

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200710136980.8

[51] Int. Cl.

A61K 31/425 (2006.01)

A61P 3/06 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

[43] 公开日 2008 年 1 月 2 日

[11] 公开号 CN 101095675A

[22] 申请日 1999.5.28

[21] 申请号 200710136980.8

分案原申请号 99806723.7

[30] 优先权

[32] 1998.5.28 [33] DE [31] 19823831.2

[71] 申请人 普罗西迪恩有限公司

地址 英国牛津

[72] 发明人 汉斯-乌尔里希·德穆特

康拉德·格隆德 达格玛·施伦齐希

苏珊·克鲁贝尔

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

代理人 张晓威

权利要求书 2 页 说明书 17 页 附图 3 页

[54] 发明名称

二肽基肽酶 IV 的新效应物

[57] 摘要

本发明提供由氨基酸及噻唑烷或吡咯烷基团形成的二肽模拟物以及它们的盐。本发明还提供包含这些二肽模拟物的药物组合物以及这些二肽模拟物的用途。

1、由氨基酸 L-别-异亮氨酸及噻唑烷或吡咯烷基团形成的二肽模拟物，其选自 L-别-异亮氨酰噻唑烷、L-别-异亮氨酰吡咯烷及它们的盐。

2、由氨基酸谷氨酰胺及噻唑烷或吡咯烷基团形成的二肽模拟物，其选自谷氨酰胺酰噻唑烷、谷氨酰胺酰吡咯烷及它们的盐。

3、权利要求 1 的二肽模拟物，其特征在于所述盐是有机盐或无机酸根。

4、权利要求 1-3 之任一项的二肽模拟物，其中所述盐为乙酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、延胡索酸盐、磷酸盐或硫酸盐。

5、权利要求 1-4 之任一项的二肽模拟物的盐，其特征在于它们以二肽组分与盐组分的摩尔比为 1:1 或 2:1 存在。

6、权利要求 1-5 之任一项的二肽模拟物的盐，其为延胡索酸盐。

7、权利要求 6 的二肽模拟物的盐，其为 L-别-异亮氨酰噻唑烷的延胡索酸盐。

8、药物组合物，其包含至少一种权利要求 1-7 之任一项的化合物与一种或多种药学可接受的载体和/或溶剂的组合。

9、权利要求 8 的药物组合物，其特征在于所述载体是用于肠道外或肠道制剂的载体。

10、权利要求 8 的药物组合物，其特征在于其以供口服给药的制剂形式存在。

11、权利要求 8-10 之任一项的药物组合物，其特征在于其包含具有降血糖作用的另一活性成分。

12、至少一种权利要求 1-7 之任一项的化合物在制备用于降低二肽基肽酶 IV 活性的药物中的用途。

13、至少一种权利要求 1-7 之任一项的化合物在制备用于将哺乳

动物血清中的血糖水平降低到高血糖症特征性的葡萄糖浓度以下的药物中的用途。

14、至少一种权利要求 1-7 之任一项的化合物在制备用于口服治疗与糖尿病相关的代谢障碍的药物中的用途。

15、至少一种权利要求 1-7 之任一项的化合物在制备用于治疗哺乳动物中的葡萄糖耐受不良、糖尿、高脂血症、代谢性酸中毒、糖尿病、糖尿病性神经病和肾病以及糖尿病后遗症的药物中的用途。

16、至少一种由氨基酸及噻唑烷或吡咯烷基团形成的二肽模拟物及其盐在制备用于将哺乳动物血清中的血糖水平降低到高血糖症特征性的葡萄糖浓度以下的药物中的用途，其中所述氨基酸选自亮氨酸、谷氨酰胺、脯氨酸、天冬酰胺和天冬氨酸。

17、至少一种由氨基酸及噻唑烷或吡咯烷基团形成的二肽模拟物及其盐在制备用于口服治疗与糖尿病相关的代谢障碍的药物中的用途，其中所述氨基酸选自亮氨酸、谷氨酰胺、脯氨酸、天冬酰胺和天冬氨酸。

18、至少一种由氨基酸及噻唑烷或吡咯烷基团形成的二肽模拟物及其盐在制备用于治疗哺乳动物中的葡萄糖耐受不良、糖尿、高脂血症、代谢性酸中毒、糖尿病、糖尿病性神经病和肾病以及糖尿病后遗症的药物中的用途，其中所述氨基酸选自亮氨酸、谷氨酰胺、脯氨酸、天冬酰胺和天冬氨酸。

二肽基肽酶 IV 的新效应物

本申请是 1999 年 5 月 28 日提交的,发明名称为“二肽基肽酶 IV 的新效应物”的中国专利申请 99806723.7 的分案申请。

技术领域

本发明涉及由一个氨基酸及一个噻唑烷或吡咯烷基团构成的二肽化合物及与二肽化合物类似的化合物,及其盐,下文中称为二肽化合物,也涉及该化合物在治疗哺乳动物葡萄糖耐受不良,糖尿,高脂血症,代谢性酸中毒,糖尿病,糖尿病性神经病和肾病及糖尿病后遗症中的应用。

因此,本发明也涉及在作为如下的酶的活性降低效应物(底物,伪底物,抑制剂,结合蛋白,抗体等等)的二肽化合物的辅助下降低哺乳动物血糖浓度的简便方法,所述的酶具有与二肽基肽酶 IV 相似或相同的酶活性。

背景技术

DP IV 或 DP IV 类似物(例如胞液性 DP II 有与 DP IV 几乎相同的底物特异性)在血循环中具有活性,在血液循环中当脯氨酸或丙氨酸是 N 末端氨基酸相邻残基时,DP IV 或 DP IV 类似物能够高特异性地从生物学活性肽 N 末端分解出二肽。

葡萄糖依赖型促胰岛多肽:肠抑胃肽 1-2(GIP₁₋₄₂)及类胰高血糖素肽酰胺-1 7-36 (GLP-1₇₋₃₆),即通过胰腺刺激葡萄糖诱导型胰岛素分泌的激素(也叫做肠降血糖素),是 DP IV 的底物,因为后者在体外及体内能从这些肽的 N 末端序列上分别分解出酪氨酸-丙氨酸及组氨酸-丙氨酸二肽。

降低在体内分解这些底物的 DP IV 及类 DP IV 酶活性能够在实验室及哺乳动物病理条件下有效地抑制不希望的酶活性。例如,II 型糖尿病(包括成人型糖尿病)是建立在胰岛素分泌减少或特别是来自蛋白水解的异常肠降血糖素浓度所致的受体功能紊乱的基础上。

依照现有技术,使用胰岛素(例如从牛胰岛分离或基因工程技术

得到的物质)来治疗高糖血症及其相应的原因和后遗症(包括糖尿病)。所有已知的方法包括比较先进的手段都需要大量的物质,高额的费用并对患者的生活质量有明显的损害。传统方法(从十九世纪三十年代开始使用的每日静脉注射胰岛素)治疗该疾病的急性症状,但持续使用导致严重的血管变化(动脉硬化)及神经损伤。

最近有建议皮下埋置植入物(胰岛素以计量的方式被释放,不需要日常的注射)及植入(移植)完好的朗罕氏细胞到功能损伤的胰腺或其它器官及组织。这种移植要求有高水平技术。而且,它们涉及对受体生物体的手术介入,这可造成危险,甚至,在细胞移植时需要抑制或干扰免疫系统。

作为 DP IV 及类 DP IV 酶活性抑制剂的丙氨酰吡咯烷及异亮氨酰噻唑烷的使用已从 PCT/DE 97/00820 知道,盐酸异亮氨酰吡咯烷及异亮氨酰噻唑烷的使用已从 DD 296 075 中知道。异亮氨酰噻唑烷,其在后一现有技术中被使用,是天然的,也就是说 L-苏型-异亮氨酰噻唑烷,在该两篇说明书的优先权日和申请日时,仅该型,即异亮氨酰噻唑烷天然的形式。

已明确知道这些化合物特别是 L-苏型-异亮氨酰噻唑烷是 DP IV 及类 DP IV 酶活性的良好效应物,但这些化合物的使用对一些患者及疾病会造成问题。

例如糖尿病时,依赖于症状及严重程度,需要使用与现有已知化合物不同的效应物:如已知为了以优化方式进行疾病的治疗,糖尿病患者的病情必须逐个稳定。在一些时候,例如通过 DP IV 效应物降低活性应该是足够的。也会出现高水平抑制剂活性及长期同样药物的使用所造成的副作用,特别在长期治疗中。而且,为了增加体内效应物的吸收率需改善某些转运特性。

发明内容

本发明的目的是对例如哺乳动物葡萄糖糖耐受不良,糖尿,高脂血症,代谢性酸中毒,糖尿病,糖尿病性神经病和肾病及糖尿病

后遗症的治疗提供一种新的(特别是降低活性的)效应物, 及治疗这些疾病的简单方法。

本发明的目的通过提供由一种氨基酸及一种噻唑烷或吡咯烷基团形成的二肽化合物或二肽类似物及其盐来达到。

将这些效应物给予哺乳动物, 优选口腔给予时, 内源性(或额外源性给予)的促胰岛肽 GIP_{1-42} 及 GLP-1_{7-36} (或 GLP-1_{7-37} 或它的类似物)被 DP IV 或类 DP IV 酶分解而减少, 因此这些肽激素或其类似物的浓度的降低被减慢或延迟。因此, 本发明是建立在血液循环中起作用的 DP IV 或类 DP IV 酶活性的降低对血糖水平会造成影响这个发现的基础上。已发现:

1. DP IV 或类 DP IV 酶活性的降低能提高葡萄糖刺激的或外来的肠降血糖素(或其类似物)的相对稳定性, 也就是说通过给予 DP IV 或类 DP IV 蛋白的效应物, 使对血中肠降血糖素分解的控制成为可能;
2. 肠降血糖素(或其类似物)的生物学分解稳定性的提高导致内源性胰岛素作用的变化;
3. 通过降低血液中 DP IV 或类 DP IV 酶活性而提高肠降血糖素的稳定性导致葡萄糖诱导性胰岛素作用的随后变化, 因此导致对由 DP IV 效应物控制的血糖水平的调节。

对本发明的这一目的特别合适的是二肽化合物, 其氨基酸选自天然氨基酸, 例如亮氨酸, 缬氨酸, 谷氨酰胺, 脯氨酸, 异亮氨酸, 天冬酰胺及天冬氨酸。

附图说明

图 1 是毛细管区带电泳(CE)分离异亮氨酰噻唑烷异构体的图, 其显示 L-苏型-Ile-Thia*延胡索酸盐、L-别-Ile-Thia*延胡索酸盐、D-苏型-Ile-Thia*延胡索酸盐、D-别-Ile-Thia*延胡索酸盐的 1:1:1:1 的混合物的 CE 分离结果, 方法和测量条件如下:

用来自 Beckmann 公司的“P/ACE 系统 MDQ”进行 CE 研究

物质	CE (min)
L-threo-IT*F	160
D-threo-IT*F	158
L-allo-IT*F	154
D-allo-IT*F	150

操作条件

缓冲液：20 mM 磷酸盐，pH 7.0，100 mM β -羟基-丙基-环糊精

毛细管：50/60.2 cm，25 μ m 内径，用丙烯酰胺包被

电压：10 kV

检测：在 214 nm 用光电二极管阵列检测器检测

温度：7°C。

图 2 是 Ile-Thia*延胡索酸盐的 CE 分离的图，其显示 L-苏型-Ile-Thia*延胡索酸盐与 D-别-Ile-Thia*延胡索酸盐的 1 : 1000 的混合物的 CE 分离结果。

图 3 显示在口服给予各种 H-Ile-Thia 立体异构体（5 μ g/300 g 大鼠）后的血清 DP IV 活性。酶活性仅受 L-别-Ile-Thia 和 L-苏型-Ile-Thia 影响。

图 4 显示各种氨酰噻唑烷对大鼠葡萄糖耐受的作用（用 2 g/300 g Wistar 大鼠在 0 时间点进行口服葡萄糖耐受试验，在口服葡萄糖刺激之前 10 分钟给予 DP IV 抑制剂）。

具体实施方式

在本发明中，通过口服给予高亲和性低分子量酶抑制剂相对于在治疗病理症状时广泛使用的外科技术是比较经济的选择。通过针对稳定性，转运及清除特性利用化学方法进行的设计，可调节作用模式及适应不同个体的特性。

如上所说，例如在糖尿病的长期治疗的情况下，可能必须提供

具有所述活性的效应物，其可符合患者的不同要求及治疗他们的症状。本发明所说的二肽化合物显示出在（二肽化合物）浓度为 10 微摩尔，特别在表 1 所示的条件下，二肽基肽酶 IV 或类 DP IV 酶活性至少降低 10%，特别是至少降低 40%。通常也要求降低至少 60% 或 70%。优选的效应物还可显示最多降低活性 20%或 30%。而且，本发明化合物的特别是通过转运 Pep T1 的转运特性显著改善。

特别优选的二肽化合物是 L-别-异亮氨酰噻唑烷及其盐类。这些化合物与 L-苏型-异亮氨酰噻唑烷相比，经转运肽 Pep T1 的转运改善高达 5 倍，同时对于葡萄糖调节具有大致相同的作用程度。

在表 1 进一步给出优选化合物。

本发明中二肽化合物的盐类可为，例如，有机盐如乙酸盐，琥珀酸盐，酒石酸盐或延胡索酸盐，或无机酸盐如磷酸盐或硫酸盐。最好使用延胡索酸盐，其在对水解作用有高度稳定性及比盐酸盐更不易溶解的同时，有很好的作用。从盖仑制剂的观点来说，这些特点也是有益的。

也优选 L-苏型-异亮氨酰吡咯烷及其盐类，特别是延胡索酸盐，及 L-别-异亮氨酰吡咯烷及其盐类，特别是延胡索酸盐。

二肽化合物的盐类可以二肽(二肽类似物)组分与盐类组分的摩尔比为 1:1 或 2:1 存在。例如，(异亮氨酰噻唑烷)₂ 延胡索酸。

特别优选的盐类是 L-苏型-异亮氨酰噻唑烷及 L-别-异亮氨酰噻唑烷的延胡索酸盐类。

本发明涉及二肽基肽酶 IV (DP IV)或类 DP IV 酶活性的效应物及它们在降低哺乳动物血清中的血糖浓度到高血糖症特征性血糖浓度以下中的应用。本发明特别涉及本发明所述的 DP IV 或类 DP IV 酶活性效应物在预防或减轻哺乳动物的病理代谢异常中的应用，所述病理代谢异常为例如，哺乳动物中的葡萄糖耐受不良，糖尿，高脂血症，代谢性酸中毒，糖尿病，糖尿病性神经病和肾病及糖尿病后

遗症。在进一步优选的实施方案中，本发明涉及降低哺乳动物血清中的血糖浓度到高血糖症特征性血糖浓度以下的方法，其特征在于给予哺乳动物治疗有效量的本发明所述的至少一种 DP IV 或类 DP IV 酶活性效应物。

在进一步优选的实施方案中，本发明涉及药物组合物，也就是说药物，其包括至少一种本发明所述的化合物或其盐类，任选地与一种或多种药物可接受载体及/或溶剂混合。

药物组合物可以是，例如，肠道外或肠道配方的形式并可含有合适载体或它们可以是包括适宜口服给药相应载体的口服配方的形式。

此外，药物组合物可包括一种或多种具有低血糖作用的活性成分，其可以是已知的活性成分。

本发明中 DP IV 或类 DP IV 酶活性的效应物可用来降低哺乳动物血清中血糖水平到高血糖血症特征性血糖浓度下，或用来生产相应的药物。

本发明中使用的 DP IV 或类 DP IV 酶效应物可作为用来降低哺乳动物中 DP IV 或类 DP IV 蛋白浓度的抑制剂，底物，伪底物，DP IV 表达抑制剂，结合蛋白或这些酶蛋白的抗体或这些不同物质组合的药物可接受配方或配方混合物。本发明的效应物可以是 DP IV 抑制剂如二肽衍生物或二肽模拟物 L-别-异亮氨酰噻唑烷及在表 1 中提到的效应物及其延胡索酸盐。本发明的效应物能使患者及疾病的治疗依照各自的情况来调整，特别是可以控制个体中发生的不耐受，过敏及副作用。

化合物也显示出不同的时间有效性。医生根据患者的不同情况能采取不同的方法：一方面，他能精确地设置作用的起始速度，另一方面，可控制作用的持续时间，特别是作用的强度。

本发明的方法代表着降低哺乳动物血清中已升高的血糖浓度的

一种新的方法。其简单，可经济开发及适应于治疗中使用，特别对建立在高于平均血糖阈值基础上的疾病，适用于哺乳动物，更适用于人类药物。

效应物可以通过药制剂的形式被给药，该药制剂包括与现有技术已知的传统载体相结合的活性成分。例如，它们可非肠道给药(如，静脉注射，以生理盐水的形式)或肠道给药(如，口服，与传统的载体如葡萄糖相结合)。

为了使血糖值正常化，依照它们的内源稳定性及生物利用率，效应物需要每天一次或多次给药。例如，人用剂量可在每天 0.01 毫克到 30.0 毫克的范围内，优选范围在每千克体重 0.01 毫克到 10 毫克的效应物。

已发现哺乳动物的血中二肽基肽酶 IV 或类 DP IV 酶效应物给药的直接结果是，由于其活性的暂时降低，内源的(或额外给予的外源的)促胰岛肽肠抑胃肽 GIP_{1-42} 及胰高血糖素样肽酰胺-1 7-26 (GLP-1_{7-36}) (或 GLP-1_{7-37} 或它的类似物) 被 DP IV 或类 DP IV 酶分解而降低，因此这些肽激素或其类似物的浓度的降低被减慢或延迟。通过 DP IV 效应物的作用，(内源性或外源性)肠降血糖素或其类似物的稳定性增加，其结果是由于对胰腺内朗罕氏细胞的肠降血糖素受体的促胰岛刺激来说前者的量增加，改变了身体本身胰岛素的有效性，其能刺激被治疗机体碳水化合物的代谢。

结果，被治疗机体血清中的血糖水平降低到高血糖血症特征性血糖浓度以下，因此可预防或减轻代谢异常，如葡萄糖耐受不良，糖尿，高糖血症及严重的代谢酸中毒及糖尿病，它们是长期血液中血糖升高的临床症状。

在现有技术所知的口服有效抗糖尿病药中，如此有效的低分子量物质至今为止是未知的(除了双胍二甲双胍：分子量为 130)。氨酰基噻唑烷的分子量在 146 (甘氨酰噻唑烷)，203 (异亮氨酰噻唑烷)到 275 (色

氨酰噻唑烷)的范围内变化。相比之下,磺酰脲(优降糖:494),糖类(阿卡波糖:630)及噻唑烷二酮(pioglitazon:586)的分子量在500到700 Da内变化。体内氨酰噻唑烷被氨基肽酶水解及酸水解形成内源性物质,例如氨基酸及半胱胺,因此本发明化合物作为口服抗糖尿病药的使用丰富了药品。

在小鼠及大鼠中,经口给予本发明中使用的化合物可比平均水平更好地治疗实验诱导的高糖血症(表2及3)。在对小鼠及大鼠所作的三周毒理学实验中,给予有效剂量的500到1000倍不能明显出现病理变化。

表1显示了本发明化合物对DP IV的有益作用。

表 1: 在 30°C, pH 7.6 及离子强度为 0.125 的条件下, 不同效应物对于二肽基肽酶 IV 催化 0.4 毫摩尔底物 H-Gly-Pro-pNA 水解反应的作用

效应物	效应物对 DP IV 的亲 和性 K_i [nM]	在 10 微摩尔效应物存在时 DP IV 的残余活性%
二甲双胍	>>1,000,000	100
优降糖	>>1,000,000	100
阿卡波糖	>>1,000,000	100
H-天冬酰胺-吡咯烷	12,000	83.1
H-天冬酰胺-噻唑烷	3,500	47.2
H-天冬氨酸-吡咯烷	14,000	81.6
H-天冬氨酸-噻唑烷	2,900	45.6
H-天冬氨酸(NHOH)-吡咯烷	13,000	88.2
H-天冬氨酸(NHOH)-噻唑烷	8,800	54.5
H-谷氨酸-吡咯烷	2,200	38.5
H-谷氨酸-噻唑烷	610	25.0
H-谷氨酸(NHOH)-吡咯烷	2,800	44.9
H-谷氨酸(NHOH)-噻唑烷	1,700	36.5
H-组氨酸-吡咯烷	3,500	49.7
H-组氨酸-噻唑烷	1,800	35.2
H-脯氨酸-吡咯烷	4,100	50.2
H-脯氨酸-噻唑烷	1,200	27.2
H-异亮氨酸-吡咯烷	3,100	43.8
H-异亮氨酸-噻唑烷	210	12.3
H-L-别-异亮氨酸-噻唑烷	190	10.0
H-缬氨酸-吡咯烷	480	23.3
H-缬氨酸-噻唑烷	270	13.6

已知氨酰吡咯烷及氨酰噻唑烷可被小肠粘膜细胞, 血清和肝细胞上的脯氨酸氨基肽酶及氨酰基脯氨酸二肽酶所分解, 且噻唑烷环在酸存在时(如胃酸)趋于打开, 形成相应的半胱胺衍生物(见 US 458

407)。因此,当口服给药时,惊奇地发现活性成分具有剂量依赖型有效性。可在下表中看到在对健康的 Wistar 大鼠经口给予 L-别-异亮氨酸-噻唑烷后, L-别-异亮氨酸-噻唑烷对血清 DP IV 活性的剂量依赖作用。

表 2: 经口给予及依赖于 L-别-异亮氨酸-噻唑烷的剂量后在 30°C, pH 7.6 及 0.125 的离子强度的条件下, 血清中的 DP IV 对于 0.4 毫摩尔的底物 H-甘氨酸-脯氨酸-pNA 的残余活性, 在给予抑制剂 30 分钟后检测

每只试验动物的剂量	DP IV 的残余活性 %
0 毫克	100
2.5 毫克	52
5.0 毫克	40
10 毫克	28
20 毫克	29

在糖尿病动物模型中,经口给予本发明的活性成分 L-别-异亮氨酸-噻唑烷并同步口服糖刺激物后,可达到惊奇也是希望看到的结果,就是其具有降糖作用(表 3)。

为了加强各种抗糖尿病药的降血糖作用,通常是混合使用不同的口服有效抗糖尿病药。虽然本发明中效应物的抗糖尿病作用是不依赖其它已知口服抗糖尿病药,为了达到理想的正常血糖效果,本发明的活性成分类似地可以合适制剂的形式可适用于组合治疗。

因此,本发明中所使用的化合物可制成传统配方,例如,片剂,胶囊,糖丸,药丸,栓剂,小粒,气雾剂,糖浆,液体,固体及乳剂及悬浮液和溶液,使用惰性,非毒性,药物可接受的载体及添加剂或溶剂。在这样的配方中,每一例子中药物学有效化合物优选以总混合物的约 0.1 到 80% (重量)、优选 1—50%(重量)的浓度存在,

也就是说足够产生指定范围的剂量的量。

表 3: 对同步进行糖耐受试验不同的动物模型大鼠经口给予 20 微摩尔的 L-别-异亮氨酸-噻唑烷后, 在 60 分钟期间循环血糖的降低程度

动物模型	对照组的糖浓度, 以%表示	用 L-别-异亮氨酸-噻唑烷治疗后的糖浓度, 以%表示
Wistar 大鼠,健康	100	82
Wistar 大鼠(糖尿病 2b-模型,肥胖)	100	73

胃肠道粘膜对本发明中所使用化合物的良好吸收使得能够使用大量盖仑制剂:

这些物质作为药物能以糖丸, 胶囊, 可咬型胶囊, 片剂, 滴剂, 糖浆及栓剂和鼻腔喷雾的形式被使用。

通过使用溶剂及/或载体, 任选地使用乳化剂及/或分散剂来扩散活性成分生产配方, 任选地, 例如水作为稀释剂时有机溶剂可作为助溶剂。

下列的辅助成分可提及: 水, 非毒性有机溶剂, 如石蜡(矿物油部分), 植物油(如油菜籽油, 花生油, 芝麻油), 醇类(如乙醇, 甘油), 乙二醇类(如丙二醇, 聚乙二醇); 固体载体, 例如粉碎的天然矿物质(高度分散的硅酸, 硅酸盐), 糖类(如未加工糖, 乳糖, 葡萄糖); 乳化剂, 如非离子及阴离子乳化剂(如聚氧乙烯脂肪酸酯, 聚氧乙烯脂肪醇醚, 烷基磺酸盐及芳基磺酸盐), 分散剂(如, 木质素, 亚硫酸废液, 甲基纤维素, 淀粉及聚乙烯吡咯酮)及助流剂(如硬脂酸镁, 滑石, 硬脂酸及十二烷基硫酸钠)及任选地调味剂。

传统的给药方式是有效的, 优选肠道或肠道外给药, 特别是经

口给药。在肠道给药时，除了包括上述的载体，片剂也可包括其它添加剂，如柠檬酸钠，碳酸钙及磷酸钙，也可加入各种辅助成分，如淀粉，特别是土豆淀粉，明胶等。为制成片剂可使用助流剂，如硬脂酸镁，十二烷基硫酸钠，滑石。在为口服使用的水性悬浮液及/或酞剂的情况下，为了各种口味除了上述所提及的添加剂，可在有效成分中加入矫味剂或色素。

对于肠道外给药，可使用活性成分的溶液，其使用了合适的液态载体物质。在静脉给药时，已证明给药剂量大约在 0.01 到 2.0 克/千克体重/天的范围内，特别是在 0.01 到 1.0 克/千克体重/天的范围内效果较好，在肠道给药时，给药剂量大约在 0.01 到 2.0 克/千克体重/天的范围内，特别是在 0.01 到 1.0 克/千克体重/天的范围内效果较好。

不过在一些时候，根据试验动物或患者的体重或给药途径，并且以动物的种类及其对药物的个体或给药间隔的不同反应为基础，必须以不同于指示量给药。一些时候例如使用少于上面所提及的最小剂量就够了，而另一些时候需使用超过上述所提及剂量的上限。当使用较大剂量时，最好一天分成几份使用。对于人类也是上述的剂量范围，同时上面的建议也适用。

药物配方的实施例

1. 每粒胶囊中含有 100 毫克的 L-别-异亮氨酰噻唑烷：

对于约 10,000 粒胶囊，需准备下列成分的溶液：

L-别-异亮氨酰噻唑烷盐酸盐	1.0 千克
甘油	0.5 千克
聚乙二醇	3.0 千克
水	<u>0.5 千克</u>
	5.0 千克

溶液以已知方式放入软明胶胶囊中，胶囊适于咀嚼或吞咽。

2. 含有 100 毫克 L-别-异亮氨酰噻唑烷的片剂/糖衣片剂或糖丸:

下面是关于制备 100,000 个片剂所需的量:

L-别-异亮氨酰噻唑烷盐酸盐, 细碎	10.0 千克
葡萄糖	4.35 千克
乳糖	4.35 千克
淀粉	4.50 千克
纤维素, 细碎	4.50 千克

上述成分混合后与下面溶液相混, 该溶液由以下来制备

聚乙烯吡咯烷酮	2.0 千克
多乙氧基醚	0.1 千克
及水	大约 5.0 千克

并用已知的方法将潮湿块磨碎成粒状, 随后加入 0.2 千克的硬脂酸镁, 干燥。最后得到 30.0 千克的片剂混合物, 将其制成圆顶样每片 300 毫克的片剂。该片剂能用已知的方法包衣或糖衣化。

下面是优选化合物的技术数据。

关于 Ile-Thia*延胡索酸盐(异构体)及其它盐类的实验

物质	Ki	Mp(°C)	CE(min)	MS	[α] H ₂ O
L- 苏 型 - IT*F	8*10 ⁻⁸	150 ^{DSC}	160	203	-10.7 (405 nm)
D- 苏 型 - IT*F	无抑制	147	158	203	没测
L-别-IT*F	2*10 ⁻⁷	145-6	154	203	-4.58 (380 nm)
D-别-IT*F	无抑制	144-6	150	203	4.5(380 nm)

IT*F=异亮氨酰噻唑烷延胡索酸盐

核磁共振及高效液相色谱数据证实了实验物质的性质。

测定物质 K_i 的测量条件

酶: 在 25 毫摩尔 Tris pH 7.6, 30%硫酸铵, 0.5 毫摩尔 EDTA, 0.5 毫摩尔 DTE 中的 DP IV _{猪肾}, 0.75 毫克/毫升, 18 单位/毫升 (GPpNA)

储存溶液: 用测量缓冲液稀释成 1:250

缓冲液: 40 毫摩尔 HEPES pH 7.6, I=0.125 (KCl)

底物: GPpNA*HCl

储存溶液: 2.1 毫摩尔

测量装置: Perkin-Elmer 生物分析读数仪, HTS 7000Plus, T = 30°C

λ = 450 纳米

测量混合物: 100 微升 缓冲液

100 微升 底物 (三种不同浓度 0.8 毫摩尔-0.2 毫摩尔)

50 微升水/抑制剂(七种不同浓度, 2.1 微摩尔-32.8 纳摩尔)

10 微升 酶

缓冲液, 水/抑制剂及酶预热到 30°C, 反应在加入如上一样的预热的底物后开始。

检测进行四次。

测量时间为 10 分钟。

熔点测定

使用来自 Leica Aktiengesellschaft 的 Kofler 加热平台显微镜或 DSC 仪器(Heumann-Pharma)来测定熔点, 数值未校正。

旋光性

用来自 Perkin-Elmer 公司的“Polarimeter 341”或更先进的设备记录在不同波长条件下的旋转值。

质谱测量条件

在购自 PE Sciex 公司的“API165”或“API 365”设备上利用电喷雾离子化(ESI)来记录质谱。

这个试验中浓度大约为 $c=10$ 微克/毫升, 物质被 MeOH/H₂O 50:50, 0.1%HCO₂H 吸收, 使用电喷泵(20 微升/分钟)灌输。在阳性状态[M+H]⁺, ESI 电压 U=5600V 的条件下测量。

盐类有以下数据:

IT*盐类	Ki	M(gmol ⁻¹)	Mp(°C)
琥珀酸盐	5.1e-8	522.73	116
酒石酸盐	8.3e-8	352.41	122
延胡索酸盐	8.3e-8	520.71	156
盐酸盐	7.2e-8	238.77	169
磷酸盐	1.3e-7	300.32	105

检测 Ile-Thia 的溶解度

Ile-Thia*延胡索酸盐

称量为 10.55 毫克

相应于 0.02 毫摩尔(520.72 克/摩尔)

加入 100 微升 H₂O 蒸馏

100 微升不溶, 目视:对表面不湿润

从 200 微升开始溶解

一直到 400 微升才完全溶解

2.63%

因此说这种盐很少潮湿并不易分解

Ile-Thia*琥珀酸盐

称量为 16.6 毫克

相应于 0.031 毫摩尔(522.73 克/摩尔)

加入 16 微升 H_2O 蒸馏

16 微升不溶, 目视: “吸收”水分

从 66 微升到 1.5 毫升可观察到物质不完全溶解

Ile-Thia*酒石酸盐

称量为 17.3 毫克

相应于 0.049 毫摩尔(352.41 克/摩尔)

加入 100 微升 H_2O 蒸馏

100 微升完全溶解

17.3%

Ile-Thia*磷酸盐

称量为 15.5 毫克

相应于 0.051 毫摩尔(300.32 克/摩尔)

加入 100 微升 H_2O 蒸馏

可观察到 100 微升微溶

不断每次加入 100 微升水

到 400 微升时完全溶解

3.87%

Ile-Thia*盐酸盐

称量为 16.1 毫克

相应于 0.067 毫摩尔(238.77 克/摩尔)

加入 100 微升 H_2O 蒸馏

100 微升完全溶解

16.1%

Ile-Thia*盐类的概括分析

Boc 保护氨基酸 Boc-Ile-OH 放入乙酸乙酯中并将混合物冷却到大约零下 5°C 。逐滴加入 N-甲基吗啉，在恒温下逐滴加入氯化新戊酸(试验室规模)或新己酰氯(中试规模)。为了活化，需将反应物搅拌几分钟。随后依次逐滴加入 N-甲基吗啉(试验室规模)及噻唑烷盐酸盐(试验室规模)，加入噻唑烷(中试规模)。实验室中的加工是用传统方法使用盐溶液，中试时混合物用氢氧化钠及醋酸溶液来纯化。

使用盐酸/二恶烷(试验室规模)或硫酸(中试规模)来除去 Boc 保护基团。

在实验室中从乙醇/乙醚中结晶出盐酸盐。

在中试中，通过加入氢氧化钠/氨来制备游离胺。延胡索酸溶解到热乙醇中，逐滴加入游离胺，出现 (Ile-Thia)₂ 延胡索酸盐的沉淀。

电泳分析异构体及对映体。

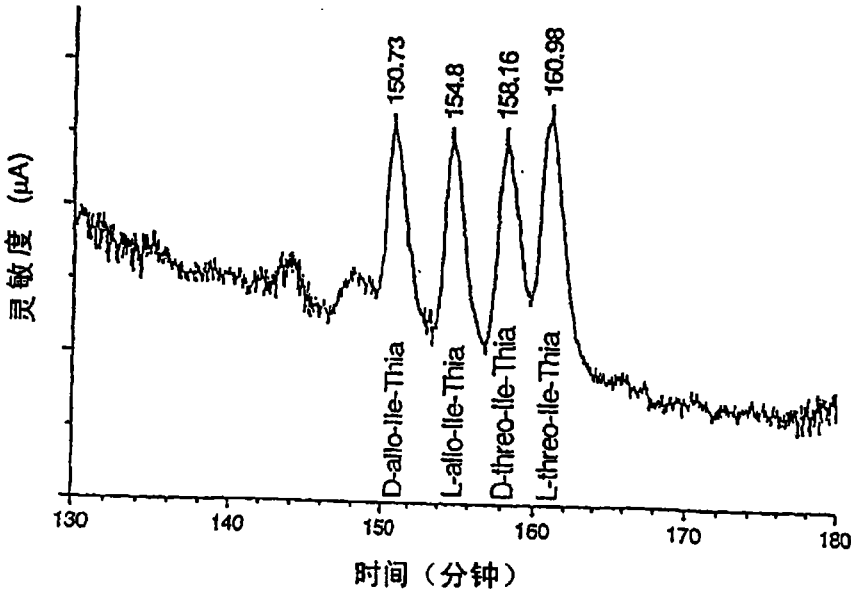


图1

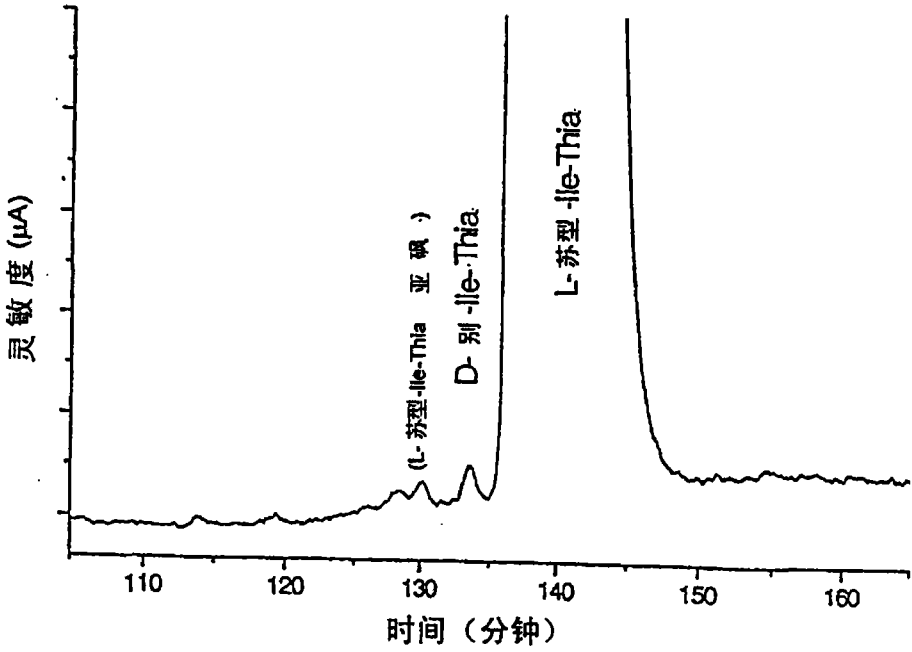


图2

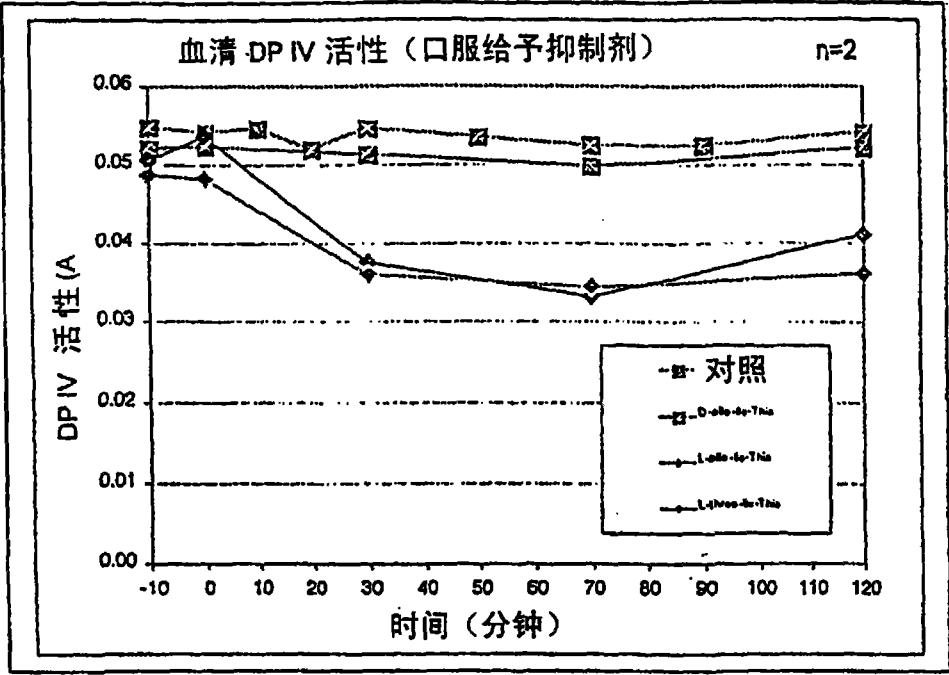


图 3

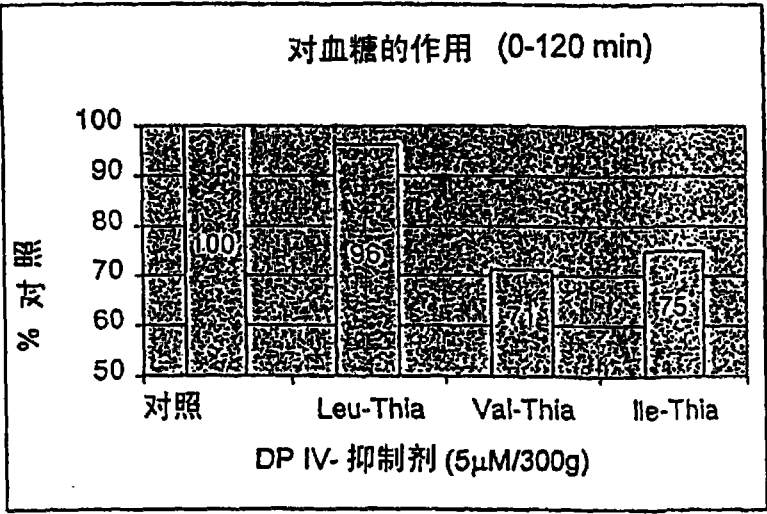


图 4