



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 76452

(13) C2

(51) МПК (2006)

A61K 31/40

A61K 31/4965

A61P 3/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) ЗАСТОСУВАННЯ ІНГІБІТОРА ДИПЕПТИДИЛПЕПТАЗИ IV ДЛЯ ЛІКУВАННЯ РАННІХ СТАДІЙ ДІАБЕТУ ТИПУ 2

1

(21) 2003109184
(22) 10.04.2002
(24) 15.08.2006
(86) PCT/GB02/01674, 10.04.2002
(31) 0109146.1
(32) 11.04.2001
(33) GB
(46) 15.08.2006, Бюл. № 8, 2006 р.
(72) Брока П'єр, FR, Сюдр Беатріс, СН, Обер Мішель Л., СН
(73) ФЕРРІНГ БВ, NL
(56) WO, A, 01/81337, 01.11.2001
(57) 1. Застосування інгібітора дипептидилпептидази IV або його проліків для одержання фармацевтичної композиції для лікування пацієнта на ранніх стадіях діабету типу 2, яка затримує розвиток діабетичних ускладнень, при цьому інгібітор

2

дипептидилпептидази IV або його проліки являють собою α -аміноацилпіролідіннітрил, а саме:
(2S)-1-((2'S)-2'-аміно-3',3'-диметилбутаноїл)піролідін-2-карбонітрил,
(2S)-1-((2'S)-2'-аміно-5'-піразинкарбоніламінопентаноїл)піролідін-2-карбонітрил
або їх фармацевтично активну сіль.
2. Застосування за пунктом 1, де фармацевтична композиція вивільняє інгібітор дипептидилпептидази IV або його проліки протягом періоду часу від одного тижня до трьох місяців.
3. Застосування за пунктом 2, де фармацевтична композиція являє собою депо-композицію.
4. Застосування за будь-яким з пунктів 1-3, в якому пацієнтом є людина.

Даний винахід відноситься до способу затримки появи симптомів діабету типу 2 та послаблення фізіологічних наслідків діабету типу 2.

Від цукрового діабету страждає приблизно 5% населення, при цьому діабет типу 2, що також відомий як інсуліннезалежний цукровий діабет, складає більше, ніж 80% усіх випадків. Діабет типу 2, зокрема, превалює у людей, вік яких складає більше 40 років, що страждають на ожиріння. Ускладнення діабету включають ретинопатію та нефропатію, діабетики мають суттєво підвищений ризик серцево-судинних захворювань.

Різноманітні лікарські засоби є доступними для лікування діабету типу 2, але залишається потреба у нових засобах, зокрема, таких, що впливають шляхом нових механізмів. Один клас нових терапевтичних агентів включає інгібітори дипептидилпептидази IV (DP-IV, EC.3.4.14.5). Ці сполуки діють, принаймні частково, шляхом блокування інактивації ендогенних інкретинів, таких, як GLP-1 та GIP, що приводить до підвищення чутливості до інсуліну та до зниженої гіперглікемії після їжі. На сьогоднішній день, проте, такі сполуки перевіря-

ються тільки як спосіб контролю рівнів глюкози крові на стадії загострення. Можливість застосування довгострокового лікування цими сполуками не розглядається.

Ми виявили, що постійне лікування за допомогою інгібіторів DP-IV на стандартних моделях діабету типу 2 приводить до затримки розвитку хвороби. Згідно з цим один аспект даного винаходу представляє собою спосіб лікування пацієнтів, які мають ризик розвитку діабету типу 2, або таких на ранніх стадіях діабету, що полягає у запобіганні розвитку захворювання, при цьому вказаний спосіб полягає у введенні вказаному пацієнтові повторюваних доз фармацевтичної композиції, що включає інгібітор DP-IV. Інший аспект винаходу представляє собою фармацевтичну композицію для використання під час такого лікування. Третій аспект даного винаходу представляє собою використання інгібіторів DP-IV для приготування таких композицій.

Ми перевіряли впливи постійного лікування на пацюках Zucker Diabetic Fatty (ZDF) за допомогою інгібіторів DP-IV. ZDF пацюки представляють со-

(13) C2

(11) 76452

(19) UA

бою добре відому модель діабету типу 2 людини. ZDF пацюки є гіперфагічними, і коли утримуються на кормах з високим вмістом жирів, вони стають діабетичними і проявляють як гіперглікемію, гіпертригліцеридемію, полідепсію, так і збільшення циркуляції вільних жирних кислот. Поява симптомів захворювання спостерігається приблизно через 8 тижнів, тварини стають повністю діабетичними у віці 11 тижнів. Ми виявили, що постійне лікування пацюків ZDF за допомогою інгібіторів DP-IV приводить до значної затримки появи симптомів діабетичного стану, це свідчить про те, що таке постійне лікування буде корисним для людей, які мають ризик розвитку діабету типу 2 або для пацієнтів на ранніх стадіях захворювання.

Згідно з цим, перший аспект даного винаходу представляє собою спосіб лікування пацієнтів, що мають ризик розвитку діабету типу 2, або пацієнтів на ранніх стадіях діабету, для того, щоб затримати появу симптомів та розвиток захворювання. Лікування включає введення вказаному пацієнтові повторюваних доз інгібітора DP-IV.

Оцінка того факту, що пацієнт має ризик розвитку діабету типу 2, може бути зроблена досвідченим лікарем, який бере до уваги такі фактори, як вік та вагу (більш специфічно індекс маси тіла, BMI) пацієнта, а також історію діабету у сім'ї пацієнта та інші фактори ризику. Подібно до цього, діагноз ранньої стадії діабету типу 2 може бути зроблений досвідченим лікарем на основі ряду стандартних аналізів та тестів.

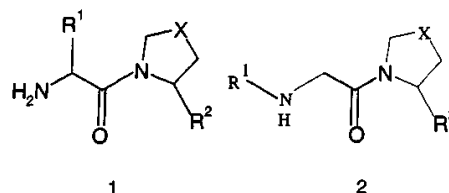
Інгібітор DP-IV може представляти собою будь-яку сполуку, що інгібує ферментативну активність DP-IV в аналізах *in vitro* у концентраціях, нижче 10 мкМ. Особливо прийнятними сполуками є ті, що інгібують ферментативну активність DP-IV у концентраціях, нижчих 0,1 мкМ. Така активність може бути легко визначена середнім спеціалістом у даній галузі при використанні одного з опублікованих способів аналізу. Прийнятні сполуки повинні бути, крім того, бажано селективними, тобто вони не повинні значним чином інгібувати інші ферменти, які не мають відношення до даного, у концентраціях, що дорівнюють таким, при яких досягається інгібування DP-IV, та більш бажано, щоб вони не інгібували цих ферментів у концентраціях у десять разів більших, навіть більш бажано у сто разів більших, ніж ті, при яких вони суттєво інгібують DP-IV.

Об'єм даного винаходу охоплює застосування проліків інгібіторів DP-IV. Проліки добре відомі у галузі техніки. Проліки є сполукою, що взагалі є неактивною *per se*, але яка піддається хімічній або метаболічній модифікації після введення, така модифікація викликає вивільнення активного фармацевтичного агента. Проліки типово застосовують для збільшення пероральної біодоступності або для подовження терміну дії сполуки.

Приклади прийнятих сполук та способи їх приготування розкриті, наприклад, у міжнародних заявках WO91/16339, WO93/08259, WO95/15309, WO98/19998, WO99/46272, WO99/61431, WO99/67279, WO01/14318; патентах США 5,462,928, 5,543,396, 5,939,560, 6,011,155, 6,107,317, 6,110,949, 6,124,305, 6,166,063 та 6,201,132 та європейських патентних заявках

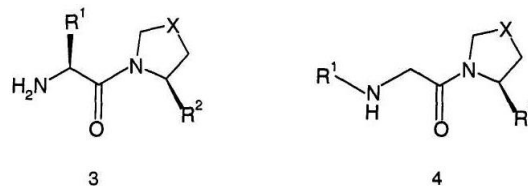
0528858, 0610317, 0731789, 1043328, 1050540 та 1,082314.

У бажаному втіленні даного винаходу інгібітор DP-IV представляє собою α -аміноацилпіролідид, α -аміноацилтіазолідид, α -аміноацилпіролідиненнітрил або α -аміноацилтіазолідиненнітрил. У більш бажаному втіленні інгібітор DP-IV представляє собою сполуку загальної формули 1 або загальної формули 2 або фармацевтично прийнятну сіль будь-якої з них.



У цих загальних формулах X вибраний з метиленової групи CH₂ та атома сірки S; R¹ вибраний з C₁-C₆ алкільних груп, включаючи розгалужені та циклічні алкільні групи та (CH₂)_nR³; R² вибраний з атома водню H та нітрильної групи CN; R³ вибраний з NH-Het та NHCO-Het; Het представляє собою піридиньну, піримідиньну або піразинільну групу, що необов'язково заміщена до двох разів групами, незалежно вибраними з метилу, Cl, F, CN та CF₃; та n дорівнює 2, 3, 4 або 5.

Сполуки згідно з загальними формулами 1 та 2 усі мають, принаймні, один основний атом азоту та, таким чином, здатні до утворення солей приєднання протонвмісних кислот. Приклади таких кислот включають соляну кислоту, сірчану кислоту, фосфорну кислоту, оцтову кислоту, трифтороцтову кислоту, фумарову кислоту, малеїнову кислоту, лимонну кислоту, памоїнову кислоту, метансульфонову кислоту. До тих пір, поки ці кислоти є фармацевтично прийнятними, такі солі включаються в об'єм даного винаходу. Сполуки згідно з загальною формулою 1 мають стереогенний центр (асиметричний атом вуглецю) в аміноацильній групі. Коли R² представляє собою нітрил, сполуки згідно з обома загальними формулами мають стереогенний центр у п'ятичленному кільці. Згідно з цим ці сполуки можуть існувати як оптичні ізомери, такі, як енантіомери та діастереомери. Усі такі ізомери включені в об'єм даного винаходу. Бажана стереохімія є такою, як ілюструється загальними формулами 3 та 4.



У бажаному втіленні даного винаходу інгібітор є сполукою загальної формули 1. Більш бажано, коли він є сполукою загальної формули 1, де R¹ є розгалуженою алкільною групою, такою, як вторбутил або трет-бутил. Більш бажано, коли він є такою сполукою, в якій X є CH₂, а R² є нітрилом, або X є S, R² є H.

В іншому бажаному втіленні даного винаходу інгібітор є сполукою загальної формули 2. Більш бажано, коли він є сполукою загальної формули 2, де R^1 є $(CH_2)_nR^3$, n є 2 та R^3 є $NH-Het$. Більш бажано, коли він є сполукою, в якій X є CH_2 , R^2 є нітрилом, а Het є 5-ціано-2-піридилем.

У способі лікування згідно з даним винаходом інгібітор DP-IV може вводитися пацієнтові як фармацевтична композиція у такому вигляді, як, наприклад, таблетка, капсула, порошок, супозиторій, розчин або суспензія. Загальні принципи приготування таких композицій добре відомі у галузі техніки. Композиція може також включати фармацевтично прийнятні наповнювачі як агенти для збільшення об'єму, зв'язувальні агенти, консерванти, розчинники, смакові агенти, такі, як діабетичні агенти, але бажано, коли інгібітор DP-IV міститься як єдиний активний агент.

Композиції можна вводити будь-яким прийнятним чином, включаючи пероральне, буккальне, під'язикове, ректальне, інтравагінальне та трансдермальне введення, а також внутрішньовенну, підшкірну та внутрішньом'язову ін'єкцію. Бажано, коли композиція вводиться перорально як таблетка або капсула.

Доза буде визначатися практикуючим лікарем, беручи до уваги усі релевантні фактори. Типово, одинична доза містить від 1мг до 100мг, бажано від 5мг до 250мг. Дозу можна вводити один раз на день або частіше, наприклад, двічі або тричі на день. Лікування продовжують протягом тривалого періоду часу, такого, як декілька тижнів, місяців або навіть років.

Альтернативно, композицію можна вводити як депо, яке вивільняє активну сполуку протягом періоду часу від одного тижня до трьох місяців. Такі композиції контрольованого вивільнення відомі у галузі техніки, в загальному випадку вони включають фармацевтично активні форми, асоційовані з біосумісними полімерами. Полімер може просто інкапсулювати активний агент, створюючи фізичний бар'єр для його вивільнення у загальну циркуляцію, або це може бути хімічна асоціація, така, як ковалентна або іонна взаємодія між полімером та активним агентом. Такі композиції взагалі вводяться шляхом внутрішньовенної або підшкірної ін'єкції. У цих випадках введення буде повторюватися з інтервалами від одного тижня до трьох місяців так, щоб проводити лікування протягом тривалого періоду часу.

Другим аспектом даного винаходу є фармацевтична композиція для лікування пацієнта, що має ризик розвитку діабету типу 2, або пацієнта на ранніх стадіях діабету для того, щоб затримати або запобігти розвитку захворювання. Композиція включає інгібітор DP-IV, як описано вище, сформульований прийнятним чином разом з інструкціями стосовно повторюваного дозування.

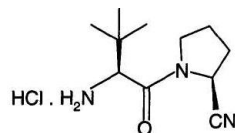
У третьому аспекті даного винаходу застосування інгібітора DP-IV для приготування фармацевтичної композиції для лікування пацієнта, що має ризик розвитку діабету типу 2, або пацієнта на ранніх стадіях діабету для того, щоб затримати або запобігти розвитку захворювання.

Приклади

Приклад 1 - Приготування інгібіторів DP-IV

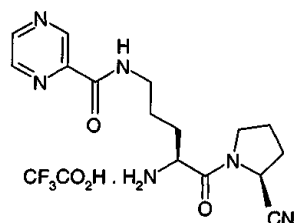
Інгібітори DP-IV можна приготувати згідно з опублікованими способами

Приклад 1A - (2S)-1-((2'S)-2'-аміно-3',3'-диметилбутаноїл)піролідин-2-карбонітрил гідрохлорид



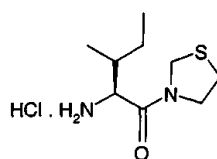
Вказану в назві сполуку одержують згідно зі способами WO95/15309, і зокрема, так, як описано у Прикладі 18. Коротко, БОС-захищений трет-бутилгліцин конденсують з пролінамідом, первинну амідну групу піддають дегідруванню з трифтороцевим ангідридом для одержання нітрилу, а БОС-групу видаляють за допомогою HCl в діоксані.

Приклад 1B - (2S)-1-((2'S)-2'-аміно-5'-піразинкарбоніламінопентаноїл) піролідин-2-карбонітрил трифторацетат



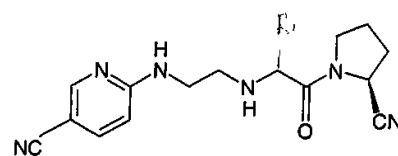
Вказану в назві сполуку одержують згідно з Прикладом 1A вище. Коротко, N^α-БОС-захищений N^α-піразинкарбонілорнітин конденсують з пролінамідом, первинну амідну групу піддають дегідруванню з трифтороцевим ангідридом для одержання нітрилу, а БОС-групу видаляють за допомогою трифтороцевої кислоти.

Приклад 1C - N-ізолейцитіазолідин гідрохлорид



Вказану в назві сполуку одержують згідно зі стандартними способами. Коротко, БОС-захищений ізолейцин конденсують з тіазолідином, а БОС-групу видаляють за допомогою HCl в діоксані.

Приклад 1D - (2S)-1-((2'-(5''-ціано-2''-піридиламіно)етиламіно)ацетил)піролідин-2-карбонітрил



Вказану в назві сполуку одержують згідно зі

способами WO98/19998 та, зокрема, у Прикладі 3. Коротко, бромацетил бромід піддають реакції з пролінамідом, а продукт піддають дегідуванню з трифтороцтовим ангідридом для одержання N-бромацетилпіролідін-2-карбонітрилу. Продукт реакції обробляють 2-(5-ціано-2-піридиламіно)етиламіном для одержання зазначеного продукту.

Приклад 2 - Інгібування OP-IV in vitro

In vitro інгібіторну активність сполук визначають у флуориметричному аналізі. DP-IV людини інкубують зі стандартним субстратом, Ala-Pro-AFC, у присутності різних концентрацій інгібітора. За ходом реакції спостерігають шляхом вимірювання підвищення флуоресценції завдяки продукту реакції, AFC. Використовуючи стандартні маніпуляції, визначають константу інгібування, K_i . Типові результати представлені нижче.

Сполука за Прикладом №	K_i
1A	1,0
1B	0,4
1C	33,0
1D	5,0

Приклад 3 - Ефект довгострокового інгібування DP-IV у ZDF пацюків

Самцям пацюків ZDF віком 6,5 тижнів на початку вивчення (день 0) вводять сполуку за пунктом 1A (10mg/kg, перорально) один або два рази на день протягом чотирьох тижнів. Контрольні тварини одержують носій. Групу худих пацюків, яких не піддавали лікуванню, використовують для порівняння. За глікемією, інсулінемією, вагою тіла, споживанням їжі та води та за рівнем тригліцеридів та жирних кислот у плазмі крові спостерігають протягом усього періоду дослідження.

Приклад 3A - Глікемія

На початку дослідження глікемія суттєво не відрізняється у худих тварин та пацюків, що страждають на ожиріння. На 8 день контрольна група пацюків, що страждають на ожиріння, розвиває гіперглікемію, яка підвищується та виходить на плато на 19 день. Тварини, яких піддають лікуванню один раз на день за допомогою інгібітора, не розвивають суттєвої гіперглікемії до 15 дня, а ті, яких піддають лікуванню двічі на день, не розвивають суттєвої гіперглікемії до 24 дня. Результати представлені на Фігурі 1.

Приклад 3B - Інсулінемія

Усі три групи тварин, що страждають на ожиріння, показують підвищені концентрації інсуліну в плазмі крові на початку періоду вивчення. У конт-

рольній групі тварин, що страждають на ожиріння, концентрація інсуліну швидко підвищується та досягає піку на 8 день перед зниженням в результаті загибелі β -клітин підшлункової залози. У групі, яку піддають лікуванню один раз на день за допомогою інгібітора, спостерігають подібну модель, але пік рівня інсуліну настає тільки на 11 день. У групі, яку піддають лікуванню двічі на день за допомогою інгібітора, концентрації інсуліну не досягає такого високого рівня, і це є основним симптомом виживання β -клітин наприкінці періоду дослідження. Результати представлені на Фігурі 2.

Приклад 3C - Досягнута вага тіла

Усі три групи тварин, що страждають на ожиріння, набирають вагу швидше, ніж тварини групи худих пацюків, але група, яку піддають лікуванню двічі на день за допомогою інгібітора, набирають меншої ваги, ніж контрольна група тварин, що страждають на ожиріння, та група, яку піддають лікуванню один раз на день. Результати представлені на Фігурі 3.

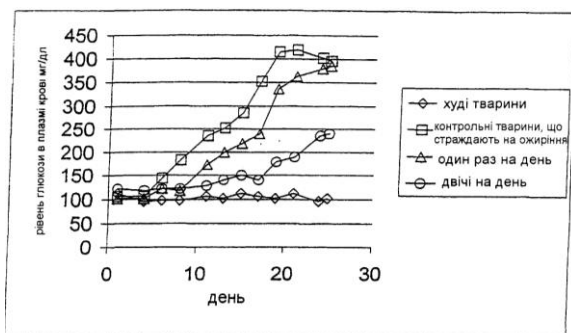
Приклад 3D - Споживання їжі та води

Усі три групи тварин, що страждають на ожиріння, споживають більше їжі, ніж група худих пацюків, але на 17 день споживання їжі для групи, яку піддають лікуванню двічі на день, було значно меншим, ніж таке для контрольної групи тварин, що страждають на ожиріння, та групи тварин, яких піддають лікуванню один раз на день. На 10 день контрольна група та група, яку піддають лікуванню один раз на день показують збільшення споживання води, у той час, як група, яку піддають лікуванню двічі на день підтримує рівень нормального споживання води. Ці результати представлені на Фігурах 4 та 5.

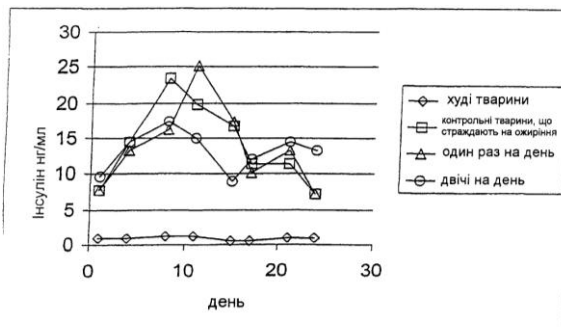
Приклад 3E - Рівень тригліцеридів у плазмі крові

Рівні вільних жирних кислот та тригліцеридів у плазмі крові є значно підвищеними у тварин, що страждають на ожиріння на 0 день, а у контрольних пацюків, що страждають на ожиріння, ці рівні підвищуються протягом усього періоду дослідження. Ці результати представлені на Фігурах 6 та 7.

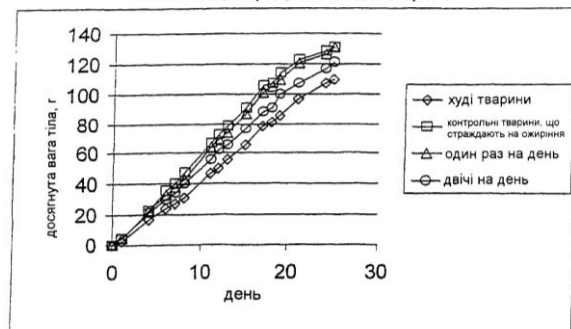
Результати, описані вище, чітко показують, що довгострокове інгібування DP-IV є ефективним у затримці появи симптомів діабету у ZDF пацюків і, таким чином, що інгібітори DP-IV будуть корисними як профілактичні агенти для людей, що мають ризик розвитку діабету типу 2, та для лікування людей на ранніх стадіях захворювання для затримки розвитку ускладнень діабету.



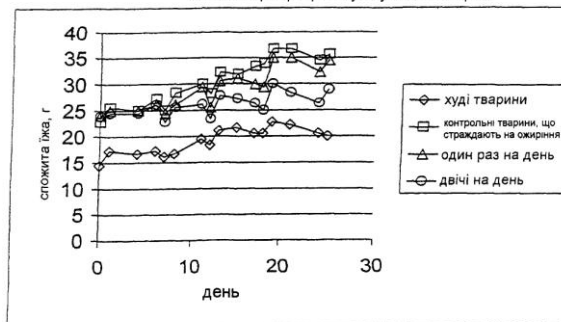
Фіг.1-Концентрація глюкози в крові



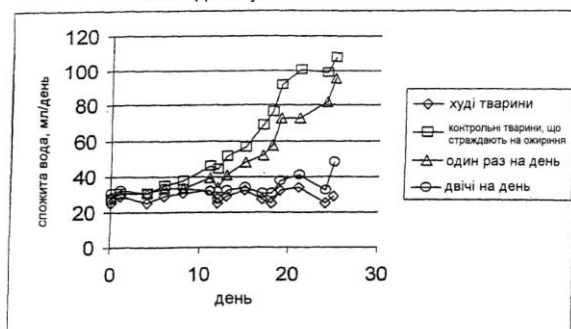
Фіг.2-Концентрація інсуліну в плазмі крові



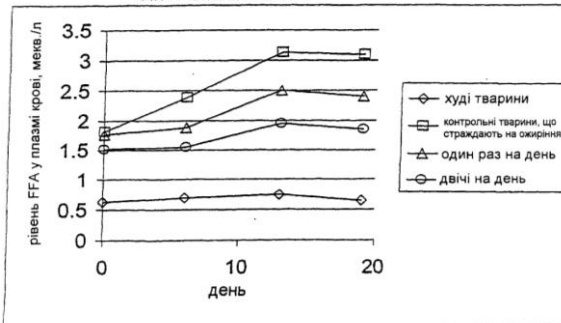
Фіг.3 - Досягнута вага тіла



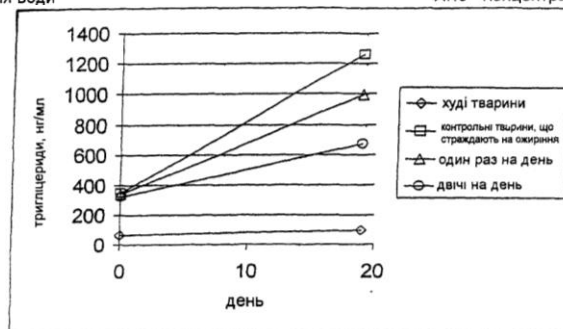
Фіг.4 - Споживання їжі



Фіг.5 - Споживання води



Фіг.6 - Концентрація вільних жирних кислот у крові



Фіг.7 - Концентрація тригліцеридів у крові