



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 271 723**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/426** (2006.01)

**A61K 31/40** (2006.01)

**A61K 31/427** (2006.01)

**A61P 3/10** (2006.01)

**C07D 277/04** (2006.01)

**C07D 295/185** (2006.01)

**C07D 207/16** (2006.01)

**C07D 417/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **04005976 .8**

86 Fecha de presentación : **28.05.1999**

87 Número de publicación de la solicitud: **1428533**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **16.06.2004**

54 Título: **Utilización de derivados de tiazolidina como agentes de antihiperglicémicos.**

30 Prioridad: **28.05.1998 DE 198 23 831**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**16.04.2007**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**16.04.2007**

73 Titular/es: **Prosidion Limited**  
**Windrush Court Watlington Road**  
**Oxford, OX4 6LT, GB**

72 Inventor/es: **Demuth, Hans-Ulrich;**  
**Glund, Konrad;**  
**Schlenzig, Dagmar y**  
**Kruber, Susanne**

74 Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

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

## DESCRIPCIÓN

Utilización de derivados de tiazolidina como agentes antihiperlipicémicos.

5 El presente invento se refiere a compuestos dipéptidos o bien a compuestos análogos a compuestos dipéptidos, que se forman a partir de un aminoácido y de un grupo de tiazolidina, y a sus sales, que en lo sucesivo se denominan compuestos dipéptidos, y a la utilización de los compuestos para el tratamiento de una tolerancia perjudicada a la glucosa, de glucosuria, de hiperlipidemia, de acidosis metabólicas, de diabetes mellitus, de neuropatía y de nefropatía diabéticas, así como de enfermedades secuelas de mamíferos, causadas por una diabetes mellitus.

10 El invento se refiere, por lo tanto, también a un procedimiento sencillo para disminuir la concentración de azúcar en sangre de mamíferos con ayuda de compuestos dipéptidos como efectores aminoradores de la actividad (substratos, pseudosubstratos, inhibidores, proteínas de fijación, anticuerpos, y otros) para enzimas con una actividad comparable con la actividad enzimática de la enzima dipeptidil peptidasa IV, o idéntica a ella.

15 Una actividad de la DP IV o bien análoga a la de la DP IV (p.ej. la DP II citosólica tiene una especificidad para substratos que es casi idéntica a la de la DP IV) se presenta en la circulación sanguínea, donde disocia de una manera muy específica dipéptidos desde el extremo terminal de N de péptidos biológicamente activos, cuando la prolina o la alanina constituyen los radicales contiguos del aminoácido terminal de N en su secuencia.

20 Los polipéptidos insulínotropos dependientes de glucosa: polipéptidos inhibidores gástricos 1-42 (GIP<sub>1-42</sub> de Gastric Inhibitory Polypeptide) y las amidas de péptidos similares a glucagón-1 (GLP-1<sub>7-36</sub> de Glucagon Like Peptide Amide-1), es decir hormonas, que estimulan la secreción de insulina, inducida por glucosa, por el páncreas (también denominadas incretinas), son substratos de la DP IV, puesto que ésta puede separar *in vitro* e *in vivo* los dipéptidos 25 tirosinil-alanina o bien histidil-alanina desde las secuencias terminales de N de estos péptidos.

La reducción de tal actividad enzimática de la DP IV o bien análoga a la de la DP IV para el desdoblamiento *in vivo* de tales substratos, puede servir para reprimir eficazmente una actividad enzimática indeseada en condiciones de laboratorio, así como también en el caso de estados patológicos de organismos de mamíferos. P.ej. la diabetes mellitus del tipo II (también denominada diabetes senil) se basa en una secreción disminuida de insulina o bien en 30 trastornos en la función de receptores, que están fundamentados, entre otras cosas, en anomalías de la concentración de las incretinas, debidas a causas proteolíticas.

35 La hiperglucemia y las causas o bien los fenómenos secuelas vinculados con ellas, (que también se conocen como diabetes mellitus) se tratan, de acuerdo con el estado actual de la técnica, mediante la administración de una insulina (p.ej. procedente de un material aislado desde páncreas de bovinos o también de un material obtenido por tecnología genética) a organismos enfermos en diferentes formas de presentación. Todos los procedimientos hasta ahora conocidos, así como también los procedimientos más modernos, se distinguen por un elevado consumo de material, altos costos y, con frecuencia, por decisivos perjuicios para la calidad de vida de los pacientes. El método clásico (inyección 40 diaria i.v. (por vía intravenosa) de insulina, que es usual desde los años treinta del siglo pasado) trata los síntomas agudos de la enfermedad pero, después de una prolongada utilización, conduce entre otras cosas a graves alteraciones vasculares (arterioesclerosis) y a daños nerviosos.

Últimamente, se ha propuesto la instalación de implantes subcutáneos de depósito (la entrega de insulina se efectúa 45 de una manera dosificada, y se suprimen las inyecciones diarias) así como la implantación (el trasplante) de células de Langerhans intactas en la glándula pancreática perturbada en su función, o en otros órganos y tejidos. Tales trasplantes son técnicamente costosos. Además, ellos constituyen una intervención quirúrgica, vinculada con riesgos, en el organismo receptor, y exigen, también en el caso de trasplantes de células, métodos para la supresión o la evitación del sistema inmunitario.

50 La utilización de la alanil-pirrolidida y de la isoleucil-tiazolidida como inhibidores de la actividad enzimática de la DP IV o bien análoga a la de la DP IV ya se conoce a partir del documento de solicitud de patente internacional PCT/DE 97/00820, y la utilización de la isoleucil-pirrolidida y del hidrocloreto de la isoleucil-tiazolidida ya se conocen a partir del documento de patente de la República Democrática Alemana DD 296.075. En el caso de la isoleucil-tiazolidida, empleada en este estado de la técnica, se trata de un compuesto natural, a saber la L-treo-isoleucil-tiazolidida: En la fecha de prioridad y todavía en el día de solicitud de ambos documentos estaba a disposición solamente 55 ésta, es decir la forma natural de la isoleucil-tiazolidida.

60 Se ha comprobado que estos compuestos, en particular la L-treo-isoleucil-tiazolidida, son buenos efectores para actividades enzimáticas de la DP IV y análogas a la de la DP IV. En el caso de la utilización de este compuesto pueden aparecer, sin embargo, ciertos problemas en el caso de algunos pacientes o bien de algunas formas de enfermedad.

65 Dependiendo de los síntomas y de la gravedad, p.ej., de una diabetes mellitus, sería p.ej. deseable tener a disposición efectores que presentasen un efecto distinto del de los compuestos conocidos: Así, es conocido que los pacientes de diabetes mellitus se tienen que "ajustar" individualmente, para hacer posible un tratamiento óptimo de su enfermedad. Así, en algunos casos, debería ser suficiente p.ej. una actividad disminuida de efectores de la DP IV. También, una actividad inhibidora demasiado alta y la administración permanente del mismo medicamento podría tener como

consecuencia efectos colaterales indeseados, en particular a causa de la duración del tratamiento por toda la vida del paciente. Además, podría ser deseable también mejorar *in vivo* determinadas propiedades de transporte, con el fin de aumentar la velocidad de resorción de los efectores.

Por lo tanto, es misión del invento poner a disposición nuevos efectores (que en particular disminuyan la actividad) para el tratamiento, p.ej., de una tolerancia perjudicada a la glucosa, de glucosuria, de hiperlipidemia, de acidosis metabólicas, de diabetes mellitus, de neuropatía y de nefropatía diabéticas, así como de enfermedades secuelas de mamíferos, causadas por la diabetes mellitus, así como un procedimiento sencillo para el tratamiento de estas enfermedades.

El problema planteado por esta misión se resuelve conforme al invento mediante la puesta a disposición de compuestos dipéptidos o bien de compuestos análogos a dipéptidos, que se forman a partir de un aminoácido y de una tiazolidina, y sus sales.

En el caso de la administración -preferiblemente por vía oral- de estos efectores a un organismo de mamífero, los péptidos insulínotropos endógenos (o adicionalmente administrados por una vía exógena) GIP<sub>1-42</sub> y GLP-1<sub>7-36</sub> (o también GLP-1<sub>7-37</sub> o sus compuestos análogos) son descompuestos de manera disminuida por la DP-IV o enzimas similares a la DP-IV, y por consiguiente se disminuye o retrasa la disminución de concentración de estas hormonas peptídicas o bien de sus compuestos análogos. El invento se basa, por lo tanto, en el hallazgo de que una reducción de la actividad enzimática de la DP IV o similar a la de la DP IV, que actúa en la circulación sanguínea, conduce a una influencia sobre el nivel de azúcar en sangre. Se encontró, que

1. la disminución de la actividad de la DP-IV o bien análoga a la de la DP IV conduce a un aumento relativo de la estabilidad de las incretinas (o de sus compuestos análogos) estimuladas por glucosa, o aportadas por vía externa, es decir que, por aplicación de efectores de la DP IV o bien de proteínas análogas a la DP IV, se puede controlar la descomposición de las incretinas en la sangre;
2. la estabilidad biológica aumentada frente a la descomposición de las incretinas (o de sus compuestos análogos) tiene como consecuencia una modificación del efecto de una insulina endógena;
3. el aumento de la estabilidad de las incretinas, que se ha conseguido por reducción de la actividad enzimática de la DP IV o bien análoga a la de la DP IV en la sangre, da como resultado una subsiguiente alteración del efecto de la insulina, inducido por glucosa, y por consiguiente conduce a una modulación del nivel de glucosa en sangre, que es controlable mediante efectores de la DP IV.

En particular, son apropiados para esto compuestos dipéptidos conformes al invento, en los cuales el aminoácido se selecciona entre un aminoácido natural, tal como p.ej. leucina, glutamina, prolina, asparagina o ácido aspártico.

La aplicación, en lo posible por vía oral, de los inhibidores de enzimas de bajo peso molecular, muy afines, conformes al invento, es una alternativa más barata p.ej. con respecto a técnicas quirúrgicas invasivas en el tratamiento de fenómenos patológicos. Mediante un diseño químico de las propiedades de estabilidad, transporte y aclaramiento (clearancia), su modo de acción se puede modificar y adaptar a propiedades individuales.

Tal como se ha mencionado precedentemente, p.ej. en el caso del tratamiento permanente de la diabetes mellitus puede ser necesario poner a disposición efectores con una actividad definida, con los cuales se puedan satisfacer necesidades individuales de los pacientes o bien se puedan tratar sus síntomas. Los compuestos dipéptidos conformes al invento tienen por lo tanto, en el caso de una concentración (de los compuestos dipéptidos) de 10  $\mu$ M, en particular en las condiciones que se indican en la Tabla 1, una disminución de la actividad de la dipeptidil peptidasa IV o bien de actividades de enzimas análogas a la DP IV, de por lo menos 10%, preferiblemente de por lo menos 40%. Con frecuencia se necesita también una disminución de la actividad de por lo menos 60% o bien de por lo menos 70%. Los efectores preferidos pueden tener también una disminución de la actividad de como máximo 20% o bien 30%. Además, las propiedades de transporte de los presentes compuestos son mejoradas manifiestamente, en particular, por el transportador de péptidos Pep T1.

Los compuestos dipéptidos L-alo-isoleucil-tiazolidida y sus sales presentan, en relación con la L-treo-isoleucil-tiazolidida, al mismo tiempo que un efecto aproximadamente de igual magnitud en lo que se refiere a la modulación de la glucosa, sorprendentemente un transporte aproximadamente cinco veces mejor mediante el transportador de péptidos Pep T1.

Otros compuestos se indican en la Tabla 1.

Las sales de los compuestos dipéptidos conformes al invento pueden ser p.ej. sales orgánicas, tales como acetatos, succinatos, tartratos o fumaratos, o radicales de ácidos inorgánicos, tales como fosfatos o sulfatos. Se prefieren especialmente los fumaratos, que tienen un efecto sobresaliente junto con una estabilidad sorprendentemente alta frente a la hidrólisis, y son esencialmente menos solubles que los hidroclouros. Estas propiedades son ventajosas también en la galénica.

## ES 2 271 723 T3

Las sales de los compuestos dipéptidos pueden presentarse en una relación molar del componente (compuesto análogo a) dipéptido al componente sal de 1:1 ó de 2:1. Una sal de este tipo es p.ej. (Ile-Thia)<sub>2</sub> ácido fumárico.

El invento se refiere por consiguiente a efectores de la actividad enzimática de la dipeptidil peptidasa IV (DP IV) o bien análoga a la de la DP IV y a su utilización para la disminución del nivel de azúcar en sangre, por debajo de la concentración de glucosa, que es característica de hiperglucemias, en el suero de un organismo de mamífero. En particular, el invento se refiere a la utilización de los efectores conformes al invento de la actividad enzimática de la DP IV o bien análoga a la de la DP IV con el fin de evitar o aliviar anomalías patológicas del metabolismo de organismos de mamíferos, tales como p.ej. de una tolerancia perjudicada a la glucosa, de glucosuria, hiperlipidemia, de acidosis metabólicas, de diabetes mellitus, de neuropatía y de nefropatía diabéticas, así como de enfermedades secuelas de mamíferos, causadas por la diabetes mellitus. En una forma de realización preferida adicional, el invento se refiere a un procedimiento para la disminución del nivel de azúcar en sangre por debajo de la concentración de glucosa que es característica para hiperglucemias, en el suero de un organismo de mamífero, el cual está caracterizado porque a un organismo de mamífero se le administra una cantidad eficaz terapéuticamente de por lo menos un efector conforme al invento de la actividad enzimática de la DP IV o bien análoga a la de la DP IV.

En otra forma preferida adicional de realización, el invento se refiere a composiciones farmacéuticas, es decir a medicamentos, que contienen por lo menos un compuesto conforme al invento o sus sales, eventualmente en combinación con uno o varios vehículos y/o disolventes farmacéuticamente aceptables.

Las composiciones farmacéuticas se pueden presentar p.ej. en forma de formulaciones parenterales o enterales y pueden contener vehículos correspondientes, o bien se pueden presentar como formulaciones orales, que pueden contener vehículos correspondientes, apropiados para la administración por vía oral. Preferiblemente, se presentan como formulaciones orales.

Adicionalmente, las composiciones farmacéuticas pueden contener una o varias sustancias activas con acción hipoglucémica, que pueden ser sustancias activas de por sí conocidas.

Los efectores conformes al invento de la actividad enzimática de la DP IV o bien análoga a la de la DP IV se pueden utilizar para la disminución del nivel de azúcar en sangre por debajo de la concentración de glucosa que es característica para hiperglucemias, en el suero de un organismo de mamífero, o bien para la preparación de un correspondiente medicamento.

Los efectores, aplicados conforme al invento, de las enzimas DP IV o bien análogas a la DP IV pueden pasar a emplearse en formulaciones, o complejos de formulaciones utilizables farmacéuticamente, como inhibidores, substratos, pseudosubstratos, inhibidores de la expresión de DP IV, proteínas de fijación o anticuerpos de estas proteínas enzimáticas o en combinaciones de estas diferentes sustancias, que reducen la concentración de la proteína DP IV o bien análoga a la DP IV en el organismo de un mamífero. Son efectores conformes al invento p.ej. inhibidores de la DP IV, tales como los derivados dipéptidos o bien los compuestos miméticos de dipéptidos L-alo-isoleucil-tiazolidida y los efectores indicados en la Tabla 1 y sus sales de ácido fumárico. Los efectores conformes al invento hacen posible un tratamiento ajustable individualmente de pacientes o bien de enfermedades, pudiéndose evitar en particular incompatibilidades, alergias y efectos colaterales que aparezcan individualmente.

También los compuestos presentan diferentes evoluciones en el tiempo de la actividad. Con esto se pone a disposición del médico, que efectúa el tratamiento, la posibilidad de reaccionar de una manera diferenciada a la situación individual de un paciente: Éste puede ajustar con exactitud, por una parte, la velocidad de la iniciación del efecto y, por otra parte, la duración del efecto y en particular la intensidad del efecto.

El procedimiento conforme al invento constituye un nuevo modo de aproximarse a la disminución de una concentración elevada de glucosa en sangre en el suero de mamíferos. Es sencillo, comercialmente útil y apropiado para la utilización en la terapia, en particular de enfermedades, que se basan en unos valores de glucosa en sangre superiores a los promedios, en el caso de mamíferos y en particular en la medicina humana.

Los efectores se administran p.ej. en forma de formulaciones farmacéuticas, que contienen la sustancia activa en combinación con materiales de vehículo usuales, conocidos por el estado de la técnica. Por ejemplo, se aplican por vía parenteral (p.ej. i.v. (intravenosa) en una solución fisiológica de cloruro de sodio) o enteral (p.ej. por vía oral, formulados con materiales de vehículo usuales, tales como p.ej. glucosa).

Dependiendo de su estabilidad endógena y de su biodisponibilidad, se deben efectuar por cada día tomas únicas o también múltiples de los efectores, a fin de conseguir la deseada normalización de los valores de glucosa en sangre. P.ej. un intervalo de dosis de este tipo puede estar situado, en el caso de seres humanos, en el intervalo de 0,01 mg a 30,0 mg por día, preferiblemente en el intervalo de 0,01 a 10 mg de sustancia efectora por kilogramo de peso corporal.

Se encontró que, por administración de efectores de las actividades enzimáticas de dipeptidil peptidasa IV o bien análogas a las de DP IV en la sangre de un mamífero, mediante cuya reducción provisional de la actividad, vinculada con ella, en una secuencia causal los péptidos insulínótrofos endógenos (o adicionalmente administrados por vía exógena), polipéptidos inhibidores gástricos 1-42 (GIP<sub>1-42</sub>) o amidas de péptidos similares a glucagón-1 7-36 (GLP-1<sub>7-36</sub>) (o también GLP-1<sub>7-37</sub> o sus compuestos análogos) son descompuestos de una manera disminuida por la DP IV y

enzimas similares a la DP IV, y con esto se disminuyen o retrasan las reducciones de concentraciones de estas hormonas peptídicas o bien de sus compuestos análogos. La estabilidad aumentada, conseguida por la acción de efectores de la DP IV, de las incretinas (presentes por vía endógena o aportadas por vía exógena) o de sus compuestos análogos, que por consiguiente están a disposición de manera aumentada para la estimulación insulínica de los receptores de incretinas de las células de Langerhans en el páncreas, modifica, entre otras cosas, la actividad de la insulina propia del cuerpo, lo cual trae consigo una estimulación del metabolismo de hidratos de carbono del organismo tratado.

Como resultado, el nivel de azúcar en sangre disminuye por debajo de la concentración de glucosa, que es característica para hiperglucemias, en el suero del organismo tratado. Con esto se pueden evitar o aliviar anomalías del metabolismo, tales como tolerancia perjudicada a la glucosa, glucosuria, hiperlipidemia así como posibles acidosis metabólicas graves y diabetes mellitus, cuadros morbosos que son la secuela de una concentración de glucosa en sangre aumentada durante un período de tiempo prolongado.

En la serie de los agentes antidiabéticos, eficaces por vía oral, conocidos a partir del estado de la técnica, no se conoce hasta ahora ninguna clase de sustancias de bajo peso molecular, que sean eficaces de este modo (con excepción de la biguanida metformina: peso molecular 130). Los pesos moleculares de las aminoácil tiazolididas fluctúan entre 146 (de la glicil tiazolidida), 203 (de la isoleucil tiazolidida) y 275 (de la triptofanoil tiazolidida). En comparación con esto, los pesos moleculares de las sulfonilureas (de la glibenclamida: 494), de los sacáridos (de la acarbose: 630) así como de las tiazolidinadionas (de la pioglitazona: 586), fluctúan en el intervalo situado en torno a 500 hasta 700 Da. Fisiológicamente, las aminoácil tiazolididas son hidrolizadas mediante aminopeptidasas, así como mediante hidrólisis en condiciones ácidas, en sustancias propias del cuerpo, tales como aminoácidos y cisteamina, por lo que la utilización de los compuestos conformes al invento como agentes antidiabéticos disponibles por vía oral constituye un enriquecimiento de la farmacia.

En el caso de ratas y ratones, una hiperglucemia inducida experimentalmente se puede tratar bien de una manera superior al promedio mediante una administración por vía oral con los compuestos utilizados conformes al invento (Tablas 2 y 3). La administración de una dosis de 500 a 1.000 veces mayor que la dosis eficaz no conduciría a ninguna alteración patológica detectable en experimentos toxicológicos realizados durante tres semanas en ratas y ratones.

El ventajoso efecto de compuestos conformes al invento sobre la DP IV se demuestra a modo de ejemplo en la Tabla 1.

TABLA 1

*Acción de diferentes efectores sobre la hidrólisis catalizada por la dipeptidil peptidasa IV de 0,4 mM del sustrato H-Gly-Pro-pNA a 30°C, a un pH de 7,6 y con una fuerza iónica de 0,125*

Efector	Afinidad del efector para la DP IV: $K_i$ [nM]	% de actividad restante de la DP IV en presencia de 10 $\mu$ M del efector
Metformina	$\approx 1.000.000$	100
Glibenclamida	$\approx 1.000.000$	100
Acarbosa	$\approx 1.000.000$	100
H-Asn-pirrolidida	12.000	83,1
H-Asn-tiazolidida *	3.500	47,2
H-Asp-pirrolidida	14.000	81,6
H-Asp-tiazolidida *	2.900	45,6
H-Asp(NHOH)-pirrolidida	13.000	88,2
H-Asp(NHOH)-tiazolidida	8.800	54,5
H-Glu-pirrolidida	2.200	38,5
H-Glu-tiazolidida *	610	25,0
H-Glu(NHOH)-pirrolidida	2.800	44,9
H-Glu(NHOH)-tiazolidida	1.700	36,5

## ES 2 271 723 T3

TABLA 1 (continuación)

Efector	Afinidad del efector para la DP IV: K <sub>i</sub> [nM]	% de actividad restante de la DP IV en presencia de 10 $\mu$ M del efector
H-His-pirrolidida	3.500	49,7
H-His-tiazolidida	1.800	35,2
H-Pro-pirrolidida	4.100	50,2
H-Pro-tiazolidida *	1.200	27,2
H-Ile-azidida	3.100	43,8
H-Ile-pirrolidida	210	12,3
H-L-alo-Ile-tiazolidida	190	10,0
H-Val-pirrolidida	480	23,3
H-Val-tiazolidida	270	13,6
* Efectores conformes al invento		

Es conocido que las aminoacil pirrolididas y aminoacil tiazolididas pueden ser descompuestas por las enzimas prolina aminopeptidasa y prolidasa, que están presentes en las células mucosales del intestino delgado, en el suero y en las células hepáticas, y que el anillo de tiazolidina tiene tendencia a la apertura en presencia de ácidos (por ejemplo en el estómago) mediando formación del adecuado derivado de cisteamina [compárese el documento de patente de los EE.UU US 458.407]. Por lo tanto, resultó sorprendente encontrar una actividad dependiente de la dosis de las sustancias activas después de una administración por vía oral. La dependencia de la dosis con respecto del efecto de la L-alo-Ile-tiazolidida sobre la actividad de la DP IV en el suero, después de una aplicación por vía oral de L-alo-isoleucil-tiazolidida en ratas Wistar sanas, se demuestra con la siguiente Tabla:

TABLA 2

*Actividad restante de la DP IV en el suero frente a 0,4 mM del substrato H-Gly-Pro-pNA a 30°C, a un pH de 7,6 y con una fuerza iónica de 0,125, después de una administración por vía oral y en función de la dosis de L-alo-isoleucil-tiazolidida, determinada a los 30 min después de la aplicación del inhibidor*

Dosis por animal sometido a ensayo	Actividad restante de la DP IV en %
0 mg	100
2,5 mg	52
5,0 mg	40
10 mg	28
20 mg	29

Es manifiestamente sorprendente y deseable el efecto reductor de la cantidad de glucosa, conseguido en un modelo de animal diabético, de la sustancia activa conforme al invento L-alo-isoleucil-tiazolidida después de su administración por vía oral, en el caso de una simultánea estimulación oral con glucosa (Tabla 3).

Con el fin de reforzar el efecto de disminución del azúcar en sangre de diferentes agentes antidiabéticos, se emplean con frecuencia combinaciones de diferentes agentes antidiabéticos eficaces por vía oral. Puesto que el efecto anti-hiperoglucémico de los efectores conformes al invento se desarrolla de una manera independiente de la de otros conocidos agentes antidiabéticos aplicables por vía oral, las sustancias activas conformes al invento son apropiadas análogamente en una correspondiente forma galénica, para conseguir el deseado efecto normoglucémico, para el empleo en el caso de terapias combinadas.

## ES 2 271 723 T3

Por consiguiente, los compuestos utilizados conforme al invento se pueden transformar de una manera en sí conocida en las usuales formulaciones, tales como p.ej. tabletas, cápsulas, grageas, píldoras, supositorios, granulados, aerosoles, jarabes emulsiones y suspensiones y soluciones líquidas, sólidas y a modo de cremas, mediando utilización de sustancias de vehículo y aditivas o disolventes, inertes, no tóxicas y farmacéuticamente apropiadas. En este caso, los compuestos eficaces terapéuticamente están situados, en cada caso de modo preferido, en una concentración de aproximadamente 0,1 a 80, de modo más preferido de 1 a 50 por ciento en masa de la mezcla total, es decir en unas cantidades que sean suficientes a fin de conseguir el indicado margen de maniobra de dosificación.

TABLA 3

*Reducción de la glucosa circulante en sangre en el transcurso de 60 min después de una administración por vía oral de 20  $\mu$ M de L-alo-Ile-tiazolidida en ratas de diferentes modelos de animales con un simultáneo ensayo de tolerancia a la glucosa (datos en % referidos a valores normoglucémicos)*

Modelo de animal	Concentración de glucosa en % del testigo	Concentración de glucosa en % de tratados con L-alo-Ile-tiazolidida
Rata Wistar, normal	100	82
Rata Wistar (modelo de diabetes 2b, gruesa)	100	73

La buena resorción de los compuestos utilizados conforme al invento a través de las mucosas del tracto gastrointestinal, hace posible la utilización de muchas formulaciones galénicas:

Las sustancias se pueden utilizar como un medicamento en forma de grageas, cápsulas, cápsulas masticables, tabletas, gotas, jarabes, pero también como supositorios o como proyecciones nasales.

Las formulaciones se preparan por ejemplo por extensión o dilución de la sustancia activa con disolventes y/o sustancias de vehículo, eventualmente mediando utilización de emulsionantes y/o agentes dispersantes, pudiéndose utilizar como disolventes auxiliares, p.ej. en el caso del empleo de agua como agente diluyente, eventualmente disolventes orgánicos.

Como sustancias coadyuvantes se han de señalar a modo de ejemplo: agua, disolventes orgánicos no tóxicos, tales como parafinas (p.ej. fracciones del petróleo), aceites vegetales (p.ej. aceite de colza, aceite de cacahuete, aceite de sésamo), alcoholes (p.ej. alcohol etílico, glicerol), glicoles (p.ej. propilenglicol, polietilenglicol); sustancias de vehículo sólidas, tales como p.ej. polvos finos de piedra natural (p.ej. ácido silícico muy disperso, silicatos), azúcares (p.ej. azúcar en bruto, lactosa y glucosa); agentes emulsionantes, tales como emulsionantes no ionógenos y aniónicos (p.ej. polioxietilen - ésteres de ácidos grasos, polioxietilen - éteres de alcoholes grasos, alquilsulfonatos y arilsulfonatos), agentes dispersantes (p.ej. lignina, lejías residuales del procedimiento al sulfito, metilcelulosa, almidones y poli(vinilpirrolidonas) y agentes de deslizamiento (p. ej. estearato de magnesio, talco, ácido esteárico y laurilsulfato de sodio) y eventualmente sustancias aromatizantes.

La aplicación se efectúa de un modo usual, preferiblemente por vía enteral o parenteral, en particular por vía oral. En el caso de la aplicación por vía enteral, las tabletas, aparte de las sustancias de vehículo mencionadas, pueden contener otros aditivos tales como citrato de sodio, carbonato de calcio y fosfato de calcio, juntamente con diferentes sustancias aditivas suplementarias, tales como un almidón, preferiblemente almidón de patata, gelatina y productos similares. Además, se pueden utilizar conjuntamente agentes de deslizamiento o lubricantes, tales como estearato de magnesio, laurilsulfato de sodio y talco, para la compresión de tabletas. En el caso de suspensiones acuosas y/o elixires, que están concebidos para administraciones por vía oral, las sustancias activas se pueden mezclar, aparte de con las sustancias coadyuvantes antes mencionadas, de modo adicional con diferentes agentes mejoradores del sabor o colorantes.

En el caso de una administración por vía parenteral, se pueden emplear soluciones de las sustancias activas mediando utilización de apropiados materiales de vehículo líquidos. Por lo general, se ha manifestado como ventajoso, en el caso de una aplicación por vía intravenosa, administrar unas cantidades de aproximadamente 0,01 a 2,0 mg/kg, de modo preferido de aproximadamente 0,01 a 1,0 mg/kg de peso corporal por día, a fin de conseguir unos resultados eficaces, y en el caso de una administración por vía enteral, la dosificación es de aproximadamente 0,01 a 2 mg/kg, de modo preferido de aproximadamente 0,01 a 1 mg/kg de peso corporal por día.

A pesar de todo, puede ser eventualmente necesario apartarse de las cantidades mencionadas, y concretamente en función del peso corporal del animal sometido a ensayo o del paciente o bien del tipo de la vía de aplicación, pero también basándose en el tipo de animal y en su comportamiento individual frente al medicamento o bien en el intervalo durante el que se efectúa la administración. Así, en algunos casos, puede ser suficiente contentarse con menos que la cantidad mínima antes mencionada, mientras que en otros casos se tiene sobrepasar el límite superior mencionado. En el caso de la aplicación de grandes cantidades, puede ser recomendable distribuir éstas en varias tomas individuales a

## ES 2 271 723 T3

lo largo del día. Para la aplicación en la medicina humana, está previsto el mismo margen de maniobra de dosificación. Convenientemente, son válidas en este caso también las manifestaciones anteriores.

### Ejemplos de formulaciones farmacéuticas

#### 1. Cápsulas con 100 mg de L-alo-isoileucil tiazolidida por cápsula

Para aproximadamente 10.000 cápsulas se prepara una solución con la siguiente composición:

Hidrocloruro de L-alo-isoileucil tiazolidida	1,0 kg
Glicerol	0,5 kg
Polietilen-glicol	3,0 kg
Agua	0,5 kg
	<u>5,0 kg</u>

La solución se envasa de una manera de por sí conocida dentro de cápsulas de gelatina blanda. Las cápsulas son apropiadas para masticar y para tragar.

#### 2. Tabletas o bien tabletas barnizadas o grageas con 100 mg de L-alo-isoileucil tiazolidida

Las siguientes cantidades se refieren a la producción de 100.000 tabletas:

Hidrocloruro de L-alo-isoileucil tiazolidida, finamente molido	10,0 kg
Glucosa	4,35 kg
Lactosa	4,35 kg
Almidón	4,50 kg
Celulosa, finamente molida	4,50 kg

Los ingredientes anteriores se mezclan y a continuación se proveen de una solución, preparada a partir de

Poli(vinil-pirrolidona)	2,0 kg
Polisorbato	0,1 kg
y agua	aproximadamente 5,0 kg

y se granulan de una manera en sí conocida, siendo la masa húmeda raspada y, después de la adición de 0,2 kg de estearato de magnesio, secada. La mezcla terminada para tabletas, de 30,0 kg, se transforma en tabletas abombadas con un peso de 300 mg. Las tabletas se pueden barnizar o gragear de una manera de por sí conocida.

Los datos técnicos de compuestos preferidos se indican seguidamente:

#### Investigaciones acerca de Ile-Thia\*Fumarato (isómeros) y otras sales

Sustancia	K <sub>i</sub>	p.f. (°C)	CE (min)	MS	[α] <sub>H<sub>2</sub>O</sub>
L-treo-IT*F	8*10 <sup>-8</sup>	150 <sup>DSC</sup>	160	203	-10,7 (405 nm)
D-treo-IT*F	ninguna inhibición	147	158	203	no determinado
L-alo-IT*F	2*10 <sup>-7</sup>	145-6	154	203	-4,58 (380 nm)
D-alo-IT*F	ninguna inhibición	144-6	150	203	4,5 (380 nm)
IT*F = fumarato de isoileucil tiazolidida					
Los datos de RMN y HPLC confirman que se trataba de las correspondientes sustancias					



## ES 2 271 723 T3

### Condiciones de medición para la determinación de las $K_i$ de las sustancias

5	Enzima	DP IV <sub>riñon de porcino</sub> , 0,75 mg/ml, 18 U/ml (GPpNA) en Tris 25 mM de pH 7,6, sulfato de amonio 30% EDTA 0,5 mM, DTE 0,5 mM <i>Solución original:</i> diluida a 1:250 en un tampón de medición
10	Tampón	40 mM de HEPES de pH 7,6, I = 0,125 (en KCl)
15	Substrato	GPpNA*HCl <i>Solución original:</i> 2,1 mM
20	Aparato de medición	Lector de bioanálisis Perkin-Elmer, HTS 7000 Plus T = 30°C $\lambda = 405 \text{ nm}$
25	Tanda de medición	100 $\mu\text{l}$ de un tampón 100 $\mu\text{l}$ de un substrato (3 diferentes concentraciones 0,8 mM-0,2 mM)
30		50 $\mu\text{l}$ de una mezcla de agua y un inhibidor (7 diferentes concentraciones 2,1 $\mu\text{M}$ -32,8 nM) 10 $\mu\text{l}$ de una enzima
35	El tampón, la mezcla de agua y un inhibidor y la enzima se atemperaron previamente a 30°C y se comenzó la reacción por medio de la adición de un substrato, asimismo atemperado previamente.	
40	Se llevaron a cabo determinaciones cuádruples.	
40	El tiempo de medición fue de 10 min.	

### Determinación del punto de fusión

- 45 Los puntos de fusión se determinaron en un microscopio de mesa con calefacción de Kofler de la sociedad Leica Aktiengesellschaft, los valores no están corregidos, o se determinan en un aparato para DSC (calorimetría con barrido diferencial) (de Heumann-Pharma).

### Rotación óptica

- 50 Los valores de rotación se registraron a diferentes longitudes de onda en un "Polarimeter 341" o más alto, de la entidad Perkin Elmer.

### Condiciones de medición para la espectrometría de masas

- 55 Los espectros de masas (MS) se registraron en un aparato "API 165" o bien "API 365" de la entidad PE Sciex mediante ionización por proyección de electrones (ESI).

- 60 Se trabaja con una concentración aproximada de  $c = 10 \mu\text{g/ml}$ , la sustancia se recoge en una mezcla de MeOH y  $\text{H}_2\text{O}$  50:50, con 0,1% de  $\text{HCO}_2\text{H}$ , la infusión se efectúa con una bomba de jeringa (20  $\mu\text{l/min}$ ). Las mediciones se efectuaron en una modalidad positiva  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , la tensión de la ESI es  $U = 5.600 \text{ V}$ .

65

## ES 2 271 723 T3

Las sales tienen los siguientes datos:

Sal de IT*	K <sub>i</sub>	M (g·mol <sup>-1</sup> )	P.f. (°C)
Succinato	5,1 e-8	522,73	116
Tartrato	8,3 e-8	352,41	122
Fumarato	8,3 e-8	520,71	156
Hidrocloreuro	7,2 e-8	238,77	169
Fosfato	1,3 e-7	300,32	105

### Investigación de las solubilidades de las sales de Ile-Thia

#### Ile-Thia\*Fum

Cantidad pesada introducida 10,55 mg

corresponde a 0,02 mmol (520,72 g/mol)

Adición de 100 µl de H<sub>2</sub>O<sub>destilada</sub>,

100 µl ninguna disolución, ópticamente: ninguna mojadura superficial

a partir de 200 µl, comienzo sucesivo de la solubilidad

con 400 µl se puede observar una disolución total

2,63%.

En el caso de esta sal se comprobó también que es apenas humectable y no se descompone.

#### Ile-Thia\*Succ

Cantidad pesada introducida 16,6 mg

corresponde a 0,031 mmol (522,73 g/mol)

Adición de 16 µl de H<sub>2</sub>O<sub>destilada</sub>

16 µl ninguna disolución, ópticamente “aspiración” de la humedad

desde 66 µl-1,5 µl no se puede observar una disolución total de la sustancia

#### Ile-Thia\*Tartrato

Cantidad pesada introducida 17,3 mg

corresponde a 0,049 mmol (352,41 g/mol)

Adición de 100 µl de H<sub>2</sub>O<sub>destilada</sub>

con 100 µl disolución total

17,3%.

#### Ile-Thia\*Phos

Cantidad pesada introducida 15,5 mg

corresponde a 0,051 mmol (300,32 g/mol)

## ES 2 271 723 T3

Adición de 100  $\mu\text{l}$  de  $\text{H}_2\text{O}_{\text{destilada}}$

con 100  $\mu\text{l}$  se puede observar una disolución incipiente

Adición sucesiva de 100  $\mu\text{l}$  de  $\text{H}_2\text{O}$

con 400  $\mu\text{l}$  disolución total

3,87%

### Ile-Thia\*HCl

Cantidad pesada introducida 16,1 mg

corresponde a 0,067 mmol (238,77 g/mol)

Adición de 100  $\mu\text{l}$  de  $\text{H}_2\text{O}_{\text{destilada}}$

con 100  $\mu\text{l}$  disolución total

16,1%

### *Síntesis general de una Ile-Thia\*Sal*

El aminoácido protegido con Boc, Boc-Ile-OH, se dispone previamente en éster etílico de ácido acético, la tanda se enfría a aproximadamente  $-5^\circ\text{C}$ . Se añade gota a gota N-metil-morfolina, se añade gota a gota a temperatura constante cloruro de ácido piválico (de calidad de laboratorio) o cloruro de neo-hexanoflo (de calidad técnica). La mezcla de reacción se agita durante unos pocos minutos para la activación. Se añaden gota a gota consecutivamente N-metil-morfolina (de calidad de laboratorio) e hidrocloreuro de tiazolidina (de calidad de laboratorio), y se añade tiazolidina (de calidad técnica). El tratamiento a escala de laboratorio se efectúa de una manera clásica con soluciones de sales, a escala técnica la tanda se purifica con soluciones de NaOH y de  $\text{CH}_3\text{COOH}$ .

La separación del grupo protector Boc se consigue mediante una mezcla de HCl y dioxano (de calidad de laboratorio) o bien mediante  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (de calidad técnica).

A escala de laboratorio el hidrocloreuro se cristaliza a partir de una mezcla de EtOH y un éter.

A escala técnica la amina libre se prepara por adición de una mezcla de NaOH y  $\text{NH}_3$ . El ácido fumárico se disuelve en etanol caliente, la amina libre se añade gota a gota, y precipita el fumarato de  $(\text{Ile-Thia})_2$  ( $\text{PM} = 520,71 \text{ g.mol}^{-1}$ ).

El examen analítico de isómeros o bien enantiómeros se efectúa mediante electroforesis.

**REIVINDICACIONES**

5 1. Utilización de por lo menos un compuesto mimético de dipéptido, que se forma a partir de un aminoácido y de un grupo de tiazolidina, siendo seleccionado el medicamento entre leucina, glutamina, prolina, asparagina y ácido aspártico, para la preparación de un medicamento destinado a disminuir el nivel de azúcar en sangre por debajo de la concentración de glucosa que es característica de hiperglucemias, en el suero de un mamífero.

10 2. Utilización según la reivindicación 1, para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento por vía oral de enfermedades del metabolismo, que están en conexión con la diabetes mellitus.

15 3. Utilización según una de las reivindicaciones 1 o 2, para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de una tolerancia perjudicada a la glucosa, de glucosuria, de hiperlipidemia, de acidosis metabólicas, de diabetes mellitus, de neuropatía y de nefropatía diabéticas, así como de enfermedades secuelas de mamíferos, causadas por la diabetes mellitus.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Separación por electroforesis en zonas capilares (CE) de los isómeros de la isolencil Tiazolididas

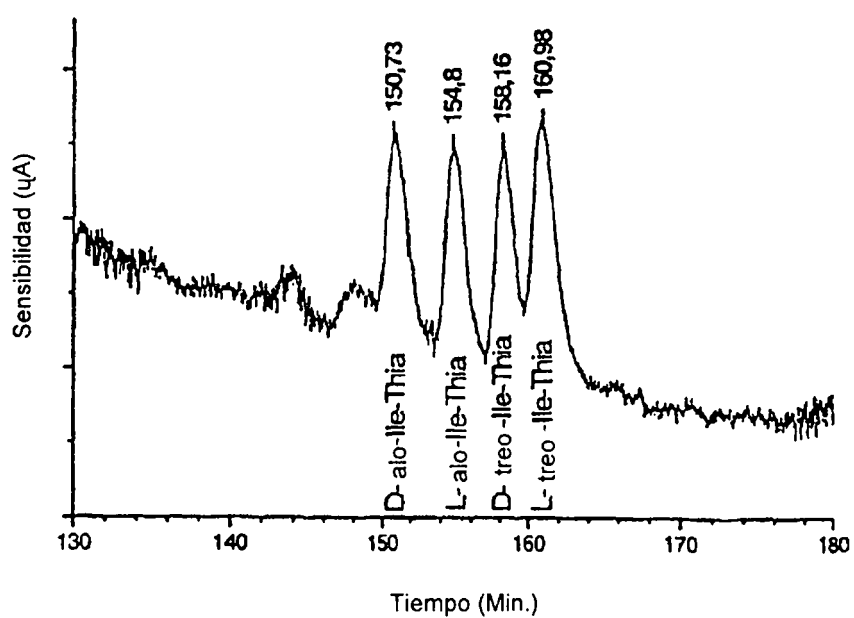


Fig. 1: Separación por CE de una mezcla 1:1:1:1- de L-treo-Ile-Thia\*Fum, L-alo-Ile-Thia\*Fum, D-treo-Ile-Thia\*Fum, D-alo-Ile-Thia\*Fum

Método y condiciones de medición:

Investigación por CE efectuadas en "Sistema P/ACE™ MDQ"  
de la entidad Beckman:

Sustancia	CE (min)
L- treo -IT*F	160
D- treo -IT*F	158
L- alo -IT*F	154
D- alo -IT*F	150

Condiciones de funcionamiento:

Tampón: Fosfato 20mM, pH 7,0,  $\beta$ -Hidroxi-propil-ciclodextrina 100mM  
 Capilares: 50/60,2 cm, diámetro interno 25 $\mu$ m, revestidos con acrilamida  
 Tensión: 10 kV  
 Detección: Detector de agrupaciones de foto-diodos a 214 nm  
 Temperatura: 7°C

## Separación por CE de Ile-Thia\*Funarato

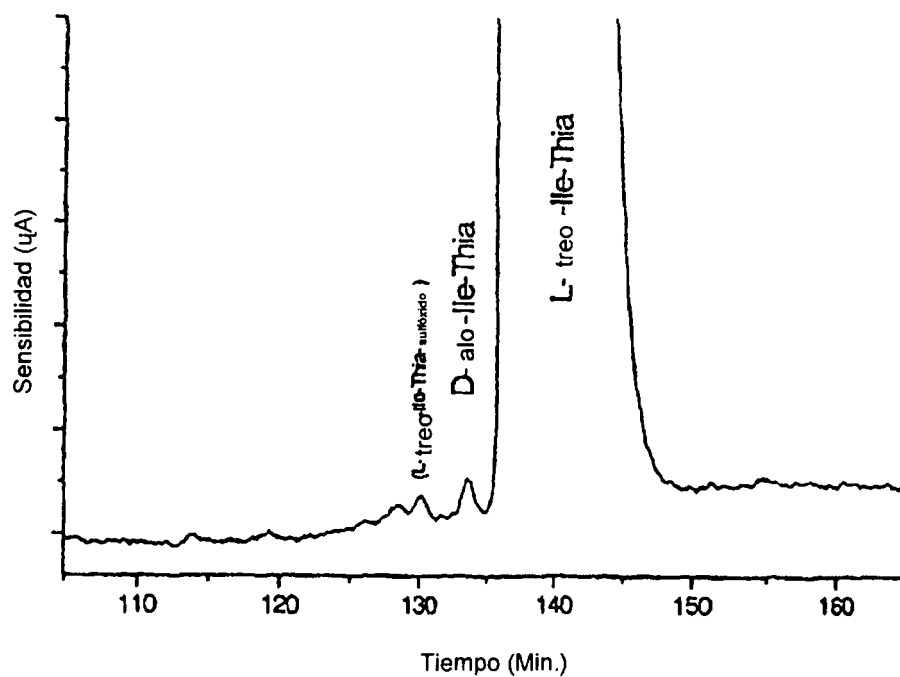


Fig. 2: Separación por CE de una mezcla de 1:1000 de L-treo-Ile-Thia\*Funarato por D-alo-Ile-Thia\*Funarato

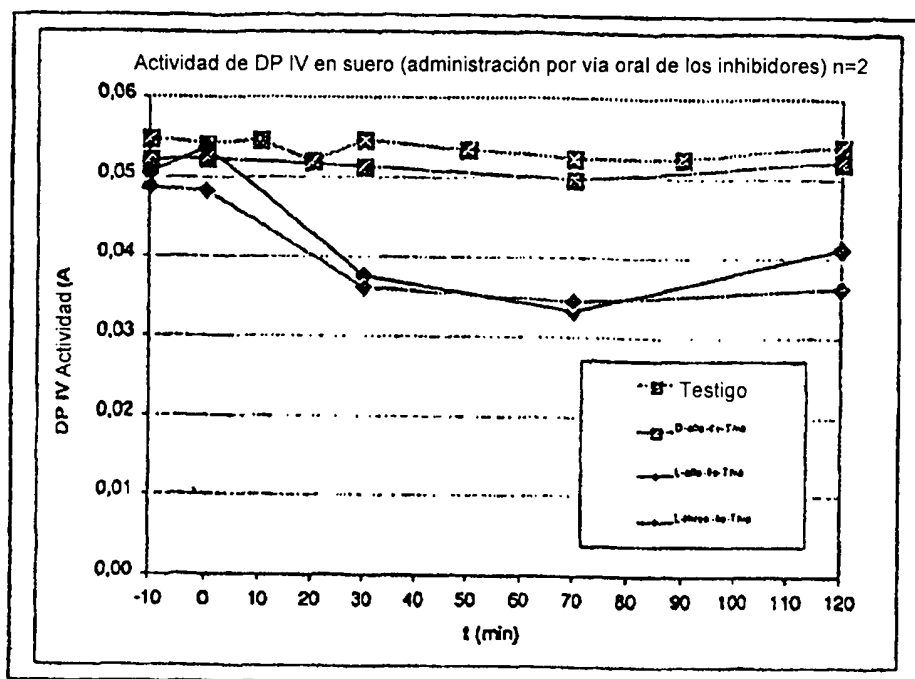


Fig. 3: Actividad de DP IV en suero después de aplicación por vía oral de diferentes estereoisómeros (5  $\mu$ M / rata de 300 g). El influenciamiento sobre la actividad enzimática se efectúa solamente mediante L-ala-Ile-Thia y L-threo-Ile-Thia.

Fig. 4: Efecto de diferentes aminoácil-tiazolididas sobre la tolerancia a la glucosa de una rata (ensayo oral de tolerancia a la glucosa con 2g / rata Wistar de 300g en el momento 0, administración de los inhibidores de DP IV a los 10 min antes de la estimulación de glucosa por vía oral)

