[0049] O sal farmacêuticamente aceitável do composto hetero con-
tendo grupo beta-amino de fórmula 1 de acordo com a presente inven-
ção pode ser preparado por qualquer método convencional para pre-
paração de sais conhecidos na técnica.

[0050] Como usado aqui, o termo "sal farmacêuticamente aceitá-
vel" refere-se a um sal preparado de um ácido ou base não tóxico far-
macêuticamente aceitável incluindo uma base inorgânica ou orgânica
e um ácido inorgânico ou orgânico. Exemplos do sal derivado de uma
base inorgânica incluem alumínio, amônio, cálcio, cobre, férrico, ferro-
so, lítio, magnésio, manganato, manganês, potássio, sódio, zinco, e
similares. Particularmente preferidos são sais de amônio, cálcio, mag-
nésio, potássio e sódio. Um sal sólido pode ter uma ou mais estruturas

cristais, ou de outro modo pode ser na forma de um hidrato. Exemplos do sal derivado de uma base orgânica não tóxica farmacologicamente aceitável incluem uma amina primária, secundária ou terciária, uma amina substituída tal como uma amina substituída de ocorrência natural, uma amina cíclica, ou uma resina de troca de íon básica tais como arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenziletlenodiamina, 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, teobromo, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina, e similares.

[0051] Quando o composto da presente invenção for básico, um sal do mesmo pode ser preparado de ácidos não tóxicos farmacologicamente aceitáveis incluindo ácidos inorgânicos e orgânicos. Exemplos do ácido incluem ácido acético, ácido benzenossulfônico, ácido benzoico, ácido canforsulfônico, ácido cítrico, ácido etanossulfônico, ácido fumárico, ácido glucônico, ácido glutâmico, ácido bromídrico, ácido clorídrico, ácido isetiônico, ácido láctico, ácido maleico, ácido málico, ácido mandélico, ácido metanossulfônico, ácido múcico, ácido nítrico, ácido pamoico, ácido pantotênico, ácido fosfórico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido tartárico, ácido p-tolueno sulfônico, ácido adípico, e similares. Preferivelmente, o sal farmacologicamente aceitável pode ser ácidos acético, cítrico, clorídrico, málico, fosfórico, succínico, tartárico e adípico. Mais preferivelmente, o sal farmacologicamente aceitável pode ser ácido tartárico.

[0052] Como usado aqui, o composto de fórmula 1 designado é pretendido abranger um sal farmacologicamente aceitável do mesmo.

[0053] Um hidrato de um composto de fórmula 1 da presente invenção ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo é pretendido abranger uma quantidade estequiométrica ou não estequiométrica

de água ligada a ele por forças intermoleculares não covalentes. O hidrato pode conter 1 ou mais equivalente de água, tipicamente 1 a 5 equivalentes de água. O hidrato pode ser preparado por cristalização do composto de fórmula 1 da presente invenção ou um sal farmacêticamente aceitável do mesmo em água ou solvente contendo água.

[0054] Um solvato de um composto de fórmula 1 da presente invenção ou um sal farmacêticamente aceitável do mesmo é pretendido abranger uma quantidade estequiométrica ou não estequiométrica de um solvente ligado a ele por forças intermoleculares não covalentes. Solventes preferidos são voláteis, não tóxicos, e adequados para administração a humanos. Por exemplo, menção pode ser feita a etanol, metanol, propanol, cloreto de metileno, e similares.

[0055] Um composto de fórmula 1 da presente invenção pode ser facilmente obtido como descrito em Pedido de Patente da Coreia nº. 2007-0038462. Especificamente, (R)-(3-t-butoximetil)piperazin-2-ona sintetizado de 1) ácido (3R)-t-butoxicarbonilamino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoico e metil éster de D-serina como materiais de partida podem ser sintetizados em um intermediário (R)-4[(R)-2-(t-butoximetil)-3-oxopiperazin-1-il]-4-oxo-1-(2,4,5-trifluorofenil)-butan-2-ilcarbamato de t-butila por reação de peptidização padrão (etapa 1), e em seguida submetidos à desproteção (etapa 2), seguido por neutralização para obter um composto na forma de fórmula 1.

[0056] O composto de fórmula 1 é um tipo de inibidor de DPP-IV, exibe excelente atividade inibitória sobre DPP-IV e biodisponibilidade, e pode ser útil na prevenção e tratamento de doenças tais como diabetes, obesidade, e similares, causadas por DPP-IV.

[0057] Um agente antidiabético ou antiobesidade que é misturado com um composto representado pela fórmula 1 na presente invenção para fornecer uma composição para prevenção e tratamento de diabetes ou obesidade pode ser preferivelmente selecionado do grupo con-

sistindo em inibidor de α -glicosidase, Biguanida, secretagogo de insulina, sensibilizador de insulina, e antagonista de receptor canabinoide do tipo 1. Entretanto, não é limitado a estes.

[0058] A Biguanida da presente invenção refere-se a um fármaco incluindo uma estrutura de biguanida e tendo efeitos, tais como efeitos promotores de glicólise anaeróbica, realce de efeitos de insulina periférica, supressão de absorção de glicose do trato intestinal, e supressão de gliconeogênese do fígado. A Biguanida pode ser selecionada do grupo consistindo em metformina, buformina, e fenformina, porém não é limitada a estas.

[0059] O sensibilizador de insulina da presente invenção refere-se a um fármaco que melhora a disfunção da ação de insulina para diminuir os níveis de glicose sanguínea, comumente tem uma estrutura de tiazolidinadiona (TZD), e age sobre os receptores ativados por proliferador de peroxissoma (PRARs). O sensibilizador de insulina pode ser selecionado do grupo consistindo em troglitazona, ciglitazona, rosiglitazona (AVNADIA), pioglitazona (ACTOS), e englitazona, porém não é limitado a estes.

[0060] O secretagogo de insulina da presente invenção refere-se a um fármaco que promove a secreção de insulina de células beta do pâncreas, e pode ser um fármaco tendo uma estrutura de sulfonil ureia ou não sulfonilureia. Preferivelmente, o secretagogo de insulina pode ser um fármaco tendo uma estrutura de sulfonil ureia, selecionado do grupo consistindo em glibenclamida (gliburida), glipizida, gliclazida, glimepirida, tolazamida, tolbutamida, acetoexamida, carbutamida, clorpropamida, glibornurida, gliquidona, glisentida, glisolamida, glisoxepida, gliclopiamida, glicilamida, e glipentida, ou um fármaco tendo uma estrutura não sulfonilureia, tal como repaglinida ou nateglinida, porém não é limitado a estes.

[0061] O inibidor de α -glicosidase da presente invenção refere-se

a um fármaco que competitivamente inibe a α -glicosidase que é um tipo de enzima digestiva no intestino para suprimir a digestão e absorção de amido, dissacarídeos, e similares. O inibidor de α -glicosidase pode ser selecionado do grupo consistindo em acarbose, voglibose, emiglitato, e miglitol, porém não é limitado a estes.

[0062] O antagonista de receptor canabinoide do tipo 1 da presente invenção refere-se a um fármaco que inibe a atividade excessiva de endocanabinoide para regular o equilíbrio de peso corporal e energia bem como o metabolismo de glicose e lipídeo. O antagonista de receptor canabinoide do tipo 1 pode ser selecionado do grupo consistindo em rimonabanto (ACOMPLIA), Otenabante, Ibinabante, e Surinabante, porém não é limitado a estes.

[0063] A dose ou dosagem de uma composição farmacêutica de acordo com a presente invenção varia dependendo de um peso corporal do paciente, idade, sexo, condições de saúde, dieta, tempo de administração, método de administração, taxa de evacuação, a severidade de uma doença, e similares. A unidade de dosagem geral é calculada com base na quantidade de ingrediente ativo que pode ser fornecida a um indivíduo humano de 70 kg em uma única dose para julgar se uma dose terapeuticamente eficaz é atingida. Entretanto, será apreciado que a dose terapeuticamente eficaz precisa dos ingredientes ativos variará dependendo da quantidade relativa de cada componente ativo sendo usado, do fármaco particular sendo usado e das relações sinérgicas mencionadas acima.

[0064] O composto de fórmula 1 pode ser preferivelmente incluído na composição farmacêutica em uma faixa de cerca de 0,1 a cerca de 1.500 mg. Entretanto, a faixa pode aumentar ou diminuir, dependendo do sintoma.

[0065] Além disso, uma dose recomendada bem conhecida é adequada como uma dose clínica diária de outros agentes antidiabéticos

ou antiobesidade incluídos em uma composição farmacêutica da presente invenção. Por exemplo, uma dose de cerca de 500 mg a cerca de 2000 mg é geralmente conhecida como uma dose clínica diária de metformina.

[0066] Uma relação de mistura de um composto representado pela fórmula 1 incluído em uma composição farmacêutica da presente invenção e outros agentes antidiabéticos ou antiobesidade pode ser selecionada na faixa de 1:16,7 a 1:450 com base em uma dose a ser administrada. Doses terapeuticamente eficazes ideais para serem administradas podem ser facilmente determinadas por aqueles versados na técnica e variarão com a quantidade de ingredientes ativos usada em uma relação sinérgica com base em uma fração de seus respectivos valores de ED_{30} , a intensidade da preparação, o modo de administração e o avanço da condição ou distúrbio a ser tratado. Além disso, fatores associados com o indivíduo particular a ser tratado, incluindo idade do indivíduo, peso corporal, dieta e tempo de administração, resultarão na necessidade de ajuste da dose para um nível terapeuticamente eficaz apropriado.

[0067] A composição farmacêutica da presente invenção pode ser administrada dentro da faixa de uma relação sinérgica com base em uma fração de seus respectivos valores de ED_{30} . O valor de ED_{30} refere-se a uma dose de uma composição farmacêutica, na qual 30% da porcentagem de inibição são exibidos. A porcentagem de inibição pode ser obtida calculando-se uma área sob a curva de um grupo experimental, exceto para uma área sob a curva de um grupo em que glicose não foi administrada, na curva de mudança de glicose sanguínea, comparando o valor com aquele de um grupo controle em que glicose foi administrada, e calculando a relação de inibição. Em geral, é sugerido que uma dose eficaz é definida como uma dose para suprimir a AUC em 30% ou mais em experimentos de camundongo

(WO2006/076231 A2).

[0068] Na composição farmacêutica da presente invenção, o composto de fórmula 1 e Biguanida podem ser incluídos na faixa de relação de 9:1 a 1:3 com base em uma fração de seus respectivos valores de ED₃₀, e mais preferivelmente na relação de 1:1.

[0069] Na composição farmacêutica da presente invenção, quando a relação de mistura do composto de fórmula 1 e Biguanida é 1:16,7 ou menos, ou 1:450 ou mais com base na relação de peso, eficácia pobre ou efeitos colaterais adversos podem ocorrer. Ao contrário, na faixa de 1:16,7 a 1:450, efeitos sinérgicos de melhora em tolerância à glicose podem ocorrer. Portanto, os dois agentes podem ser preferivelmente incluídos na faixa de 1:16,7 a 1:450 com base na relação de peso. Entretanto, a relação não é limitada a estas.

[0070] Na composição farmacêutica da presente invenção, quando a relação de mistura do composto representado pela fórmula 1 e um sensibilizador de insulina é 1:0,01 ou menos, ou 1:0,4 ou mais com base na relação de peso, eficácia pobre ou efeitos colaterais adversos podem ocorrer porque este é um valor divergindo de uma dose clínica diária do sensibilizador de insulina. Ao contrário, na faixa de 1:0,01 a 1:0,4, efeitos sinérgicos de melhora em eficácia podem ocorrer. Portanto, a relação de mistura do composto 1 e o sensibilizador de insulina pode ser preferivelmente na faixa de 1:0,01 a 1:0,4 com base na relação de peso. Entretanto, a relação não é limitada a estas e pode ser ajustada dependendo dos sintomas.

[0071] Na composição farmacêutica da presente invenção, quando a relação de mistura do composto de fórmula 1 e um secretagogo de insulina é 1:0,2 ou menos, ou 1:3,2 ou mais com base na relação de peso, a dose pode exceder uma dose clínica diária do secretagogo de insulina ou eficácia pobre pode ocorrer. Ao contrário, efeitos sinérgicos de melhora em eficácia podem ocorrer na faixa de 1:0,2 a 1:3,2.

Portanto, a relação de mistura do composto 1 e o secretagogo de insulina pode ser preferivelmente na faixa de 1:0,2 a 1:3,2. Entretanto, a relação não é limitada a estas.

[0072] Além disso, na composição farmacêutica da presente invenção, quando a relação de mistura do composto representado pela fórmula 1 e um inibidor de α -glicosidase é 1:0,03 ou menos, ou 1:0,18 ou mais com base na relação de peso, a dose pode exceder uma dose clínica diária do inibidor de α -glicosidase ou eficácia pobre pode ocorrer. Ao contrário, efeitos sinérgicos de melhora em eficácia podem ocorrer na faixa de 1:0,03 a 1:0,18. Portanto, é preferível ter a relação de mistura do composto 1 e o inibidor de α -glicosidase na faixa de 1:0,03 a 1:0,18. Entretanto, a relação não é limitada a estas.

[0073] Na composição farmacêutica da presente invenção, quando a relação de mistura do composto de fórmula 1 e um antagonista de receptor canabinoide do tipo 1 é 1:0,1 ou menos, ou 1:1 ou mais com base na relação de peso, a dose pode exceder uma dose clínica diária do antagonista de receptor canabinoide do tipo 1 ou eficácia pobre pode ocorrer. Portanto, é preferível ter a relação de mistura do composto 1 e o antagonista de receptor canabinoide do tipo 1 na faixa de 1:1 a 1:10. Entretanto, a relação não é limitada a estas.

[0074] Como usado aqui, o termo "administração" significa a introdução de um material predeterminado em pacientes usando um método adequado. A composição da presente invenção pode ser oralmente ou parenteralmente administrada por meio de qualquer das rotinas comuns, contanto que ela seja capaz de atingir o tecido desejado. Além disso, a composição pode ser administrada usando um certo aparato capaz de transportar substâncias ativas em células-alvos. É preferível oralmente administrar a composição farmacêutica da presente invenção, porém não é limitado a esta. A administração parenteral inclui injeções subcutâneas, intravenosas, intramusculares ou intra-

torácicas, porém não está limitada a estas.

[0075] A composição farmacêutica da presente invenção pode ser formulada de várias formas orais ou parenterais de uma ampla faixa durante a administração clínica e pode ser administrada.

[0076] Exemplos da forma de dosagem para administração oral podem incluir comprimidos, pílulas, cápsulas duras/macias, soluções, suspensões, emulsões, xaropes, grânulos, elixires, e similares. Estas formulações farmacêuticas podem conter, além do ingrediente ativo, um ou mais diluentes ou excipientes convencionais, tais como cargas, extensores, agentes umectantes, disintegrantes, deslizantes, aglutinantes, tensoativos, e similares. Exemplos dos disintegrantes podem incluir ágar, amido, ácido algínico ou um sal de sódio do mesmo, fosfato de monodrogênio de cálcio anidro, e similares. Exemplos dos deslizantes podem incluir sílica, talco, ácido esteárico ou magnésio ou sal de cálcio do mesmo, polietileno glicol, e similares. Exemplos do aglutinante podem incluir silicato de alumínio de magnésio, pasta de amido, gelatina, tragacanto, metilcelulose, carboximetilcelulose sódica, polivinilpirrolidona, hidroxipropil celulose pouco substituída, e similares. Além disso, a formulação farmacêutica pode incluir diluentes, por exemplo, lactose, dextrose, sacarose, manitol, sorbitol, celulose, glicina, e similares. Se desejado, a formulação pode também conter convencionalmente misturas efervescentes, absorventes, colorantes, aromatizantes, adoçantes e similares conhecidos.

[0077] Exemplos da forma de dosagem para administração parenteral podem incluir soluções aquosas esterilizadas, soluções não aquosas, suspensões, emulsões, agentes liofilizados, ou supositórios. Como solventes não aquosos ou agentes de suspensão, propileno glicol, polietileno glicol, óleos vegetais, tais como óleo de oliva, ésteres injetáveis, tais como oleato de etila, e similares podem ser usados. Como a base da preparação injetável, aditivos convencionais tais co-

mo solubilizantes, agentes isotônicos, agentes de suspensão, agentes emulsificantes, estabilizantes e preservativos podem ser usados. A composição farmacêutica, de acordo com um exemplo da presente invenção, pode ser preparada como uma solução ou suspensão misturando-se o composto de fórmula 1 ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo e metformina com um estabilizante ou tampão em água, e pode ser preparado em uma forma de dosagem unitária (por exemplo, ampola ou frascote). A composição pode ser esterilizada ou conter um adjuvante (por exemplo, um preservativo, um estabilizante, um agente umectante, ou um emulsificante, um sal para regulação osmótica, um agente de tamponamento, e similares). Além disso, a composição pode também conter outras substâncias terapeuticamente úteis. A composição pode ser preparada de uma maneira convencional por métodos de mistura, granulação ou revestimento.

MODO PARA A INVENÇÃO

[0078] Posteriormente, a presente invenção será descrita em maiores detalhes com referência aos seguintes Exemplos de Preparação, Exemplos, Exemplos Experimentais, e Exemplos de Preparação. Entretanto, os seguintes exemplos são fornecidos para propósitos ilustrativos somente, e o escopo da presente invenção não deve ser limitado a eles de qualquer maneira.

Exemplo de Preparação Preparação de composto de fórmula 1 e sais farmacêuticamente aceitáveis do mesmo

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

Etapa 1): Preparação de 1-tritilaziridina-2-carboxilato de (R)-metila

[0079] 200 g de cloridrato de metil éster de D-serina foram adicionados a 1,8 L de clorofórmio, e a solução reacional foi resfriada para 0°C, a qual 448 mL de trietilamina foram em seguida lentamente adicionados. 358,4 g de cloreto de tritila foram lentamente adicionados à

mistura reacional que foi em seguida agitada durante 1 hora. A mistura reacional foi aquecida para a temperatura ambiente, e 1 L de clorofórmio foi adicionado a ela, seguido por lavagem com 2,5 L de água. A camada orgânica foi secada sobre sulfato de magnésio e novamente resfriada para 0°C, a qual 484 mL de trietilamina e 15,7 g de 4-metilaminopiridina foram em seguida sequencialmente e lentamente adicionados. A mistura reacional foi agitada durante 5 min e 139 mL de cloreto de metano sulfonila foram lentamente adicionados a ela. A mistura reacional foi aquecida para a temperatura ambiente, agitada durante mais 4 horas e em seguida refluxada durante 12 horas. A mistura reacional foi resfriada para temperatura ambiente, e lavada com 4 L de água e em seguida 3 L de salmoura. A camada orgânica foi secada sobre sulfato de magnésio e concentrada até a secura sob pressão reduzida. 3 L de etanol foram adicionados ao resíduo resultante que foi em seguida agitado. Os sólidos resultantes foram filtrados para fornecer 329 g do composto do título.

[0080] ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): 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): Preparação de 2-metil aziridina-1,2-dicarboxilato de(R)-1-benzila

[0081] 328,4 g de 1-tritilaziridina-2-carboxilato de (R)-metila foram dissolvidos em 1,4 L de clorofórmio e a solução reacional foi resfriada para 0°C, a qual 462 mL de ácido trifluoroacético foram em seguida lentamente adicionados. A mistura reacional foi agitada durante 1 hora, a qual 2 L de água foram em seguida adicionados, seguido por agitação durante 10 min e remoção da camada orgânica. A camada aquosa foi neutralizada com carbonato de hidrogênio de sódio e usada em reações subsequentes sem outra purificação.

[0082] 2 L de dietil éter e 120,5 g de carbonato de hidrogênio de

sódio foram adicionados à camada aquosa, e a solução reacional foi resfriada para 0°C, a qual 165 mL de cloroformiato de benzila foram em seguida lentamente adicionados gota a gota. A mistura reacional foi agitada durante mais 2 horas e a camada aquosa foi removida. A camada orgânica foi secada sobre sulfato de magnésio, concentrada e secada sob pressão reduzida, e purificada por cromatografia de coluna, desse modo fornecendo 108,5 g do composto do título.

[0083] ^1H RMN (400 MHz, DMSO) : 7,32-7,36 (m, 5H), 5,13 (s, 2H), 3,09 (dd, $J=3,2, 5,4\text{Hz}$, 1H), 2,58 (dd, $J=1,2, 3,2\text{Hz}$, 1H), 2,47 (dd, $J=1,2, 5,4\text{Hz}$, 1H),

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

[0084] 1,1 g de aziridina-1,2-dicarboxilato de (R)-1-benzil 2-metila foi dissolvido em 11 mL de clorofórmio, ao qual 18 mL de t-butanol foram em seguida adicionados. À mistura reacional foi lentamente adicionado gota a gota 1,2 mL de BF_3OEt_2 , seguido por agitação durante 12 horas. A reação foi terminada com adição de 2 L de água à mistura reacional. Em seguida, a camada orgânica foi separada e secada sobre sulfato de magnésio, concentrada e secada sob pressão reduzida, e em seguida usada em reações subsequentes sem outra purificação.

[0085] O resíduo resultante foi dissolvido em 10 mL de metanol, ao qual 740 mg de paládio/carbono em 2 mL de acetato de etila foram em seguida adicionados, seguido por borbulhamento de hidrogênio durante 1 hora sob pressão atmosférica ambiente. A mistura reacional foi filtrada e secada sob pressão reduzida para fornecer 736 mg do composto do título.

[0086] ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) : 4,21 (m, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,74~3,88 (m, 2H), 1,20 (s, 9H)

Etapa 4): Preparação de metil éster de ácido (R)-3-t-butóxi-2-(2-(t-butoxicarbonilamino)etilamino)propiónico

[0087] 736 mg de metil éster de (R)-2-amino-3-t-butoxiopropano

preparado na etapa 3 foram dissolvidos em 14 mL de diclorometano, ao qual 6335 mg de metanol de N-t-butoxicarbonil-2-aminoacetaldeído foram em seguida lentamente adicionados. A mistura reacional foi resfriada para 0°C, seguido por adição gradual de 1,2 mL de trietilamina e 1,78 g de triacetoxiboroidreto de sódio. A mistura reacional foi aquecida para a temperatura ambiente, seguido por agitação durante 12 horas. Uma solução de carbonato de hidrogênio de sódio saturada foi adicionada para terminar a reação, e a camada orgânica foi lavada com 10 mL de água e salmoura, concentrada e secada sob pressão reduzida. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia de coluna, desse modo fornecendo 355 mg do composto do título.

[0088] ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): 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)

Etapa 5): Preparação de metil éster de ácido (R)-2-((benziloxycarbonil)(2-t-butoxicarbonilamino)etil)amino)-3-t-butoxiopropiônico

[0089] 355 mg de metil éster de ácido (R)-3-t-butóxi-2-(2-(t-butoxicarbonilamino)etilamino)propiãoico preparado na etapa 4 foram dissolvidos em 11 mL de tetra-hidrofurano, e a mistura reacional foi resfriada para 0°C, a qual 187 mg de carbonato de hidrogênio de sódio foram em seguida adicionados. 192 μl de benzilcloroformiato foram lentamente adicionados gota a gota a ela, e a mistura reacional foi aquecida para a temperatura ambiente. Após 12 horas, a mistura reacional foi secada sob pressão reduzida, seguido por adição de 10 mL de acetato de etila, e a camada orgânica foi lavada com 10 mL de água. A camada orgânica foi secada sobre sulfato de magnésio, secada sob pressão reduzida, e purificada por cromatografia de coluna, desse modo fornecendo 410 mg do composto do título.

[0090] ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): 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): Preparação de (R)-benzil 2-(t-butoximetil)-3-oxopiperazina-1-carboxilato

[0091] 410 mg de metil éster de ácido (R)-2-((benziloxicarbonil)(2-t-butoxicarbonilamino)etil)amino)-3-t-butoxiopropiônico preparado na etapa 5 foram dissolvidos em 10 mL de metanol, e a mistura reacional foi resfriada para 0°C, a qual 4 mL de 2 N de ácido clorídrico/dietil éter foram em seguida lentamente adicionados, seguido por agitação durante 3 horas. A mistura reacional foi secada sob pressão reduzida e usada em reações subseqüentes sem outra purificação.

[0092] O resíduo resultante foi dissolvido em 10 mL de diclorometano e a mistura reacional foi resfriada para 0°C, a qual 152 µℓ de trietilamina foram em seguida lentamente adicionados. 1,1 mL de trimetilalumínio (2,0 M de solução em tolueno) foi lentamente adicionado a ela, e a mistura reacional foi aquecida para a temperatura ambiente e em seguida agitada durante 12 horas. A mistura reacional foi resfriada para 0°C e uma solução aquosa de cloreto de amônio saturada foi adicionada para terminar a reação. 10 mL de acetato de etila foram adicionados à mistura reacional que foi em seguida lavada com 10 mL de salmoura. A camada orgânica foi secada sobre sulfato de magnésio e secada sob pressão reduzida. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia de coluna para fornecer 103 mg do composto do título.

[0093] ¹H RMN (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): Preparação de (R)-(3-t-butoximetil)piperazin-2-ona

[0094] 103 mg de 2-(t-butoximetil)-3-oxopiperazina-1-carboxilato de (R)-benzila preparado na etapa 6 foram dissolvidos em 2 mL de

metanol, ao qual 50 mg de paládio/carbono em 1 mL de acetato de etila foram em seguida adicionados, seguido por borbulhamento de hidrogênio durante 1 hora sob pressão atmosférica ambiente. A mistura reacional foi filtrada e secada sob pressão reduzida para fornecer 58 mg do composto do título.

[0095] ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): 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): Preparação de (R)-4-[(R)-2-(t-butoximetil)-3-oxopiperazin-1-il]-4-oxo-1-(2,4,5-trifluorofenil)butan-2-ilcarbamato de t-butila

[0096] 104 mg de ácido (3R)-t-butoxicarbonilamino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoico e 58 mg de (R)-(3-t-butoximetil)piperazin-2-ona foram adicionados a 4 mL de N,N-dimetilformamida, a qual 63 mg de 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) e 217 μl de diisopropiletilamina foram em seguida adicionados. A mistura reacional foi resfriada para 0°C e 78 mg de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) foram adicionados a ela, seguido por agitação em temperatura ambiente durante 12 horas. A mistura reacional foi diluída com 10 mL de acetato de etila e lavada duas vezes com salmoura. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de magnésio e concentrada. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia de coluna para fornecer 97 mg do composto do título.

[0097] ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): 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): Preparação de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona

[0098] 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-butila preparado na

etapa 8 foram dissolvidos em 3 mL de metanol, seguido por adição de 2 mL de 2 N de ácido clorídrico/dietil éter e agitação em temperatura ambiente durante 3 horas.

[0099] A mistura reacional foi concentrada e secada sob pressão reduzida, a qual 10 mL de solução aquosa de carbonato de hidrogênio de sódio a 5% foram adicionados e 10 mL de solução mista de diclorometano/2-propanol (4/1 (v/v)) para extração duas vezes, seguido por secagem da camada orgânica sob pressão reduzida para fornecer 55 mg do composto do título como um sólido.

[00100] ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): 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)

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

[00101] Metanol foi usado em vez de t-butanol na etapa 3 do exemplo de preparação 1, e o composto do título foi em seguida sintetizado similarmente às etapas 4 até 9 do exemplo de preparação 1.

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

[00102] Isopropanol foi usado em vez de t-butanol na etapa 3 do exemplo de preparação 1, e o composto do título foi em seguida sintetizado similarmente às etapas 4 até 9 do exemplo de preparação 1.

Exemplo de Preparação 4 Preparação de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(ciclopentiloximetil)piperazin-2-ona

[00103] Ciclopentanol foi usado em vez de t-butanol na etapa 3 do exemplo de preparação 1, e o composto do título foi em seguida sintetizado similarmente às etapas 4 até 9 do exemplo de preparação 1.

Exemplo de Preparação 5 Preparação de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(dietilamino)metil]piperazin-2-ona

[00104] Dietilamina foi adicionada em vez de t-butanol e o refluxo foi realizado em vez de adição de BF_3OEt_2 na etapa 3 do exemplo de preparação 1, e o composto do título foi em seguida sintetizado similarmente às etapas 4 até 9 do exemplo de preparação 1.

Exemplo de Preparação 6 Preparação de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(etilmetilamino)metil]piperazin-2-ona

[00105] Etilmetilamina foi adicionada em vez de t-butanol e o refluxo foi realizado em vez de adição de BF_3OEt_2 na etapa 3 do exemplo 1, e o composto do título foi em seguida sintetizado similarmente às etapas 4 até 9 do exemplo de preparação 1.

Exemplo de Preparação 7 Preparação de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(morfolinometil) piperazin-2-ona

[00106] Morfolina foi adicionada em vez de t-butanol e o refluxo foi realizado em vez de adição de BF_3OEt_2 na etapa 3 do exemplo de preparação 1, e o composto do título foi em seguida sintetizado similarmente às etapas 4 até 9 do exemplo de preparação 1.

Exemplo de Preparação 8 Preparação de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butiltiometil)piperazin-2-ona

[00107] t-Butil tiol foi usado em vez de t-butanol na etapa 3 do exemplo de preparação 1, e o composto do título foi em seguida sintetizado similarmente às etapas 4 até 9 do exemplo de preparação 1.

Exemplo de Preparação 9 Preparação de (S)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona

[00108] Cloridrato de metil éster de L-serina foi usado em vez de cloridrato de metil éster de D-serina na etapa 1 do exemplo de preparação 8, e o composto do título foi em seguida sintetizado similarmente às etapas 2 até 9 do exemplo de preparação 8.

[00109] Exemplo Preparação de uma composição contendo um composto de fórmula 1 e um fármaco antidiabético ou antiobesidade

Exemplo 1 Preparação de uma composição mista de um composto

representado pela fórmula 1 e Biguanida

Exemplo 1-1 Preparação de uma composição farmacêutica contendo (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil) piperazin-2-ona (tartarato) e metformina em uma relação de 9:1 com base em ED₃₀

[00110] O composto preparado no exemplo de preparação 1 e metformina foram pesados, e metilcelulose a 0,5% foi usada para preparar 10 mL/kg de uma suspensão com cada composição (0,045 ~ 0,36 mg/kg do composto preparado no exemplo de preparação 1 : 0,75 ~ 6 mg/kg de metformina)/10 mL.

Exemplo 1-2 Preparação de uma composição farmacêutica contendo (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil) piperazin-2-ona (tartarato) e metformina em uma relação de 5:1 com base em ED₃₀

[00111] A preparação foi realizada similarmente ao método no exemplo 1-1 para ter cada composição (0,042 ~ 0,33 mg/kg do composto preparado no exemplo de preparação 1 : 1,25 ~ 10 mg/kg de metformina)/10 mL.

Exemplo 1-3 Preparação de uma composição farmacêutica contendo (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil) piperazin-2-ona (tartarato) e metformina em uma relação de 1:1 com base em ED₃₀

[00112] A preparação foi realizada similarmente ao método no exemplo 1-1 para ter cada composição (0,025 ~ 0,2 mg/kg do composto preparado no exemplo de preparação 1 : 3,25 ~ 30 mg/kg de metformina)/10 mL.

Exemplo 1-4 Preparação de uma composição farmacêutica contendo (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil) piperazin-2-ona (tartarato) e metformina em uma relação de 1:3 com base em ED₃₀

[00113] A preparação foi realizada similarmente ao método no exemplo 1-1 para ter cada composição (0,0125 ~ 0,1 mg/kg do composto preparado no exemplo de preparação 1 : 5,625 ~ 45 mg/kg de metformina)/10 mL.

Exemplo 2 Preparação de uma composição mista de um composto representado pela fórmula 1 e sensibilizador de insulina

Exemplo 2-1 Preparação de uma composição farmacêutica contendo (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil) piperazin-2-ona (tartarato) e rosiglitazona em uma relação de 1:0,4 com base na relação de peso

[00114] O composto preparado no exemplo de preparação 1 e rosiglitazona foram pesados, e metilcelulose a 0,5% foi usada para preparar 5 mL/kg de uma suspensão com cada composição (1 mg do composto preparado no exemplo de preparação 1 + 0,4 mg de rosiglitazona)/5 mL.

Exemplo 2-2 Preparação de uma composição farmacêutica contendo (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil) piperazin-2-ona (tartarato) e rosiglitazona em uma relação de 1:0,01 com base na relação de peso

[00115] A preparação foi realizada similarmente ao método no exemplo 2-1 para ter cada composição (40 mg do composto preparado no exemplo de preparação 1 + 0,4 mg de rosiglitazona)/5 mL.

Exemplo 3 Preparação de uma composição mista de um composto representado pela fórmula 1 e secretagogo de insulina

Exemplo 3-1 Preparação de uma composição farmacêutica contendo (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil) piperazin-2-ona (tartarato) e glimepirida em uma relação de 1:0,2 com base na relação de peso

[00116] O composto preparado no exemplo de preparação 1 e glimepirida foram pesados, e metilcelulose a 0,5% foi usada para prepa-

rar 10 mL/kg de uma suspensão com cada composição (0,1 mg do composto preparado no exemplo de preparação 1 + 0,02 mg de glimepirida)/10 mL.

Exemplo 3-2 Preparação de uma composição farmacêutica contendo (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil) piperazin-2-ona (tartarato) e glimepirida em uma relação de 1:3,2 com base na relação de peso

[00117] A preparação foi realizada similarmente ao método no exemplo 3-1 para ter cada composição (0,1 mg do composto preparado no exemplo de preparação 1 + 0,32 mg de rosiglitazona)/10 mL.

Exemplo 4 Preparação de uma composição mista de um composto representado pela fórmula 1 e inibidor de α -glicosidase

Exemplo 4-1 Preparação de uma composição farmacêutica contendo (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil) piperazin-2-ona (tartarato) e voglibose em uma relação de 1:0,03

[00118] O composto preparado no exemplo de preparação 1 e voglibose foram pesados, e metilcelulose a 0,5% foi usada para preparar 10 mL/kg de uma suspensão com cada composição (0,3 mg do composto preparado no exemplo de preparação 1 + 0,009 mg de voglibose)/10 mL.

Exemplo 4-2 Preparação de uma composição farmacêutica contendo (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil) piperazin-2-ona (tartarato) e voglibose em uma relação de 1:0,18

[00119] A preparação foi realizada similarmente ao método no exemplo 4-1 para ter cada composição (0,3 mg do composto preparado no exemplo de preparação 1 + 0,054 mg de voglibose)/10 mL.

Exemplo 5 Preparação de uma composição mista de um composto representado pela fórmula 1 e antagonista de receptor canabinoide do tipo 1

Exemplo 5-1 Preparação de uma composição farmacêutica contendo

(R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil) piperazin-2-ona (tartarato) e rimonabanto em uma relação de 1:10 com base na relação de peso

[00120] O composto preparado no exemplo de preparação 1 e rimonabanto foram pesados, e metilcelulose a 0,5% foi usada para preparar 5 mL/kg de uma suspensão com cada composição (0,3 mg do composto preparado no exemplo de preparação 1 + 3 mg de rimonabanto)/5 mL.

Exemplo 5-2 Preparação de uma composição farmacêutica contendo (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil) piperazin-2-ona (tartarato) e rimonabanto em uma relação de 1:1 com base na relação de peso

[00121] A preparação foi realizada similarmente ao método no exemplo 5-1 para ter cada composição (3 mg do composto preparado no exemplo de preparação 1 + 3 mg de rimonabanto)/5 mL.

Exemplo Experimental 1 Medição de efeitos sinérgicos de uma composição mista de um composto obtido na preparação

1-1 Medição de efeitos sinérgicos de uma composição mista de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e metformina por administração única em camundongos normais

[00122] A fim de examinar os efeitos sinérgicos de uma composição mista de um composto preparado no exemplo de preparação 1 da presente invenção e metformina por administração única, o seguinte experimento foi realizado nos materiais individuais e na composição mista.

Sujeito experimental e método experimental

[00123] Camundongos de laboratório (C57BL/6 camundongos) como sujeitos experimentais foram jejuados durante 16 a 17 horas antes dos experimentos. O sangue foi coletado de veias caudais de camundongos na manhã do dia do experimento e o nível de glicose sanguí-

nea foi medido com um medidor de glicose sanguínea ACCU-CHEK ACTIVE (Roche Diagnostics). A composição farmacêutica da presente invenção foi fornecida oralmente 30 min antes da administração de glicose (-30 min), seguido por administração oral de uma solução de glicose (2 g/kg/10 mL) após 30 min (0 min). A coleta de sangue foi feita em pontos do tempo designados--exatamente antes da administração de fármaco, exatamente antes da administração de glicose, e 15, 30, 60 e 90 min após a administração de glicose.

Cálculo de ED₃₀ de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e metformina

[00124] Efeitos de administração única dos agentes individuais sobre a curva de mudança de glicose sanguínea em um teste de tolerância à glicose oral (OGTT) foram identificados por porcentagem de inibição (%) e ED₃₀. Os valores de porcentagem de inibição para cada tratamento foram gerados a partir dos dados de área sob a curva (AUC) normalizados aos controles não desafiados com glicose por AUC de glicose sanguínea subtraída de controles não desafiados com glicose de grupos desafiados com glicose, e comparando o valor com aquele de um grupo controle em que glicose foi administrada. Em geral, é sugerido que uma dose eficaz seja definida como uma dose para suprimir a AUC em 30% ou mais em experimentos de camundongo (WO2006/076231 A2). O valor de ED₃₀ refere-se a uma dose na qual 30% da porcentagem de inibição são exibidos, e foi calculado usando-se uma análise de regressão linear no terceiro intervalo de dose no presente exemplo.

[00125] Como um resultado, foi identificado que a ED₃₀ de um composto preparado no exemplo de preparação 1 da presente invenção foi 0,20 mg/kg e a ED₃₀ de metformina foi 29,6 mg/kg (Tabela 1, Tabela 2).

Tabela 1 Resultados de tolerância à glicose de um composto prepara-

do no exemplo de preparação 1

Tabela 1

Dose de administração única (mg/kg)	Porcentagem de inibição (%)	ED ₃₀ ± (SEM)
0,1	18,5	0,20 ± 0,04
0,3	38,7	
1	54,8	

Tabela 2 Resultados de tolerância à glicose de metformina

Tabela 2

Dose de administração única (mg/kg)	Porcentagem de inibição (%)	ED ₃₀ ± (SEM)
10	7,43	29,6 ± 6,68
30	29,06	
100	54,46	

Medição de grau de efeitos sinérgicos de um composto misto de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e metformina (uma composição mista no exemplo 1)

[00126] Efeitos sinérgicos exequíveis de uma composição em cada relação fixa foram analisados por isoblograma (R. J. Tallarida et al., Life Sci. 1989, 45, 947). Este processo inclui a decisão de uma dose da mistura, na qual a porcentagem de inibição de 30% é exibida (ED_{30mix}) no experimento de OGTT e a dose correspondente (ED_{30add}) esperada sob uma aditividade simples. Quando o resultado de ED_{30mix} < ED_{30add} é estabelecido em uma certa relação fixa, a mistura tem efeitos sinérgicos. ED_{30add} foi calculada de ED₃₀ de cada fármaco. Na figura 1, frações dos valores de ED₃₀ de cada material estão presentes em cada eixo da mesma. O valor de ED₃₀ do composto preparado no exemplo de preparação 1 somente é 0,2 mg/kg e mostrado como valor 1 na figura 1, e o valor de ED₃₀ de metformina somente é 30 mg/kg e mostrado como valor 1 na figura 1. Portanto, a linha combinando os valores de ED₃₀ dos dois fármacos individuais indica uma aditividade simples (ED_{30add}) calculada de efeitos de tolerância à glicose em dife-

rentes relações. Portanto, os pontos designados como A, B, C, e D na figura 1 com respeito a cada mistura estudada indicam frações de valores de ED_{30} (ED_{30mic}) determinados por experimentos reais realizados nas misturas do composto preparado no exemplo de preparação 1 e metformina em relações de 9:1, 5:1, 1:1, e 1:3. Os pontos A', B', C', e D' na figura 1 indicam frações de doses (ED_{30add}) correspondendo às misturas do composto preparado no exemplo de preparação 1 e metformina em relações de 9:1, 5:1, 1:1, e 1:3 esperadas sob uma aditividade simples.

[00127] As relações de doses realmente administradas a animais em cada fração foram calculadas multiplicando-se 0,2 mg/kg e 30 mg/kg que são valores de ED_{30} do composto preparado no exemplo de preparação 1 e metformina, respectivamente com uma relação desejada. As administrações foram realizadas nas faixas de: 0,045 ~ 0,36 mg/kg do composto preparado no exemplo de preparação 1 + 0,75 ~ 6 mg/kg de metformina em uma relação de 9:1, 0,042 ~ 0,33 mg/kg do composto preparado no exemplo de preparação 1 + 1,25 ~ 10 mg/kg de metformina em uma relação de 5:1, 0,025 ~ 0,2 mg/kg do composto preparado no exemplo de preparação 1 + 3,25 ~ 30 mg/kg de metformina em uma relação de 1:1, 0,0125 ~ 0,2 mg/kg do composto preparado no exemplo de preparação 1 + 5,625 ~ 45 mg/kg de metformina em uma relação de 1:3. Quando isto é aplicado a um adulto sadio (cerca de 70 kg), a dose corresponde a 0,88 ~ 25,2 mg do composto preparado no exemplo de preparação 1 e 52,5 ~ 3150 mg de metformina, e inclui uma dose clínica diária de metformina, que é 500 ~ 2000 mg.

[00128] Como um resultado de experimentos, os valores de ED_{30mix}/ED_{30add} de misturas em relações de 9:1, 5:1, 1:1, e 1:3 são 0,817, 0,437, 0,359, e 0,443, valores calculados com base em frações de cada valor de ED_{30} do composto preparado no exemplo de prepa-

ração 1 e metformina (Tabela 3). A partir deste resultado, ED_{30mix} foi calculada multiplicando-se a dose real de ED_{30add} correspondendo a cada relação com ED_{30mix}/ED_{30add} , e foi identificado que efeitos de melhora em tolerância à glicose sinérgica foram observados devido a $ED_{30mix} < ED_{30add}$ em todas as relações. Em particular, efeitos de melhora de 2 vezes ou mais em tolerância à glicose (ED_{30add}/ED_{30mix}) foram observados em misturas em relações de 5:1, 1:1, e 1:3. As interações de relações corretas selecionadas com base em frações de valores de ED_{30} de cada material são mostradas na tabela 3 e no isoblograma da figura 1.

Tabela 3 Efeitos sinérgicos de uma composição mista de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e metformina

Tabela 3

	Fração de valor de ED_{30}	ED_{30mix}	ED_{30add}	ED_{30mix}/ED_{30add}
	Composto do exemplo de preparação 1:metformina	Composto do exemplo de preparação 1:metformina (mg/kg, p.o.)	Composto do exemplo de preparação 1:metformina (mg/kg, p.o.)	
Exemplo 1-1	9:1	0,147 + 2,45 (A)	0,18 + 3 (A')	0,817
Exemplo 1-2	5:1	0,073 + 2,19 (B)	0,167 + 5 (B')	0,437
Exemplo 1-3	1:1	0,036 + 5,38 (C)	0,1 + 15 (C')	0,359
Exemplo 1-4	1:3	0,022 + 9,96 (D)	0,05 + 22,5 (D')	0,443

() indica uma posição no isoblograma na figura 1.

[00129] Além disso, a figura 2 mostra que a composição mista exibiu efeitos de melhora significantes em tolerância à glicose, comparado à porcentagem de inibição de cada material administrado sozinho.

[00130] Como um resultado, quando a relação é convertida em uma

relação de doses de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e metformina realmente administrados a animais, efeitos de melhora em tolerância à glicose foram observados sobre a ampla faixa de dose de 1:16,7 a 1:450.

1-2 Medição de efeitos sinérgicos de uma composição mista de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e metformina por administração única e por administração repetida em camundongos obesos

Sujeito experimental e método experimental

[00131] A fim de examinar os efeitos sinérgicos de um composto preparado no exemplo de preparação 1 da presente invenção e complexo de metformina por administração repetida, os efeitos da administração única a camundongos obesos sobre uma curva de mudança de glicose sanguínea de OGTT e de uma administração repetida de 2 semanas sobre a porcentagem de inibição de glicose sanguínea foram avaliados. Camundongos de obesidade induzida por dieta obtidos por suprimento de camundongos experimentais (C57BL/6 camundongos) com forragem de gordura elevada (60 kcal % de gordura, Research Diets, D12492) durante 5 meses foram usados como sujeitos experimentais. Metilcelulose a 0,5% (MC) foi usada para preparar uma suspensão do composto 1 preparado no exemplo de preparação 1 com uma composição de 0,1 mg/kg e 0,15 mg/kg. MC a 0,5% foi usada para preparar uma suspensão de metformina com uma composição de 7,5 mg/kg e 15 mg/kg. 6 mL/kg do complexo foram preparados em doses de (0,1 mg/kg de um composto preparado no exemplo de preparação 1 + 15 mg/kg de metformina)/5 mL e (0,15 mg/kg de um composto preparado no exemplo de preparação 1 + 7,5 mg/kg de metformina)/5 mL.

[00132] Camundongos obesos foram jejuados durante 16 a 17 horas antes dos experimentos, o sangue foi coletado de veias caudais de

camundongos na manhã do dia do experimento e o nível de glicose sanguínea foi medido com um medidor de glicose sanguínea ACCU-CHEK ACTIVE (Roche Diagnostics). A composição mista da presente invenção foi fornecida oralmente 30 min antes da administração de glicose (-30 min), seguido por administração oral de uma solução de glicose (2 g/kg/10 mL) após 30 min (0 min). A coleta de sangue foi feita em pontos do tempo designados--exatamente antes da administração de fármaco, exatamente antes da administração de glicose, e 15, 30, 60 e 90 min após a administração de glicose. O valor de porcentagem de inibição foi calculado calculando-se uma área sob a curva de cada grupo e comparando o valor com aquele de um grupo controle em que glicose foi administrada.

Medição de efeitos sinérgicos pela administração única de uma composição mista

[00133] A porcentagem de inibição pela administração única de cada fármaco administrado foi mostrada na seguinte tabela 4, tabela 5, e figura 3.

Tabela 4 Porcentagem de inibição de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e metformina

Tabela 4

Fármaco administrado e dose administrada (mg/kg)	Porcentagem de inibição (%)
Composto preparado no exemplo de preparação 1 0,1	2
Composto preparado no exemplo de preparação 1 0,15	3
Metformina 7,5	7
Metformina 15	11

Tabela 5 Porcentagem de inibição de uma composição mista de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e metformina

Tabela 5

	Fármaco administrado e dose administrada (mg/kg)	Porcentagem de inibição (%)
Exemplo 1-2	Composto preparado no exemplo de preparação 1 0,1 + Metformina 15	19
Exemplo 1-3	Composto preparado no exemplo de preparação 1 0,15 + Metformina 7,5	28

[00134] Para melhora na AUC de glicose sanguínea, porcentagens de inibição de 2% e 3% foram exibidas por um composto preparado no exemplo de preparação 1 em 0,1 mg/kg e 0,15 mg/kg, enquanto porcentagens de inibição de 7% e 11% foram exibidas por metformina em 7,5 mg/kg e 15 mg/kg. Ao contrário, AUCs de glicose sanguínea de complexos de um composto preparado no exemplo de preparação 1 em 0,1 mg/kg + metformina em 15 mg/kg e um composto preparado no exemplo de preparação 1 em 0,15 mg/kg + metformina em 7,5 mg/kg foram inibidas em 19% e 28%, respectivamente. Isto indica que os efeitos sinérgicos maiores do que a soma aritmética de administrações únicas de fármacos individuais foram observados (figura 3).

Efeitos sinérgicos por administração repetida

[00135] A porcentagem de inibição por administração repetida 2 semanas após a administração é mostrada na tabela 6, tabela 7, e figura 4.

Tabela 6 Porcentagem de inibição por administração de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e metformina

Tabela 6

Fármaco administrado e dose administrada (mg/kg)	Porcentagem de inibição (%)
Composto preparado no exemplo de preparação 1 0,1	2
Composto preparado no exemplo de preparação 1 0,15	15
Metformina 7,5	13
Metformina 15	14

Tabela 7 Porcentagem de inibição de uma composição mista de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e metformina

Tabela 7

	Fármaco administrado e dose administrada (mg/kg)	Porcentagem de inibição (%)
Exemplo 1-2	Composto preparado no exemplo de preparação 1 0,1 + Metformina 15	21
Exemplo 1-3	Composto preparado no exemplo de preparação 1 0,15 + Metformina 7,5	31

[00136] Glicose plasmática por administração de um composto preparado no exemplo de preparação 1 em 0,1 e 0,15 mg/kg foi melhorada em 2% e 15%, comparada a um grupo controle. Metformina em 7,5 e 15 mg/kg melhorou a glicose plasmática em 13% e 14%, comparada a um nível de um grupo controle. Ao contrário, complexos de um composto preparado no exemplo de preparação 1 em 0,1 mg/kg + metformina em 15 mg/kg ou um composto preparado no exemplo de preparação 1 em 0,15 mg/kg + metformina em 7,5 mg/kg melhoraram a glicose plasmática em 21% e 31%, respectivamente. Isto indica que efeitos sinérgicos maiores do que a soma aritmética de administrações únicas de fármacos individuais foram observados (figura 4).

[00137] Como um resultado, quando a relação é convertida em uma relação de doses de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e metformina realmente administrados a animais durante uma administração repetida, efeitos de melhora em eficácias sinérgicas foram observados sobre a ampla faixa de dose de 1:50 a 1:150.

Exemplo Experimental 2 Medição de efeitos sinérgicos por administração de uma composição mista de um composto de fórmula 1 e sensibilizador de insulina a camundongos obesos

2-1 Medição de efeitos sinérgicos por administração repetida de uma composição mista de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e rosiglitazona a camundongos obesos

Sujeito experimental e método experimental

[00138] A fim de examinar os efeitos sinérgicos de um complexo por um composto preparado no exemplo de preparação 1 da presente invenção e um agonista de PPAR γ sensibilizador de insulina, a porcentagem de inibição de glicose sanguínea por administração repetida do complexo a camundongos db/db como camundongos diabéticos foi avaliada. Camundongos machos de oito semanas de idade (camundongos db/db) foram usados como sujeitos experimentais. Sabe-se que rosiglitazona é um fármaco de série de TZD que tem o mesmo núcleo origem como pioglitazona que é atualmente usada na prática clínica e regula a glicose sanguínea através do mesmo mecanismo, e a dose na presente avaliação foi selecionada como 0,4 mg/kg em retribuição por uma relação essencial de dose clínica com base em ED₃₀ com respeito à redução de glicose sanguínea em um experimento de camundongo diabético. A dose de um composto preparado no exemplo de preparação 1 com respeito à rosiglitazona em uma dose fixa foi selecionada em 1 mg/kg e 40 mg/kg (relação de complexo 1:0,01~1:0,4) em retribuição por uma relação de complexo em uma dose clínica esperada. Uma vez que a relação de complexo de 1:0,01 ou menos a 1:0,4 ou mais é um valor divergindo de uma dose clínica diária de rosiglitazona e existe preocupação em torno da possibilidade de eficácia pobre ou efeitos colaterais adversos, a relação de complexo foi limitada a 1:0,01~1:0,4. Metilcelulose a 0,5% (MC) foi usada em cada concentração de fármaco para preparar suspensões. Cada composto foi pesado, e metilcelulose a 0,5% foi usada para preparar 5 mL/kg de suspensões com cada composição de (1 mg do composto preparado no exemplo de preparação 1 + 0,4 mg de rosiglitazona)/5 mL e (40 mg do composto preparado no exemplo de preparação 1 + 0,4 mg de rosiglitazona)/5 mL.

[00139] O fármaco foi oralmente fornecido a camundongos diabéti-

cos e o sangue foi coletado de veias caudais dos camundongos após 1 hora da administração para medir a glicose sanguínea com um medidor de glicose sanguínea ACCU-CHEK ACTIVE (Roche Diagnostics). O valor de porcentagem de inibição com respeito à glicose sanguínea foi calculado por comparação com um grupo controle.

Medição de efeitos sinérgicos por administração

[00140] Resultados experimentais a cerca da porcentagem de inibição de glicose sanguínea em comparação com um grupo controle por administração do fármaco durante 7 dias são mostrados na seguinte tabela 8, tabela 9, e Figura 5.

Tabela 8 Porcentagem de inibição durante administração de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e rosiglitazona

Tabela 8

Fármaco administrado e dose administrada (mg/kg)	Porcentagem de inibição (%)
Composto preparado no exemplo de preparação 1 1	21
Composto preparado no exemplo de preparação 1 40	11
Rosiglitazona 0,4	10

Tabela 9 Porcentagem de inibição durante administração de uma composição mista de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e rosiglitazona

Tabela 9

	Fármaco administrado e dose administrada (mg/kg)	Porcentagem de inibição (%)
Exemplo 2-1	Composto preparado no exemplo de preparação 1 1 + Rosiglitazona 0,4	49
Exemplo 2-2	Composto preparado no exemplo de preparação 1 40 + Rosiglitazona 0,4	79

[00141] As porcentagens de inibição de glicose sanguínea por administração de um composto preparado no exemplo de preparação 1 em 1 mg/kg e 40 mg/kg comparado a um grupo controle foram calculadas como 21% e 11%, respectivamente, e melhora de 10% foi feita

por administração de um agonista de PPAR γ rosiglitazona em 0,4 mg/kg. Além disso, melhoras em complexos de um composto preparado no exemplo de preparação 1 em 1 mg/kg + rosiglitazona em 0,4 mg/kg ou um composto preparado no exemplo de preparação 1 em 40 mg/kg + rosiglitazona em 0,4 mg/kg foram calculadas como 49% e 79%, respectivamente. Isto indica que efeitos sinérgicos maiores do que a soma aritmética de administrações únicas de fármacos individuais foram observados (figura 5).

[00142] Como um resultado, quando a relação é convertida em uma relação de doses de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e um agonista de PPAR γ rosiglitazona realmente administrados a camundongos diabéticos, efeitos de melhora em eficácias sinérgicas foram observados sobre a faixa de dose de 1:0,01 a 1:0,4.

Exemplo Experimental 3 Medição de efeitos sinérgicos de uma composição mista de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e secretagogo de insulina

3-1 Medição de efeitos sinérgicos de uma composição mista de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e glimepirida por administração única

Sujeito experimental e método experimental

[00143] A fim de examinar os efeitos sinérgicos de um complexo de um composto preparado no exemplo de preparação 1 da presente invenção e um fármaco de série de sulfonil ureia secretagogo de insulina, as porcentagens de inibição de curvas de mudança de glicose sanguínea de OGTT de administração única por materiais individuais e complexos foram avaliadas. Camundongos experimentais machos de 8 semanas de idade (C57BL/6 camundongos) foram usados e jejuados durante 16 a 17 horas antes dos experimentos. O sangue foi coletado de veias caudais de camundongos na manhã do dia do experimento e o nível de glicose sanguínea foi medido com um medidor de glicose

sanguínea ACCU-CHEK ACTIVE (Roche Diagnostics). A composição mista da presente invenção foi fornecida oralmente 30 min antes da administração de glicose (-30 min), seguido por administração oral de uma solução de glicose (2 g/kg/10 mL) após 30 min (0 min). A coleta de sangue foi feita em pontos do tempo designados--exatamente antes da administração de fármaco, exatamente antes da administração de glicose, e 15, 30, 60 e 90 min após a administração de glicose. O valor de porcentagem de inibição foi calculado calculando-se uma área sob a curva de cada grupo, exceto para um grupo em que glicose não foi administrada, e comparando o valor com aquele de um grupo controle em que glicose foi administrada. A fim de avaliar os efeitos sinérgicos ou aditivos por complexo na presente avaliação, metilcelulose a 0,5% (MC) foi usada para preparar uma suspensão com a dose de um composto preparado no exemplo de preparação 1 em 0,1 mg/kg, e MC a 0,5% foi também usada para preparar uma suspensão com uma composição de um fármaco de série de sulfonil ureia secretagogo de insulina e glimepirida em 0,02 mg/kg e 0,32 mg/kg de modo que uma relação de complexo possa ser incluída em uma dose clínica esperada em um estado fixo de um composto preparado no exemplo de preparação 1. Glimepirida é um fármaco que promove a secreção de insulina do pâncreas com o mesmo mecanismo como glipizida, glibenclamida, e similares. Um complexo do mesmo foi preparado em 10 mL por kg pesando-se compostos individuais e misturando os compostos com cada composição ((um composto preparado no exemplo de preparação 1 0,1 mg + glimepirida 0,02 mg)/10 mL e (um composto preparado no exemplo de preparação 1 0,1 mg + glimepirida 0,32 mg)/10 mL)). Quando a relação de mistura é 1:0,2 ou menos, ou 1:3,2 ou mais, eficácia pobre ou efeitos colaterais adversos podem ocorrer. Desse modo, a relação de mistura de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e glimepirida foi fixada em 1:0,2~1:3,2.

Medição de efeitos sinérgicos por administração

[00144] Resultados experimentais da porcentagem de inibição de glicose sanguínea em comparação com um grupo controle em experimentos são mostrados na seguinte tabela 10, tabela 11, e figura 6.

Tabela 10 Porcentagem de inibição por administração de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e glimepiridaTabela 10

Fármaco administrado e dose administrada (mg/kg)	Porcentagem de inibição (%)
Composto preparado no exemplo de preparação 1 0,1	7,7
Glimepirida 0,02	-3,69
Glimepirida 0,32	10,9

Tabela 11 Porcentagem de inibição por administração de uma composição mista de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e glimepiridaTabela 11

	Fármaco administrado e dose administrada (mg/kg)	Porcentagem de inibição (%)
Exemplo 3-1	Um composto preparado no exemplo de preparação 1 0,1 + Glimepirida 0,02	20,2
Exemplo 3-2	Um composto preparado no exemplo de preparação 1 0,1 + Glimepirida 0,32	48,7

[00145] Como um resultado do experimento, 7,7% de porcentagem de inibição foram exibidos no caso de um composto 1 preparado no exemplo de preparação 1 em 0,1 mg/kg em comparação com um grupo controle. Quando glimepirida foi usada em 0,02 mg/kg e 0,32 mg/kg, a porcentagem de inibição de glicose sanguínea foi calculada em -3,69% e 10,9%, respectivamente, comparada a um grupo controle. Além disso, quando complexos de um composto preparado no exemplo de preparação 1 em 0,1 mg/kg + glimepirida em 0,02 mg/kg e um composto preparado no exemplo de preparação 1 em 0,1 mg/kg + glimepirida em 0,32 mg/kg foram usados, a porcentagem de inibição

foi calculada como 20,2% e 48,7%, respectivamente. Isto indica que efeitos sinérgicos maiores do que a soma aritmética de administrações únicas de fármacos individuais foram observados (figura 6).

[00146] Em resumo, melhoras em efeitos sinérgicos foram observadas sobre a relação de dose de 1:0,2 a 1:3,2 de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e glimepirida.

Exemplo Experimental 4 Medição de efeitos sinérgicos de uma composição mista de um composto de fórmula 1 e inibidor de α -glicosidase

4-1 Medição de efeitos sinérgicos por administração de uma composição mista de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e voglibose

Sujeito experimental e método experimental

[00147] A fim de examinar os efeitos sinérgicos de um composto preparado no exemplo de preparação 1 da presente invenção e um fármaco de série de inibidor de α -glicosidase complexando-se fármacos, a porcentagem de inibição em uma curva de mudança de glicose sanguínea de teste de tolerância à sacarose oral de administração única por materiais individuais e um complexo dos mesmos foi avaliada. Camundongos experimentais machos de 8 semanas de idade (C57BL/6 camundongos) foram usados como sujeitos experimentais. Os camundongos foram jejuados durante 16 a 17 horas antes dos experimentos. O sangue foi coletado de veias caudais de camundongos na manhã do dia do experimento e o nível de glicose sanguínea foi medido com um medidor de glicose sanguínea ACCU-CHEK ACTIVE (Roche Diagnostics). A composição farmacologicamente mista da presente invenção foi fornecida oralmente 30 min antes da administração de sacarose (-30 min), seguido por administração oral de uma solução de glicose (2 g/kg/10 mL) após 30 min (0 min). A coleta de sangue foi feita em pontos do tempo designados--exatamente antes da adminis-

tração de fármaco, exatamente antes da administração de sacarose, e 15, 30, 60, 90, e 120 min após a administração de sacarose. O valor de porcentagem de inibição foi calculado calculando-se uma área sob a curva de cada grupo, exceto para um grupo em que sacarose não foi administrada, e comparando o valor com aquele de um grupo controle em que sacarose foi administrada. A fim de avaliar os efeitos sinérgicos ou aditivos por complexos na presente avaliação, metilcelulose a 0,5% (MC) foi usada para preparar uma suspensão com um composto preparado no exemplo de preparação 1 em uma dose de 0,3 mg/kg, e MC a 0,5% foi também usada para preparar uma suspensão com uma composição de um inibidor de α -glicosidase e voglibose em 0,009 mg/kg e 0,054 mg/kg (relação de complexo 1:0,03~1:0,18) de modo que uma relação de complexo possa ser incluída em uma dose clínica esperada em um estado onde uma dose de um composto preparado no exemplo de preparação 1 foi fixada. Voglibose é um fármaco com o mesmo mecanismo como acarbose, e fármacos individuais foram pesados para ter uma composição ((um composto preparado no exemplo de preparação 1 0,3 mg + voglibose 0,009 mg)/10 mL e (um composto preparado no exemplo de preparação 1 0,3 mg + voglibose 0,054 mg)/10 mL e preparar 10 mL por kg de uma suspensão. Quando a relação de mistura é 1:0,03 ou menos, ou 1:0,18 ou mais, eficácia pobre ou efeitos colaterais adversos podem ocorrer. Desse modo, a relação de mistura foi fixada em 1:0,03~1:0,18.

Efeitos sinérgicos por administração

[00148] Resultados experimentais da porcentagem de inibição de glicose sanguínea em comparação com um grupo controle em experimentos são mostrados na tabela 12, tabela 13, e figura 7.

Tabela 12 Porcentagem de inibição durante administração de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e voglibose

Tabela 12

Fármaco administrado e dose administrada (mg/kg)	Porcentagem de inibição (%)
Um composto preparado no exemplo de preparação 1 0,3	12
Voglibose 0,009	1
Voglibose 0,054	53

Tabela 13 Porcentagem de inibição durante administração de uma composição mista de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e vogliboseTabela 13

	Fármaco administrado e dose administrada (mg/kg)	Porcentagem de inibição (%)
Exemplo 4-1	Um composto preparado no exemplo de preparação 1 0,3 + Voglibose 0,009	25
Exemplo 4-2	Um composto preparado no exemplo de preparação 1 0,3 + Voglibose 0,054	65

[00149] Como um resultado do experimento, 12% de porcentagem de inibição foram exibidos no caso de um composto 1 preparado no exemplo de preparação 1 em 0,3 mg/kg em comparação com um grupo controle. Quando voglibose foi usada em 0,009 mg/kg e 0,054 mg/kg, a porcentagem de inibição de glicose sanguínea foi calculada em 1% e 53%, respectivamente, comparada a um grupo controle. Além disso, quando complexos de um composto preparado no exemplo de preparação 1 em 0,3 mg/kg + voglibose em 0,009 mg/kg e um composto preparado no exemplo de preparação 1 em 0,3 mg/kg + voglibose em 0,054 mg/kg foram usados, a porcentagem de inibição foi calculada como 25% e 65,7%, respectivamente. Isto indica que efeitos sinérgicos ou aditivos maiores do que a soma aritmética de administrações únicas de fármacos individuais foram observados (figura 7).

[00150] Em resumo, melhoras em efeitos sinérgicos ou aditivos foram observadas sobre a ampla relação de dose de 1:0,03 a 1:0,18 de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e voglibose.

Exemplo Experimental 5 Medição de efeitos sinérgicos de uma composição mista de um composto de fórmula 1 e antagonista de receptor canabinoide do tipo 1

5-1 Efeitos sinérgicos de uma composição mista de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e rimonabanto com respeito a uma curva de mudança de glicose sanguínea de OGTT por administração repetida

Sujeito experimental e método experimental

[00151] A fim de examinar os efeitos sinérgicos por administração repetida de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e antagonista de receptor canabinoide do tipo 1, efeitos de administração de 4 semanas a camundongos obesos sobre uma curva de mudança de glicose sanguínea de OGTT e sobre a massa de gordura foram avaliados. Camundongos de obesidade induzida por dieta obtidos por suprimento de camundongos experimentais (C57BL/6 camundongos) com forragem de gordura elevada (60 kcal % de gordura, Research Diets, D12492) durante 5 meses foram usados como sujeitos experimentais. Metilcelulose a 0,5% (MC) foi usada para preparar uma suspensão do composto 1 preparado no exemplo de preparação 1 com uma composição de 0,3 mg/kg que é suposta ser uma dose de eficácia efetiva mínima e 3 mg/kg. MC a 0,5% foi usada para preparar uma suspensão de rimonabanto, um antagonista de receptor canabinoide do tipo 1 com uma composição de 3 mg/kg. Rimonabanto tem a mesma estrutura de núcleo origem como um antagonista de receptor canabinoide do tipo 1, tais como Otenabante, Ibinabante, e Surinabante, e 5 mL/kg do complexo do mesmo foram preparados em doses de (0,3 mg de um composto preparado no exemplo de preparação 1 + 3 mg de rimonabanto)/5 mL e (3 mg de um composto preparado no exemplo de preparação 1 + 3 mg/kg de rimonabanto)/5 mL. Quando a relação de mistura é 1:0,1 ou menos, ou 1:1 ou mais, a dose pode ex-

ceder uma dose clínica diária de rimonabanto ou eficácia pobre pode ocorrer. Desse modo, a relação de mistura foi fixada em 1:1~1:10.

[00152] Camundongos obesos foram jejuados durante 16 a 17 horas antes dos experimentos, o sangue foi coletado de veias caudais de camundongos na manhã do dia do experimento e o nível de glicose sanguínea foi medido com um medidor de glicose sanguínea ACCUCHEK ACTIVE (Roche Diagnostics). A composição farmacologicamente mista da presente invenção foi fornecida oralmente 30 min antes da administração de glicose (-30 min), seguido por administração oral de uma solução de glicose (2 g/kg/10 mL) após 30 min (0 min). A coleta de sangue foi feita em pontos do tempo designados--exatamente antes da administração de fármaco, exatamente antes da administração de glicose, e 15, 30, 60, 90, e 120 min após a administração de glicose. O valor de porcentagem de inibição foi calculado calculando-se uma área sob a curva de cada grupo e comparando o valor com aquele de um grupo controle em que glicose foi administrada.

Efeitos sinérgicos por administração

[00153] Resultados experimentais da porcentagem de inibição de glicose sanguínea em comparação com um grupo controle em experimentos são mostrados na tabela 14, tabela 15, e figura 8.

Tabela 14 Porcentagem de inibição de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e rimonabanto por administração

Tabela 14

Fármaco administrado e dose administrada (mg/kg)	Porcentagem de inibição (%)
Um composto preparado no exemplo de preparação 1 0,3	18,2
Um composto preparado no exemplo de preparação 1 3	35,3
Rimonabanto 3	1,1

Tabela 15 Porcentagem de inibição de uma composição mista de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e rimonabanto por

administraçãoTabela 15

	Fármaco administrado e dose administrada (mg/kg)	Porcentagem de inibição (%)
Exemplo 5-1	Um composto preparado no exemplo de preparação 1 0,3 + Rimonabanto 3	32,8
Exemplo 5-2	Um composto preparado no exemplo de preparação 1 3 + Rimonabanto 3	30,7

[00154] A AUC sanguínea por 0,3 mg/kg e 3 mg/kg de um composto preparado no exemplo de preparação 1 foi inibida em 18,2% e 35,3% comparada a um grupo controle. A AUC sanguínea por 3 mg/kg de rimonabanto foi inibida em 1,1%, comparada a um grupo controle. Ao contrário, a AUC sanguínea por 0,3 mg/kg de um composto preparado no exemplo de preparação 1 + 3 mg/kg de rimonabanto ou 3 mg/kg de um composto preparado no exemplo de preparação 1 + 3 mg/kg de rimonabanto foi inibida em 32,8% e 30,7%, respectivamente. Desse modo, os efeitos sinérgicos ou aditivos foram observados (figura 8).

5-2 Redução de efeitos de massa de gordura por administração repetida de uma composição mista de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e rimonabanto

Sujeito experimental e método experimental

[00155] Experimentos foram realizados no sujeito experimental e fármaco experimental da mesma maneira como no exemplo experimental 5-1, a massa de gordura foi calculada como uma soma de gordura epididimal e gordura retroperitoneal, e a massa de gordura 4 semanas após a administração foi medida.

[00156] Os resultados são mostrados nas seguintes tabelas 16 e 17.

Tabela 16 Efeitos de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e rimonabanto sobre a redução de massa de gordura

Tabela 16

Grupo experimental	Massa de gordura (g)	% de redução
Grupo controle HF-DIO	3,61 ± 0,20	-
Um composto preparado no exemplo de preparação 1 0,3 mg/kg	3,67 ± 0,12	-1,65
Um composto preparado no exemplo de preparação 1 3 mg/kg	3,29 ± 0,21	8,71
Rimonabanto 3 mg/kg	2,11 ± 0,31*	41,5

*P>0,05 vs. grupo controle HF-DIO

Tabela 17 Efeitos de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e rimonabanto sobre a redução de massa de gordura

Tabela 17

	Grupo experimental	Massa de gordura (g)	% de redução
Exemplo 5-1	Um composto preparado no exemplo de preparação 1 0,3 mg/kg + Rimonabanto 3 mg/kg	2,09 ± 0,32*	42,1
Exemplo 5-2	Um composto preparado no exemplo de preparação 1 3 mg/kg + Rimonabanto 3 mg/kg	1,76 ± 0,35*	51,2

*P>0,05 vs. grupo controle HF-DIO

[00157] Após 4 semanas de administração, a massa de gordura por administração de um composto preparado no exemplo de preparação 1 em 0,3 mg/kg ou 3 mg/kg foi reduzida em -1,65% e 8,71%, respectivamente, enquanto a massa de gordura por administração de um antagonista de receptor canabinoide do tipo 1 em 3 mg/kg foi reduzida em 41,5%. Além disso, a massa de gordura por administração de um composto preparado no exemplo de preparação 1 em 0,3 mg/kg + um antagonista de receptor canabinoide do tipo 1 em 3 mg/kg ou um composto preparado no exemplo de preparação 1 em 3 mg/kg + um antagonista de receptor canabinoide do tipo 1 em 3 mg/kg foi reduzida em 42,1% e 51,2%, respectivamente. Desse modo, efeitos aditivos foram

observados.

[00158] Consequentemente, efeitos de eficácia sinérgicos ou aditivos de melhora de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e um antagonista de receptor canabinoide do tipo 1 foram observados sobre camundongos obesos sobre a relação de dose de 1:1 a 1:10.

Exemplo de Formulação Preparação de uma preparação farmacêutica

1-1 Preparação de pó

[00159] Uma composição mista de um composto preparado no exemplo de preparação 1

e metformina	2 g
Lactose	1 g

[00160] Os ingredientes acima são misturados e carregados em uma bolsa hermética para preparar uma formulação em pó.

1-2 Preparação de formulação de comprimido

[00161] Uma composição mista de um composto preparado no exemplo de preparação 1

e metformina	100 mg
Amido de milho	100 mg
Lactose	100 mg
Estearato de magnésio	2 mg

[00162] Os ingredientes acima são misturados e em seguida prensados de acordo com um método de preparação convencional para preparar uma formulação de comprimido.

1-3 Preparação de formulação de cápsula

[00163] Uma composição mista de um composto preparado no exemplo de preparação 1

e metformina	100 mg
Amido de milho	100 mg
Lactose	100 mg

Estearato de magnésio 2 mg

[00164] Os ingredientes acima foram misturados, e em seguida selados em uma cápsula de gelatina de acordo com um método de preparação convencional para preparar uma formulação de cápsula.

1-4 Preparação de solução de injeção

[00165] Uma composição mista de um composto preparado no exemplo de preparação 1 e

metformina 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$

Ácido clorídrico diluído BP adicionado
até alcançar pH 3,5

Cloreto de sódio BP para injeção Max. 1 ml

[00166] Após dissolver o derivado de 7α -aminoesteroide de fórmula 1 em cloreto de sódio BP para injeção tendo um volume apropriado, o pH da solução formada foi ajustado para pH 3,5 com ácido clorídrico diluído BP. O volume da solução foi controlado com cloreto de sódio BP para injeção, e em seguida suficientemente misturado. Após carregar a solução em uma ampola tipo I de 5 ml feita de vidro transparente, a ampola foi selada fundindo-se a parte vazia superior da ampola, e esterilizada durante mais do que 15 minutos a 120°C em uma autoclave para preparar uma solução de injeção.

[00167] Embora as modalidades preferidas da presente invenção tenham sido descritas para propósitos ilustrativos, aqueles versados na técnica apreciarão que várias modificações, adições e substituições são possíveis, sem afastar-se do escopo e espírito da invenção como descrito nas reivindicações acompanhantes.

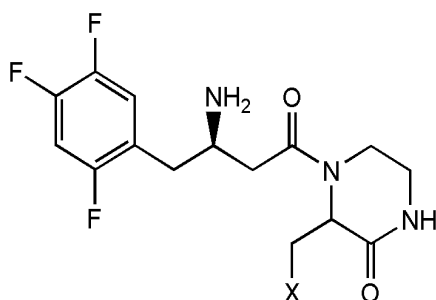
REIVINDICAÇÕES

1. Composição farmacêutica para a prevenção e tratamento de diabetes ou obesidade, caracterizada pelo fato de que compreende como ingredientes ativos:

(1) um composto representado pela seguinte fórmula 1 ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo, e

(2) um ou mais outros agentes antidiabéticos ou antiobesidade, em que os outros agentes antidiabéticos ou antiobesidade são selecionados do grupo consistindo em Biguanidas, sensibilizadores de insulina, secretagogos de insulina, inibidores de α -glucosidase e antagonistas do receptor canabinoide do tipo 1,

<Fórmula 1>



(onde, X é OR^1 , SR^1 , ou NR^1R^2 , em que R^1 e R^2 são independentemente uma $C_1\sim C_5$ alquila inferior, ou R^1 e R^2 de NR^1R^2 podem formar um anel de 5 membros a 7 membros contendo um elemento hetero de O).

2. Composição de acordo com reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o composto representado pela fórmula 1 é selecionado do grupo consistindo em:

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

3. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o sal farmacologicamente aceitável é selecionado do grupo consistindo em ácido acético, ácido benzenossulfônico, ácido benzoico, ácido canforsulfônico, ácido cítrico, ácido etanossulfônico, ácido fumárico, ácido glucônico, ácido glutâmico, ácido bromídrico, ácido clorídrico, ácido isetiônico, ácido láctico, ácido maleico, ácido málico, ácido mandélico, ácido metanossulfônico, ácido múico, ácido nítrico, ácido pamoico, ácido pantotênico, ácido fosfórico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido tartárico, ácido p-tolueno sulfônico, e ácido adípico.

4. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o composto representado pela seguinte fórmula 1 ou o sal farmacologicamente aceitável do mesmo é um inibidor de Dipeptidil Peptidase-IV (DPP-IV).

5. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que os outros agentes antidiabéticos ou antiobesidade são Biguanidas.

6. Composição de acordo com a reivindicação 5,

caracterizada pelo fato de que a Biguanida é metformina, buformina ou fenformina.

7. Composição de acordo com a reivindicação 5, caracterizada pelo fato de que compreende 16,7 a 450 partes por peso da Biguanida com base em 1 parte por peso do composto 1 representado pela fórmula 1.

8. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que os outros agentes antidiabéticos ou antiobesidade são sensibilizadores de insulina.

9. Composição de acordo com a reivindicação 8, caracterizada pelo fato de que o sensibilizador de insulina tem uma estrutura de tiazolidin-diona (TZD).

10. Composição de acordo com a reivindicação 8, caracterizada pelo fato de que o sensibilizador de insulina é selecionado do grupo consistindo em troglitazona, ciglitazona, rosiglitazona, pioglitazona e englitazona.

11. Composição de acordo com a reivindicação 8, caracterizada pelo fato de que a composição farmacêutica compreende 0,01 a 0,4 partes por peso do sensibilizador de insulina com base em 1 parte por peso do composto representado pela fórmula 1.

12. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que os outros agentes antidiabéticos ou antiobesidade são secretagogos de insulina.

13. Composição de acordo com a reivindicação 12, caracterizada pelo fato de que o secretagogo de insulina é selecionado do grupo consistindo em glibenclamida (gliburida), glipizida, gliclazida, glimepirida, tolazamida, tolbutamida, acetoexamida, carbutamida, clorpropamida, glibornurida, gliquidona, glisentida, glisolamida, glisoxepida, gliclopiamida, glicilamida, glipentida, repaglinida e

nateglinida.

14. Composição de acordo com a reivindicação 12, caracterizada pelo fato de que compreende 0,2 a 3,2 partes por peso do secretagogo de insulina com base em 1 parte por peso do composto representado pela fórmula 1.

15. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que os outros agentes antidiabéticos ou antiobesidade são inibidores de alfa-glicosidase.

16. Composição de acordo com a reivindicação 15, caracterizada pelo fato de que o inibidor de alfa-glicosidase é selecionado do grupo consistindo em acarbose, voglibose, emiglitate e miglitol.

17. Composição de acordo com a reivindicação 15, caracterizada pelo fato de que compreende 0,03 a 0,18 partes por peso do inibidor de alfa-glicosidase com base em 1 parte por peso do composto representado pela fórmula 1.

18. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que os outros agentes antidiabéticos ou antiobesidade são antagonistas do receptor canabinoide do tipo 1.

19. Composição de acordo com a reivindicação 18, caracterizada pelo fato de que o antagonista do receptor canabinoide do tipo 1 é selecionado do grupo consistindo em Rimonabante, Otenabante, Ibinabante e Surinabante.

20. Composição de acordo com a reivindicação 18, caracterizada pelo fato de que compreende 1 a 10 partes por peso do antagonista do receptor canabinoide do tipo 1 com base em 1 parte por peso do composto representado pela fórmula 1.

21. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o composto representado pela seguinte fórmula 1 ou o sal farmacêuticamente aceitável do mesmo e os outros

agentes antidiabéticos ou antiobesidade são pré-misturados para formulação ou separadamente formulados.

22. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a composição farmacêutica é formulada para ser oralmente administrada.

FIG. 1

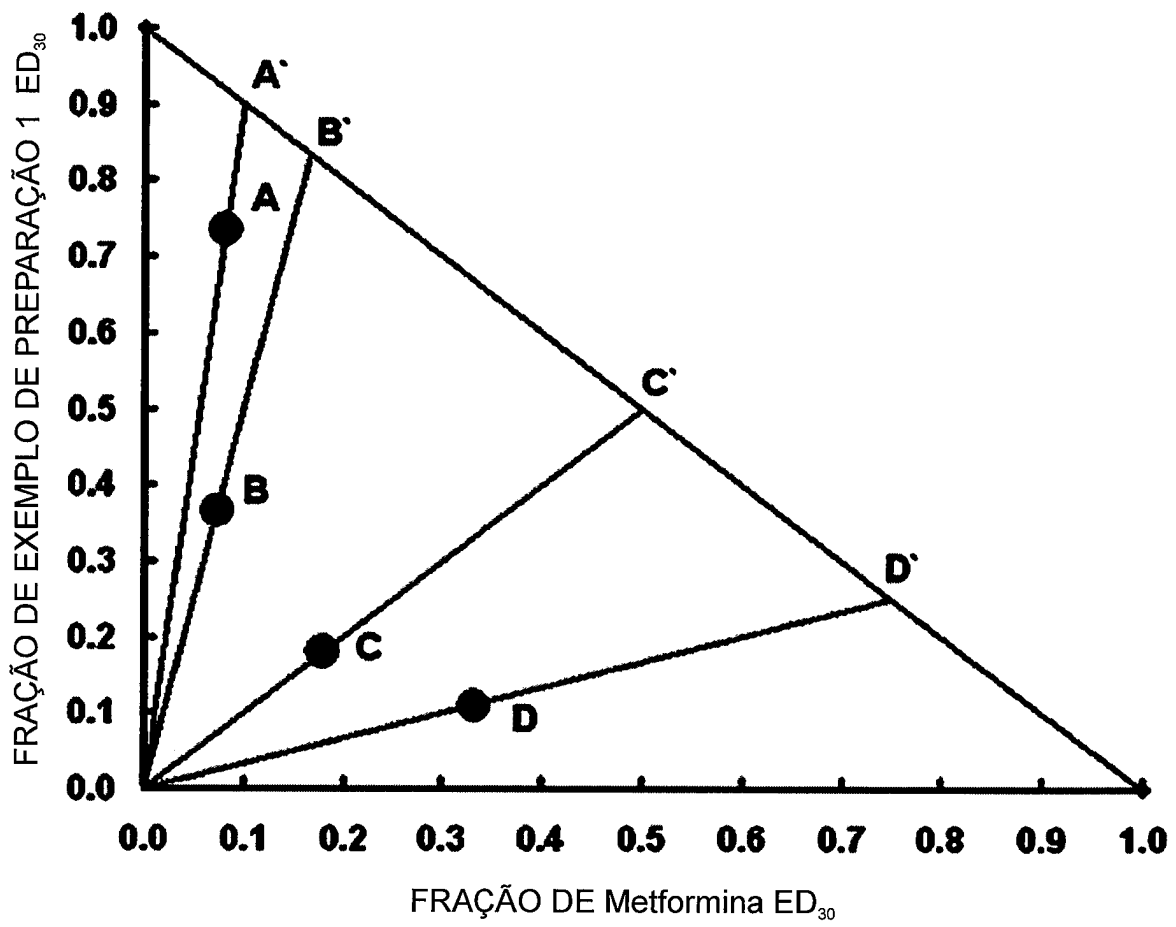


FIG. 2

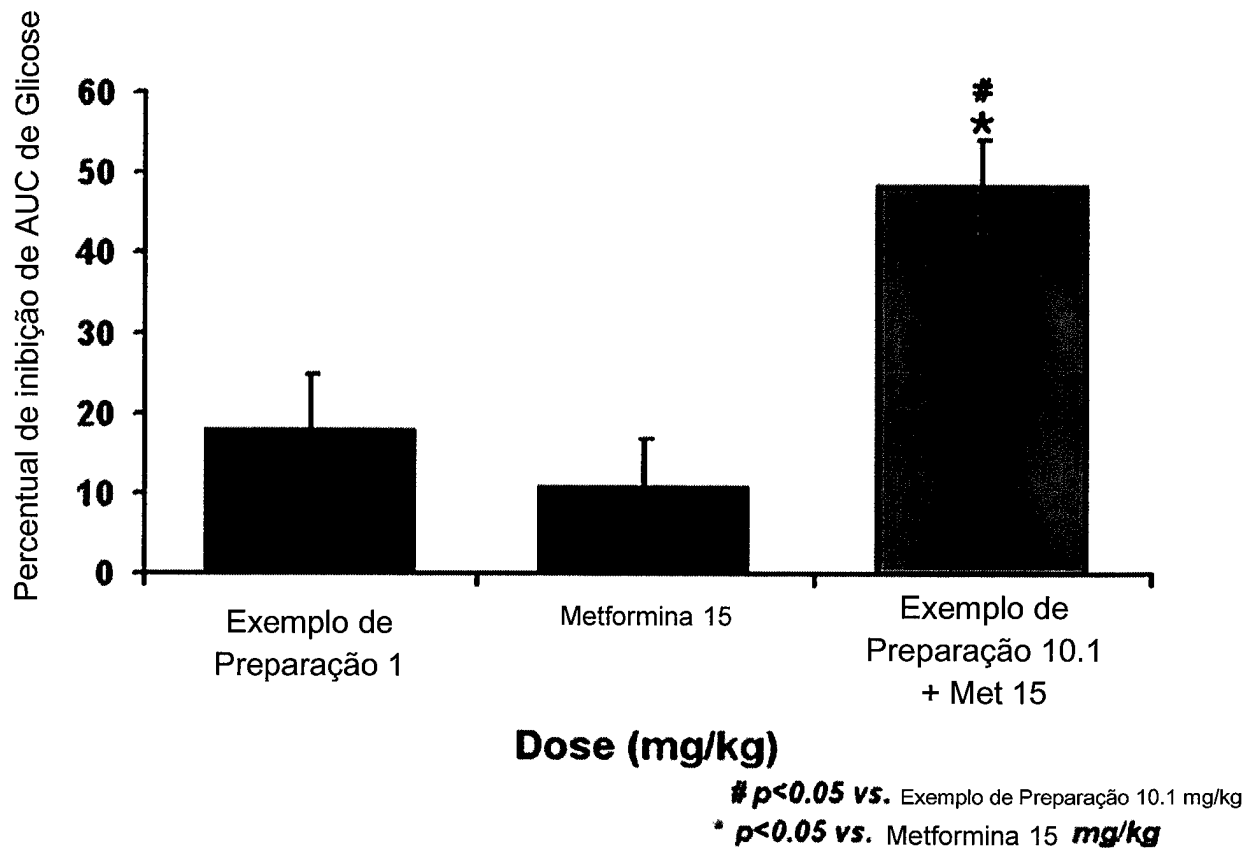


FIG. 3

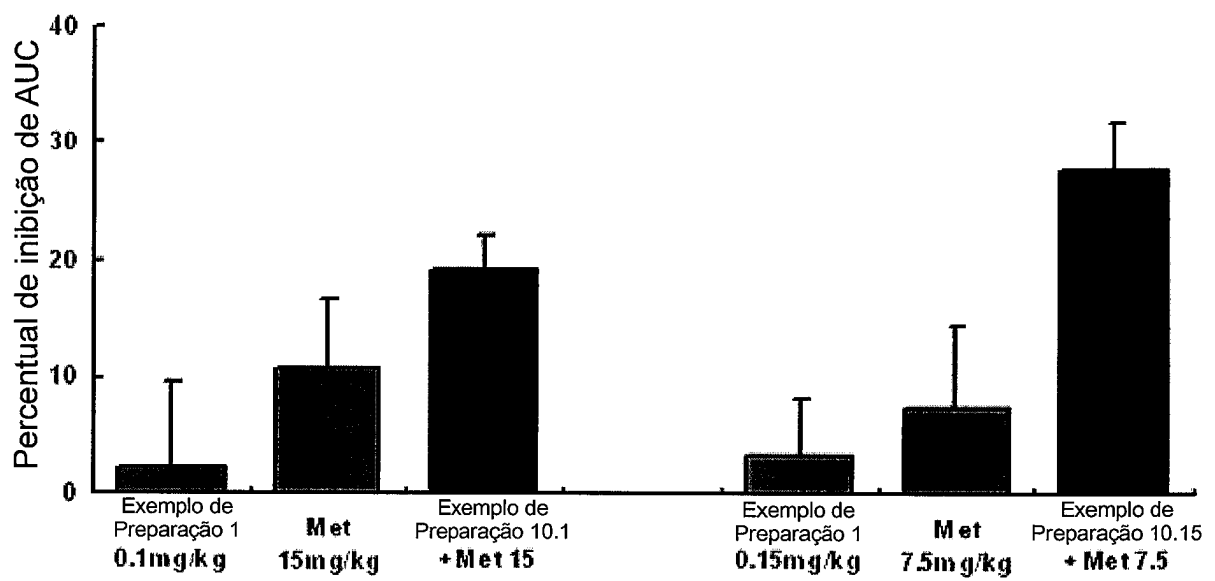
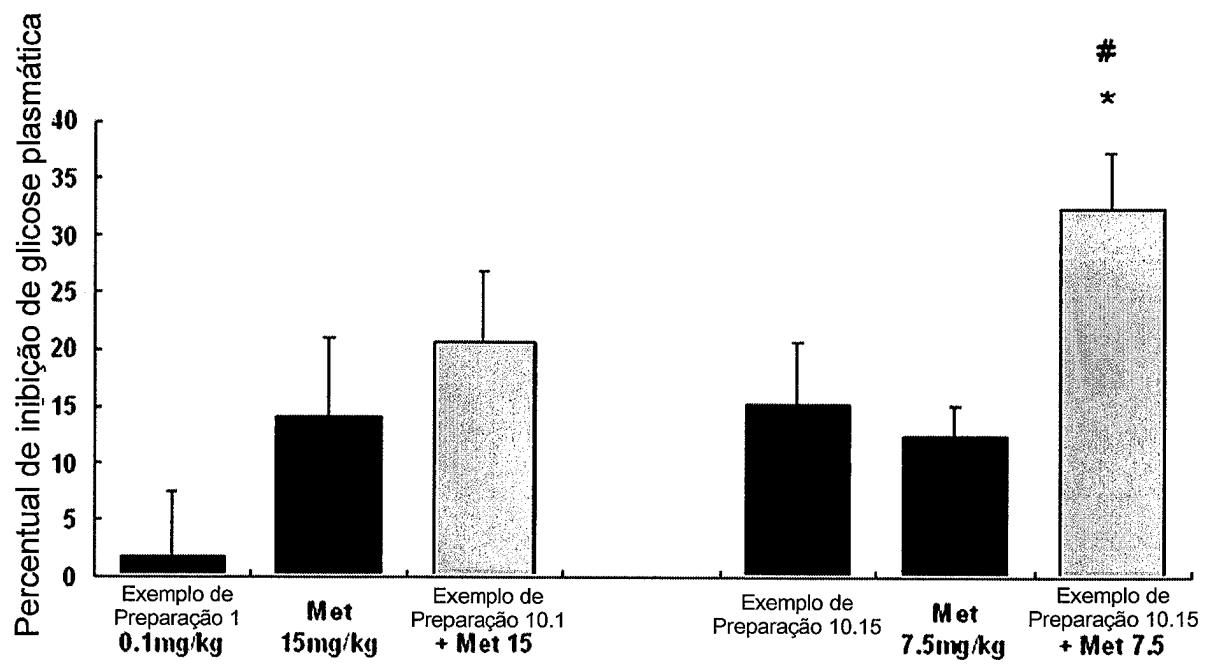


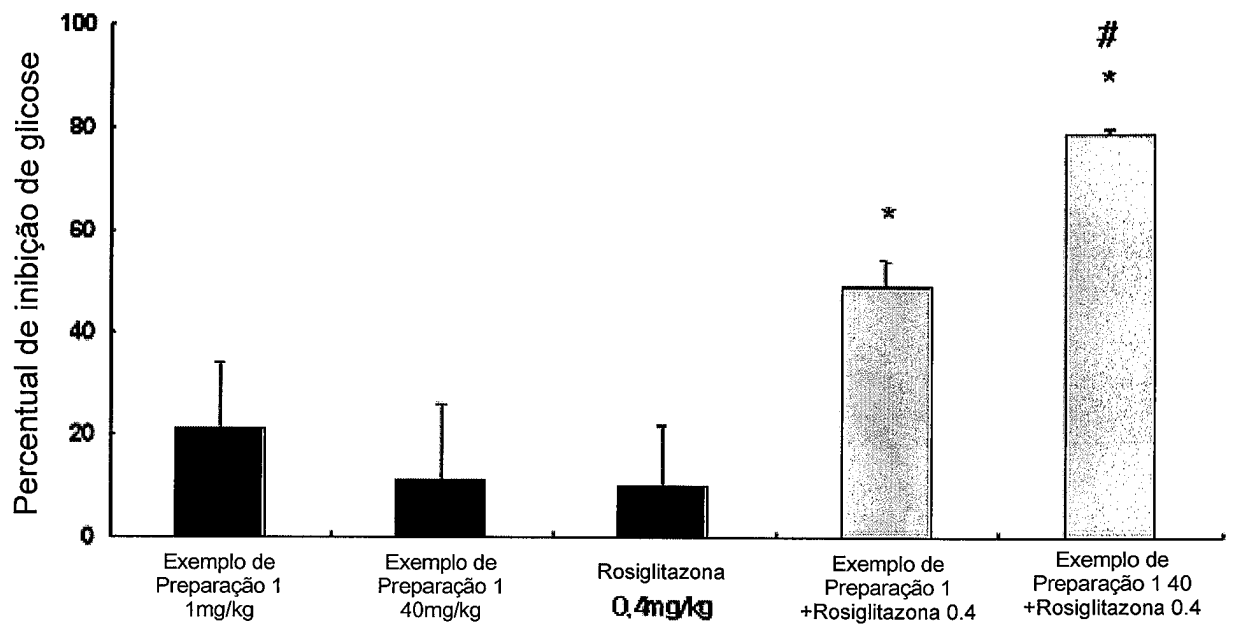
FIG. 4



#P<0.05 vs.Exemplo de Preparação 10.15 mg/kg

*P<0.05 vs. Met 7.5mg/kg

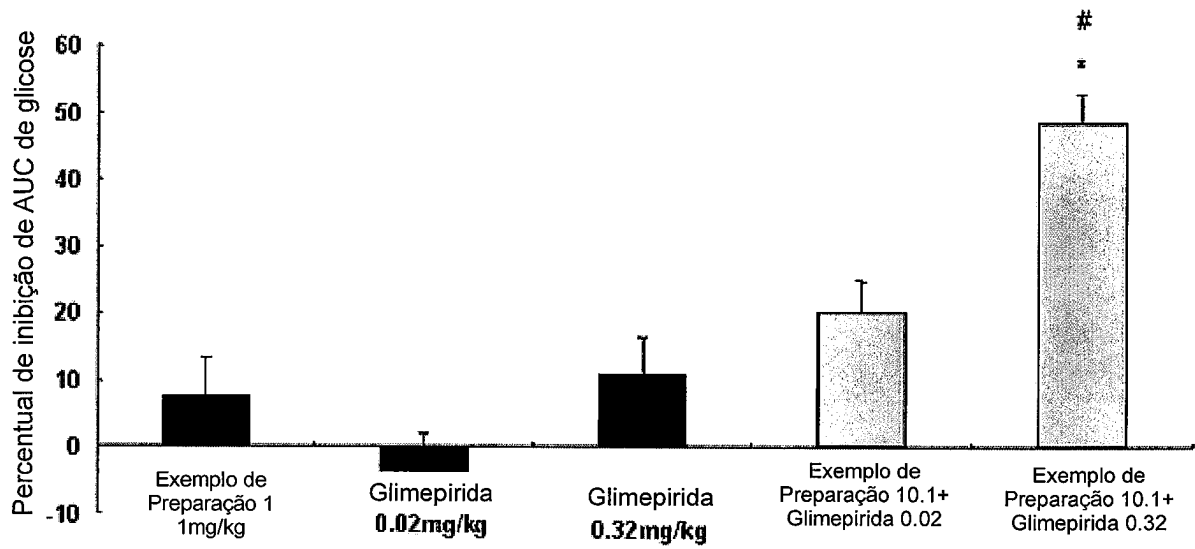
FIG. 5



#P<0.05 vs. Exemplo de Preparação 40 mg/kg

*P<0.05 vs. Rosiglitazona 0.4 mg/kg

FIG. 6



$P < 0.05$ vs. Exemplo de Preparação 10.1 mg/kg

* $P < 0.05$ vs. Glimepirida 0.32 mg/kg

FIG. 7

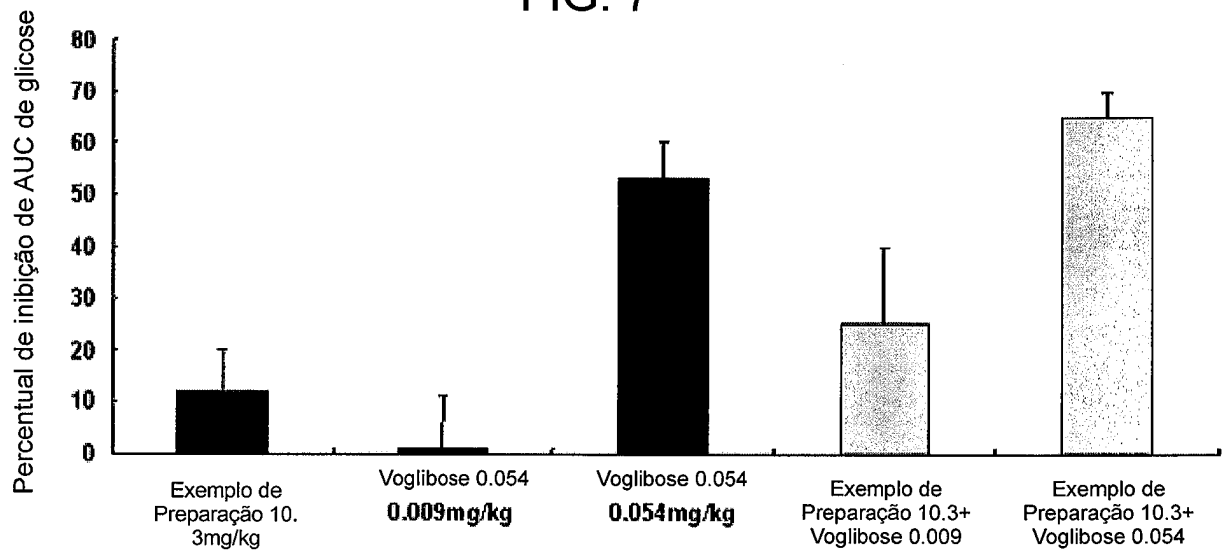


FIG. 8

