



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1905876 B

(45) 授权公告日 2010.06.09

(21) 申请号 200480040508.9

A61K 31/4985(2006.01)

(22) 申请日 2004.11.16

A61K 31/40(2006.01)

(30) 优先权数据

A61K 31/403(2006.01)

60/520,563 2003.11.17 US

A61K 31/472(2006.01)

60/520,562 2003.11.17 US

A61P 9/04(2006.01)

60/547,192 2004.02.24 US

A61P 9/10(2006.01)

60/547,191 2004.02.24 US

A61P 13/12(2006.01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

(56) 对比文件

2006.07.14

WO 0147514 A1, 2001.07.05, 摘要, 说明书第4页第2段, 第6页第1-3段, 第10页, 第12页第4段.

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2004/012990 2004.11.16

WO 9819998 A2, 1998.05.14, 全文.

(87) PCT申请的公布数据

W02005/049022 EN 2005.06.02

WO 03074500 A2, 2003.09.12, 说明书第1页第22-24行, 第30行.

(73) 专利权人 诺瓦提斯公司

审查员 钟彦

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 R·普拉特雷 J·E·福雷

T·E·休斯

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 黄革生 贾士聪

(51) Int. Cl.

A61K 31/4439(2006.01)

A61K 31/4025(2006.01)

A61K 31/426(2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 20 页

(54) 发明名称

二肽基肽酶 IV 抑制剂的用途

(57) 摘要

二肽基肽酶 IV 抑制剂 (DPP-IV 抑制剂)、优选 (S)-1-[(3-羟基-1-金刚烷基)氨基]乙酰基-2-氧基-吡咯烷或其可药用盐用于治疗心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病的用途。

1. DPP-IV 抑制剂或其可药用盐在制备药物中的用途,所述药物用于长期施用以防、治疗心血管疾病或损害或延迟它们的发展,其中所述 DPP-IV 抑制剂是 (S)-1-[(3-羟基-1-金刚烷基)氨基]乙酰基-2-氰基-吡咯烷,所述长期施用是指施用至少三周,

其中所述的心血管疾病或损害选自心脏肥大、心肌梗塞后的心脏重塑、扩张型或肥厚型心肌病中的肺充血和心脏纤维化、心肌病、糖尿病性肌病、充血性心力衰竭中的中风、动脉和 / 或大血管的肥大性内侧增厚、肠系膜脉管系统肥大。

2. 权利要求 1 所述的用途,其中所述的心血管疾病或损害选自心脏肥大、心肌病。

3. 权利要求 2 所述的用途,其中所述的心脏肥大是左心室肥大或右心室肥大。

4. 权利要求 2 所述的用途,其中所述的心肌病是扩张型心肌病、肥厚型心肌病或糖尿病性心肌病。

5. 权利要求 1 所述的用途,其中所述的血管疾病或损害选自患有高血压或糖尿病的动物或人的动脉和 / 或大血管的肥大性内侧增厚、肠系膜脉管系统肥大。

6. 权利要求 1 所述的用途,其用于改善左心室功能。

7. 前面任意一项权利要求所述的用途,其中所治疗的患者或动物患有高血压或糖尿病。

二肽基肽酶 IV 抑制剂的用途

[0001] 本发明涉及二肽基肽酶 IV 抑制剂 (DPP-IV 抑制剂) 或其可药用盐用于治疗心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病的用途, 涉及治疗患有心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病的包括人在内的温血动物的方法, 该方法对需要这类治疗的所述动物施用有效剂量的至少一种 DPP-IV 抑制剂或其可药用盐。

[0002] 广泛公认的是, 肾素 - 血管紧张素系统 (RAS) 的增量调节对心血管疾病的发病机制有贡献, 并且是压力 / 容积内环境稳定的调节和高血压表达中所涉及的激素机理之一。此外, 肾素 - 血管紧张素系统还在肾损害的发生中起着重要作用。

[0003] 通过在该领域进行研究, 申请人已经令人吃惊地发现, 二肽基肽酶 IV 抑制剂 (DPP-IV 抑制剂) 减少心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病。DPP-IV 抑制剂特别可减少动物的心血管增厚、基质沉积和心血管肥大和肥大性重塑 (hypertrophic remodeling)。其次, 这些营养作用的改善与体循环血压的改变无关。与血压无关的作用的优点是在临床实践中难以达到拟定的目标。通常需要 2-3 种药物。另外, 对血压或心血管和肾疾病或损害而言没有阈值, 所以与血压无关的保护作用将是十分有利的。

[0004] 充血性心力衰竭 (CHF) 或心力衰竭 (HF) 是一种用于描述其中心脏不能向机体充足泵血和 / 或不能阻止血液“倒退”到肺中的任何情况的术语。这些情况导致诸如呼吸短促 (呼吸困难)、疲劳、虚弱和腿肿胀 (水肿) 等症状, 并且有时导致腹部肿胀 (水肿)。

[0005] 不管其病因学是什么, 充血性心力衰竭的特征均为心脏的左和 / 或右室的心肌组织虚弱, 从而导致向全身和 / 或肺系统泵送血液和循环血液困难。心肌组织虚弱通常与导致不能向外周组织和器官传递足够的血液和氧的循环和神经介质改变有关。一些所导致的改变包括肺压和系统压力升高、心输出量降低、血管阻力升高以及外周性水肿和肺水肿。充血性心力衰竭还可以表现为在活动、静止时呼吸短促或者阵发性夜间呼吸困难。如果不进行治疗的话, 充血性心力衰竭可导致死亡。

[0006] 心力衰竭可以被描述为收缩期或舒张期的、高输出量或低输出量的、急性或慢性的、右侧或左侧的以及前向性或后向性的。在临床环境中常常使用这些描述词, 特别是在患者病程的早期, 但是在慢性 HF 过程的晚期, 这些术语之间的差异变得很模糊。

[0007] 收缩期与舒张期衰竭: 这两种 HF 形式之间的差异在于主要的异常是心室不能正常收缩和排出足够的血液 (收缩期衰竭) 还是心室不能正常舒张和 / 或充盈 (舒张期衰竭)。

[0008] 高输出量与低输出量心力衰竭: 可用于将 HF 患者分类为具有低心排血量、即低输出量 HF 的患者和具有升高的心排血量、即高输出量 HF 的患者。

[0009] 急性与慢性心力衰竭: 急性 HF 的原型是之前完全健康的患者突然形成大的心肌梗塞或心脏瓣膜破裂。在患有扩张型心肌病或多瓣膜性心脏病的患者中通常观察到缓慢发生或发展的慢性 HF。急性 HF 通常主要是收缩期性的, 并且心排血量的突然降低常常在不出现外周水肿的情况下导致系统性低血压。相反, 在慢性 HF 中, 动脉压通常可被十分良好地

维持,直到病程的非常晚期,但是常常发生水肿蓄积。

[0010] 右侧与左侧心力衰竭:HF 的许多临床表现是由于一个或两个心室后蓄积过量的液体所导致的。这种液体通常逆流集中于最初受影响的心室(后面)。

[0011] 后向性与前向性心力衰竭:多年以来,围绕着由 HF 导致的临床表现的机理问题一直有许多争论。后向性和前向性 HF 之间的严格区别(如同右和左 HF 之间的严格区别)是人为的,因为在大多数 HF 患者中,这两种机理似乎都在不同程度上起作用。

[0012] HF 的治疗可以分为四个组成部分:(1) 除去诱因,(2) 校正潜在原因(underlying cause),(3) 防止心脏功能变坏,和(4) 控制充血性 HF 状态。

[0013] 常规地, HF 可用许多药物进行治疗,包括 α -肾上腺素能激动剂、 β -肾上腺素能拮抗剂、钙通道拮抗剂、强心苷类、利尿剂、硝酸酯类、磷酸二酯酶抑制剂、哌唑嗪和各种血管舒张药。

[0014] 但是,所有这些药物都具有不希望的副作用。例如,使用 α -肾上腺素能激动剂导致外周组织水肿。长期使用 β -肾上腺素能药导致逐渐发生对药物脱敏。强心苷类对 CNS 产生毒副作用,并且对胃肠和呼吸系统也产生毒副作用。另外它们还产生促-心律失常作用。用利尿剂进行治疗可导致多种副作用,如低钠血症、低钾血症和高氯代谢性碱中毒。

[0015] 长期使用钙通道拮抗剂如维拉帕米、地尔硫革和硝苯地平会致使其无效。此外,还已经表明钙通道拮抗剂增加接受该类治疗的患者的死亡率,因为该类化合物增加耗氧量,进一步加重了受损心脏的负担。

[0016] 因此,一直需要可用来治疗 HF、改善左心室功能且不增加心肌需氧量的无毒的新化合物。还优选的是所述药物不直接刺激心脏收缩或产生诸如血压和/或心率改变等副作用,因为它们与 HF 患者死亡率增加有关。

[0017] 通过在该领域进行研究,申请人已经令人吃惊地发现 DPP-IV 抑制剂可用于预防、延迟心力衰竭(HF)或与心力衰竭有关的疾病的发展或者可用于治疗这些疾病。

[0018] 因此,本发明涉及二肽基肽酶 IV 抑制剂(DPP-IV 抑制剂)或其可药用盐在制备药物中的用途,所述药物用于治疗心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病。

[0019] 术语“DPP-IV 抑制剂”表示对 DPP-IV 和功能上相关的酶的酶活性表现出抑制作用、例如表现出 1-100% 的抑制作用、并且尤其是保存底物分子作用的分子,其包括但不限于胰高血糖素样肽-1、肠抑胃肽、组氨酸蛋氨酸肽(peptide histidine methionine)、P 物质、神经肽 Y 和在第二个氨基末端位置通常含有丙氨酸或脯氨酸残基的其它分子。用 DPP-IV 抑制剂进行的治疗可延长肽底物的作用持续时间并增加其完整的未降解形式的水平,从而产生与本发明所公开内容相关的生物活性谱。

[0020] DPP-IV 可用于控制葡萄糖代谢,因为其底物包括促胰岛素激素胰高血糖素样肽-1(GLP-1)和肠抑胃肽(GIP)。GLP-1 和 GIP 仅在其完整形式的情况下才有活性;除去其两个 N-末端氨基酸会使其灭活。体内施用合成的 DPP-IV 抑制剂可防止 GLP-1 和 GIP 的 N-末端降解,从而导致这些激素的血浆浓度升高、胰岛素分泌增加,并且因此改善葡萄糖耐量。对于该目的而言,对化合物进行试验以检测其抑制纯化的 CD26/DPP-IV 的酶活性的能力。简言之,CD26/DPP-IV 的活性是通过其裂解合成底物 Gly-Pro-对-硝基 N-酰苯胺(Gly-Pro-pNA)的能力来进行体外测量的。DPP-IV 对 Gly-Pro-pNA 的裂解释放出产物

对 - 硝基 N- 酰苯胺 (pNA), 其表观速率与酶活性成正比。特定酶抑制剂对酶活性的抑制作用减缓 pNA 的产生。抑制剂与酶之间的相互作用越强, 导致 pNA 的产生速度越慢。因此, pNA 的蓄积速率的抑制程度是酶抑制作用强度的直接量度。pNA 的蓄积用分光光度计进行测量。各化合物的抑制常数 K_i 是通过用一些不同浓度的抑制剂和底物对固定量的酶进行孵育来进行测定的。

[0021] 在本发明的上下文中, “DPP-IV 抑制剂” 还包括其活性代谢物和前体药物, 如 DPP-IV 抑制剂的活性代谢物和前体药物。“代谢物” 是当 DPP-IV 抑制剂被代谢时产生的 DPP-IV 抑制剂的活性衍生物。“前体药物” 是被代谢成 DPP-IV 抑制剂或被代谢为与 DPP-IV 抑制剂相同的代谢物的化合物。

[0022] DPP-IV 抑制剂在现有技术中是已知的。例如, 在以下各文献中一般地和具体地公开了 DPP-IV 抑制剂: WO 98/19998、DE19616 486 A1、W000/34241、WO 95/15309、WO 01/72290、WO 01/52825、WO 9310127、WO 9925719、WO 9938501、WO 9946272、WO 9967278 和 WO 9967279。

[0023] 在下列专利申请中对优选的 DPP-IV 抑制剂进行了描述; W002053548 (尤其是化合物 1001 至 1293 和实施例 1 至 124)、WO 02067918 (尤其是化合物 1000 至 1278 和 2001 至 2159)、WO 02066627 (尤其是实施例所述的化合物)、WO 02/068420 (尤其是在实施例 I 至 LXIII 中具体列出的所有化合物和所描述的相应类似物, 更优选的化合物是在报告 IC₅₀ 的表中所描述的化合物 2(28)、2(88)、2(119)、2(136))、WO 02083128 (尤其是实施例 1 至 13)、US 2003096846 (尤其是具体描述的化合物)、W02004/037181 (尤其是实施例 1 至 33)、WO 0168603 (尤其是实施例 1 至 109 的化合物)、EP1258480 (尤其是实施例 1 至 60 的化合物)、WO 0181337 (尤其是实施例 1 至 118)、WO 02083109 (尤其是实施例 1A 至 1D)、W0030003250 (尤其是实施例 1 至 166, 最优选 1 至 8)、WO 03035067 (尤其是实施例中所描述的化合物)、WO 03/035057 (尤其是在实施例中所描述的化合物)、US2003216450 (尤其是实施例 1 至 450)、WO 99/46272 (尤其是权利要求 12、14、15 和 17 的化合物)、WO 0197808 (尤其是权利要求 2 的化合物)、WO 03002553 (尤其是实施例 1 至 33 的化合物)、WO 01/34594 (尤其是实施例 1 至 4 中所描述的化合物)、WO 02051836 (尤其是实施例 1 至 712)、EP1245568 (尤其是实施例 1 至 7)、EP1258476 (尤其是实施例 1 至 32)、US 2003087950 (尤其是所述的实施例)、WO 02/076450 (尤其是实施例 1 至 128)、WO 03000180 (尤其是实施例 1 至 162)、WO 03000181 (尤其是实施例 1 至 66)、WO 03004498 (尤其是实施例 1 至 33)、WO 0302942 (尤其是实施例 1 至 68)、US 6482844 (尤其是所述的实施例)、WO 0155105 (尤其是实施例 1 和 2 中所列出的化合物)、WO 0202560 (尤其是实施例 1 至 166)、WO 03004496 (尤其是实施例 1 至 103)、WO 03/024965 (尤其是实施例 1 至 54)、WO 0303727 (尤其是实施例 1 至 209)、WO 0368757 (尤其是实施例 1 至 88)、WO 03074500 (尤其是实施例 1 至 72, 实施例 4.1 至 4.23, 实施例 5.1 至 5.10, 实施例 6.1 至 6.30, 实施例 7.1 至 7.23, 实施例 8.1 至 8.10, 实施例 9.1 至 9.30)、WO 02038541 (尤其是实施例 1 至 53)、W002062764 (尤其是实施例 1 至 293, 优选实施例 95 的化合物 (2-{{3-(氨基甲基)-4-丁氧基-2-新戊基-1-氧代-1,2-二氢-6-异喹啉基}氧基}乙酰胺盐酸盐))、WO 02308090 (尤其是实施例 1-1 至 1-109, 实施例 2-1 至 2-9, 实施例 3, 实施例 4-1 至 4-19, 实施例 5-1 至 5-39, 实施例 6-1 至 6-4, 实施例 7-1 至 7-10, 实施例 8-1 至 8-8, 第 90 页的实施例 7-1 至

7-7, 第 91 至 95 页的实施例 8-1 至 8-59, 实施例 9-1 至 9-33, 实施例 10-1 至 10-20)、US 2003225102(尤其是化合物 1 至 115, 实施例 1 至 121 的化合物, 优选化合物 a) 至 z)、aa) 至 az)、ba) 至 bz)、ca) 至 cz) 和 da) 至 dk)、WO 0214271(尤其是实施例 1 至 320) 和 US 2003096857、WO 2004/052850(尤其是具体描述的化合物如实施例 1 至 42 和权利要求 1 的化合物)、DE 10256264A1(尤其是所描述的化合物如实施例 1 至 181 和权利要求 5 的化合物)、WO 04/076433(尤其是具体描述的化合物, 如表 A 中所列出的化合物, 优选表 B 中所列出的化合物, 优选化合物 I 至 XXXVII, 或权利要求 6 至 49 的化合物)、W004/071454(尤其是具体描述的化合物, 例如化合物 1 至 53 或表 Ia 至 If 的化合物或权利要求 2 至 55 的化合物)、WO 02/068420(尤其是具体描述的化合物, 如化合物 I 至 LXIII 或实施例 I 和类似物 1 至 140 或实施例 2 和类似物 1 至 174 或实施例 3 和类似物 1, 或实施例 4 至 5, 或实施例 6 和类似物 1 至 5, 或实施例 7 和类似物 1-3, 或实施例 8 和类似物 1, 或实施例 9, 或实施例 10 和类似物 1 至 531, 更优选权利要求 13 的化合物)、W003/000250(尤其是具体描述的化合物, 如化合物 1 至 166, 优选实施例 1 至 9 的化合物)、WO 03/024942(尤其是具体描述的化合物, 如化合物 1 至 59、表 1 的化合物(1 至 68)、权利要求 6、7、8、9 的化合物)、W003024965024942(尤其是具体描述的化合物, 如化合物 1 至 54)、W003002593(尤其是具体描述的化合物, 如表 1 的化合物或权利要求 2 至 15 的化合物)、WO 03037327(尤其是具体描述的化合物, 如实施例 1 至 209 的化合物)、WO 03/000250(尤其是具体描述的化合物, 如化合物 1 至 166, 优选实施例 1 至 9 的化合物)、WO 03/024942(尤其是具体描述的化合物, 如化合物 1 至 59, 表 1 的化合物(1 至 68)、权利要求 6、7、8、9 的化合物)、WO 03024965024942(尤其是具体描述的化合物, 如化合物 1 至 54)、W003002593(尤其是具体描述的化合物, 如表 1 的化合物或权利要求 2 至 15 的化合物)、WO 03037327(尤其是具体描述的化合物, 如实施例 1 至 209 的化合物)、WO 0238541、WO 0230890、WO 03/000250(尤其是具体描述的化合物, 如化合物 1 至 166, 优选实施例 1 至 9 的化合物)、WO 03/024942(尤其是具体描述的化合物, 如化合物 1 至 59, 表 1 的化合物(1 至 68)、权利要求 6、7、8、9 的化合物)、WO 03024965(尤其是具体描述的化合物, 如化合物 1 至 54)、WO 03002593(尤其是具体描述的化合物, 如表 1 的化合物或权利要求 2 至 15 的化合物)、WO 03037327(尤其是具体描述的化合物, 如实施例 1 至 209 的化合物)、WO 0238541(尤其是具体描述的化合物, 如实施例 1 至 53 的化合物)、WO 03/002531(尤其是具体描述的化合物, 优选第 9 至 13 页所列出的化合物, 最优选实施例 1 至 46 的化合物并且更优选实施例 9 的化合物)、美国专利 No. 6, 395, 767(优选实施例 1 至 109 的化合物, 最优选实施例 60 的化合物)。

[0024] 在各种情况中, 特别是在化合物权利要求和工作实施例的终产物的情况下, 将这些公开物中终产物、药物制剂和权利要求的主题内容在此引入本申请作为参考。

[0025] WO 9819998 公开了 N-(N' - 取代的甘氨酸基)-2- 氰基吡咯烷, 特别是 1-[2-[5- 氰基吡啶 -2- 基]氨基]-乙基氨基]乙酰基-2- 氰基-(S)- 吡咯烷。

[0026] W003/002553 中所述的优选化合物被列在第 9 至 11 页上, 将其引入本申请中作为参考。

[0027] DE19616 486 A1 公开了 val-pyr、val- 噻唑烷、异亮氨酸基-噻唑烷、异亮氨酸基-吡咯烷以及异亮氨酸基-噻唑烷和异亮氨酸基-吡咯烷的富马酸盐 (fumar salt)。

[0028] 公开的专利申请 WO 0034241 和公开的专利 US 6110949 分别公开了 N- 取代的金

刚烷基-氨基-乙酰基-2-氰基吡咯烷和N-(取代的甘氨酸基)-4-氰基吡咯烷。感兴趣的DPP-IV抑制剂特别是权利要求1至4中所列举的那些。这些申请特别描述了化合物1-[[(3-羟基-1-金刚烷基) 氨基] 乙酰基]-2-氰基-(S)-吡咯烷(也被称为LAF237)。

[0029] WO 9515309 公开了作为DPP-IV抑制剂的氨基酸2-氰基吡咯烷酰胺类物质, WO 9529691 公开了 α -氨基烷基磷酸二酯的肽基衍生物, 特别是具有脯氨酸或相关结构的那些。感兴趣的DPP-IV抑制剂尤其是表1至8中所列举的那些。

[0030] 在WO 01/72290中, 感兴趣的DPP-IV抑制剂尤其是在实施例1和权利要求1、4和6中所列举的那些。

[0031] WO 01/52825 尤其是公开了(S)-1-{2-[5-氰基吡啶-2基] 乙基-氨基乙酰基}-2-氰基-吡咯烷或(S)-1-[(3-羟基-1-金刚烷基) 氨基] 乙酰基-2-氰基-吡咯烷(LAF237)。

[0032] WO 9310127 公开了用作DPP-IV抑制剂的脯氨酸硼酸酯。感兴趣的DPP-IV抑制剂尤其是在实施例1至19中所列举的那些。

[0033] 公开的专利申请WO 9925719 公开了sulphostin-一种通过对链霉菌属微生物进行培养制得的DPP-IV抑制剂。

[0034] WO 9938501 公开了N-取代的4-至8-元杂环。感兴趣的DPP-IV抑制剂尤其是权利要求15至20中所列举的那些。

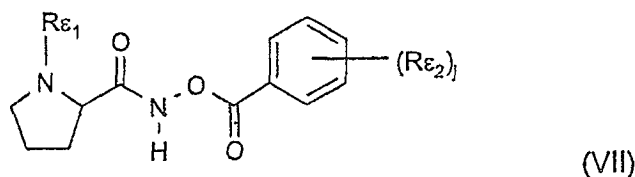
[0035] WO 9946272 公开了作为DPP-IV抑制剂的含磷化合物。感兴趣的DPP-IV抑制剂尤其是权利要求1至23中所列举的那些。

[0036] 其它优选的DPP-IV抑制剂有专利申请WO 03/057200 第14至27页中所公开的式I、II或III的化合物。最优的DPP-IV抑制剂是在第28和29页所具体描述的那些。

[0037] 公开的专利申请WO 9967278 和WO 9967279 公开了DPP-IV前体药物和A-B-C形式的抑制剂, 其中C是稳定或不稳定的DPP-IV抑制剂。

[0038] 优选地, N-肽基-O-芳酰基羟胺是式VII的化合物

[0039]



[0040] 其中

[0041] j 是 0、1 或 2 ;

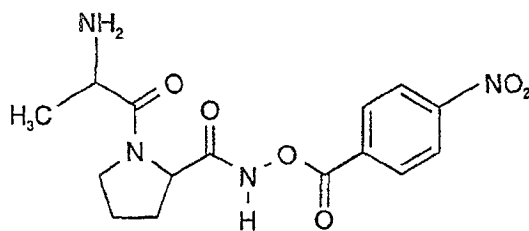
[0042] R_{ϵ_1} 表示天然氨基酸侧链 ; 和

[0043] R_{ϵ_2} 表示低级烷氧基、低级烷基、卤素或硝基 ;

[0044] 或其可药用盐。

[0045] 在本发明的一个非常优选的实施方案中, N-肽基-O-芳酰基羟胺是式VIIa的化合物

[0046]



(VIIa)

[0047] 或其可药用盐。

[0048] H. U. Demuth 等人在 J. Enzyme Inhibition 1988, 第 2 卷, 第 129-142 页, 尤其是在第 130-132 页对 N- 肽基 -O- 芳酰基羟胺例如式 VII 或 VIIa 的 N- 肽基 -O- 芳酰基羟胺及其制备进行了描述。

[0049] 优选的 DPP-IV 抑制剂是 Mona Patel 等人 (Expert Opinion Investig Drugs. 2003 年 4 月 ;12(4) :623-33) 在第 5 段、尤其是 P32/98 所述的那些、K-364、FE-999011、BDPX、NVP-DDP-728 等, 该公开物在此被引入作为参考, 尤其是所述的 DPP-IV 抑制剂。

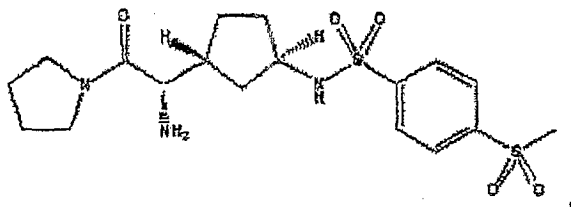
[0050] 在专利申请 WO 95/15309 的第 14 页中描述了 FE-999011, 其化合物编号为 18。

[0051] 另一种优选的抑制剂是在美国专利 No. 6, 395, 767 中所公开的化合物 BMS-477118 (实施例 60 的化合物), 其也被称为 (1S, 3S, 5S)-2-[(2S)-2-氨基-2-(3-羟基三环 [3.3.1.1^{3,7}] 癸-1-基)-1-氧代乙基]-2-氮杂二环 [3.1.0] 己烷-3-腈, 苯甲酸盐 (1 : 1) (如专利申请 WO 2004/052850 第 2 页的式 M 所示), 和相应的游离碱 (1S, 3S, 5S)-2-[(2S)-2-氨基-2-(3-羟基-三环 [3.3.1.1^{3,7}] 癸-1-基)-1-氧代乙基]-2-氮杂二环-[3.1.0] 己烷-3-腈 (M') 及其单水合物 (M'') (如专利申请 WO 2004/052850 第 3 页的式 M 所示)。

[0052] 另一种优选的抑制剂是在 WO 03/002531 (实施例 9) 中所公开的化合物 GSK23A, 也被称为 (2S, 4S)-1-((2R)-2-氨基-3-[(4-甲氧基苄基)磺酰基]-3-甲基丁酰基)-4-氟吡咯烷-2-腈盐酸盐。

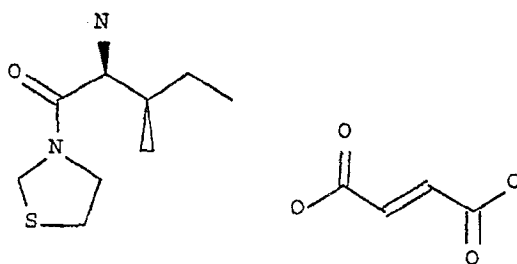
[0053] 在国际专利申请 WO 02/076450 (尤其是实施例 1 至 128) 和 Wallace T. Ashton (Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 14(2004)859-863) 中对本发明的其它非常优选的 DPP-IV 抑制剂进行了描述, 尤其是化合物 1 和在表 1 和 2 中所列出的化合物。优选的化合物是下式的化合物 21e (表 1)

[0054]



[0055] P32/98 或 P3298 (CAS 号 :251572-86-8) 也被称为 3-[(2S, 3S)-2-氨基-3-甲基-1-氧代戊基] 噻唑烷, 可以以如下所示的 3-[(2S, 3S)-2-氨基-3-甲基-1-氧代戊基] 噻唑烷和 (2E)-2-丁烯二酸盐 / 酯 (2 : 1) 混合物的形式被使用

[0056]



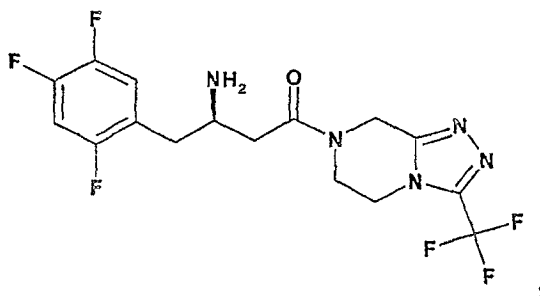
[0057] 并且在 WO 99/61431 中以 Probiodrug 的名称并且还以化合物 P 93/01 的名称被进行了描述。

[0058] 其它优选的 DPP-IV 抑制剂有在专利申请 WO 02/083128 中所公开的化合物,如权利要求 1 至 5 中所述的化合物。最优选的 DPP-IV 抑制剂是实施例 1 至 13 和权利要求 6 至 10 中具体描述的化合物。

[0059] 在专利申请 WO 2004/037169 (尤其是实施例 1 至 48) 和 WO 02/062764 (尤其是实施例 1 至 293) 中对其它优选的 DPP-IV 抑制剂进行了描述,更优选的是在第 7 页中描述的化合物 3-(氨基甲基)-2-异丁基(isobutyl)-1-氧代-4-苯基-1,2-二氢-6-异喹啉甲酰胺和 2-[[3-(氨基甲基)-2-异丁基-4-苯基-1-氧代-1,2-二氢-6-异喹啉基]氧基]乙酰胺,在专利申请 W02004/024184 (尤其是参考实施例 1 至 4) 中也有描述。

[0060] 在 WO 03/004498 (尤其是实施例 1 至 33) 中对其它优选的 DPP-IV 抑制剂进行了描述,最优选实施例 7 所述的下式的化合物

[0061]



[0062] MK-0431

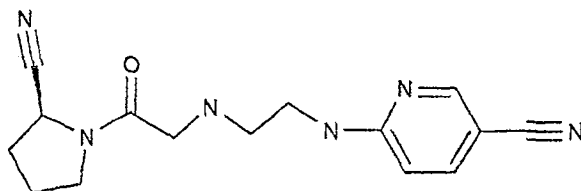
[0063] 其也被称为 MK-0431。

[0064] 在专利申请 WO 2004/037181 (尤其是实施例 1 至 33) 中也对优选的 DPP-IV 抑制剂进行了描述,最优选在其权利要求 3 至 5 中所述的化合物。

[0065] 优选的 DPP-IV 抑制剂有 N-取代的金刚烷基-氨基-乙酰基-2-氰基吡咯烷、N(取代的甘氨酸基)-4-氰基吡咯烷、N-(N'-取代的甘氨酸基)-2-氰基吡咯烷、N-氨基酰基噻唑烷、N-氨基酰基吡咯烷、L-别-异亮氨酸酰基噻唑烷、L-苏-异亮氨酸酰基吡咯烷和 L-别-异亮氨酸酰基吡咯烷、1-[2-[(5-氰基吡啶-2-基)氨基]乙基氨基]乙酰基-2-氰基-(S)-吡咯烷以及它们药用盐。

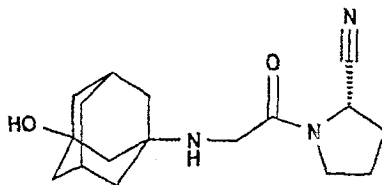
[0066] 尤其优选的是下式的 1-{2-[(5-氰基吡啶-2-基)氨基]乙基氨基}乙酰基-2(S)-氰基-吡咯烷二盐酸盐 (DPP728),

[0067]



[0068] 尤其是其二盐酸盐,和下式的(S)-1-[(3-羟基-1-金刚烷基)氨基]乙酰基-2-氰基-吡咯烷(LAF237)

[0069]



[0070] 以及L-苏-异亮氨酰基噻唑烷(如上所述,根据Probiodrugs的化合物代码:P32/98)、MK-0431、GSK23A、BMS-477118、3-(氨基甲基)-2-异丁基-1-氧代-4-苯基-1,2-二氢-6-异喹啉甲酰胺和2-{[3-(氨基甲基)-2-异丁基-4-苯基-1-氧代-1,2-二氢-6-异喹啉基]氧基}乙酰胺以及任选地在任意情况中其药用盐。

[0071] DPP728和LAF237是非常优选的化合物并且分别在WO 98/19998的实施例3和WO 00/34241的实施例1中被具体公开。在Diabetes 1998,47,1253-1258中对DPP-IV抑制剂P32/98(见上)进行了具体描述。DPP728和LAF237可以如WO 98/19998第20页或WO 00/34241中所述的那样来进行配制。在美国临时申请No. 60/604274中对用于施用LAF237的优选制剂进行了描述。

[0072] 尤其优选的是口服有效的DPP-IV抑制剂。在另一个实施方案中,优选的DPP-IV抑制剂优选地不是二肽化合物和衍生物。

[0073] 在此被引入作为参考的上述专利文件中所公开的任何物质均被认为有可能可用作DPP-IV抑制剂来实施本发明。

[0074] 本发明单独使用的DPP-IV抑制剂可以与载体一起使用。

[0075] 本文中的载体是一种工具(天然的、合成的、肽类的、非肽类的),例如转运特定物质穿过其被包埋于其中的细胞膜并进入细胞的蛋白质。需要用不同的载体(天然的、合成的、肽类的、非肽类的)来转运不同的物质,这是因为其各自被设计仅用于识别一种物质或者一组类似的物质。

[0076] 可以用本领域技术人员已知的任何检测手段来检测DPP-IV与载体的结合,例如通过对标记载体来进行检测。

[0077] 所述的DPP-IV抑制剂可以是肽类或者优选地为非肽类DPP-IV抑制剂。

[0078] 最优选的是口服有效的DPP-IV抑制剂及其药用盐。

[0079] 本发明的活性成分或其可药用盐还可以以溶剂合物的形式被使用,如水合物或包含用于结晶的其它溶剂的溶剂合物。

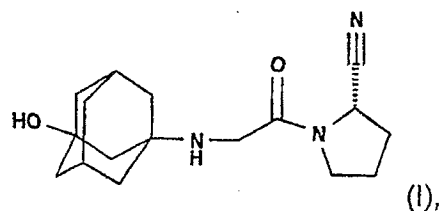
[0080] 现在已经令人吃惊地发现,DPP-IV抑制剂可用于预防、治疗心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病或延迟它们的发展。

[0081] 因此,本发明涉及DPP-IV抑制剂或其可药用盐在制备药物中的用途,所述药物用于预防、治疗心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病或延迟

它们的发展。

[0082] 本发明特别涉及式 (I) 的 (S)-1-[(3-羟基-1-金刚烷基)氨基]乙酰基-2-氰基-吡咯烷 (LAF237) 或其可药用盐在制备药物中的新用途：

[0083]



[0084] 所述药物用于预防、治疗心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病或延迟它们的发展。

[0085] 本发明还涉及预防、治疗心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病或延迟它们发展的方法,其包括对需要其的包括人在内的温血动物施用治疗有效量的 DPP-IV 抑制剂,优选式 (I) 的 (S)-1-[(3-羟基-1-金刚烷基)氨基]乙酰基-2-氰基-吡咯烷 (LAF237)。

[0086] 在另一个实施方案中,本发明涉及用于治疗心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病的药物组合物,其包含治疗有效量的 DPP-IV 抑制剂以及与之组合的一种或多种可药用载体。

[0087] 另外,已经令人吃惊地发现,本文所公开的化合物没有目前所使用的化合物的缺点。已经发现本发明的化合物由于具有部分脂肪酸氧化 (pFox) 抑制性质和葡萄糖氧化活化性质而发挥其有益作用,并且它们对于心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病而言是有价值的。

[0088] 特别地,本发明的化合物将用于心脏中的底物从脂肪酸转化为葡萄糖/乳酸盐,从而改善左心室的功能,同时不会产生诸如血压和/或心率改变等不良副作用,并且其不直接刺激心脏收缩,所有这些被预计均源自钙进入阻滞剂。

[0089] 还已经令人吃惊地发现, DPP-IV 抑制剂特别能减缓或停止心肌重塑的发展、改善内皮功能、改善内皮依赖性血管舒张功能、减少动脉粥样硬化的发展、显著改善对乙酰胆碱的内皮依赖性血管舒张功能、改善已知 CHF 患者严重受损的血管舒张能力、降低细胞凋亡和坏死水平。

[0090] 已经令人吃惊地发现, DPP-IV 抑制剂改善左心室功能,同时不会增加心肌需氧量。此外, DPP-IV 抑制剂不直接刺激心肌收缩,也不产生诸如血压和/或心率改变等副作用,这些副作用与 HF 患者死亡率增加有关。

[0091] 还已经令人吃惊地发现, DPP-IV 抑制剂是特别安全的(无毒),可用于长期施用,例如较少的副作用、口服施用后机体的吸收性良好和作用持续时间长。

[0092] 本发明的方法或用途包括对患者长期施用可有效治疗 HF 的 DPP-IV 抑制剂的日剂量。

[0093] 最优选地,根据本发明,所述的心血管疾病或损害选自心脏肥大、心肌梗塞后的心脏重塑、肺充血和扩张型或肥厚型心肌病中的心脏纤维化、心肌病如扩张型心肌病或肥厚型心肌病或糖尿病性心肌病、左心室或右心室肥大、糖尿病性肌病、充血性心力衰竭中的中风预防、动脉和/或大血管的肥大性内侧 (medial) 增厚、肠系膜脉管系统肥大或动脉粥样

硬化。

[0094] 其它可能的心血管和肾疾病或损害选自糖尿病性黄斑水肿、糖尿病性神经病、糖尿病性视网膜病变、心肌梗塞、外周动脉疾病、具有促炎症和促氧化状态的内皮功能障碍、内皮功能障碍、再狭窄、四肢缺血、肾病、中风、糖尿病肾病或冠心病。

[0095] 在另一个优选的实施方案中，预防、治疗心血管疾病或损害或延迟其发展涉及使用 DPP-IV 抑制剂来改善左心室功能。

[0096] 最优选地，根据本发明，所述的肾疾病或损害选自肾超过滤如肾门部分切除 (portal renal ablation) 后的肾超过滤、慢性肾病中的蛋白尿、由于高血压导致的肾动脉病、肾硬化或高血压性肾硬化、肾小球膜 (mesangial) 肥大。

[0097] 在另一个实施方案中，所述的血管疾病或损害是肾中的血管损伤，最优选地是患有高血压或糖尿病的哺乳动物或人的肾中的血管损伤。

[0098] 在另一个实施方案中，所述的血管疾病或损害选自动脉和 / 或大血管的肥大性内侧增厚、肠系膜脉管系统肥大或动脉粥样硬化，最优选地为患有高血压或糖尿病的动物或人的这些疾病。

[0099] 在另一个实施方案中，所述的血管疾病或损害选自动脉粥样硬化，优选地为冠状动脉、脑和外周动脉粥样硬化，最优选地为患有高血压或糖尿病的动物或人的这些疾病。

[0100] 在另一个优选的实施方案中，所述的心血管和肾疾病或损害选自心脏肥大如左心室肥大、肺充血或心肌病如扩张型心肌病或肥厚型心肌病或糖尿病性心肌病或肾小球膜肥大。

[0101] 在另一个优选的实施方案中，心血管疾病或损害涉及与心血管系统和 / 或肾的肥大或肥大性重塑有关的疾病。优选地，与心血管系统的肥大或肥大性重塑有关的疾病选自肥厚型心肌病、左心室肥大或动脉和 / 或大血管的肥大性内侧增厚。

[0102] 在另一个实施方案中，所述的心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病优选地选自高血压诱发的心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病。

[0103] 在另一个实施方案中，所述的心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病优选地选自糖尿病诱发的心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病。

[0104] 本文所用的术语“与心力衰竭有关的疾病”指的是治疗任何一种或多种构成 HF 基础的情况，包括但不限于心脏收缩性降低、心室压如左心室收缩压降低、舒张顺应性异常、每搏量降低、心瓣膜和 / 或心肌本身感染 (心内膜炎和 / 或心肌炎) 和心排量降低，同时最小化或减弱通常与长期施用其它现有技术的化合物有关的有害作用，如耗氧作用、心律不齐和心绞痛加重。本文所用的“耗氧作用”包括但不限于由于心室充盈压增加造成的充血症状和迹象和与心排量低有关的疲劳。

[0105] 本文所用的“长期施用”指的是施用至少三周。

[0106] 本文所用的术语“心血管疾病或损害”指的是心脏和 / 或血管疾病或者心脏和 / 或血管损害。

[0107] 本文所用的术语“具有促炎症和促氧化状态的内皮功能障碍”指的是但不限于其中深度涉及 AngII 的内皮的慢性损害。

[0108] 本文所用的术语“高血压诱发的心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病”指的是患有高血压的人或动物的心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病。高血压诱发的心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病优选地是眼、肾、心脏、大循环和脑系统的血管损害。

[0109] 本文所用的术语“糖尿病诱发的心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病”指的是患有糖尿病、例如2型糖尿病的动物或人的心血管或肾疾病或损害，如尤其是动脉粥样硬化、肥厚型心肌病、充血性心力衰竭中的中风预防、心力衰竭、左心室肥大或眼、肾、心脏、大循环和脑系统的血管损害，如优选动脉粥样硬化。

[0110] 心脏、血管或肾肥大或肥大性重塑的特征为心脏、动脉、大血管或肾质量增加。

[0111] 高血压诱发的心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病。高血压（一种血压升高的状况）影响着相当大的人群。持续性高血压的后果包括眼、肾、心脏和脑系统的血管损害，这些并发症的危险随着血压的增加而增加。根据本发明，与高血压有关的损伤优选地是但不限于高血压患者的心脏肥大如右心室或左心室肥大(LVH)、肾动脉病和血管疾病。

[0112] 内皮功能障碍是以血管舒缩 / 紧张性受损、促血栓形成状态 (prothrombotic state)、促炎症状态和 / 或动脉壁增生为特征的早期疾病。还推测内皮功能障碍的发生是可能对动脉粥样硬化和其它心血管疾病的发病机理有贡献的一些因素之一。

[0113] 心脏肥大或心肌细胞肥大是当施加在心肌上的压力负荷增加时心脏降低壁应力的一种适应过程。已经推测肾素 - 血管紧张素系统的活化在心脏肥大和衰竭的病理生理学中起着主要作用。体内研究已经证明血管紧张素 II 增加左心室质量，并且对心脏表型调节有贡献，这与其对动脉压的作用无关。体外研究已经表明血管紧张素 II 导致心肌细胞肥大并且调控间质性纤维化。

[0114] 心肌梗塞后的不良心脏重塑：心肌梗塞 (MI) 造成的收缩性组织损失被剩余的存活心肌的肥大所部分补偿。较大的透壁性梗塞倾向于扩张并且整个心室通过扩张发生反应。对残余心肌负载增加的适应包括胶原沉积增加造成的心肌强化。整个过程被称为心脏的重塑（心脏重塑），并且似乎受力学和体液因素控制。重要的是，重塑包括梗塞和瘢痕以及残余心肌的总的形态学、组织学、细胞和分子的改变。进行性扩张伴有进行性左心室 (LV) 功能障碍和心脏的电不稳定性。急性 MI 后的患者有复发性缺血、心律不齐和重塑的危险，即使其没有症状。在对 MI 后患者进行评估时，重要的是鉴别出有重塑危险的患者并对其应用包括干扰或延迟重塑过程的次级预防治疗。

[0115] 肺充血和扩张型或肥厚型心肌病中的心脏纤维化。肥厚型心肌病 (HCM)（年轻人心脏性猝死的最常见原因）的特征为心脏肥大、肌细胞排列不规则 (disarray) 和间质性纤维化。

[0116] 充血性心力衰竭中的中风预防。

[0117] 动脉粥样硬化是发生于颈动脉、主动脉、冠状动脉和其它外周动脉中的全身性的血管壁疾病。动脉粥样硬化斑块的主要组分有 (1) 结缔组织细胞外基质，包括胶原、蛋白聚糖和纤连蛋白弹性纤维；(2) 细胞如单核细胞衍生的巨噬细胞、T- 淋巴细胞和平滑肌细胞；和 (3) 结晶胆固醇、胆固醇酯和磷脂。在动脉粥样硬化的发展期间，出现大量血管重塑，从而导致血管扩展，并随后导致同心或偏心性狭窄损害。

[0118] 在用于评价人的动脉粥样硬化斑块的成像技术中,已经用高分辨率磁共振(MR)作为用于对斑块进行定性的主要体内方式。

[0119] 左心室肥大(LVH)或高血压性左心室肥大(LVH)的发病机理包括力学、激素和神经因素。左心室质量增加并且壁增厚以对抗压力符合的增加。左心室肥大(LVH)是发病率和死亡率例如心肌肥大、心力衰竭、与高血压有关的心力衰竭和与血压(BP)无关的其它心血管并发症的主要心血管危险因素。各LVH预后可用超声心动描记术来确定。

[0120] 肾硬化或高血压性肾硬化的特征为细胞外基质组分I、III、IV、V和VI型胶原和纤连蛋白的间质蓄积(重塑)。这些基质变化伴有皮质间质(cortical interstitium)中单核细胞的进行性浸润,这表明巨噬细胞和T淋巴细胞对纤维形成的发生有贡献。

[0121] 由于高血压而发生的肾动脉病。该疾病导致以弹性结构破坏、平滑肌细胞和胶原束肥大为特征的动脉壁增厚。

[0122] 慢性肾病中的蛋白尿。肾小球内高血压(intraglomerular hypertension)促发蛋白尿,其进一步激活了肾素-血管紧张素系统(RAS)。

[0123] 肾超过滤如肾门部分切除后的肾超过滤。肾质的部分切除引发剩余部分的进行性肾小球损伤循环。该过程与肾小球肥大、超过滤和系统性高血压有关。

[0124] 糖尿病肾病的特征为持续性白蛋白尿(albuminuria)($> 300\text{mg}/24\text{h}$ 或 $200\ \mu\text{g}/\text{min}$),如果满足下列附加标准,则该疾病可在临床上被诊断:存在糖尿病性视网膜病变,并且没有糖尿病性肾小球硬化以外的肾或尿道疾病的临床或实验室迹象。在西方,糖尿病肾病是末期肾衰竭最常见的原因。

[0125] 糖尿病性视网膜病变(DR)和糖尿病性黄斑水肿(DME)是糖尿病患者常见的血管并发症,并且对视敏度(VA)具有突然的和使其衰弱的影响,并最终导致失明。晚期DR的特征为继发于缺血的异常视网膜血管的生长。这些血管努力生长以向缺氧的视网膜供给含氧的血液。在DR发展的任何时间,糖尿病患者还可能发生DME,其涉及黄斑区的视网膜增厚。在血-视网膜屏障崩溃后出现DME,这是由于扩张的高渗透性毛细血管渗漏和小动脉瘤导致的。

[0126] 糖尿病性神经病是人们了解最少的糖尿病血管并发症,其导致外周神经形态学和代谢的改变。

[0127] 在本说明书中,术语“治疗”包括预防性或防止性治疗以及治愈性或抑制疾病性治疗,包括对具有罹患疾病危险的患者或者被怀疑已经患有疾病的患者以及患病患者进行治疗。该术语还包括延迟疾病发展的治疗。

[0128] 本文所用的术语“治愈性”指的是在治疗发生的心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病中的效力。

[0129] 术语“预防”指的是对健康患者预防性施用所述组合以防止本文所述病症的爆发。此外,术语“预防”还意指对处于所治疗病症早期的患者预防性施用这类组合。

[0130] 术语“预防性”指的是预防心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病的发作或复发。

[0131] 本文所用的术语“延迟...的发展”指的是对处于所治疗疾病的前期或早期的患者施用活性化合物,在所述患者中例如诊断出了前期形式的相应疾病或者所述患者处于例如医学治疗过程中的状况或者由意外事故导致的状况中,而在该状况下可能发生相应疾

病。

[0132] 在另一个实施方案中,本发明的目的是施用可以治疗构成 HF 基础的情况的 DPP-IV 抑制剂剂量,所述的情况包括但不限于心脏收缩性降低、舒张顺应性异常、每搏量降低、心瓣膜和 / 或心肌本身感染(心内膜炎和 / 或心肌炎)和心排量降低,同时最小化、减弱或减少通常与长期施用其它现有技术的化合物有关的有害作用,如耗氧作用、心律不齐和心绞痛加重。优选地,DPP-IV 抑制剂的剂量可消除通常与长期施用其它现有技术的化合物有关的有害作用。

[0133] 最优选地,所治疗的 HF 情况继发于特发性扩张型心肌病 (IDCM) 和 / 或冠状动脉局部缺血性疾病 (冠心病 --CAD)。

[0134] 最优选地, HF 情况是与糖尿病、例如 2 型糖尿病有关的心力衰竭或与高血压有关的心力衰竭。

[0135] 最优选地,本发明涉及对患有糖尿病 (2 型糖尿病) 或高血压的人类个体的心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病进行治疗或预防。

[0136] 本发明的另一方面是包含游离形式或其可药用盐形式的 DPP-IV 作为活性成分的药物组合物在制备用于预防、治疗心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病或延迟其发展的药物组合物中的用途。

[0137] 本发明还涉及包含游离形式或其可药用盐形式的 DPP-IV 抑制剂作为活性成分的药物组合物。

[0138] 本发明的另一方面是包含游离形式或其可药用盐形式的 DPP-IV 作为活性成分的药物组合物在制备用于预防、治疗心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病或延迟其发展的药物组合物中的用途。

[0139] 本发明还涉及预防、治疗心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病或延迟其发展的方法,其包括对需要其的包括人在内的温血动物施用联合治疗有效量的包含游离形式或其可药用盐形式的 DPP-IV 抑制剂作为活性成分的药物组合物。

[0140] 本发明的药物组合物可以用本身已知的方法来制备,并且是适于肠如口服或直肠施用和胃肠外施用于包括人在内的哺乳动物 (温血动物) 的那些药物组合物,所述的药物组合物包含单独的或与一种或多种可药用载体、尤其是适于肠或胃肠外应用的可药用载体组合的治疗有效量的药理学活性化合物。

[0141] 这些药物制剂可用于肠如口服施用,也可用于直肠或胃肠外施用于恒温动物,所述制剂包含单独的或与常规药用辅料一起的药理学活性化合物。例如,药物组合物包含约 0.1% 至 90%、优选约 1% 至约 80% 的活性化合物。用于肠或胃肠外以及用于眼施用的药物制剂例如是单位剂量形式,如包衣片、片剂、胶囊剂或栓剂以及安瓿剂。这些制剂是用本身已知的方法制备的,例如使用常规的混合、制粒、包衣、增溶 (solubutizing) 或冷冻干燥方法来制备。因此,用于口服使用的药物制剂可以通过以下方法获得:将活性化合物与固体赋形剂相组合,如果需要的话,将所得的混合物制粒,并且如果需要或必需的话,在加入适宜的辅料后将该混合物或颗粒加工成片剂或包衣片芯。

[0142] 活性化合物的剂量取决于多种因素,如施用方式、恒温动物的种类、年龄和 / 或个体状况。

[0143] 在心力衰竭疾病领域中,优选的患者群体的年龄为 50 岁或更大年龄,最优选为 65 岁或更大年龄。

[0144] 对于本发明的用途或方法而言,优选的患者是患有高血压或糖尿病的患者或动物。

[0145] 对于那些可商购获得的本发明的药物组合的活性成分而言,优选的剂量尤其是可商购获得的治疗有效剂量。

[0146] 活性化合物的剂量可取决于多种因素,如施用方式、恒温动物的种类、年龄和 / 或个体状况。

[0147] 相应的活性成分或其可药用盐也可以以水合物的形式被使用,或者可以包含用于结晶的其它溶剂。

[0148] 对于这些适应征,确切的剂量当然将根据所用的化合物、施用方式和所需的治疗而变化。所述化合物可以通过任何常规途径非口服或优选地口服途径来进行施用。

[0149] 一般而言,当以约 0.01 至 100mg/kg 的日剂量、更优选 0.1 至 50mg/kg 的剂量施用时可以获得令人满意的结果。对于较大的哺乳动物,所示的总日剂量在约 0.01 至 100mg/kg 化合物的范围内,其通常以含有例如约 10 至约 100mg 化合物的缓释形式的单位剂量形式被以若干分剂量一天施用 2 至 4 次。

[0150] 另一种优选的口服日剂量为 1 至 500mg,优选地为 10 至 100mg,例如 10mg,最优选地为 25 至 100mg 或 25 至 50mg,例如 25mg 或 40 或 50 或 70 或 100mg。

[0151] 用于口服施用的适宜单位剂量包含例如约 10 至约 100mg 所述化合物。用于胃肠外施用的适宜剂量包含例如约 10 至约 50mg 或 25 至约 100mg 所述化合物,例如 25mg、50mg、75mg 或 100mg。

[0152] 所述化合物可以用与用于这些应用的已知标准方式相似的方式来进行施用。对于特定的化合物,适宜的日剂量将取决于多种因素,如其相对活性效力。相关领域的技术人员完全能够确定治疗有效剂量。

[0153] 本发明的化合物可以以游离碱或可药用的酸加成盐或季铵盐的形式被施用。这类盐可以用常规方法制备并且表现出与游离形式相同数量级的活性。如果这些化合物具有例如至少一个碱性中心,则其可以形成酸加成盐。如果需要的话,还可以形成具有另外存在的碱性中心的相应的酸加成盐。具有酸性基团(例如 COOH)的化合物还可以与碱形成盐。例如,被组合的化合物可以以钠盐、马来酸盐或二盐酸盐的形式存在。所述的活性成分或其可药用盐还可以以水合物的形式被应用或者包含其它用于结晶的溶剂。

[0154] 本发明的药物组合物可以用本身已知的方法制备,并且是适于肠如口服或直肠和胃肠外施用于包括人在内的哺乳动物(温血动物)的那些药物组合物,其包含单独的或与一种或多种可药用载体、尤其是适于肠或胃肠外应用的可药用载体组合的治疗有效量的药理学活性成分。

[0155] 此外,本申请的申请人还发现了一种改善心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病的治疗的特定方案。令人惊讶地,如果将 DPP-IV 抑制剂与膳食一起使用,优选地在进餐之前即刻或在开始进餐时使用,任选地在进餐期间或甚至在进餐后即刻使用。本发明的与膳食有关的方案出乎意料地减少心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病,特别是在患有糖尿病例如 2 型糖尿病或高血压

的患者中。

[0156] 本发明的与膳食有关的方案特别是出乎意料地降低患有糖尿病、特别是患有 2 型糖尿病的患者动脉粥样硬化。

[0157] 因此,另一方面,本发明涉及 DPP-IV 抑制剂、优选式 (I) 的 (S)-1-[(3-羟基-1-金刚烷基)氨基]乙酰基-2-氰基-吡咯烷 (LAF237) 或其可药用盐在制备药物中的用途,所述药物用于预防、治疗心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病或延迟其发展,其中 DPP-IV 抑制剂的施用与膳食相关。

[0158] 本发明还涉及预防、治疗心血管疾病或损害、肾疾病或损害、心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病或延迟其发展的方法,其包括对需要其的包括人在内的温血动物施用治疗有效量的 DPP-IV 抑制剂,优选式 (I) 的 (S)-1-[(3-羟基-1-金刚烷基)氨基]乙酰基-2-氰基-吡咯烷 (LAF237), DPP-IV 抑制剂的施用与膳食相关。

[0159] 上述用途或方法用于治疗患有糖尿病、特别是 2 型糖尿病的患者,最优选地用于治疗或预防动脉粥样硬化。

[0160] 上述用途或方法用于治疗患有糖尿病、特别是 2 型糖尿病或高血压的患者,最优选地用于治疗或预防心力衰竭或与心力衰竭有关的疾病。

[0161] 上述用途或方法用于治疗患有糖尿病、特别是 2 型糖尿病的患者,最优选地用于治疗或预防糖尿病性黄斑水肿、糖尿病性神经病、糖尿病性视网膜病变、心肌梗塞、具有促炎症和促氧化状态的内皮功能障碍、内皮功能障碍、再狭窄、肾病、中风、糖尿病肾病或冠心病。

[0162] 本文中使用的词语“膳食”指的是早餐、午餐、晚餐或夜宵。

[0163] 当涉及 DPP-IV 抑制剂的施用在本上下文中使用表述“与膳食有关”时,其优选地是指 DPP-IV 抑制剂在进餐前即刻或在开始进餐时施用。但是,显然也可以在进餐过程中或者在进餐后即刻进行施用,其也未偏离本发明的理念。因此,表述“与膳食有关”优选地意指在开始进餐前约 30 分钟、优选 10 分钟至完成进餐后约 10 分钟,更优选地意指在开始进餐前约 5 分钟直至进餐结束,最优选地意指开始进餐时。

[0164] 通过施用本发明所用类型的 DPP-IV 抑制剂所实现的药物活性可以例如用相关领域中已知的相应药理学模型来证明。相关领域的技术人员完全能够选择相关的动物试验模型来证明本文上下文中所示的治疗适应症和有益作用。

[0165] 用于证明本发明的化合物和组合物在心血管或肾疾病中的药理学活性的实验方案如下所述(也可参见前面各页),这些实验方案绝不用于限制本发明;

[0166] ➤可以用诸如公开物:Nawano 等人, *Metabolism* 48:1248-1255,1999 中所述的 Zucker 肥胖大鼠等模型来评价 DPP-IV 抑制剂的心血管有益作用,尤其是在糖尿病中的心血管有益作用。另外,在公开物:Sato 等人, *Metabolism* 45:457-462,1996 中描述了使用糖尿病性自发性高血压大鼠进行的研究。此外,也可以使用诸如 Cohen-Rosenthal 糖尿病性高血压大鼠 (Rosenthal 等人, *Hypertension*. 1997 ;29 :1260-1264) 等大鼠模型来同时评价 DPP-IV 抑制剂对血压和心血管疾病的作用。

[0167] ➤可以如 Gaudio C. 等人. “依贝沙坦与氨氯地平对左心室肥大的高血压患者的左心室质量指数的作用比较 (Comparative effects of irbesartan versus amlodipine on left ventricular mass index in hypertensive patients with left ventricular

hypertrophy” JCardiovasc Pharmacol. 2003 年 11 月 ;42(5) :622-8 中所述的那样评价所述的心血管有益作用,尤其是在左心室肥大中的有益作用。

[0168] ➤ 可以用诸如公开物 :Prescott MF 等人 . “基质金属蛋白酶抑制对过度表达 MMP-3、MMP-12 和 MMP-13 的 LDL 受体缺乏小鼠的动脉粥样硬化和动脉瘤的作用以及对球囊损伤后大鼠再狭窄的作用 (Effect of matrix metalloproteinase inhibition on progression of atherosclerosis and aneurysm in LDL receptor-deficient mice overexpressing MMP-3, MMP-12, and MMP-13 and on restenosis in rats after balloon injury)” ;Ann N Y Acad Sci. 1999 年 6 月 30 日 ;878 :179-90 所述方案等方案评价 DPP-IV 抑制剂对动脉粥样硬化的有益作用。

[0169] ➤ 可以用诸如公开物 :Arnfried U 等人 . “治疗对原发性高血压中左心室质量作用的荟萃分析 (A meta-analysis of the effects of treatment on left ventricular mass in essential hypertension)” ;Am J Med. 2003 年 7 月 ;115(1) :41-6 所述方案等方案评价 DPP-IV 抑制剂对左心室肥大的有益作用。

[0170] 用于证明本发明的化合物和组合物在心力衰竭和与心力衰竭有关的疾病中的药理学活性的实验方案如下所述 (也可参见前面各页),这些实验方案绝不用于限制本发明 ;

[0171] ➤ 为了对本发明的 DPP-IV 抑制剂可用于治疗心力衰竭的进行评价,例如,可以使用 Smith HJ, Nuttall A :心力衰竭的实验模型 (Experimental models of heart failure). Cardiovasc Res 1985, 19, 181-186 所公开的方法。分子方法如转基因方法也有描述,例如参见 Luft 等人 :高血压诱发的末端器官损害“一种解决老问题的新转基因方法” (Hypertension-induced end-organ damage. “A new transgenic approach for an old problem”). Hypertension 1999, 33, 212-218。另外,可以使用 Doggrell SA 和 Brown L (Cardiovasc Res 1998, 39 :89-105) 所述的高血压和心力衰竭大鼠模型来对 DPP-IV 抑制剂进行药理学评价。可以使用诸如公开物 :Nawano 等人, Metabolism 48 :1248-1255, 1999 所述的 Zucker 肥胖大鼠等模型来评价单独或组合给予的所述活性剂的心血管有益作用,尤其是在糖尿病中的心血管有益作用。

[0172] ➤ 在专利 US 6, 087, 360 (使用农场的猪作为心力衰竭模型) 和 US20030045469 中描述了另外的实验方案。

[0173] ➤ Stephan Schmidt-Schweda 和 Christian Holubarsch (在慢性充血性心力衰竭患者中进行的乙莫克舍的第一次临床试验 (First clinical trial with etomoxir in patients with chronic congestive heart failure) ;Clinical Science (2000) 99, 27-35) 描述了一种有用的心力衰竭临床试验。

[0174] ➤ Jay N. Cohn, M. D. 和 Gianni Tognoni, M. D. (第 345 卷 :1667-1675, 2001 年 12 月 6 日 -No. 23 血管紧张素 - 受体阻滞剂缬沙坦在慢性心力衰竭中的随机试验 (A Randomized Trial of the angiotensin-Receptor Blocker Valsartan in Chronic Heart Failure)) 和专利 US 5, 998, 458 (实施例 1) 描述了其它临床试验。

[0175] 用代码、通用名或商标名确定的活性剂的结构可得自现行版本的标准纲要“默克索引 (The Merck Index)” 或得自数据库,例如 Patents International (例如 IMS World Publications)。在此将其相应的内容引入作为参考。本领域的任何技术人员完全能够确定所述活性剂,并且根据这些参考资料,也能制备这些活性剂并在体外和体内用标准试验

模型对其药理学适应症和性质进行试验。

[0176] 例如,可以用本领域技术人员已知的方式基本如下文所述用临床研究或试验操作来证明其药理学活性。

[0177] 对于本发明的用途和方法,优选的 DPP-IV 抑制剂有 1-{2-[(5-氰基吡啶-2-基)氨基]乙基氨基}乙酰基-2(S)-氰基-吡咯烷二盐酸盐 (DPP728),尤其是其二盐酸盐、(S)-1-[(3-羟基-1-金刚烷基)氨基]乙酰基-2-氰基-吡咯烷 (LAF237) 和 L-苏-异亮氨酰基噻唑烷(如上所述,根据 Probiodrugs 的化合物代码:P32/98)、MK-0431、GSK23A、BMS-477118、3-(氨基甲基)-2-异丁基-1-氧代-4-苯基-1,2-二氢-6-异喹啉甲酰胺和 2-{[3-(氨基甲基)-2-异丁基]-4-苯基-1-氧代-1,2-二氢-6-异喹啉基}氧基}乙酰胺以及任选地在任何情况下其药用盐。

[0178] 实验部分

[0179] 可以用 DPP-IV 抑制剂进行以下实施例以表明其所要求保护的活性。

[0180] 实施例 1:

[0181] 动物:将 48 只 8 周龄的雄性 Sprague Dawley 大鼠用恩氟烷 (Abbott Australasia, Kurnal, NSW, 澳大利亚) 麻醉,将一种微型渗透泵 (Alzet Model 2002, Alzet Corporation, Palo Alto) 插入其肩胛间区。如之前所述的那样 (Cao Z 等人, *Kidney Int* 58:2437-2451, 2000),将大鼠随机化以接受填充有具有或不具有血管紧张素 II (58ng/min) 的溶媒 (0.15M NaCl, 1mmol/l 醋酸) 的微型泵。然后,将动物进一步随机化以不进行治疗或者每天通过管饲法接受剂量为 60mg/kg 的 DPP-IV 抑制剂,12 天后将这些动物处死。使动物自由取水和标准大鼠食料。如之前所述的那样 (Bunag RD; *Journal of Applied Physiology* 34:279-282, 1973),通过间接的尾套体积描记法对预温热 (prewarmed) 的未麻醉动物测量收缩压 (SBP)。在每组的 16 只动物中,8 只动物用于进行组织学研究,8 只动物用于进行基因表达分析。在后一组中,如之前所述的那样 (Rumble J 等人; *J hypertension* 14:601-607, 1996),通过断头将动物处死,然后取出肠系膜血管并剥离周围的脂肪、结缔组织和静脉,得到上面的肠系膜动脉树。将血管称重,在液氮中迅速 (snap) 冷冻,随后储存在 -80°C 下。

[0182] 组织化学和免疫组织化学:用一个亚组的动物 (n = 8/组) 进行血管结构的组织学研究。将该亚组的动物用戊巴比妥钠 (Nembutal, Bomac Laboratories, Asquith, 澳大利亚) 麻醉并用 10% 中性缓冲的福尔马林通过主动脉内套管在动脉压下对血管进行灌注。然后,如之前所述的那样 (Cooper ME 等人; *Diabetes* 43:1221-1228, 1994) 进行组织制备。简言之,将肠系膜血管放到冰冷的磷酸盐缓冲液中,在其中用钝器解剖法除去脂肪、结缔组织和静脉。然后,将所得的血管制备物包埋到石蜡中。然后,将切片进行组织化学或免疫组织化学染色。组织化学染色包括使用苏木精和曙红或者 Masson 三色染色法 (Masson P; *J Tech Methods* 2:75-90, 1929),以对细胞外基质进行检查。用多克隆 α -平滑肌肌动蛋白抗体对平滑肌进行免疫染色 (Biogenes, San Ramon, CA),如之前所述的那样 (Rumble JR 等人; *J Clin Invest* 99:1016-1027, 1997) 使用间接抗生物素蛋白-生物素复合法进行免疫组织化学染色。

[0183] 组织病理学的定量:通过对 α -平滑肌肌动蛋白进行免疫标记来确定被内侧 (media) 所占据的血管壁的比例,并用与具有照相附件 (AxioPhot, Zeiss, Oberkochen, 德国) 的光学显微镜 (Zeiss, Oberkochen, 德国) 相连的视频-成像系统 (Video Pro 32,

Leading Edge, Bedford Park, South Australia, 澳大利亚) 对壁:腔的比进行定量。如之前在其他血管肥大模型中所述的那样 (Kakinuma Y 等人; *Kidney Int* 42:46-55., 1992), 利用该装置测定每只动物平均 20 根 (10-35 根) 血管中的内侧面积 (被抗-肌动蛋白抗体染色的区域) 和相应的腔面积并将其表示为壁:腔的比。

[0184] 如之前所述的那样 (Lehr HA 等人, *J Histochem Cytochem* 45:1559-1565, 1997), 通过用计算机辅助的图像分析计算 ECM 所占据的面积比例在三色染色的切片上进行 ECM 的定量。简言之, 选择基质 (在三色染色的切片上是蓝色)、内侧平滑肌 (在三色染色的切片上是红色) 的颜色范围并用色原体分离技术 (Lehr HA 等人) 进行图像分析。用光学显微镜 (Olympus BX-50, Olympus Optical, Tokyo, 日本) 对整个切片进行检查并用高分辨率的相机 (Fujix HC-2000, Fujifilm, Tokyo, 日本) 将其数字化。所有图像都是用 20 倍物镜获得的。然后, 将数字化的图像俘获在配有内部图板 (in-built graphic board) 的 Power Macintosh G3 计算机 (Apple Computer Inc., Cupertino, CA) 上并用分析软件 (Analytical Imaging Software, Ontario) 进行评价。

[0185] 统计学:除非特别说明, 否则所有的数据均以均值 \pm SE 的形式表示。使用 StatView IV 程序 (Brainpower, Calabasas, CA) 通过方差分析 (ANOVA) 在 Macintosh G3 上对数据进行分析。组间均值的比较是用 Fisher 最小显著差异法进行的。p 值小于 0.05 被认为在统计学上是显著的。

[0186] 结果:

[0187] 动物数据:与用溶媒处理的动物相比, 输注血管紧张素 II 使收缩压 (SBP) 增加 (141 ± 2 mmHg 对 202 ± 7 mmHg, 溶媒对血管紧张素 II, $p < 0.001$)。与接受溶媒的对照动物 (32mg, $p < 0.001$) 相比, 输注血管紧张素 II 的大鼠的肠系膜血管重量也增加 (52mg, $p < 0.001$)。DPP-IV 抑制剂对收缩压没有显著影响 (205 ± 10 mmHg), 但是显著降低接受血管紧张素 II 的动物的肠系膜重量 (42mg, $p < 0.001$)。

[0188] 组织学和免疫组织化学:组织形态测定分析表明输注血管紧张素 II 的大鼠的内侧壁:腔之比显著增加 (溶媒 $\rightarrow 0.39$; 输注血管紧张素 II 的大鼠 $\rightarrow 0.52$, $p < 0.001$)。用 DPP-IV 抑制剂进行治疗能例如显著降低两组的壁:腔之比, 达到与对照动物相近的水平。三色染色的切片证明在接受血管紧张素 II 输注的动物的肠系膜血管中发生内侧肥大和胶原 ECM 扩张。该经历表明 DPP-IV 抑制剂治疗可降低血管紧张素 II 输注中的内侧肥大和 ECM 扩张的程度。

[0189] 实施例 2:肾病:在患有非胰岛素依赖性 (NIDD) 糖尿病的大鼠 (Wistar 肥胖大鼠) 中的抗蛋白尿作用 [H. Ikeda 等人, *Diabetes* 30, 1045 (1981) 或者局灶性肾小球硬化症模型 (focal glomerulosclerosis model); T.W. Meyer 和 H.G. Renake, *Am. J. Physiol.* 254, F856 (1988) 或 WO 01/64200 中所述的方案]

[0190] 该不可预见范围的性质意味着 DPP-IV 抑制剂对于制备治疗本文所述疾病、尤其是心血管系统和 / 或肾的肥大或肥大性重塑以及本文所述的相关疾病的药物而言是特别值得关注的。

[0191] 该作用对于患有与高血压有关的损伤如本文所述的损伤的患者而言可能在临床上尤其相关。

[0192] 实验 3:对心脏肥大的作用

[0193] 材料和方法 :使用体重 100-120g 的动物房饲养的雄性 Wistar 大鼠 ;每笼 5 只 (笼尺寸 :425mm×266mm×180mm, 具有锯屑垫料), 温度为 $21 \pm 10^{\circ}\text{C}$, 湿度为 $50 \pm 15\%$, 12/12 小时光 / 暗循环, 每小时换气 15-20 次。给这些动物喂食 LP ALTRONIN(REIPER) 饲料并使其自由取水。

[0194] 心脏肥大的诱发 :通过用放在隔膜与肾支之间的腹主动脉中的夹子(**Ø0.8mm**)使腹主动脉缩窄而在用戊巴比妥钠麻醉的大鼠中诱发左心室肥大 ;然后被用作对照的一组动物进行相同的操作, 但是不使其主动脉缩窄 (模拟组 (sham))。

[0195] 由此将动物随机分为下列组 :

[0196] 模拟组 :用没有进行主动脉缩窄的动物进行操作 (n = 8)

[0197] 对照组 :用进行了主动脉缩窄的动物进行操作 (n = 8)

[0198] CLO :用进行了主动脉缩窄的动物进行操作并且从操作后的那天在食物中用 DPP-IV 抑制剂进行治疗达 12 周 (60-100mg/kg/ 天 (n = 11))。

[0199] 心脏功能评价 :在治疗结束时, 通过将聚乙烯导管经由颈动脉插入左心室并使之与压力传感器 (Statham p23 XL) 和放大器 (Biomedica Mangonibm 61) 相连来对用戊巴比妥钠麻醉的动物的心脏功能进行评价。

[0200] 记录的参数有 :心率、心室收缩压和舒张末期压、心室压的正和负导数 (derivative), 其是通过特殊的数据采集系统 (IDAS) 在个人计算机上进行记录的。测量进行 30 分钟。

[0201] 目视评价 :在实验结束时, 通过给予致死剂量的戊巴比妥钠将动物处死, 打开腹腔, 将器官由腹腔取出以确证主动脉夹正确定位, 然后, 取出心脏、肺和肝, 在对任何异常进行目视检查后小心地对其进行干燥和称重。

[0202] 统计学分析 :将数据表示为均值 \pm 标准偏差的形式, 使用 t 检验对独立数据进行比较。P < 0.05 的差异被认为在统计学上是显著的。

[0203] 结果

[0204] 重量参数 :对实验结束时测量的重量参数进行评价 ;无论是作为主动脉缩窄的结果还是作为治疗的结果, 动物的体重均没有显著变化。主动脉缩窄诱发了显著的心室肥大 ;实际上, 与模拟组相比, 具有夹子的动物的心脏重量增加了大约 35% (P < 0.05) ;与未进行治疗的对照组相比, 施用治疗并没有改变心脏重量。无论是作为主动脉缩窄的结果还是作为施用治疗的结果, 肝和肺重量都没有发生变化。

[0205] 心脏功能 :主动脉缩窄显著增加了左心室收缩压和舒张末期压 ;与模拟组相比, 在具有主动脉缩窄的动物中, 所形成的压力以及心室压的正和负导数的绝对值均没有表现出统计学上显著的变化。

[0206] 如果将形成的压力针对心室重量进行标准化, 则在具有主动脉缩窄的动物中可以观察到该参数有统计学上显著的降低 ;类似地, 如果将心室压的正导数针对心室收缩压进行标准化, 则其被显著降低。

[0207] 具有主动脉缩窄的动物的治疗使舒张末期压和与心室重量有关的所形成的压力正常化, 心室压的正和负导数均显著改善。

[0208] 在具有主动脉缩窄的动物中, 用 DPP-IV 抑制剂进行治疗可诱导例如左心室收缩压的进一步增加并使舒张末期压正常化。

[0209] 用 DPP-IV 抑制剂进行治疗可显著改善与心室重量有关的所形成的压力以及心室压的正和负导数。

[0210] 实验 4. 对内皮功能（心力衰竭）的作用

[0211] 本实验描述了一种用于确定本发明的治疗对 Watanabe 兔（已知其在生命的第一年形成复杂的动脉粥样硬化损害）的内皮功能的作用。如之前所提及的那样，内皮功能障碍与 HF 的病理生理学有关。

[0212] 这些兔在 7 至 8 月龄时进入研究，被随机分为三组，第一组被立即处死以进行基线测量，第二组 (n = 10) 接受 DPP-IV 抑制剂，第三组 (n = 10) 接受包含安慰剂的模拟治疗（对照动物）。

[0213] 所述治疗包括在 10 周的时间中每天施用 DPP-IV 抑制剂。

[0214] 在其 11 个月大时，将所有动物处死。从动物的骼动脉获取环制品，并对用去氧肾上腺素（一种血管收缩药）进行处理后由乙酰胆碱（一种内皮依赖性血管舒张药）诱导的舒张的量进行评价。

[0215] 对所述环制品的评价例如表明：与对照动物相比，进行了治疗的动物的内皮介导的血管舒张显著增加。

[0216] 当从所述环制品上除去内皮时，观察不到舒张，这进一步证明了本发明的治疗的内皮特异性作用。DPP-IV 抑制剂能修复减弱的内皮依赖性舒张。

[0217] 已经参考优选的实施方案对本发明进行了描述，但是，正如本领域技术人员将意识到的那样，许多增加、省略和修改可能都在下文权利要求的范围内。

[0218] 本说明书中所引用的所有专利和参考文献在此均被全文引入作为参考。在有不一致的情况下，以本说明书（包括定义和解释）为准。