

# (12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局



(43) 国际公布日  
2010 年 12 月 16 日 (16.12.2010)

PCT

(10) 国际公布号  
WO 2010/142182 A1

## (51) 国际专利分类号:

A61K 31/403 (2006.01) A61K 9/22 (2006.01)  
A61K 31/4436 (2006.01) A61K 9/48 (2006.01)  
A61K 31/4439 (2006.01) A61K 9/52 (2006.01)  
C07D 403/12 (2006.01) A61K 9/14 (2006.01)  
C07D 209/52 (2006.01) A61K 9/16 (2006.01)  
A61K 9/08 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01)  
A61K 9/20 (2006.01)

## (21) 国际申请号:

PCT/CN2010/072709

## (22) 国际申请日:

2010 年 5 月 13 日 (13.05.2010)

## (25) 申请语言:

中文

## (26) 公布语言:

中文

## (30) 优先权:

200910147609.0 2009 年 6 月 9 日 (09.06.2009) CN

(71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 江苏恒瑞医药股份有限公司 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD.) [CN/CN]; 中国江苏省连云港市新浦区人民东路 145 号, Jiangsu 222002 (CN)。

## (72) 发明人; 及

(75) 发明人/申请人 (仅对美国): 马淑芹 (MA, Shuqin) [CN/CN]; 中国江苏省连云港市新浦区人民东路 145 号, Jiangsu 222002 (CN)。 袁开红 (YUAN, Kaihong) [CN/CN]; 中国江苏省连云港市新浦区人民东路 145 号, Jiangsu 222002 (CN)。 刘华文 (LIU, Huawen) [CN/CN]; 中国江苏省连云港市新浦区人民东路 145 号, Jiangsu 222002 (CN)。 朱亚飞

(ZHU, Yafei) [CN/CN]; 中国江苏省连云港市新浦区人民东路 145 号, Jiangsu 222002 (CN)。

(74) 代理人: 北京戈程知识产权代理有限公司 (GE CHENG & CO., LTD.); 中国北京市东城区东长安街 1 号东方广场东三办公楼 19 层, Beijing 100738 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

## 本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR TREATMENT OF TYPE 2 DIABETES IN MAMMALS INCLUDING HUMAN BEINGS

(54) 发明名称: 治疗哺乳动物包括人 2 型糖尿病的药物组合物

(57) Abstract: The present invention provides a pharmaceutical composition for the treatment of type 2 diabetes in mammals including human beings, wherein the pharmaceutical composition contains (3aS, 5s, 6aR)-5-(2-((2S, 4S)-2-cyano-4-fluoropyrrolidin-1-yl)-2-oxo-ethylamino)-N, N, 5-trimethyl-hexahydro-cyclopenta[C]pyrrole-2(1H)-carboxamide or its pharmaceutically acceptable salts and rosiglitazone or pioglitazone or their pharmaceutically acceptable salts, preparation method thereof and the use of the pharmaceutical composition in manufacture of medicaments for treating type 2 diabetes in mammals including human beings.

## (57) 摘要:

本发明提供了治疗哺乳动物包括人 2 型糖尿病的药物组合物, 其中药物组合物包括(3aS, 5s, 6aR)-5-(2-((2S, 4S)-2-氰基-4-氟-吡咯烷-1-基)-2-氧乙氨基)-N, N, 5-三甲基-六氢环戊[C]吡咯-2(1H)-氨甲酰或其药学上可接受的盐和罗格列酮或吡格列酮或它们药学上可接受的盐, 其制备方法和所述药物组合物在制备治疗哺乳动物包括人 2 型糖尿病的药物中的用途。

WO 2010/142182 A1

## 治疗哺乳动物包括人 2 型糖尿病的药物组合物

### 5 技术领域

本发明涉及治疗哺乳动物包括人 2 型糖尿病的药物组合物，特别是含有罗格列酮或吡格列酮或它们药学上可接受的盐与 (3aS, 5s, 6aR) -5- (2- ((2S, 4S) -2-氰基-4-氟-吡咯烷-1-基) -2-氧乙氨基) -N, N, 5-三甲基-六氢环戊[C]吡咯-2 (1H) -氨甲酰或其药学上可接受的盐的  
10 固定剂量组合的药物组合物，制备所述药物组合物的方法和所述药物组合物治疗哺乳动物包括人 2 型糖尿病的用途。

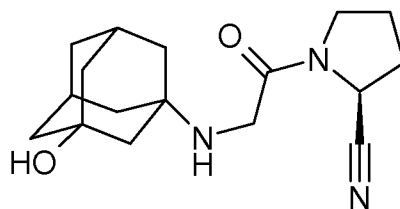
### 背景技术

人 2 型糖尿病是由涉及胰岛素抵抗和削弱胰岛素分泌的双重内分泌缺陷的复杂病理生理学导致的慢性和渐进性疾病。人 2 型糖尿病的治疗一般从饮食和锻炼开始，随后进行口服抗糖尿病药物单一疗法。  
15 对于许多患者，这一方案并不能在长期治疗期间充分控制血糖，这就导致在诊断之后的数年内需要进行联合疗法。然而两种或者更多种口服抗糖尿病药物的共-处方对于使用的许多患者而言会导致复杂和困难的治疗方案。将两种或者更多种抗糖尿病试剂合并成单个制剂提供了  
20 不会增加患者每日治疗制度复杂性的递送联合疗法的可能方式。

二肽基肽酶-IV (DPP-IV) 抑制剂表示一类开发用于治疗或者改进患有 2 型糖尿病患者中的血糖生成控制的新试剂。在当前临床试验中用于治疗人 2 型糖尿病的药物有 MK-0431、维达列汀 (LAF-237)、  
25 saxagliptin (BMS-47718)、P93/01 (Prosidon)、SYR322 (Takeda)、GSK823093、Roche0730699、TS021 (Taisho)、E3024 (Eisai) 和 PHX-1149 (Phenomix)。比如，已经发现，将维达列汀口服给药至人类 2 型糖尿病患者可以降低与显著降低的 HbA1C 水平相关的空腹葡萄糖和饭后葡萄糖偏差。关于应用 DPP-IV 治疗 2 型糖尿病的综述可以参见以下公开物：  
30 (1) H.-U.Demuth 等人，“Type 2 diabetes-Therapy with dipeptidyl peptidase IV inhibitors”，Biochim. Biophys. Acta. 1751:33-44 (2005) 和

(2) K. Augustyns 等人, “Inhibitors of proline-specific dipeptidyl peptidases:DPP4 inhibitors as a novel approach for the treatment of Type 2 diabetes”, Expert Opin. Ther. Patants, 15:1387-1407 (2005)。

目前一些DPP-IV抑制剂已被公开 (US5462928、 US5543396、  
5 WO9515309、WO2003004498、WO2003082817、WO2004032836、  
WO2004085661), 其中Novartis公司生成的DPP-IV抑制剂HAF-237显示了良好的DPP-IV抑制活性及选择性, 并已于2007年上市。



LAF-237

10 为了将 PPAR 抗糖尿病剂, 特别是格列酮施用于成年糖尿病患者 (体重: 50kg), 例如, 每日剂量通常为 0.01 到 1000 mg, 优选 0.1 到 500 mg。该剂量每天施用一次到几次。特别地, 当盐酸吡格列酮用作胰岛素致敏剂时, 每天盐酸吡格列酮的剂量通常是 7.5 到 60 mg, 优选 15 到 45 mg。当罗格列酮 (或者马来酸盐) 用作胰岛素致敏剂时,  
15 每天罗格列酮的剂量通常是 1 到 12 mg, 优选 2 到 12 mg。

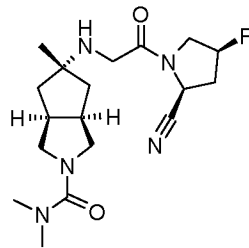
格列酮优选为吡格列酮、盐酸吡格列酮或者罗格列酮 (或者其马来酸盐), 特别优选盐酸吡格列酮。

本领域中已经提出抗糖尿病药和噻唑烷二酮衍生物的组合的药物剂型。例如, EP00749751 教导了包含胰岛素敏感性增强剂 (其是噻唑烷二酮化合物) 与其他抗糖尿病剂组合的药物组合物。更特别地,  
20 EP00749751 教导优选的胰岛素敏感性增强剂是吡格列酮, 其可以与其他抗糖尿病剂如罗格列酮、苯乙双胍或者丁双胍组合, 并且这些药物可以结合 (混合和/或包衣) 常规赋形剂以提供味道掩蔽或者持续释放。抗糖尿病药和噻唑烷二酮衍生物的组合的另一实例是美国专利号 6,  
25 011, 049, 该专利教导了缓释形式, 如渗透泵或者皮肤贴剂形式的含有吡格列酮或者曲格列酮和罗格列酮或吡格列酮的单一药物组合物。抗糖尿病药和噻唑烷二酮衍生物的其他组合可以见美国专利号 6, 524, 621; 6, 475, 521; 6, 451, 342 和 6, 153, 632 和 PCT 专利申请 WO

01/3594, 将它们引入本文作为参考。

## 发明内容

具有以下结构式的 (3aS, 5s, 6aR) -5- (2- ((2S, 4S) -2-氰基-4-  
5 氟-吡咯烷-1-基) -2-氧乙氨基) -N, N, 5-三甲基-六氢环戊[C]吡咯-2  
(1H) -氮甲酰是化合物 A。



化合物 A

化合物 A 或其盐对 DPP-IV 活性抑制时间比 LAF-237 长, 抑制强  
10 度比 LAF-237 大。通过实验研究, 本发明人惊奇地发现: 化合物 A 或  
其盐和罗格列酮或吡格列酮或它们盐的复方药效显著地高于任一成分  
的单独用药, 尤其是当罗格列酮或其盐和化合物 A 或其盐的配比为 1:  
6.25—1: 75, 吡格列酮或其盐和化合物 A 或其盐的配比为 1: 3—1:  
50 时效果更好。因此, 化合物 A 或者其盐与罗格列酮或其盐组成的组  
15 合物, 化合物 A 或者其盐与吡格列酮或其盐组成的组合物在临床上具  
有重大意义。

本发明提供了化合物 A 或其药学上可接受的盐和罗格列酮或吡格  
列酮或它们药学上可接受的盐的固定剂量组合的药物组合物。本发明的  
药物组合物提供两种活性药物成分是立即释放或缓慢释放。本发明  
20 的药物组合物是片剂形式, 并且特别是涂膜片剂, 也可以是其他口服  
剂型例如胶囊剂等。

本发明的一方面涉及用于医学给药化合物 A 或者其药学上可接受  
的盐和罗格列酮或吡格列酮或它们药学上可接受的盐的固定剂量组合  
的剂型。所述剂型可以为粉剂或者固体形式, 并且包括片剂、胶囊、  
25 小袋等等。具体的固体剂型涉及含有化合物 A 或者其药学上可接受的  
盐和罗格列酮或吡格列酮或者其药学上可接受的盐的固定剂量组合的  
片剂。

本发明还提供了通过干燥或者湿法处理方法制备化合物 A 或其盐和罗格列酮或吡格列酮或它们盐的固定剂量组合的药物组合物的方法。干法处理方法包括干法压缩和干法成粒，和湿法处理方法包括湿式粒化。

5 本发明的另一方面提供了本发明药物组合物在治疗哺乳动物包括人 2 型糖尿病的用途，该用途包括给予需要所述治疗的主体治疗有效量的本发明药物组合物。

在本发明的具体实施方案中，药物组合物包含（1）化合物 A 或者其药学上可接受的盐，为第一种活性药物成分；（2）罗格列酮或吡格列酮或它们的盐，为第二种活性药物成分；和（3）润滑剂或者助流剂。  
10 在本发明该方面的具体实施方案中，药物组合物还可以含有一种或者多种赋形剂，所述赋形剂选自一种或者多种粘合剂（结合剂）；一种或者多种稀释剂；一种或者多种表面活性剂或者润湿剂；一种或者多种崩解剂；和一种或者多种抗氧化剂。

15 化合物 A 药学上可接受的盐、罗格列酮或吡格列酮的盐包括但不限于，对甲苯磺酸盐、磷酸盐、盐酸盐、硫酸盐、硝酸盐、氢溴酸盐、甲磺酸盐、马来酸盐、酒石酸盐、琥珀酸盐、醋酸盐、三氟醋酸盐、富马酸盐、柠檬酸盐、枸橼酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、萘磺酸盐、乳酸盐或苹果酸盐。

20 合并入本发明药物组合物中的化合物 A 或者其盐的人日用剂量为 25 毫克～300 毫克。优选化合物 A 或者其盐的人日用剂量为 50 毫克～200 毫克。离散的人日用剂量为 25、50、75、100、150、200、250 和 300 毫克化合物 A 或者其盐。

合并入本发明固定剂量组合中的罗格列酮或其盐的人日用剂量为  
25 1 毫克～12 毫克，离散的人日用剂量为 1、2、4、8、10 和 12 毫克，吡格列酮或其盐的人日用剂量为 7.5 毫克～60 毫克，离散的人日用剂量为 7.5、15、30、45 和 60 毫克。罗格列酮或吡格列酮或它们盐的这些日用剂量表示在中国和/或美国批准用于市售治疗人 2 型糖尿病的日用剂量。

30 在本发明的固定剂量组合中，化合物 A 或者其盐和罗格列酮或吡格列酮或它们的盐人日用剂量的具体实施方案如下：

化合物 A 或其盐 (mg) 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300

罗格列酮或其盐 (mg) 1, 2, 4, 8, 12

吡格列酮或其盐 (mg) 7.5, 15, 30, 45, 60

- 可以是化合物 A 或其盐任何治疗有效量与罗格列酮或吡格列酮或它们盐的任何治疗有效量的组合物, 例如: 50+2, 50+4, 100+2, 100+4 或 50+7.5, 50+15, 50+30, 50+45, 75+7.5, 75+15, 100+30, 100+45 等等。

本发明的药物组合物中的两种活性药物成分可以有四种释放形式:

| 成分: | 化合物 A 或其盐 | 罗格列酮或吡格列酮或它们的盐 |
|-----|-----------|----------------|
|     | 立即释放      | 立即释放           |
|     | 立即释放      | 缓慢释放           |
|     | 缓慢释放      | 立即释放           |
|     | 缓慢释放      | 缓慢释放           |

- 10 本发明的药物组合物通过湿法或者干法处理方法进行制备。在一种实施方案中, 药物组合物通过湿法处理方法进行制备。在该实施方案的一类中, 药物组合物通过湿式造粒方法进行制备。在进行湿式粒化中, 可以应用高剪切粒化或者流化床粒化。在一种实施方案中, 使用流化床粒化具有使得片剂具有更高径向强度的优点。

- 15 可以将通过干法或者湿法处理方法获得的药物组合物压缩成片剂、封装或者计量入小袋中。

药物组合物含有一种或者多种润滑剂或者助流剂。润滑剂的实例包括硬脂酸镁、硬脂酸钙、硬脂酸、硬脂富马酸钠、氢化蓖麻油或其混合物。优选的润滑剂是硬脂酸镁或者硬脂富马酸钠或者其混合物。

- 20 助流剂的实例包括胶体二氧化硅、磷酸钙、硅酸镁和滑石。

本发明的药物组合物任选含有一种或者多种粘合剂。粘合剂的实施方案包括羟丙基纤维素 (HPC)、羟丙基甲基纤维素 (HMPC)、羟乙基纤维素、淀粉 1500、聚乙烯吡咯烷酮 (聚烯吡酮) 和共聚烯吡酮。优选的粘合剂是聚乙烯吡咯烷酮。

- 25 本发明的药物组合物还可以任选含有一种或者多种稀释剂。稀释

剂的实例包括甘露醇、山梨醇、磷酸二氢钙二水合物、微晶纤维素和粉化纤维素。优选的稀释剂是微晶纤维素。微晶纤维素可以得自于数个供应商,包括 FMC Corporation 制造的 Avicel PH 101、Avicel PH 102、Avicel PH 103、Avicel PH 105 和 Avicel PH 200。

5       本发明的药物组合物还可以任选含有崩解剂。崩解剂可以是数种改性淀粉、改性纤维素聚合物或者聚羧酸中的一种,比如交联羟甲基纤维素钠、淀粉乙醇酸钠、波拉克林钾和羟甲基纤维素钙(CMC Calcium)。在一种实施方案中,崩解剂是交联羟甲基纤维素钠。交联羟甲基纤维素钠 NF 类型 A 在市场上以商品名“Ac-di-sol”获得。

10       本发明的药物组合物还可以任选含有一种或者多种表面活性剂或者润湿剂。表面活性剂可以为阴离子、阳离子或者中性表面活性剂。阴离子表面活性剂包括月桂基硫酸钠、十二烷基磺酸钠、油烯基硫酸钠和与硬脂酸脂和滑石混合的月桂酸钠。阳离子表面活性剂包括苯扎氯铵和烷基三甲基溴化铵。中性表面活性剂包括甘油单油酸脂、聚氧  
15       乙烯脱水山梨糖醇脂肪酸脂、聚乙烯醇和脱水山梨醇脂。润湿剂的实施方案包括泊洛沙姆、聚氧乙烯烷基醚、聚氧乙烯蓖麻油衍生物和聚氧乙烯硬脂酸脂。

可以任选将抗氧化剂加入到制剂中,从而给予其化学稳定性。抗氧化剂选自  $\alpha$ -生育酚、 $\gamma$ -生育酚、 $\delta$ -生育酚、生育酚富集天然来源  
20       的提取物, L-抗坏血酸和它的钠或者钙盐、抗坏血酰棕榈酸酯、棣酸丙酯、棣酸辛酯、棣酸十二烷基酯、丁基化羟基甲苯(BHT)和丁基化羟基苯甲醚(BHA)。在一种实施方案中,抗氧化剂为 BHT 或者 BHA。

本发明药组合物的优选剂型是通过压缩方法制备的片剂。所述片剂可以用比如羟丙基纤维素和羟丙基甲基纤维素的混合物进行涂膜,  
25       该混合物中含有二氧化钛和/或其它着色剂,比如氧化铁、染料和色淀;聚乙烯醇(PVA)和聚乙二醇(PEG)的混合物,含有二氧化钛和/或其它着色剂,比如氧化铁、染料和色淀;或者任何其它适宜的即时释放涂覆剂。包衣对最终的片剂提供味道掩蔽和另外的稳定性。市售的涂膜为 Colorcon 提供的为配制粉末混合物的 Opadry<sup>®</sup>。

30       最后,如果需要,可以加入甜味剂和/或增香剂。

本发明的罗格列酮或吡格列酮或它们的盐既可以是立即释放也可

以是缓慢释放，化合物 A 或其盐可以是立即释放，也可以是缓慢释放。

本发明的药物片剂组合物还可以含有一种或者多种另外的选自多种药物制剂领域已知的赋形剂中的制剂成分。根据对药物组合的期望的性能，基于它们在制备片剂组合物中的已知用途，可以单独或者联合选择任意种成分。所述成分包括但不限于稀释剂、压缩助剂、助流剂、崩解剂、润滑剂、香料、增香剂、甜味剂和防腐剂。

在此使用的术语“片剂”意图包括所有形状和大小的压缩药物剂量制剂，无论涂覆与否。可以用于涂覆的物质包括羟丙纤维素、羟丙基甲基纤维素、二氧化钛、滑石、甜味剂、着色剂和增香剂。

本发明还提供了通过口服给药需要所述治疗的主体治疗有效量的一种本发明固定剂量组合药物组合物治疗哺乳动物包括人 2 型糖尿病的方法。在一种实施方案中，需要所述治疗的主体是人类。在另一实施方案中，药物组合物为片剂的形式，也可以是胶囊剂形式。

含有固定剂量组合的药物组合物可以每日一次（QD）、每日两次（BID）或者每日三次（TID）给药。

#### 本发明化合物 A 的合成方法

（3aS, 5s, 6aR）-5-（2-（（2S, 4S）-2-氰基-4-氟-吡咯烷-1-基）-2-氧乙氨基）-N, N, 5-三甲基-六氢环戊[C]吡咯-2（1H）-氨甲酰（化合物 A）的合成方法按照 PCT/CN2008/071014 实施例 18 所述的方法制备，因此将该公开内容作为参考文献。

### 具体实施方式

以下实施例进一步描述和说明了在本发明范围内的实施方案。实施例和试验例仅仅是为了例证说明的目的给出，并不意图将其视为对本发明的限制，其可能存在多种不背离本发明精神和范围的变体。

实施例 1、化合物 A 对甲苯磺酸盐与马来酸罗格列酮复方片剂处方

每片含：

|              |       |
|--------------|-------|
| 化合物 A 对甲苯磺酸盐 | 50 mg |
| 马来酸罗格列酮      | 4 mg  |
| 微晶纤维素        | 10 mg |



|       |        |
|-------|--------|
| 2%淀粉浆 | 适量     |
| 硬脂酸镁  | 0.5 mg |

制备方法：将化合物 A 对甲苯磺酸盐，马来酸罗格列酮，微晶纤维素混匀，用 2%淀粉浆湿法制粒。干燥，加入硬脂酸镁，混匀压片。

类似的，通过调节复方中化合物 A 或其盐，罗格列酮或其盐的用量，来制备含有不同比例的两种活性成分的复方，例如罗格列酮或其盐与化合物 A 或其盐的比例为 1：6.25、1：12.5、1：25、1：50、1：75 等等。

#### 实施例 2、化合物 A 对甲苯磺酸盐与盐酸吡格列酮复方片剂

|    |              |        |
|----|--------------|--------|
| 处方 | 每片含：         |        |
|    | 化合物 A 对甲苯磺酸盐 | 50 mg  |
|    | 盐酸吡格列酮       | 15 mg  |
|    | 微晶纤维素        | 10 mg  |
|    | 2%淀粉浆        | 适量     |
|    | 硬脂酸镁         | 0.5 mg |

制备方法：将化合物 A 对甲苯磺酸盐，盐酸吡格列酮，微晶纤维素混匀，用 2%淀粉浆湿法制粒。干燥，加入硬脂酸镁，混匀压片。

类似的，通过调节复方中化合物 A 或其盐，吡格列酮或其盐的用量，来制备含有不同比例的两种活性成分的复方，例如吡格列酮或其盐与化合物 A 或其盐的比例为 7.5：25，7.5：50，7.5：75，7.5：100，7.5：150，7.5：375 等等。

#### 试验例 1：化合物 A、LAF-237 的体外活性及选择性研究

##### 方法：

解冻 DPP-IV—Glo.使用前缓冲并平衡到室温，使用前缓冲冻存的荧光素检测试剂，悬浮 DPP-IV—Glo.在底物中加入超纯水轻微混合均匀后，制成 1 mM 的底物，将荧光素检测试剂放入茶色瓶中，加入 DPP-IV—Glo.。荧光素检测试剂应在 1 分钟内溶解，用 DMSO 溶解所测化合物至最终操作浓度的 50 倍，每个试管中加入 50 倍浓度的所测

化合物 2  $\mu\text{L}$ ，在反面对照和空白对照中加入 2  $\mu\text{L}$  DMSO，在每个试管中加入 46  $\mu\text{L}$  Tris 缓冲液，在空白对照中加入 48  $\mu\text{L}$  Tris 缓冲液，在反面对照和测试样的每个试管中加入 2  $\mu\text{L}$  DPP4 酶，振动混合并离心试管。将试管中物质全部转移到 96-孔平板上，混合底物和 DPP-IV—Glo. 比例为 1:49。振动混合至充分混合。使用前在室温下静置 30-60 分钟，在每个 96-孔平板孔中加入 50  $\mu\text{L}$  DPP-IV—Glo. 和底物的混合液，用封膜封住平板，用平板振荡器在 300-500 rpm/30 s 下慢慢混合 96 孔中物质。在室温下培养 30 分钟到 3 小时，在 NOVOstar 多功能酶标仪检测化学发光计数值。

10 [表 1]

| 受试化合物   | DPP-IV                             | DPP8                               |                      | DPP9                               |                      |
|---------|------------------------------------|------------------------------------|----------------------|------------------------------------|----------------------|
|         | IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) | IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) | 选择比<br>(DPP8/DPP-IV) | IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) | 选择比<br>(DPP9/DPP-IV) |
| 化合物 A   | 0.019                              | 7.10                               | 374                  | 0.90                               | 47                   |
| LAF-237 | 0.014                              | 3.82                               | 273                  | 0.23                               | 14                   |

结果：化合物 A 对 DPP4 的抑制活性优于对照药物 LAF-237，选择性也强于 LAF-237。

### 15 试验例 2：不同比例罗格列酮和化合物 A 药物组合物对正常 ICR 小鼠的口服糖耐量研究

雄性 ICR 小鼠于禁食 6 小时后口服双蒸水、不同配比（罗格列酮马来酸盐：化合物 A 对甲苯磺酸盐=1：6.25，1：12.5，1：25，1：50，1：75）相同剂量（10mg/kg）的药物组合物，各组于给药 30 分钟时口服葡萄糖 2.5g/kg，做口服糖耐量试验。于给糖后 0、30、60、120 分钟时取血，测定血清葡萄糖水平。

血清葡萄糖测定方法：

采用葡萄糖试剂盒测定血清中的葡萄糖含量，取 250 $\mu\text{l}$  酶工作液，加入 5 $\mu\text{l}$  血清，同时设立空白管（加入 5 $\mu\text{l}$  双蒸水）及标准管（加入 5 $\mu\text{l}$  葡萄糖标液），混匀，37 $^{\circ}\text{C}$  水浴 20 分钟，以空白管调零，OD505nm 处比色测定。

血清葡萄糖含量 BG (nmol/l) = OD<sub>样品管</sub>/OD<sub>标准管</sub> × 5.55

数据处理和统计分析;

- 1、采用均值 $\pm$ SD 及 Student-t test 对数据进行统计学分析
- 2、计算给糖后 30 分钟时血糖下降百分率以及曲线下面积 AUC

5 [表 2]: 正常 ICR 小鼠口服受试药物组合物 (10mg/kg) 后对口服糖耐量的影响 (均值 $\pm$ SD, n=6)

| 组别      | 体重<br>g        | 给药前             | 给糖后 (nmol/l)       |                   |                  |  |
|---------|----------------|-----------------|--------------------|-------------------|------------------|--|
|         |                | 0 分钟            | 30 分钟              | 60 分钟             | 120 分钟           |  |
| 空白对照    | 27.5 $\pm$ 1.0 | 6.14 $\pm$ 0.86 | 13.5 $\pm$ 0.148   | 10.89 $\pm$ 1.88  | 8.18 $\pm$ 0.89  |  |
| 1: 6.25 | 25.0 $\pm$ 1.4 | 6.26 $\pm$ 0.60 | 8.82 $\pm$ 2.10**  | 8.72 $\pm$ 0.82*  | 7.17 $\pm$ 0.82  |  |
| 1: 12.5 | 27.2 $\pm$ 1.3 | 5.64 $\pm$ 0.71 | 8.15 $\pm$ 0.93*** | 8.09 $\pm$ 0.67** | 6.02 $\pm$ 0.23* |  |
| 1: 25   | 28.2 $\pm$ 1.6 | 6.32 $\pm$ 1.28 | 8.69 $\pm$ 1.12*** | 8.82 $\pm$ 0.72*  | 7.10 $\pm$ 0.53* |  |
| 1: 50   | 27.8 $\pm$ 1.0 | 6.57 $\pm$ 0.64 | 8.49 $\pm$ 1.11*** | 8.89 $\pm$ 0.82*  | 6.61 $\pm$ 1.04* |  |
| 1: 75   | 26.3 $\pm$ 3.7 | 6.09 $\pm$ 0.59 | 8.44 $\pm$ 2.30**  | 9.03 $\pm$ 0.78   | 7.28 $\pm$ 0.61  |  |

\*, P<0.05; 与空白对照组相比;

\*\*, P<0.01; 与空白对照组相比;

10 \*\*\*, P<0.001; 与空白对照组相比;

### 试验例 3: 不同比例吡格列酮和化合物 A 药物组合物对正常 ICR 小鼠的口服糖耐量研究

15 雄性 ICR 小鼠于禁食 6 小时后口服双蒸水、不同配比 (吡格列酮盐酸盐: 化合物 A 对甲苯磺酸盐=7.5: 25, 7.5: 50, 7.5: 75, 7.5: 100, 7.5: 150, 7.5: 375) 相同剂量 (30mg/kg) 的混合物, 各组于给药 30 分钟时口服葡萄糖 2.5g/kg, 做口服糖耐量试验。于给糖后 0、30、60、120 分钟时取血, 测定血清葡萄糖水平。

20 血清葡萄糖测定方法;

采用葡萄糖试剂盒测定血清中的葡萄糖含量, 取 250 $\mu$ l 酶工作液, 加入 5 $\mu$ l 血清, 同时设立空白管 (加入 5 $\mu$ l 双蒸水) 及标准管 (加入 5 $\mu$ l 葡萄糖标液), 混匀, 37 $^{\circ}$ C 水浴 20 分钟, 以空白管调零, OD505nm 处比色测定。

血清葡萄糖含量 BG (nmol/l) =OD 样品管/OD 标准管×5.55  
数据处理和统计分析;

- 1、采用均值±SD 及 Student-t test 对数据进行统计学分析
- 2、计算给糖后 30 分钟时血糖下降百分率以及曲线下面积 AUC

5

[表 3]: 正常 ICR 小鼠口服受试复方物 (30mg/kg) 后对口服糖耐量的影响 (均值±SD, n=6)

| 组别      | 体重       | 给药前       | 给糖后（nmol/l）  |              |            |  |
|---------|----------|-----------|--------------|--------------|------------|--|
|         | g        | 0分钟       | 30分钟         | 60分钟         | 120分钟      |  |
| 空白对照    | 26.5±1.4 | 4.43±0.72 | 11.96±1.16   | 10.33±2.13   | 6.47±1.12  |  |
| 7.5：25  | 26.4±0.5 | 4.57±1.20 | 9.44±2.14*   | 7.18±1.33*   | 5.73±0.60  |  |
| 7.5：50  | 26.3±1.1 | 4.40±0.67 | 7.38±1.59*** | 6.13±0.63**  | 5.26±0.77  |  |
| 7.5：75  | 26.2±1.8 | 4.19±0.77 | 7.80±1.37*** | 6.74±0.87**  | 5.16±0.37* |  |
| 7.5：100 | 26.0±1.4 | 3.92±0.81 | 7.11±0.16*** | 6.01±1.13**  | 5.15±0.71* |  |
| 7.5：150 | 25.8±1.7 | 4.13±1.41 | 7.33±2.22**  | 6.02±0.76*** | 5.12±0.66* |  |
| 7.5：375 | 26.5±2.3 | 4.73±0.80 | 9.35±2.19*   | 8.33±1.06    | 6.68±0.82  |  |

\*, P<0.05; 与空白对照组相比;  
10 \*\*, P<0.01; 与空白对照组相比;  
\*\*\*, P<0.001; 与空白对照组相比;

**试验例 4: 化合物 A 对甲苯磺酸盐、LAF-237 分别与罗格列酮马来酸盐或吡格列酮盐酸盐的联合服用在遗传性肥胖且患糖尿病的 Wistar 肥鼠中的效应**

15

将 14~19 周龄的雄性 Wistar 肥鼠分成 8 组, 每组 5~6 只, 分别服用蒸馏水、化合物 A 对甲苯磺酸盐、罗格列酮马来酸盐、吡格列酮盐酸盐、LAF-237+罗格列酮马来酸盐、LAF-237+吡格列酮盐酸盐、化合物 A 对甲苯磺酸盐+罗格列酮马来酸盐和化合物 A 对甲苯磺酸盐+吡格列酮盐酸盐 14 天。从尾静脉取血, 使用一种商品试剂盒(NC-ROPET, Nippon Chemiphar CO.)以酶法分别测定血浆葡萄糖和血红蛋白 A1. 结果表示为每组 (n=5-6) 的平均值±标准偏差并以 Dunnett's 检验分析,

20

在表 4 中给出。使用 1% 的显著性水平。

[表 4]

|                       | 剂量               | 血浆葡萄糖   | 血红蛋白     |
|-----------------------|------------------|---------|----------|
| 对照组                   |                  | 356±31  | 5.9±0.5  |
| 化合物 A 对甲苯磺酸盐          | 10mg/kg          | 224±52* | 5.9±0.3  |
| 罗格列酮马来酸盐              | 2.5mg/kg         | 327±45  | 6.2±0.6  |
| 吡格列酮盐酸盐               | 5mg/kg           | 298±27  | 5.8±0.2  |
| LAF-237               | 10mg/kg          | 284±31  | 6.1±0.4  |
| LAF-237+罗格列酮马来酸盐      | 10mg/kg+2.5mg/kg | 175±13* | 4.7±0.5* |
| LAF-237+吡格列酮盐酸盐       | 10mg/kg+5 mg/kg  | 168±7*  | 4.6±0.5* |
| 化合物 A 对甲苯磺酸盐+罗格列酮马来酸盐 | 10mg/kg+2.5mg/kg | 125±21* | 4.3±0.4* |
| 化合物 A 对甲苯磺酸盐+吡格列酮盐酸盐  | 10mg/kg+5 mg/kg  | 112±17* | 4.2±0.3* |

\*:P < 0.01 与对照组相比

- 5 表 4 中化合物 A 对甲苯磺酸盐与罗格列酮马来酸盐或吡格列酮盐酸盐联合服用很明显地降低了血液葡萄糖和血红蛋白的浓度，其强度大于化合物 A 对甲苯磺酸盐、罗格列酮马来酸盐、吡格列酮盐酸盐、LAF-237 的单独给药，而且其强度大于 LAF-237 与罗格列酮马来酸盐或吡格列酮盐酸盐联合用药。

## 权利要求书:

1、一种治疗哺乳动物包括人 2 型糖尿病的药物组合物，所述药物组合物含有治疗有效量的罗格列酮或吡格列酮或它们药学上可接受的盐与 (3aS, 5s, 6aR) -5- (2- ((2S, 4S) -2-氰基-4-氟-吡咯烷-1-基) -2-氧乙氨基) -N, N, 5-三甲基-六氢环戊[C]吡咯-2 (1H) -氨甲酰或其药学上可接受的盐，其中罗格列酮或其药学上可接受的盐与 (3aS, 5s, 6aR) -5- (2- ((2S, 4S) -2-氰基-4-氟-吡咯烷-1-基) -2-氧乙氨基) -N, N, 5-三甲基-六氢环戊[C]吡咯-2 (1H) -氨甲酰或其药学上可接受的盐的重量比为 1: 6.25-1: 75，吡格列酮或其药学上可接受的盐与 (3aS, 5s, 6aR) -5- (2- ((2S, 4S) -2-氰基-4-氟-吡咯烷-1-基) -2-氧乙氨基) -N, N, 5-三甲基-六氢环戊[C]吡咯-2 (1H) -氨甲酰或其药学上可接受的盐的重量比为 1: 3-1: 50。

2、根据权利要求 1 所述的药物组合物，其中所述 (3aS, 5s, 6aR) -5- (2- ((2S, 4S) -2-氰基-4-氟-吡咯烷-1-基) -2-氧乙氨基) -N, N, 5-三甲基-六氢环戊[C]吡咯-2 (1H) -氨甲酰或其药学上可接受的盐的人日用量为 25-300 mg。

3、根据权利要求 1 所述的药物组合物，其中所述罗格列酮或其药学上可接受的盐的人日用量为 1-12 mg，所述吡格列酮或其药学上可接受的盐的人日用量为 7.5-60 mg。

4、根据权利要求 1-3 任一项所述的药物组合物，其中所述药物组合物为片剂、硬胶囊剂、软胶囊剂、口服溶液剂、缓释剂、滴丸剂、冲剂、颗粒剂、缓释微丸或其他口服剂型。

5、根据权利要求 1-4 任一项所述的药物组合物，其中所述的 (3aS, 5s, 6aR) -5- (2- ((2S, 4S) -2-氰基-4-氟-吡咯烷-1-基) -2-氧乙氨基) -N, N, 5-三甲基-六氢环戊[C]吡咯-2 (1H) -氨甲酰或其药学上可接受的盐是立即释放或缓慢释放。

6、根据权利要求 1-5 任一项所述的药物组合物，其中所述罗格列酮或吡格列酮或它们药学上可接受的盐是立即释放或缓慢释放。

5        7、根据权利要求 1-6 任一项所述的药物组合物，其中所述药物组合物是以一日一次、一日两次或一日三次给药的药用组合物。

8、根据权利要求 1-7 任一项所述的药物组合物，其中所述药学上可接受的盐选自对甲苯磺酸盐、磷酸盐、盐酸盐、硫酸盐、硝酸盐、  
10 氢溴酸盐、甲磺酸盐、马来酸盐、酒石酸盐、琥珀酸盐、醋酸盐、三氟醋酸盐、富马酸盐、柠檬酸盐、枸橼酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、萘磺酸盐、乳酸盐或苹果酸盐。

9、如权利要求 1-8 任一项所述的药物组合物在制备治疗哺乳动物  
15 包括人糖尿病的药物中的用途。

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2010/072709

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: A61K, C07D, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI, EPODOC, PAJ, CNPAT(CN), CNKI(CN), Chinese Pharmaceutical Abstract (CN), CHEMICAL ABSTRACTS(US), EMBASE, STN: rosiglitazone, pioglitazone, diabetes mellitus, diabetes, antidiabetic, structure search

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                              | Relevant to claim No. |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| A         | CN 101230059 A (SHANGHAI HENRUI MEDICINE CO., LTD.) 30 Jul. 2008 (30.07.2008), see claim 8 compound 18, description page 1, page 8 compound 18, page 63 last two lines                          | 1-9                   |
| A         | LI Xiuli, The study progression of medicaments for the treatment of type 2 diabetes mellitus. Journal of Chifeng University (Natural Science Edition). Jan. 2008, vol. 24, no. 1, see page 124. | 1-9                   |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

|                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                  |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| * Special categories of cited documents:                                                                                                                                 | “T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention                                              |
| “A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance                                                                 | “X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone                                                                     |
| “E” earlier application or patent but published on or after the international filing date                                                                                | “Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art |
| “L” document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) | “&” document member of the same patent family                                                                                                                                                                                                    |
| “O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                  |
| “P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                  |

|                                                                                        |                                                                                        |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| Date of the actual completion of the international search<br>20 Jul. 2010 (20.07.2010) | Date of mailing of the international search report<br><b>05 Aug. 2010 (05.08.2010)</b> |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|

|                                                                                                                                                                                                              |                                                                        |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| Name and mailing address of the ISA/CN<br>The State Intellectual Property Office, the P.R.China<br>6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing, China<br>100088<br>Facsimile No. 86-10-62019451 | Authorized officer<br><b>XIU, Wen</b><br>Telephone No. (86-10)62411205 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.  
PCT/CN2010/072709

| Patent Documents referred<br>in the Report | Publication Date | Patent Family    | Publication Date |
|--------------------------------------------|------------------|------------------|------------------|
| CN 101230059 A                             | 30.07.2008       | WO 2008089636 A1 | 31.07.2008       |
|                                            |                  | CN 101230058 A   | 30.07.2008       |
|                                            |                  | AU 2007345133 A1 | 31.07.2008       |
|                                            |                  | KR 20090108093 A | 14.10.2009       |
|                                            |                  | CA 2673164 A1    | 31.07.2008       |
|                                            |                  | EP 2133077 A1    | 16.12.2009       |
|                                            |                  | MXPA 09007765 A  | 31.07.2009       |
|                                            |                  | US 2010016314 A1 | 21.01.2010       |
|                                            |                  | JP 2010516635 T  | 20.05.2010       |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2010/072709

### CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER:

A61K 31/403 (2006.01) i

A61K 31/4436 (2006.01) i

A61K 31/4439 (2006.01) i

C07D 403/12 (2006.01) i

C07D 209/52 (2006.01) i

A61K 9/08 (2006.01) i

A61K 9/20 (2006.01) i

A61K 9/22 (2006.01) i

A61K 9/48 (2006.01) i

A61K 9/52 (2006.01) i

A61K 9/14 (2006.01) i

A61K 9/16 (2006.01) i

A61P 3/10 (2006.01) i

# 国际检索报告

国际申请号

**PCT/CN2010/072709**

## A. 主题的分类

参见附加页

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

## B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: A61K, C07D, A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

WPI, EPODOC, CNPAT(CN), CNKI(CN), 中国药学文摘库(CN), CHEMICAL ABSTRACTS(US), EMBASE, STN: 罗格列酮, 罗西格列酮, 文迪雅, 匹格列酮, 吡格列酮, 皮欧格力太腺, 派格里达唑, 比格列酮, 毗格列酮, 氰, 吡咯烷, 六氢环戊, 氨甲酰, 糖尿病, 血糖, rosiglitazone, pioglitazone, diabetes mellitus, diabetes, antidiabetic, 结构式检索

## C. 相关文件

| 类 型* | 引用文件, 必要时, 指明相关段落                                                                                         | 相关的权利要求 |
|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| A    | CN 101230059 A (上海恒瑞医药有限公司) 30. 7 月 2008 (30.07.2008), 参见权利要求 8 化合物 18, 说明书第 1 页, 第 8 页化合物 18, 第 63 页最后两行 | 1-9     |
| A    | 李秀丽, 2 型糖尿病的治疗药物研究进展. 赤峰学院学报(自然科学版). 1 月 2008, 第 24 卷, 第 1 期, 参见第 124 页.                                  | 1-9     |

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

\* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

20.7 月 2010 (20.07.2010)

国际检索报告邮寄日期

**05.8 月 2010 (05.08.2010)**

ISA/CN 的名称和邮寄地址:

中华人民共和国国家知识产权局  
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088

传真号: (86-10)62019451

受权官员

修文

电话号码: (86-10) **62411205**

**国际检索报告**  
关于同族专利的信息

国际申请号  
**PCT/CN2010/072709**

| 检索报告中引用的<br>专利文件 | 公布日期       | 同族专利             | 公布日期       |
|------------------|------------|------------------|------------|
| CN 101230059 A   | 30.07.2008 | WO 2008089636 A1 | 31.07.2008 |
|                  |            | CN 101230058 A   | 30.07.2008 |
|                  |            | AU 2007345133 A1 | 31.07.2008 |
|                  |            | KR 20090108093 A | 14.10.2009 |
|                  |            | CA 2673164 A1    | 31.07.2008 |
|                  |            | EP 2133077 A1    | 16.12.2009 |
|                  |            | MXPA 09007765 A  | 31.07.2009 |
|                  |            | US 2010016314 A1 | 21.01.2010 |
|                  |            | JP 2010516635 T  | 20.05.2010 |

## 主题的分类:

A61K 31/403 (2006.01) i

A61K 31/4436 (2006.01) i

A61K 31/4439 (2006.01) i

C07D 403/12 (2006.01) i

C07D 209/52 (2006.01) i

A61K 9/08 (2006.01) i

A61K 9/20 (2006.01) i

A61K 9/22 (2006.01) i

A61K 9/48 (2006.01) i

A61K 9/52 (2006.01) i

A61K 9/14 (2006.01) i

A61K 9/16 (2006.01) i

A61P 3/10 (2006.01) i