



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 601 18 206 T2** 2006.12.14

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 309 324 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **601 18 206.5**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US01/21404**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **01 958 878.9**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2002/003984**

(86) PCT-Anmeldetag: **06.07.2001**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **17.01.2002**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **14.05.2003**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **22.03.2006**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **14.12.2006**

(51) Int Cl.⁸: **A61K 31/255** (2006.01)

A61K 31/35 (2006.01)

A61K 31/7048 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 5/50 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

217141 P **07.07.2000** **US**

270022 P **20.02.2001** **US**

(73) Patentinhaber:

**Ortho-McNeil Pharmaceutical, Inc., Raritan, N.J.,
US**

(74) Vertreter:

BOEHMERT & BOEHMERT, 28209 Bremen

(84) Benannte Vertragsstaaten:

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

(72) Erfinder:

**PLATA-SALAMAN, Carlos, Ambler, PA 19002, US;
CROOKE, Jeffrey, Doylestown, PA 18901, US**

(54) Bezeichnung: **ANTIKONVULSIVE DERIVATE ZUR BEHANDLUNG UND VORBEUGUNG DER ENTWICKLUNG
VON TYP II DIABETES UND SYNDROM X**

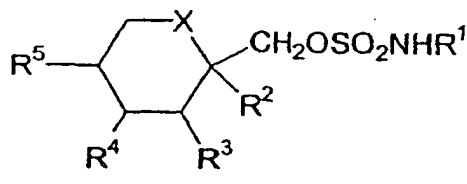
Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt,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

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

Beschreibung

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

[0001] Verbindung mit der Formel (I):



sind strukturell neue anti-epileptische Verbindungen, welche in tierischen Tests hoch wirksame krampflösende Mittel sind (MARYANOFF, B. E., NORTEY, S. O., GARDOCKI, J. F., SHANK, R. P. AND DODGSON, S. P. J. Med. Chem. 1987, 30, 880–887; MARYANOFF, B. E., COSTANZO, M. J., SHANK, R. P., SCHUPSKY, J. J., ORTEGON, M. E., AND VAUGHT J. L. Bioorg. Med. Chem. Lett. 1993, 3, 2653–2656; SHANK, R. P., GARDOCKI, J. F., VAUGHT, J. L., DAVIS, C. B., SCHUPSKY, J. J., RAFFA, R. B., DODGSON, S. J., NORTEY, S. O., MARYANOFF, B. E. Epilepsia 1994, 35, 450–460; MARYANOFF B. E., COSTANZO M. J., NORTEY S. O., GRECO M. N., SHANK R. P., SCHUPSKY J. J., ORTEGON M. P., VAUGHT J. L. J. Med. Chem. 1998, 41, 1315–1343). Diese Verbindungen werden von drei US-Patenten: Nr. 4,513,006; Nr. 5,242,942 und Nr. 5,384,327 gedeckt. Von einer dieser Verbindungen 2,3:4,5-bis-O-(1-Methylethyliden)-β-D-Fructopyranosesulfamat, welche als Topiramat bekannt ist, wurde in klinischen Versuchen von humaner Epilepsie demonstriert, daß sie als verbundene Therapie („adjunctive therapy“) oder als Monotherapie bei der Behandlung von einfachen und komplexen partiellen Anfällen und sekundären generalisierten Anfällen wirksam ist (E. FAUGHT, B. J. WILDER, R. E. RAMSEY, R. A. REIFE, L. D. KRAMER, G. W. PLEDGER, R. M. KARIM et al., Epilepsia 1995, 36 (S4), 33; S. K. SACHDEO, R. C. SACHDEO, R. A. REIFE, P. LIM and G. PLEDGER, Epilepsia 1995, 36 (S4), 33; T. A. GLAUSER, Epilepsia 1999, 40 (S5), S71–80; R. C. SACHDEO, Clin. Pharmacokinet. 1998, 34, 335–346). Und sie wird derzeit für die Behandlung von Anfällen in Patienten mit einfacher oder komplexer partieller Epilepsie und Anfällen in Patienten mit primären oder sekundären generalisierten Anfällen in den Vereinigten Staaten, Europa und den meisten anderen Märkten überall auf der Welt verkauft.

[0002] Von den Verbindungen der Formel (I) wurde anfänglich gefunden, daß sie krampflösende Aktivität in dem traditionellen Maximal-Elektroschock-Anfall (MES)-Test in Mäusen besitzen (SHANK, R. P., GARDOCKI, J. F., VAUGHT, J. L., DAVIS, C. B., SCHUPSKY, J. J., RAFFA, R. B., DODGSON, S. J., NORTEY, S. O., and MARYANOFF, B. E., Epilepsia 1994, 35, 450–460). Nachfolgende Studien offenbarten, daß Verbindungen der Formel (I) auch hochwirksam in dem MES-Test in Ratten sind. Von Topiramat wurde auch gefunden, daß es effektiv Anfälle in verschiedenen Nagetiermodellen der Epilepsie (J. NAKAMURA, S. TAMURA, T. KANDA, A. ISHII, K. ISHIHARA, T. SERIKAWA, J. YAMADA, and M. SASA, Eur. J. Pharmacol. 1994, 254, 83–89) und in einem Tiermodell der Kindling-Epilepsie blockiert (A. WAUQUIER and S. ZHOU, Epilepsy Res. 1996, 24, 73–77).

[0003] Erst kürzlich wurde von den Verbindungen der Formel (I) gefunden, daß sie bei der Beibehaltung von Gewichtsverlust, wie offenbart in WIPO-Veröffentlichung WO 00/614140, bei der Behandlung von Fettleibigkeit, wie offenbart in US-Patent Nr. 6,071,537 (WO 98/00130), bei der Senkung der Blutglukose-Spiegel, wie offenbart in WIPO-Veröffentlichung WO 00/61139, und bei der Senkung von Lipiden, wie offenbart in WIPO-Veröffentlichung WO 00/61137, wirksam sind. Thakur et al. offenbaren in WIPO-Veröffentlichung WO 99/44581 die Verwendung von Topiramat bei der Behandlung von Diabetes.

[0004] Diabetes Mellitus Typ II (nicht-insulin-abhängiger Diabetes Mellitus oder NIDDM) ist eine metabolische Erkrankung, welche die Dysregulation des Glukose-Metabolismus und Insulinresistenz einschließt und Langzeit-Komplikationen, welche die Augen, Nieren, Nerven und Blutgefäße einbeziehen. Diabetes Mellitus Typ II entwickelt sich gewöhnlicherweise im Erwachsenenalter (mittleres Leben oder später) und wird als die Unfähigkeit des Körpers, entweder ausreichend Insulin herzustellen (unnormale Insulinsekretion), oder als seine Unfähigkeit, Insulin effektiv zu verwenden (Resistenz gegenüber der Wirkung von Insulin in Zielorganen und Geweben), beschrieben. Patienten, die an Diabetes Mellitus Typ II leiden, haben weiter insbesondere eine relative Insulindefizienz. Das heißt, daß in diesen Patienten die Plasmainsulin-Spiegel normal bis hoch in absoluten Größen sind, obwohl sie niedriger sind als vorhergesagt für den Spiegel an Plasmaglukose, welcher vorhanden ist.

[0005] Diabetes Mellitus Typ II wird charakterisiert durch die folgenden klinischen Zeichen oder Symptome:

persistierende erhöhte Plasmaglukose-Konzentration oder Hyperglykämie; Polyurie; Polydipsie und/oder Polyphagie; chronische mikrovaskuläre Komplikationen, wie z.B. Retinopathie, Nephropathie und Neuropathie und makrovaskuläre Komplikationen, wie z.B. Hyperlipidämie und Hypertonie, welche zur Erblindung, zu renaler Endstadium-Erkrankung, Gliederamputation und Myokardinfarkt führen können.

[0006] Syndrom X, auch bezeichnet als Insulinresistenz-Syndrom (IRS), metabolisches Syndrom oder metabolisches Syndrom X, ist eine Erkrankung, welche Risikofaktoren für die Entwicklung von Diabetes Mellitus Typ II und kardiovaskulärer Erkrankung darstellt, einschließlich Glukoseintoleranz, Hyperinsulinämie und Insulinresistenz, Hypertriglyzeridämie, Hypertonie und Fettleibigkeit.

[0007] Die Diagnose von Diabetes Mellitus Typ II schließt die Beurteilung von Symptomen und die Messung von Glukose im Urin und im Blut ein. Die Bestimmung des Blutglukose-Spiegels ist für eine akkurate Diagnose notwendig. Weiter spezifisch ist die Bestimmung des nüchternen Blutglukose-Spiegels ein Standard-Ansatz, welcher verwendet wird. Jedoch wird der orale Glukosetoleranz-Test (OGTT) als sensitiver im Vergleich zum Nüchtern-Blutglukose-Spiegel angesehen. Diabetes Mellitus Typ II ist assoziiert mit beeinträchtigter oraler Glukosetoleranz (OGT). Der OGTT kann daher bei der Diagnose von Diabetes Mellitus Typ II helfen, obwohl er im allgemeinen für die Diagnose von Diabetes nicht erforderlich ist (Emancipator K, Am. J. Clin. Pathol. 1999 Nov; 112(5):665–74; Type 2 Diabetes Mellitus, Decision Resources Inc., March 2000). Der OGTT erlaubt eine Abschätzung der sekretorischen Funktion der pankreatischen β -Zellen und der Insulinsensitivität, was bei der Diagnose von Diabetes Mellitus Typ II und bei der Beurteilung der Schwere oder des Fortschreitens der Erkrankung behilflich ist (z.B. Caumo A, Bergman R. N., Cobelli C., J. Clin. Endocrinol. Metab. 2000, 85(11):4396–402). Der OGTT ist weiter insbesondere extrem hilfreich bei der Etablierung des Grades der Hyperglykämie in Patienten mit multiplen grenzwertigen Nüchtern-Blutglukose-Spiegeln, welche nicht als Diabetiker diagnostiziert worden sind. Zusätzlich ist der OGTT nützlich bei der Testung von Patienten mit Symptomen von Diabetes Mellitus Typ II, wo die mögliche Diagnose eines unnormalen Kohlenhydrat-Stoffwechsels klar etabliert oder widerlegt werden muß.

[0008] Daher wird beeinträchtigte Glukosetoleranz in Individuen diagnostiziert, die Nüchtern-Blutglukose-Spiegel haben, die geringer sind als diejenigen, welche für eine Diagnose von Diabetes Mellitus Typ II erforderlich sind, aber eine Plasmaglukose-Antwort während des OGTT zwischen normal und Diabetikern aufweisen. Beeinträchtigte Glukosetoleranz wird als ein prädiabetischer Zustand angesehen und beeinträchtigte Glukosetoleranz (wie definiert durch den OGTT) ist ein starker Vorhersager für die Entwicklung von Diabetes Mellitus Typ II (Haffner S. M., Diabet. Med. 1997 Aug; 14 Suppl 3:S12–8).

[0009] Diabetes Mellitus Typ II ist eine fortschreitende Krankheit, welche mit der Reduktion der pankreatischen Funktion und/oder anderen Insulin-bezogenen Prozessen assoziiert ist, welche durch erhöhte Plasmaglukose-Spiegel erschwert werden. Daher hat Diabetes Mellitus Typ II gewöhnlicherweise eine verlängerte prädiabetische Phase und verschiedene pathophysiologische Mechanismen können zur pathologischen Hyperglykämie und zu beeinträchtigter Glukosetoleranz führen, z.B. Abnormalitäten bei der Glukose Verwendung und Effektivität, Insulinwirkung und/oder Insulinproduktion in dem prädiabetischen Stadium (Goldberg R. B., Med. Clin. North Am. 1998 Jul; 82(4):805–21).

[0010] Das prädiabetische Stadium, das mit Glukoseintoleranz assoziiert ist, kann auch mit einer Prädisposition für abdominale Fettleibigkeit, Insulinresistenz, Hyperlipidämie und hohen Blutdruck assoziiert sein, d.h. Syndrom X (Groop L., Forsblom C. Lehtovirta M., Am. J. Hypertens. 1997 Sep; 10 (9 Pt 2):1725–1805; Haffner S. M., J. Diabetes Complications 1997 Mar-Apr; 11(2):69–76; Beck-Nielsen H., Henriksen J. E., Alford F., Hother-Nielsen O., Diabet. Med. 1996 Sep; 13(9 Suppl 6):S78–84).

[0011] Daher ist ein gestörter Kohlenhydrat-Metabolismus entscheidend für die Pathogenese von Diabetes Mellitus Typ II und beeinträchtigter Glukosetoleranz (Dinneen S. F., Diabet. Med. 1997 Aug; 14 Suppl 3:S19–24). Tatsächlich existiert ein Kontinuum von beeinträchtigter Glukosetoleranz und beeinträchtigter Nüchtern-Glukose zu definitivem Diabetes Mellitus Typ II (Ramlo-Halsted B. A., Edelman S. V., Prim. Care 1999 Dez; 26(4):771–89).

[0012] Eine frühzeitige Intervention in Individuen, welche gefährdet sind, Diabetes Mellitus Typ II zu entwickeln, sich dabei auf die Reduktion der pathologischen Hyperglykämie oder der beeinträchtigten Glukosetoleranz konzentrierend, kann das Fortschreiten in Richtung Diabetes Mellitus Typ II und assoziierter Komplikationen und/oder Syndrom X verhindern oder verzögern. Daher kann man durch die effektive Behandlung von beeinträchtigter oraler Glukosetoleranz und/oder erhöhter Blutglukose-Spiegel das Fortschreiten der Erkrankung zu Diabetes Mellitus Typ II oder Syndrom X verhindern oder inhibieren.

[0013] Viele anti-diabetische Mittel, welche typischerweise für die Behandlung von Diabetes Mellitus Typ II und/oder Syndrom X verschrieben werden, z.B. Sulfonylharnstoffe und Thiazolidinedione, haben einen unerwünschten Nebeneffekt der Erhöhung des Körpergewichts. Ein erhöhtes Körpergewicht in Patienten mit prädiabetischen Bedingungen oder mit diagnostiziertem Diabetes Mellitus Typ II oder Syndrom X führt zu schädlichen Effekten aufgrund der Verschärfung der metabolischen und endokrinen Dysregulation. Und Fettleibigkeit an sich ist ein entscheidender Risikofaktor für die Entwicklung und die fortschreitende Verschlechterung von Diabetes Mellitus Typ II. Daher ist es wünschenswert, ein anti-diabetisches Mittel zu haben, welches das Körpergewicht aufrechterhält oder erniedrigt.

[0014] WO 00/76493 A1, welches eine Referenz nach Art. 54(3) EPÜ ist, offenbart eine Kombinationstherapie, welche Topiramat und ein sympathomimetisches Mittel einschließt, um Gewichtsverlust in einem Subjekt zu bewirken.

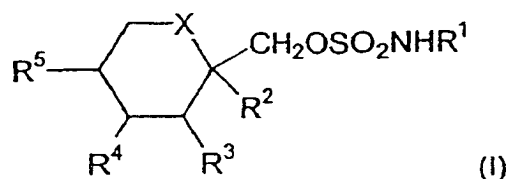
[0015] WO 99/44581 offenbart eine pharmazeutische Zusammensetzung von Topiramat, welche für die Behandlung von Epilepsie nützlich ist.

[0016] WO 98/00130 offenbart krampflösende Sulfamat-Derivate, welche bei der Behandlung von Fettleibigkeit nützlich sind.

[0017] FASEB JOURNAL, FED. OF AMERICAN SOC. FOR EXPERIMENTAL BIOLOGY, BETHESDA, MD US, VOL. 14(4), D.A. York et al. berichten die Effekte von Topiramat auf die Entwicklung von Fettleibigkeit in Osborne-Mendel-Ratten, denen eine hohe Fett-Diät gefüttert wurde. Nur die hohe Dosis von Topiramat reduzierte Körpergewichts-Zunahme.

OFFENBARUNG DER ERFINDUNG

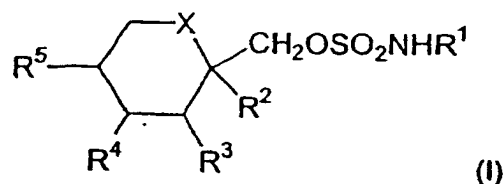
[0018] Es ist nun gefunden worden, daß Verbindungen der folgenden Formel (I)



wobei X O oder CH₂ ist und R¹, R², R³, R⁴ und R⁵, wie hierin danach definiert, sind, nützlich bei der Verhinderung der Entwicklung von Diabetes Mellitus Typ II in Säugetieren sind.

DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER BEVORZUGTEN AUSFÜHRUNGSFORMEN

[0019] Die Sulfamate der Erfindung sind von der folgenden Formel (I):

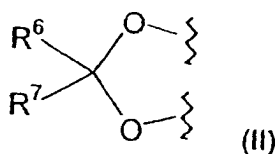


wobei

X CH₂ oder Sauerstoff ist;

R¹ Wasserstoff oder Alkyl ist und

R², R³, R⁴ und R⁵ unabhängig voneinander Wasserstoff oder C₁ bis C₃ Alkyl sind, und, wenn X CH₂ ist, R⁴, R⁵ Alkengruppen sein können, die miteinander verbunden sind, um einen Benzolring zu bilden, und, wenn X Sauerstoff ist, R² und R³ und/oder R⁴ und R⁵ zusammen eine Methylendioxygruppe der folgenden Formel (II) sein können



wobei

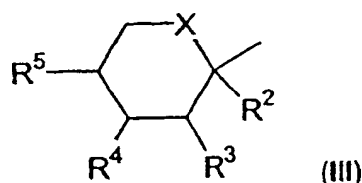
R^6 und R^7 gleich oder unterschiedlich sind und Wasserstoff oder C_1 bis C_3 Alkyl sind oder Alkyl sind und miteinander verbunden sind, um einen Zyklopentyl- oder Zyklohexyl-Ring zu bilden.

[0020] R^1 ist insbesondere Wasserstoff oder Alkyl von ungefähr 1 bis 4 Kohlenstoffatomen, wie z.B. Methyl, Ethyl und Isopropyl. Überall in dieser Beschreibung schließt Alkyl gerade und verzweigte Alkyl-Ketten ein. Alkylgruppen für R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 und R^7 sind von 1 bis 3 Kohlenstoffatomen und schließen Methyl, Ethyl, Isopropyl und n-Propyl ein. Wenn X CH_2 ist, können sich R^4 und R^5 vereinen, um einen Benzolring zu bilden, der mit dem 6-Ring, der X enthält, verbunden ist, d.h. R^4 und R^5 werden durch die Alkatrienylgruppe $=C-CH=CH-CH=$ definiert.

[0021] Eine bestimmte Gruppe der Verbindungen von Formel (I) ist diejenige, wobei X Sauerstoff ist und sowohl R^2 und R^3 als auch R^4 und R^5 zusammen Methylendioxygruppen der Formel (II) sind, wobei R^6 und R^7 gleich oder unterschiedlich sind und Wasserstoff, C_1 bis C_3 Alkyl sind oder Alkyl sind und miteinander verbunden sind, um einen Spiro-Zyklopentyl- oder Zyklohexyl-Ring zu bilden, insbesondere wo R^6 und R^7 beide Alkyl sind, wie z.B. Methyl. Eine zweite Gruppe der Verbindungen ist diejenige, wobei X CH_2 ist und R^4 und R^5 verbunden sind, um einen Benzolring zu bilden. Eine dritte Gruppe der Verbindungen von Formel (I) ist diejenige, wobei sowohl R^2 als auch R^3 Wasserstoff sind.

[0022] Die Verbindungen der Formel (I) können durch die folgenden Methoden synthetisiert werden:

(a) Reaktion eines Alkohols der Formel RCH_2OH mit einem Chlorsulfamat der Formel $ClSO_2NH_2$ oder $ClSO_2NHR^1$ bei Anwesenheit einer Base, wie z.B. Kalium-t-Butoxid oder Natriumhydrid, bei einer Temperatur von ungefähr $-20^\circ C$ bis $25^\circ C$ und in einem Lösungsmittel, wie z.B. Toluol, THF oder Dimethylformamid, wobei R ein Rest mit der folgenden Formel (III) ist:



(b) Reaktion eines Alkohols mit der Formel RCH_2OH mit Sulfurylchlorid der Formel SO_2Cl_2 bei Anwesenheit einer Base, wie z.B. Triethylamin oder Pyridin, bei einer Temperatur von ungefähr $-40^\circ C$ bis $25^\circ C$ in einem Lösungsmittel, wie z.B. Diethylether oder Methylenchlorid, um ein Chlorsulfat der Formel RCH_2OSO_2Cl herzustellen.

Das Chlorsulfat der Formel RCH_2OSO_2Cl kann dann mit einem Amin der Formel R^1NH_2 bei einer Temperatur von ungefähr $40^\circ C$ bis $25^\circ C$ in einem Lösungsmittel, wie z.B. Methylenchlorid oder Acetonitril reagiert werden, um eine Verbindung der Formel (I) zu produzieren. Die Reaktionsbedingungen für (b) werden auch von T. Tsuchiya et al. in Tetrahedron Lett., 1978, 3365 beschrieben.

(c) Reaktion des Chlorsulfats RCH_2OSO_2Cl mit einem Metallazid, wie z.B. Natriumazid, in einem Lösungsmittel, wie z.B. Methylenchlorid oder Azetonitril, führt zu einem Azidosulfat der Formel $RCH_2OSO_2N_3$, wie von M. Hedayatullah in Tetrahedron Lett. 1975, 2455 beschrieben. Das Azidosulfat wird dann zu einer Verbindung der Formel (I) reduziert, wobei R^1 Wasserstoff ist, durch katalytische Hydrierung, z.B. mit einem Edelmetall und H_2 oder durch Erhitzen mit Kupfermetall in einem Lösungsmittel, wie z.B. Methanol.

[0023] Die Ausgangsmaterialien der Formel RCH_2OH können kommerziell oder, wie im Stand der Technik bekannt ist, erhalten werden. Zum Beispiel können die Ausgangsmaterialien der Formel RCH_2OH , wobei sowohl R^2 und R^3 als auch R^4 und R^5 identisch sind und von der Formel (II) sind, mittels der Methode von R.F. Brady in Carbohydr.Res. 1970, 14, 35 oder durch Reaktion des Trimethylsilylenolethers eines R^6COR^7 Ketons oder Aldehyds mit Fructose bei einer Temperatur von ungefähr $25^\circ C$, in einem Lösungsmittel, wie z.B. einem Halogenkohlenstoff, z.B. Methylenchlorid, bei Anwesenheit einer protischen Säure, wie z.B. Salzsäure, oder Lewis-säure, wie z.B. Zinkfluorid, erhalten werden. Die Trimethylsilylenolether-Reaktion wird von G.L. Larson et al. in J. Org. Chem. 1973, 38, 3935 beschrieben.

[0024] Weiterhin können die Carbonsäuren und Aldehyde der Formeln $RCOOH$ und $RCHO$ zu Verbindungen der Formel RCH_2OH durch Standard-Reduktionstechniken reduziert werden, z.B. Reaktion mit Lithiumaluminiumhydrid, Natriumborhydrid oder Boran-THF-Komplex in einem inerten Lösungsmittel, wie z.B. Diglyme, THF oder Toluol, bei einer Temperatur von ungefähr $0^\circ C$ bis $100^\circ C$, wie z.B. beschrieben von H.O. House in „Modern Synthetic Reactions“, 2. Aufl., Seiten 45 bis 144 (1972).

[0025] Die Verbindungen der Formel I können auch durch den Prozeß hergestellt werden, welcher in den

US-Patenten Nr. 4,513,006; Nr. 5,242,942 und Nr. 5,384,327 offenbart wird.

[0026] Die Verbindungen der Formel (I) schließen die verschiedenen individuellen Isomere sowie die Racemate davon ein, z.B. die verschiedenen alpha- und beta-Anknüpfungen, d.h. unterhalb und oberhalb der Ebene der Zeichnung, von R², R³, R⁴ und R⁵ an dem 6-Ring. Bevorzugterweise ist der Sauerstoff der Methylenedioxygruppe (II) auf derselben Seite des 6-Ringes angeknüpft.

[0027] Die folgenden Beispiele werden dargelegt, um beim Verständnis der Erfindung zu helfen.

BEISPIEL 1

[0028] Es ist bekannt, daß ob/ob Mäuse, wenn ihnen erlaubt wird, nach Belieben zu essen, unnormale Blutspiegel an Insulin (Hyperinsulinämie), Glukose (Hyperglykämie), Läsionen der Haut und einen hohen Spiegel von glykosiliertem Hämoglobin entwickeln, wovon alle Kennzeichen von Diabetes Mellitus Typ II sind (R. R. HENRY, Ann. Intern. Med. 1996, 124, 97–103; G. W. EDELSON, Clin. Podiatr. Med. Surg. 1998, 15, 41–48; P. R. JOHNSON, M. R. GREENWOOD, B. A. HORWITZ and J. S. STERN, Annu. Rev. Nutr. 1991, 11, 325–353). Basierend auf diesem Wissen über das ob/ob Mausmodell, wurden zwei Studien entwickelt, um den Effekt der Verbindungen der Formel (I) in diesen Mausmodellen zu bestimmen.

[0029] In der ersten Studie wurde eine einheitliche Population an Mäusen in drei Gruppen unterteilt. Bei einer Gruppe von Kontrollmäusen wurde zu dem Futter für den gesamten Studienzeitraum von 120 Tagen kein Topiramat addiert. Bei einer zweiten Gruppe wurde Topiramat zu dem Futter in Mengen addiert, welche ausreichend sind, um eine tägliche Dosis von 20 mg/kg für 84 Tage zu geben, danach eine tägliche Dosis von 180 mg/kg für 36 Tage. Eine dritte Gruppe erhielt eine tägliche Dosis von 60 mg/kg für die gesamten 120 Tage. Nach Abschluß des Zeitraums von 120 Tagen wurden die Mäuse geopfert und Blut wurde erhalten und für die nachfolgenden Analysen von Glukose, Insulin und Triglyceriden im Plasma präpariert.

[0030] Eine statistische Analyse der Ergebnisse offenbarte, daß Glukose signifikant niedriger in beiden Gruppen der Mäuse war, welche mit Topiramat behandelt wurden, als in der Kontrollgruppe (Tabelle 1). Insulinspiegel waren ebenso in beiden Gruppen der Mäuse niedriger, welche mit Topiramat behandelt wurden, aber die Differenz war nur in der ersten Gruppe statistisch signifikant (Tabelle 1).

Tabelle 1. Effekt von Topiramat auf Blutglukose, Insulin und Triglyceride in ob/ob Mäusen

Behandlungs- gruppe (N)	TPM-Dosis (mg/kg/Tag)	Blutkonzentration der spezifizierten Marker		
		Glukose (mg/dl ± SEM)	Insulin (ng/ml ± SEM)	Triglyceride (mg/dl ± SEM)
Kontrolle (10)	0: 120 Tage	302 ± 36	10,2 ± 0,5	190 ± 48
TPM 1 (10)	20: 84 Tage	183 ± 33 (-39%)	6,4 ± 0,7 (-37%)	103 ± 5 (-46%)
	180: 36 Tage	P = 0,02	P=0,0004	P=0,075
TPM 2* (10)	60: 120 Tage	179 ± 11 (-41%) P=0,007	8,0 ± 0,9 (-21%) P=0,058	113 ± 8 (-41%) P=0,099

P-Werte wurden unter der Verwendung des zweiseitigen t-Testes nach Student berechnet. Alle P-Werte wurden aus einem Vergleich der Topiramat (TPM)-behandelten Gruppe mit der Kontrollgruppe erhalten. *, Körpergewichte am Beginn der Verabreichung von Topiramat und am Ende der Studie (d.h. nachfolgend der 120 Tage an Behandlung mit Topiramat im Futter) waren ähnlich in der Kontroll- und den Topiramat-behandelten Gruppen: 48,2 ± 1,1 g am Tag -1 für die Kontrollgruppe und 48,4 ± 0,9 g am Tag -1 für die Gruppe TPM 2 und 62,7 ± 1,4 g am Tag 119 für die Kontrollgruppe und 62,2 ± 1,2 g am Tag 119 für die Gruppe TPM 2. Körpergewichtszunahme für die Kontrollgruppe und die Gruppe TPM 2 vom Tag -1 bis zum Tag 119 war auch ähnlich. Die Prozentzahl der Differenzen in Klammern sind im Vergleich zu den Kontrollwerten.

[0031] In der zweiten Studie wurde eine einheitliche Population von Mäusen in zwei Gruppen unterteilt. Bei einer Gruppe der Kontrollmäuse wurde zu dem Futter für den gesamten Zeitraum von 118 Tagen kein Topiramat addiert. Bei einer zweiten Gruppe wurde Topiramat zu dem Futter in Mengen addiert, welche ausreichend sind, um eine tägliche Dosis von 60 mg/kg für 6 Tage zu ergeben, danach eine tägliche Dosis von 180 mg/kg für 112 Tage. Während des Verlaufs der Dosierungsperiode wurden die Mäuse zweimal pro Woche auf Hautläsionen untersucht. Wenn Hautläsionen offensichtlich waren, wurde die Ernsthaftigkeit basierend auf der Anzahl und Größe der Läsionen geschätzt und eine Note im Bereich von mild bis ernsthaft vergeben (Tabelle 2). Die Gesundheit von vier der Kontrollmäuse verschlechterte sich bis zu einem Punkt, daß sie entweder starben oder eingeschläfert werden mußten. Drei dieser vier Kontrollmäuse hatten Läsionen (zwei Mäuse wurden als ernsthaft und eine Maus als mild klassifiziert). Zusätzlich zu den vier Kontrollmäusen, welche den Zeitraum von 118 Tagen nicht überlebten, entwickelten andere Mäuse Hautläsionen im Bereich von mild bis ernsthaft am Ende der Studie (Tabelle 2). Im Vergleich entwickelte keine der neun Mäuse, welche mit Topiramat behandelt wurden, jemals Hautläsionen (Tabelle 2). Nachdem der Zeitraum von 118 Tagen abgeschlossen war, wurden alle überlebenden Mäuse geopfert und Blut wurde erhalten und für nachfolgende Analyse auf Plasmaglukose und Insulin und glykosiliertes Hämoglobin präpariert. In dieser zweiten Studie war der Spiegel der Blutglukose signifikant niedriger in den Topiramat-behandelten Mäusen relativ zu den Kontrollmäusen ($P < 0,05$, 276 ± 49 mg/dl durchschnittlich $\pm$ SEM, $n = 7$ für die Kontrollgruppe und 131 ± 13 mg/dl durchschnittlich $\pm$ SEM, $n = 9$ für die Topiramat-behandelte Gruppe am Ende der Studie; die Differenz zwischen den Gruppen beträgt 52%), wohingegen sich die Insulinspiegel zwischen den beiden Gruppen nicht unterschieden. Glykosiliertes Hämoglobin war signifikant höher in den überlebenden Kontrollmäusen als in den Topiramat-behandelten Mäusen ($6,09 \pm 0,8$ ($n = 7$) versus $3,16 \pm 0,1$ ($n = 9$), durchschnittlich $\pm$ SEM, $P < 0,01$, 48% Reduktion mit Topiramat-Behandlung). Auch unterschied sich während der ganzen 118 Tage der Studie 2 das durchschnittliche Körpergewicht der zwei Gruppen an Mäusen nicht, d.h. am Tag -1 waren die Körpergewichte $43,6 \pm 0,8$ g ($n = 7$) für die Kontrollgruppe und $42,8 \pm 1,1$ g ($n = 9$) für die Topiramat-behandelte Gruppe und $55,2 \pm 2,4$ g am Tag 118 für die Kontrollgruppe und $55,1 \pm 1,3$ g am Tag 118 für die Topiramat-behandelte Gruppe. Die Körpergewichtszunahme war in beiden Gruppen während der ganzen Studie ähnlich. Daher können die vorteilhaften Effekte von Topiramat auf die biologischen Marker der Erkrankung nicht sekundär zu dem potentiell vorteilhaften Effekt sein, welcher aus dem Verlust an Körpergewicht entstehen könnte. Die Daten schlagen vor, daß Topiramat metabolische und endokrine Aktivitäten umleitet, um das diabetische Syndrom in den ob/ob Mäusen zu verbessern, und zwar Aktivitäten, welche unabhängig von dem Effekt von Topiramat auf das Körpergewicht sind.

Tabelle 2. Hautläsionen in Kontroll- und Topiramat-behandelten ob/ob Mäusen

KONTROLLE				TOPIRAMAT (180 mg/kg/Tag)				Tag
Ernsthaft	Moderat	Mild	Gesamt	Ernsthaft	Moderat	Mild	Gesamt	
			n=7				n=9	
1	1	1	3	0	0	0	0	118
1	1	2	4	0	0	0	0	105
			n=8				n=9	
2	0	3	5	0	0	0	0	97
			n=9				n=9	
2	1	3	6	0	0	0	0	96
0	1	3	4	0	0	0	0	83
			n=10				n=9	
0	1	1	2	0	0	0	0	70
			n=11				n=9	
0	0	2	2	0	0	0	0	61
0	0	2	2	0	0	0	0	53
0	0	0	0	0	0	0	0	41

Für jede Maus wurden die Läsionen benotet als: nicht beobachtet. Mild: eine oder zwei kleine Läsionen (weniger als 5 mm in der längsten Dimension). Moderat: eine oder multiple Läsionen (mehr als 5 mm aber weniger als 8 mm in der längsten Dimension). Ernsthaft: multiple Läsionen (mehr als 8 mm in der längsten Dimension). Tag zeigt den Tag während des Zeitraums von 118 Tagen an.

[0032] Wenn ob/ob Mäusen Topiramat gegeben wurde, welches dem Futter über einen Zeitraum von vier Mo-

naten beigemischt wurde, waren daher die Blutspiegel an Glukose und Insulin und der Spiegel an glykosiliertem Hämoglobin signifikant niedriger als in ob/ob Kontroll-Mäusen, denen kein Topiramat gegeben wurde. Weiterhin entwickelte keine der Mäuse, welche Topiramat bei einer Dosis von 180 mg/kg erhielt, Läsionen der Haut, wohingegen ob/ob Kontroll-Mäuse Läsionen entwickelten. Diese Ergebnisse demonstrieren, daß Topiramat entweder die Entwicklung von allen Kennzeichen des Diabetes Mellitus Typ II in einem fettleibigen diabetischen Tiermodell reduzierte oder verhinderte, sogar wenn das Körpergewicht nicht beeinflusst wurde. Diese Ergebnisse schlagen auch vor, daß Topiramat die zelluläre Resistenz gegen Insulin reduzieren kann. Dies ist bekanntermaßen ein primärer Faktor bei Diabetes Mellitus Typ II (R. R. HENRY, Ann. Intern. Med. 1996, 124, 97–103; J. D. McGARRY, Am. J. Clin. Nutr. 1998, 67, 500S–504S; J. M. OLEFSKY and J. J. NOLAN, Am. J. Clin. Nutr. 1995, 61, 980S–986S).

[0033] Syndrom X, das auch als Insulinresistenz-Syndrom (IRS), metabolisches Syndrom oder metabolisches Syndrom X bezeichnet wird, ist eine Erkrankung, welche Risikofaktoren für die Entwicklung von Diabetes Mellitus Typ II und kardiovaskulärer Erkrankung darstellt, einschließlich Glukoseintoleranz, Hyperinsulinämie und Insulinresistenz und Dyslipidämie (z.B. hohe Triglyceride). Wenn ob/ob Mäusen Topiramat gegeben wurde, welches in das Futter über eine Zeitspanne von vier Monaten beigemischt wurde, waren die Blutspiegel an Glukose, Insulin und Triglyceriden signifikant niedriger als in ob/ob Kontroll-Mäusen, denen kein Topiramat gegeben wurde. Diese Ergebnisse demonstrieren, daß Topiramat die pathophysiologischen Zeichen, welche mit Syndrom X assoziiert sind, reduzieren oder verhindern kann und daher seine Entwicklung verhindern kann.

VERGLEICHBSPIEL 2

[0034] Sechs bis sieben Wochen alte weibliche C57 BLK S/J-m^{+/+} LEpr^{db} Mäuse (db/db) und heterozygote Wurfgefährten wurden von The Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME) gekauft. Nach der Ankunft wurden die Mäuse für 5 Tage unter Quarantäne gestellt und in Paaren in Schuhkarton-Käfigen gehalten, welche Alpha-dri[®] enthielten (Shepherd Speciality Papers, Inc., Kalamazoo, MI). Die Mäuse wurden bei einer Umgebungstemperatur von 21 bis 23°C bei einem Ablauf von 12 Stunden Hell und 12 Stunden Dunkel gehalten und es wurde ihnen Zugang zu Wasser und Futter nach Belieben gegeben. Die Diät umfaßte NIH (National Institutes of Health) Rat and Mouse/Auto 6 F Reduced Fat Diet No. 5 K52 (PMI Nutrition International Inc., Brentwood, MO).

[0035] Das Vehikel, welches als eine Referenz und für Testverbindungen verwendet wurde, war 0,5% Methylzellulose, die in Wasser gelöst ist. Die Verbindungen wurden entweder vollständig gelöst oder einheitlich suspendiert in dem Vehikel, wenn sie den Mäusen verabreicht wurden.

[0036] Die db/db Mäuse wurden zufällig in fünf Gruppen von acht Mäusen separiert, ebenso wie die heterozygoten Wurfgefährten. Die Gruppen waren wie folgt: eine Vehikel-Kontrollgruppe und vier Gruppen, welche jede eine von vier Dosen von Topiramat (TPM) erhielten (10, 30, 100 bzw. 300 mg/kg). Topiramat oder das Vehikel wurden oral mittels Sondenernährung einmal am Tag während der 8. Stunde des hellen Teils des Hell-Dunkel-Zyklus verabreicht.

[0037] Zwischen 18 und 24 Stunden, nachdem die letzte Dosis verabreicht war, wurden die Mäuse mit CO₂/O₂ (70:30) anästhesiert und Blut wurde aus der retro-orbitalen Sinus-Punktur in 2 mL heparinisierte Polypropylen-Röhrchen mit Schnappverschluß gesammelt und danach auf Eis platziert. Plasma wurde aus den Blutzellen mittels Zentrifugation (15 Minuten bei 1600 g) separiert. Von Proben, die nicht sofort untersucht wurden, wurde das Plasma in 96-Well-Platten transferiert und bei –70° C eingefroren.

[0038] Glukose und Triglyzeride wurden unter der Verwendung von Standardverfahren für Blutklinische Laboratorien untersucht. Speziell wurden die Proben analysiert unter der Verwendung eines automatisierten Hitachi 717 Autoanalysators (Boehringer Mannheim/Hitachi 717 Autoanalyzer, Boehringer Mannheim Laboratory Systems Division, Indianapolis, IN). Eine statistische Analyse der Daten für die Wirkstoff-behandelten Gruppen im Vergleich mit Daten der Vehikelgruppe wurde unter der Verwendung der Einweg-Analyse der Varianz (ANO-VA) mit dem multiplen Vergleichstest nach Dunnett durchgeführt.

[0039] Unter Befolgung der oben beschriebenen Methode wurde der Effekt von Topiramat auf Plasmaglukose und Triglyzerid-Spiegel für weibliche diabetische db/db Mäuse und Wurfgefährten bestimmt, nachfolgend 11 Tagen oraler Dosierung, mit den Ergebnissen, die in Tabelle 3 und 4 aufgelistet sind. Körpergewichte befinden sich in Tabelle 5. Die Abkürzung N stellt die Anzahl der Tiere pro Studiengruppe dar.

Tabelle 3:

Plasmaglukose

Behandlung	<i>Homozygote diabetische Mäuse</i>			<i>Heterozygote nicht-diabetische Mäuse</i>		
	<i>N</i>	<i>Plasmakonz. (mg/dl ± SEM)</i>	<i>% Veränderung</i>	<i>N</i>	<i>Plasmakonz. (mg/dl ± SEM)</i>	<i>% Veränderung</i>
Vehikel	8	525 ± 17	-	8	147 ± 4	-
Topiramat 10 mg/kg	8	382 ± 46 P < 0,05	-27,4	7	145 ± 6	-1,2
Topiramat 30 mg/kg	7	344 ± 31 P < 0,01	-34,6	7	152 ± 6	+3,8
Topiramat 100 mg/kg	8	333 ± 42 P < 0,01	-36,6	8	148 ± 7	+0,8
Topiramat 300 mg/kg	7	207 ± 41 P < 0,01	-60,5	8	121 ± 7 P < 0,01	-17,2

Tabelle 4

Plasma Triglyzeride

Behandlung	<i>Homozygote diabetische Mäuse</i>			<i>Heterozygote nicht-diabetische Mäuse</i>		
	<i>N</i>	<i>Plasmakonz. (mg/dl ± SEM)</i>	<i>% Veränderung</i>	<i>N</i>	<i>Plasmakonz. (mg/dl ± SEM)</i>	<i>% Veränderung</i>
Vehikel	8	342 ± 20	-	8	141 ± 10	-
Topiramat 10 mg/kg	8	277 ± 30	-18,9	7	141 ± 13	-0,3
Topiramat 30 mg/kg	7	303 ± 29	-11,2	7	116 ± 6	-17,5
Topiramat 100 mg/kg	8	227 ± 15 P < 0,01	-33,7	8	92 ± 6 P < 0,01	-34,8
Topiramat 300 mg/kg	7	199 ± 16 P < 0,01	-41,7	8	138 ± 15	-1,8

Tabelle 5:

Körpergewichte

Behandlung	<i>Homozygote diabetische Mäuse</i>		<i>Heterozygote nicht-diabetische Mäuse</i>	
	<i>N</i>	<i>Änderung im Körpergewicht (g ± SEM)</i>	<i>N</i>	<i>Änderung im Körpergewicht (g ± SEM)</i>
Vehikel	8	2,4 ± 0,5	8	-0,7 ± 0,4
Topiramat 10 mg/kg	8	1,7 ± 0,9	7	0,5 ± 0,2
Topiramat 30 mg/kg	7	2,6 ± 1,0	7	0,0 ± 0,3
Topiramat 100 mg/kg	8	1,5 ± 0,7	8	0,2 ± 0,2
Topiramat 300 mg/kg	7	0,7 ± 2,4	8	-2,2 ± 0,5
				P < 0,05

[0040] Die Ergebnisse zeigen, daß Topiramat Blutglukose auf eine Dosis-abhängige Weise um 27 % (P < 0,05 vs. Kontrolle), 35 % (P < 0,01 vs. Kontrolle), 37 % (P < 0,01 vs. Kontrolle) und 61 % (P < 0,01 vs. Kontrolle) für Dosierungsspiegel von 10, 30, 100 bzw. 300 mg/kg/Tag senkte. Die Topiramat-Dosierung von 100 und 300 mg/kg/Tag erniedrigte auch signifikant (P < 0,01) Plasma-Triglyzeridspiegel um bis zu 42 % vs. diabetischen Kontrollen. Abgesondert von der vorliegenden Erfindung, demonstrieren diese Ergebnisse, daß Topiramat signifikant den diabetischen Zustand der homozygoten diabetischen Mäuse verbesserte und daß diese Aktivität von Topiramat nicht von einer Reduktion des Körpergewichts abhängt.

VERGLEICHBSBEISPIEL 3

[0041] Sechs Wochen alte männliche, Zucker, diabetische, fette (ZDF/Gmi-Fa) Ratten wurden von Genetic Models, Inc. Indianapolis, Indiana gekauft. Diese Ratten wurden in Gruppen von vier in hängenden Metallkäfigen untergebracht, bei einer Umgebungstemperatur von 68 bis 72° C, bei einem Ablauf von 12 Stunden Hell und 12 Stunden Dunkel und es wurde ihnen Zugang zu Wasser und Futter nach Belieben gegeben. Magere Ratten (ZDF/Gmi-+/+ oder +/fa) wurden als normale, nicht-diabetische Kontrollen verwendet. Die Diät umfaßte LabDiet 5008 breeding formula (PMI Nutrition Int'l, Brentwood, MO).

[0042] Das Vehikel, welches als eine Referenz und für die Testverbindungen verwendet wurde, war 0,5 % Methylzellulose, die in Wasser gelöst war. Die Verbindungen wurden entweder vollständig gelöst oder einheitlich suspendiert in dem Vehikel, wenn sie den Mäusen verabreicht wurden.

[0043] Die Ratten wurden zufällig in vier Gruppen von acht separiert. Die Gruppen waren wie folgt: eine Vehikel-Kontrollgruppe und drei Gruppen, die jeweils eine von drei Dosierungen von TPM erhielten (30, 100 bzw. 300 mg/kg). Topiramat oder das Vehikel wurde oral mittels Sondenernährung einmal am Tag für 14 aufeinander folgende Tage während der 8. Stunde des hellen Teils des Hell-Dunkel-Zyklus verabreicht.

[0044] Am Beginn der Studie wurden den Ratten Blut der Schwanzvene entnommen und Plasmaglukose und Triglyzerid-Spiegel wurden bestimmt. Zwischen 18 und 24 Stunden, nach dem die letzte Dosis verabreicht wurde, wurden Blutproben erneut über eine Schwanzklemme am Tag 1 (gefütterte Tiere) und Tag 14 (gefütterte Tiere) entnommen. Das Plasma wurde in 2 ml heparinisierten Polypropylen-Röhrchen mit Schnappverschluss gesammelt und danach auf Eis gegeben. Plasma wurde aus den Blutzellen mittels Zentrifugation (20 Minuten bei 1800 g) separiert. Von den Proben, die nicht sofort untersucht wurden, wurde das Plasma in 96-Well-Platten transferiert und bei -70° C eingefroren.

[0045] Die Körpergewichte der Tiere wurden am Beginn der Studie und erneut nach 14 Tagen oraler Dosierung bestimmt. Glukose und Triglyzeride wurden unter der Verwendung von Standardverfahren für Blut-klinische Laboratorien untersucht. Speziell wurden die Proben unter der Verwendung eines automatisierten Hitachi 717 Autoanalysators analysiert (Boehringer Mannheim/Hitachi 717 Autoanalyzer, Boehringer Mannheim Laboratory Systems Division, Indianapolis, IN). Eine statistische Analyse der Daten der Wirkstoff-behandelten Gruppen im Vergleich mit den Daten der Vehikel-Gruppe wurde unter der Verwendung der Einweg-Analyse der Varianz (ANOVA) mit dem multiplen Vergleichstest nach Dunnett durchgeführt.

[0046] Unter Befolgung der oben beschriebenen Methode wurde der Effekt von Topiramat auf Plasmaglukose, Triglyzerid-Spiegel und Körpergewichtsveränderung für männliche Zucker-Ratten bestimmt, oral dosiert für 14 Tage, mit den Ergebnissen, die in den Tabellen 6 bis 8 aufgelistet sind. Die Abkürzung N stellt die Anzahl der Tiere pro Studiengruppe dar.

Tabelle 6:

Plasmaglukose-Spiegel

Behandlung	N	Plasmakonz. (mg/dl) $\pm$ SEM	% Veränderung von der diabetischen Kontrolle	% der diabetischen Kontrolle
Kontrolle, diabetisches Vehikel	8	329,6 $\pm$ 17,7		
Topiramat 30 mg/kg	8	247,4 $\pm$ 17,8 P < 0,01	-24,9	75,1
Topiramat 100 mg/kg	7	170,3 $\pm$ 14,7 P < 0,01	-47,5	52,5
Topiramat 300 mg/kg	8	166,4 $\pm$ 11,1 P < 0,01	-49,5	50,5

Tabelle 7:

Plasmatriglyzerid-Spiegel

Behandlung	N	Plasmakonz. (mg/dl) $\pm$ SEM	% Veränderung von der diabetischen Kontrolle	% der diabetischen Kontrolle
Kontrolle, diabetisches Vehikel	7	605,9 $\pm$ 40,1		
Topiramat 30 mg/kg	7	482,4 $\pm$ 10,5 P < 0,05	-20,4	79,6
Topiramat 100 mg/kg	7	498,6 $\pm$ 58,8	-17,7	82,3
Topiramat 300 mg/kg	8	423,0 $\pm$ 33,6 P < 0,01	-30,2	69,8

Tabelle 8:

Veränderung des Körpergewichts (g)

Behandlung	N	Veränderung des Körpergewichts g $\pm$ SEM
Kontrolle, diabetisches Vehikel	8	+103,0 $\pm$ 2,1
Topiramat, 30 mg/kg	8	+95,5 $\pm$ 7,2
Topiramat, 100 mg/kg	7	+75,7 $\pm$ 2,7 (P < 0,01)
Topiramat, 300 mg/kg	8	+64,4 $\pm$ 6,0 (P < 0,01)

[0047] Wie von den Daten in den Tabellen oben angezeigt wird, verringerte Topiramat Blutglukose-Spiegel um 25–50 % (P < 0,01). Die Reduktion der Blutglukose-Spiegel bei 30 mg/kg/Tag erfolgte ohne signifikante Änderung des Körpergewichts. Topiramat bei 30 und 300 mg/kg/Tag verringerte auch die Plasmatriglyzerid-Spiegel (20 % bzw. 30 %; P < 0,05 bzw. P < 0,01).

[0048] Insgesamt zeigen die Ergebnisse der db/db Mäuse (Beispiel 3) und der Zucker-Ratten (Beispiel 4) an, daß Topiramat ein effektives Mittel für die Behandlung von Hyperglykämie mit vorteilhaften Effekten auf Triglyzeride ist und Nützlichkeit bei der Behandlung von Kennzeichen des Diabetes Mellitus Typ II in Menschen aufweist.

BEISPIEL 4

[0049] Weibliche db/db Mäuse (C57BLK S/J-m^{+/+}Lepr^{db} Jackson Labs, Bar Harbor, ME), im Alter von 7–8 Wochen, wurden in Schuhkarton-Käfigen mit festem Boden, vier Mäuse pro Käfig, untergebracht. Die Raumtemperatur wurde bei 68 bis 72° F und die Feuchtigkeit bei 50 bis 65 % gehalten. Die Raumbelichtung war in einem Zyklus von 12 Stunden Hell und 12 Stunden Dunkel. Die Mäuse wurden auf einer NIH Rat and Mouse/Auto 6F reduced fat diet #5K52 (PMI Nutrition Int'l Inc.) gehalten. Futter und Wasser wurde nach Belieben zugeführt.

[0050] Die Testverbindung und das Vehikel wurden oral dosiert und als Suspensionen in 0,5 % Hydroxypro-

pymethylzellulose (Dow Chemical, Midland, MI) präpariert. Das Dosierungsvolumen betrug 10 ml/kg des Körpergewichts.

[0051] Verschiedene Gruppen von weiblichen db/db Mäusen (7–8/Gruppe) wurden oral mit einer Sonde ernährt, täglich für 11 Tage, mit entweder 0,5 % Methylzellulose in dH₂O (Vehikel), Topiramat bei 30 oder 100 mg/kg/Tag oder 2,3:4,5-bis-O-(1-Methylethyliden)- β -L-Fructopyranosesulfamat (hierin danach bezeichnet als Verbindung V) bei 30 oder 100 mg/kg/Tag. Am Tag 10 wurden die Tiere für 20 Stunden gefastet ehe sie auf orale Glukosetoleranz (OGT) getestet wurden. Am Tag 11, vier Tage nach der letzten Dosis für jede Gruppe wurde ein oraler Glukosetoleranz-Test (OGTT) durch orale Glukose-Verabreichung von 2 g/kg durchgeführt. Den Tieren wurde durch eine Schwanzklemme bei 0 (vor der Glukose), 30, 60 und 120 Minuten nach der Glukose-Herausforderung Blut entnommen. Die Blutproben wurden in heparinisierte CB-Mikrovetten gesammelt und danach auf Eis gegeben. Die Plasmaproben werden für die Plasmaglukose-Bestimmung unter der Verwendung von SIGMA DIAGNOSTICS Trinder-Reagenz (Sigma, St. Louis, MO) untersucht werden. Die statistische Analyse wurde durchgeführt unter der Verwendung des Programms InStat (Graphpad, Monrovia, CA) und unter der Durchführung von Einweg-ANOVA mit einem multiplen Vergleichstest nach Dunnett.

[0052] Unter Befolgung der oben beschriebenen Methode wurde der Effekt von Topiramat und Verbindung V auf die orale Glukosetoleranz in weiblichen db/db Mäusen, sieben Mäuse pro Gruppe, bestimmt, mit den Ergebnissen aufgelistet in Tabelle 9. Die Abkürzung N stellt die Anzahl der Tiere pro Studiengruppe dar.

Tabelle 9:

Oraler Glukosetoleranz-Test (gefastet)

Behandlung	Plasmaglukose (mg/ml $\pm$ SEM)			
	0 Minuten	30 Minuten	60 Minuten	120 Minuten
Vehikel	260,5 $\pm$ 24,36	502,7 $\pm$ 45,5	448 $\pm$ 27	270,3 $\pm$ 23,8
Topiramat	188,43 $\pm$ 16,7	400,7 $\pm$ 68,4	294,8 $\pm$ 31,5	124,1 $\pm$ 20
30 mg/kg			P < 0,05	P < 0,01
Topiramat	159,5 $\pm$ 12,8	454,3 $\pm$ 38,5	270,8 $\pm$ 52,6	184,2 $\pm$ 32,3
100 mg/kg	P < 0,01		P < 0,05	
Verbindung V	221,33 $\pm$ 22,9	440,8 $\pm$ 35,7	224,2 $\pm$ 21,6	213,2 $\pm$ 28,7
30 mg/kg			P < 0,01	
Verbindung V	152,3 $\pm$ 27,3	448,8 $\pm$ 42,6	319,4 $\pm$ 52,7	153 $\pm$ 33
100 mg/kg	P < 0,01			P < 0,05

[0053] Die Ergebnisse zeigen, daß Topiramat und Verbindung V gefastete Glukosespiegel verringerten und erhöhte Blutglukosespiegel unterdrückten, welche durch orale Glukose-Herausforderungen induziert werden. Dies schlägt vor, daß sowohl Topiramat als auch Verbindung V die Glukosetoleranz verbessern und ebenso Insulinsensitivität erhöhen können.

[0054] Weibliche ZDF-Ratten wurden auch zufällig in Kontroll- und Topiramat (30 oder 100 mg/kg/Tag)-behandelte Gruppen unterteilt, oral für 16 Tage dosiert und auf Blutglukose-Spiegel und orale Glukosetoleranz nachfolgend Glukose-Herausforderung von 2 g/kg getestet. Der Effekt von Topiramat war so, wie er in Tabelle 10 aufgeführt ist (N = 8 Ratten pro Behandlungsgruppe).

Tabelle 10:

Plasmaglukose-Spiegel (mg/dl $\pm$ SEM)

Behandlung	Zeit = 0	60 Minuten nach Herausforderung	90 Minuten nach Herausforderung	120 Minuten nach Herausforderung
Vehikel-Kontrolle	177,8 $\pm$ 17	474 $\pm$ 25	434 $\pm$ 25	357 $\pm$ 30
Topiramat 30 mg/kg	121 $\pm$ 13	342 $\pm$ 32 P < 0,05	269 $\pm$ 32 P < 0,01	206 $\pm$ 26 P < 0,01
Topiramat 100 mg/kg	129 $\pm$ 15	333 $\pm$ 32 P < 0,01	242 $\pm$ 28 P < 0,01	173 $\pm$ 23 P < 0,01

[0055] Diese Ergebnisse zeigen an, daß Topiramat die orale Glukosetoleranz 60, 90 und 120 Minuten nach der Glukose-Herausforderung in ZDF-Ratten verbessert. Diese Daten zeigen auch, daß die orale Verabreichung von Topiramat die Glukosetoleranz verbessert und ebenso die Insulinsensitivität erhöhen kann.

BEISPIEL 5

[0056] Fünf bis sieben Wochen alte männliche Mäuse (ob/ob) wurden von The Jackson Laboratory (Bar Harbor, Maine) gekauft. Nach der Ankunft wurden die Mäuse für fünf Tage unter Quarantäne gestellt und individuell in Maschendrahtkäfigen mit 2 Inch viereckigen „Nestchen“ („nestlets“) untergebracht. Die Mäuse wurden bei einer Umgebungstemperatur von 21 bis 23° C bei einem Ablauf von 12 Stunden Hell und 12 Stunden Dunkel gehalten und es wurde ihnen Zugang zu Wasser und gepulvertem Futter nach Belieben gegeben.

[0057] Topiramat wurde oral als ein Spuren-Bestandteil im Futter (0,143 bis 2,54 mg/g) verabreicht. Eine präzise Quantität von Topiramat wurde gründlich in eine bekannte Menge von gepulvertem Laborfutter unter der Verwendung eines Mörsers und eines Stößels gemischt, um den Wirkstoff in das Futter zu reiben, wonach die Bestandteile in einen 165 Pfund Polyethylen-Wanne mit Deckel platziert werden und durch Schütteln und Rotieren der Wanne gemischt werden. Das Laborfutter (5200M Certified Diet Meal, hergestellt in Brentwood, MO von Purina Mills, Inc.) war nicht weniger als 20 % Protein, 4,5 % Fett und 64,5 % CHO. Die Quantität an Topiramat, die zu dem Futter addiert wurde, basierte auf dem Verzehr von Futter, welcher während der vorhergehenden Zeitspanne von 3–4 Tagen aufgezeichnet wurde. Das gepulverte Futter wurde in Edelstahl/Aluminium-Fütterer gegeben, welche so ausgeführt sind, daß sie die Mäuse daran hindern, daß Futter zu verteilen, es überzuquellen oder zu kontaminieren. Mäuse, die in der Lage waren, das Futter zu verteilen oder zu verschmutzen, wurden von der Studie ausgeschlossen.

[0058] 32 Wochen alte Mäuse wurden zufällig in drei Gruppen eingeteilt: (1) eine Kontrollgruppe, bei welcher kein Topiramat zum Futter addiert wurde, und (2) eine Gruppe, bei welcher Topiramat zu dem Futter in Mengen addiert wurde, welche ausreichend sind, um eine tägliche Dosis von 20 mg/kg für die gesamte Dosierungsperiode von 110 Tagen zu ergeben, und (3) eine Gruppe, bei welcher Topiramat zu dem Futter in Mengen addiert wurde, welche ausreichend sind, um eine tägliche Dosis von 60 mg/kg für die gesamte Dosierungsperiode zu ergeben.

[0059] Bei den Tieren in jeder Gruppe wurde das Körpergewicht, der Futterverzehr, die Blutglukose, HbA1C, Insulin, Triglyzeride und physische Zeichen von Diabetes Mellitus Typ II oder schlechter Gesundheit kontrolliert. Körpergewicht und Futterverzehr wurden zweimal wöchentlich in einem Plan Montag/Donnerstag oder Dienstag/Freitag 8–12 Stunden in den hellen Teil des Hell-Dunkel-Zyklus hinein aufgezeichnet. Körpergewicht und Futterverzehr wurden unter der Verwendung einer Waage, welche für Gewichte unter 200 g ausgeführt ist, aufgezeichnet. An jedem Tag, an dem das Körpergewicht aufgezeichnet wurde, wurden die Mäuse auf Zeichen von Diabetes Mellitus Typ II (Hautläsionen) oder allgemeine schlechte Gesundheit (z.B. Lethargie oder zerzauste Erscheinung) beobachtet. Die Mäuse wurden auf Hautläsionen kontrolliert und, wenn diese anwesend

waren, wurde der Grad der Ernsthaftigkeit notiert und aufgezeichnet. Wenn sich die allgemeine Gesundheit einer Maus bis zu einem Grad verschlechtert hatte, welcher als lebensbedrohlich angesehen wurde, wurde die Maus eingeschläfert.

[0060] Den Mäusen wurde Zugang zum Futter, welches Topiramat enthält, bis einige Stunden bevor sie durch Enthauptung geopfert wurden, erlaubt. Blut wurde von der Halswunde in einen Parafilm-überzogenen Trichter gesammelt. Das Blut wurde dann in Bechergläser transferiert, welche Heparin enthalten. Das Plasma wurde von den roten Blutzellen durch Zentrifugation separiert. Das Plasma wurde für nachfolgende Analysen gefroren. Blutglukose-Spiegel, Insulin und Triglyzeride wurden in dem Plasma quantifiziert. Glykohämoglobin wurde auch gemessen. Das Glykohämoglobin erforderte eine 50 µl Probe Vollblut, welches aus dem Trichter vor der Zentrifugation entfernt wurde. Die Plasmaproben wurden danach ohne Gefrieren gesammelt. Alle Proben wurden auf Eis gepackt und an dem Tag, an welchem das Blut gesammelt wurde, mittels Übernacht-Lieferung an AniLytics, Inc. (200 Girard St., Suite 200, Gaithersburg, MD 20877) verschickt. Die Proben, welche von AniLytics analysiert wurden, wurden unter Verwendung von Standardprozeduren untersucht, welche bei kommerziellen Laboratorien, die Blutchemie-Analysen durchführen, etabliert sind. Statistische Analyse wurde durchgeführt, um zu bestimmen, wenn die Daten einen Test auf Normalitätsverteilung bestehen (Anpassung an eine Gauß-Verteilung). Von allen Gruppen wurde gefunden, daß sie diesen Test bestehen. Sie wurden daher weiter unter der Verwendung eines Tests analysiert, welcher für parametrische Daten geeignet ist: ein ungepaarter zweiseitiger t-Test (Prizm 2.01, Graph Pad Software, Inc., San Diego, CA 92121). Die Daten für eine Gruppe von TPM- behandelten Mäusen wurden mit der Kontrollgruppe verglichen.

[0061] Unter Befolgung der oben beschriebenen Methode wurde der Effekt von Topiramat (TPM) auf Körpergewicht (BW), Glykohämoglobin (HbA1c), Blutglukose-Spiegel (BG), Triglyzerid und Insulin-Spiegel in männlichen ob/ob Mäusen bestimmt, wobei die Ergebnisse, wie in Tabelle 11 aufgelistet, sind. Die Abkürzung N stellt die Anzahl der Tiere pro Gruppe dar.

Tabelle 11:

Körpergewicht und Plasmaglukose-Spiegel

	Kontrolle	TPM 20 mg/kg	TPM 60 mg/kg
	(n = 5)	(n = 6)	(n = 7)
BW (g)	69,0 ± 4,9	65,6 ± 2,8	67,5 ± 1,6
HbA1c (%)	4,7 ± 0,4	4,98 ± 0,6	3,56 ± 0,4
BG (mg/dl)	243,2 ± 42,0	229,2 ± 46,0	144,3 ± 20,0
			P < 0,05
Triglyzeride (mg/dl)	111 ± 7,6	104 ± 6,4	88 ± 3,2
Insulin (ng/ml)	14,8 ± 8,6	12,2 ± 1,9	11,4 ± 2,1

[0062] Die Daten zeigen, daß Topiramat-behandelte Tiere (60 mg/kg) konsistent niedrigere HbA1c- und Blutglukose (BG)-Spiegel aufwiesen, wenn sie mit Kontrolltieren verglichen wurden.

[0063] Diese Minderungen waren sogar ohne signifikante Differenzen im Körpergewicht (BW) offensichtlich.

[0064] Weil die Mäuse in dieser Studie alt waren, wenn die Dosierung initiiert wurde, gab es bereits eine hohe Inzidenz an Läsionen. Die anfängliche Gesamtinzidenz an Hautläsionen war wie folgt: 47 % der Tiere in der Kontrollgruppe, wenn die Studie initiiert wurde; 38 % der Tiere in der Gruppe 20 mg/kg Topiramat und 47 % der Tiere in der TPM-Gruppe 60 mg/kg. Während der ersten 60 Tage der Dosierung stieg die Gesamtinzidenz an Läsionen graduell in der Kontrollgruppe und befand sich gewöhnlicherweise im Bereich von 57 % und 67 %. Während dieser Periode starben sechs Mäuse in der Kontrollgruppe oder mußten eingeschläfert werden. In der Gruppe, welche 20 mg/kg Topiramat erhielt, blieb die Gesamtinzidenz an Läsionen nahezu konstant während der ersten 60 Tage, gewöhnlicherweise im Bereich zwischen 40 % und 50 %. Während dieser Periode starben vier Mäuse in der Gruppe, welche mit 20 mg/kg Topiramat behandelt wurde, oder mußten eingeschläfert werden. Die Gesamtinzidenz an Läsionen in der Gruppe, welche mit 60 mg/kg Topiramat behandelt wurde,

ging graduell zurück und befand sich nach den ersten drei Wochen der Dosierung im Bereich zwischen 15 % und 38 %. Zwei Mäuse der Gruppe, welche mit 60 mg/kg Topiramat behandelt wurde, starben während der ersten 60 Tage der Dosierung; beide hatten ernsthafte Läsionen, welche schon existierten, ehe die Dosierung initiiert wurde. Während der Dosierungsperiode zwischen den Tagen 62 und 110 war die Gesamtinzidenz an Läsionen in der Gruppe, welche mit 60 mg/kg/Tag Topiramat behandelt wurde, niedriger als in der Kontrollgruppe.

[0065] Daher zeigen die Daten, daß Topiramat die glykämische Kontrolle verbesserte, Triglyzeride reduzierte und die Insulinsensitivität bei Abwesenheit einer Abnahme des Körpergewichts erhöhen kann. Topiramat reduzierte auch die Inzidenz und die Prävalenz von Hautläsionen in Tieren, welche diese Läsionen zeigten, ehe die Dosierung von Topiramat initiiert wurde.

[0066] Basierend auf diesen Ergebnissen, die in den Beispielen oben berichtet wurden, kann geschlußfolgert werden, daß Verbindungen der Formel (I) nützlich bei der Verhinderung der Entwicklung von Diabetes Mellitus Typ II in Säugetieren, einschließlich Menschen, sind.

[0067] Um die Entwicklung von Diabetes Mellitus Typ II zu verhindern, kann eine Verbindung der Formel (I) verwendet werden, und zwar durch Verabreichung einer therapeutisch effektiven Menge der Verbindung nach Formel I. Weiter insbesondere kann zur Verhinderung der Entwicklung von Diabetes Mellitus Typ II eine Verbindung nach Formel (I) verwendet werden, und zwar durch Verabreichung von wiederholten oralen Dosen in dem Bereich von 10 bis 1.000 mg täglich, bevorzugt in dem Bereich von 10 bis 650 mg täglich, weiter bevorzugt in dem Bereich von 16 bis 325 mg einmal oder zweimal täglich.

[0068] Wie hierin verwendet, beabsichtigt der Begriff „Zusammensetzung“, ein Produkt zu umfassen, welches spezifizierte Inhaltsstoffe in den spezifizierten Mengen umfaßt, sowie jedes Produkt, welches direkt oder indirekt aus Kombinationen der spezifizierten Inhaltsstoffe in den spezifizierten Mengen resultiert.

[0069] Wie hierin verwendet, wenn nicht anderweitig ausgeführt, bedeutet der Begriff „therapeutisch effektive Menge“ die Menge an aktiver Verbindung oder pharmazeutischem Mittel, welche die biologische oder medizinische Antwort in einem Gewebesystem, Tier oder Mensch auslöst, welche von einem Forscher, Veterinärmediziner, Doktor der Medizin oder anderem Kliniker erstrebt wird, was die Linderung der Symptome der Erkrankung oder Störung, welche behandelt wird, einschließt.

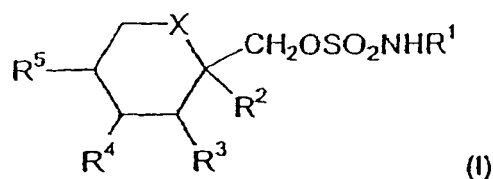
[0070] Optimale Dosierungen, welche verabreicht werden sollen, können leicht vom Fachmann auf dem Gebiet bestimmt werden und werden mit der Form der Verabreichung, der Stärke der Präparation und der Verbesserung der Krankheitsbedingung variieren. Zusätzlich können Faktoren, die mit dem bestimmten behandelten Patienten assoziiert sind, einschließlich Geschlecht, Alter, Gewicht, Diät, physische Aktivität des Patienten, Zeit der Verabreichung und begleitende Erkrankungen und Medikationen, dazu führen, daß die Dosierungen angeglichen werden müssen.

[0071] Für eine pharmazeutische Verabreichung können eine oder mehrere der Verbindungen der Formel (I) mittels jedes geeigneten Mittels verabreicht werden, wie es dem Fachmann auf dem Gebiet offensichtlich sein wird. Weiter insbesondere können die Verbindungen der Formel (I) durch jede parenterale Methode verabreicht werden, einschließlich, aber nicht limitiert auf oral, pulmonal, intraperitoneal (ip), intravenös (iv), intramuskulär (im), subkutan (sc), transdermal, bukkal, nasal, sublingual, okular, rektal und vaginal. Es wird für den Fachmann auf dem Gebiet leicht offensichtlich sein, daß jede Dosis oder Frequenz der Verabreichung, welche den therapeutischen Effekt, der hierin beschrieben wird, zur Verfügung stellt, geeignet für die Anwendung in der vorliegenden Erfindung ist.

[0072] Um pharmazeutische Zusammensetzungen dieser Erfindung herzustellen, werden eine oder mehrere Sulfamat-Verbindungen der Formel (I) eng mit einem pharmazeutischen Träger gemäß der konventionellen pharmazeutische Additionstechniken vermischt, wobei der Träger in Abhängigkeit von der Form der Präparation, die für die Verabreichung gewünscht ist, eine große Vielfalt an Formen annehmen kann. Zum Beispiel werden i.v. sterile injizierbare Formulierungen unter der Verwendung von geeigneten löslichmachenden Mitteln präpariert. Eine Einheits-Dosis würde ungefähr 10 bis 200 mg des aktiven Inhaltsstoffes beinhalten. Topiramat ist derzeit für orale Verabreichung in runden Tabletten erhältlich, welche 25 mg, 100 mg oder 200 mg des aktiven Mittels enthalten. Die Tabletten enthalten einige oder alle der folgenden inaktiven Inhaltsstoffe: Laktose wasserhaltig, prä-gelatinisierte Stärke, mikrokristalline Zellulose, Natriumstärkeglykolat, Magnesiumstearat, gereinigtes Wasser, Karnaubapalmen-Wachs, Hydroxypropylmethylzellulose, Titandioxid, Polyethylenglykol, synthetisches Eisenoxid und Polysorbat 80.

Patentansprüche

1. Verwendung einer Verbindung der Formel I

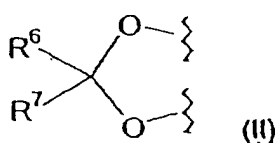


worin:

X CH₂ oder Sauerstoff ist;

R¹ Wasserstoff oder Alkyl ist; und

R², R³, R⁴ und R⁵ unabhängig voneinander Wasserstoff oder C₁-C₃ Alkyl sind, und wenn X CH₂ ist, R⁴ und R⁵ Alkengruppen sein können, die miteinander verbunden sind, um einen Benzenring zu bilden, und, wenn X Sauerstoff ist, können R² und R³ und/oder R⁴ und R⁵ zusammen eine Methylenedioxygruppe der folgenden Formel (II) sein:



worin

R⁶ und R⁷ gleich oder unterschiedlich sind und Wasserstoff oder C₁-C₃ Alkyl sind oder Alkyl sind und miteinander verbunden sind, um einen Cyclopentyl- oder Cyclohexylring zu bilden, zur Herstellung eines Medikaments zur Vorbeugung der Entwicklung von Typ II Diabetes Mellitus in Säugern.

2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei die Verbindung der Formel (I) Topiramat ist.

3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Medikament so angepasst ist, um von 10 bis 1000 mg der Verbindung täglich zur Verfügung zu stellen.

4. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Medikament so angepasst ist, um von 10 bis 650 mg der Verbindung täglich zur Verfügung zu stellen.

5. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Medikament so angepasst ist, um von 16 bis 325 mg der Verbindung einmal oder zweimal täglich zur Verfügung zu stellen.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen