(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 102091330 B
(45)授权公告日 2015.04.08

(21)申请号 201110029600.7
(22)申请日 2003.01.16
(30)优先权数据
60/349,660 2002.01.17 US
(62)分案原申请数据
03802268.0 2003.01.16
(73)专利权人 诺华股份有限公司
地址 瑞士巴塞尔
(72)发明人 R·L·韦布 G·M·克桑德
(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247
代理人 黄革生 陈润杰
(51)Int.Cl.
A61K 45/00(2006.01)
A61K 31/41(2006.01)
A61P 9/12(2006.01)
A61P 9/04(2006.01)
A61P 9/00(2006.01)
A61P 3/10(2006.01)
A61P 9/06(2006.01)
A61P 9/10(2006.01)
A61P 13/12(2006.01)
A61P 25/06(2006.01)
A61P 25/28(2006.01)
A61P 27/06(2006.01)
(56)对比文件
EP 0726072 A3,1997.12.17,
EP 0498361 A3,1992.09.02,
审查员 吴铁生

权利要求书1页 说明书15页

(54)发明名称

含有缬沙坦和NEP抑制剂的药物组合物

(57)摘要

本发明涉及一种包含(i)AT1-拮抗剂缬沙坦或其可药用盐和(ii)NEP抑制剂或其可药用盐的组合并包含或不包含可药用载体的药物组合物以及治疗或预防选自高血压、心衰如(急性和慢性)充血性心衰、左心室机能障碍和肥厚性心肌病、糖尿病性心肌病、室上性和室性心律不齐、心房纤维颤动、心房扑动、有害的血管重构、心肌梗塞及其后遗症、动脉粥样硬化、心绞痛(不稳定或稳定的心绞痛)、肾机能不全(糖尿病性和非糖尿病性的)、心衰、心绞痛、糖尿病、继发性醛固酮增多症、原发和继发性肺高血压、肾衰竭情况,如糖尿病性肾病、肾小球肾炎、硬皮病、肾小球硬化、原发性肾病的蛋白尿、以及肾血管高血压、糖尿病性视网膜病的情况或疾病、控制其它血管病症,如偏头痛、外周血管疾病、雷诺氏病、腔的增生、认知机能障碍(如阿耳茨海默氏病)、青光眼和中风的方法,其包括给需要其的哺乳动物施用治疗有效量的该药物组合物。

CN 102091330 B

1. 一种药物组合物，其包含 (i)AT 1- 拮抗剂缬沙坦或其可药用盐和 (ii)N-(3- 羧基 -1- 氧代丙基)-(4S)- 对 - 苯基苯基甲基)-4- 氨基 -2R- 甲基丁酸乙酯或 N-(3- 羧基 -1- 氧代丙基)-(4S)- 对 - 苯基苯基甲基)-4- 氨基 -2R- 甲基丁酸或其可药用盐以及可药用载体。

2. 如权利要求 1 所述的药物组合物，其中 N-(3- 羧基 -1- 氧代丙基)-(4S)- 对 - 苯基苯基甲基)-4- 氨基 -2R- 甲基丁酸乙酯是其三乙醇胺盐或其三 (羟基甲基) 氨基甲烷盐。

3. 如权利要求 1 所述的药物组合物，其还包含利尿剂。

4. 一种药物包，其在独立的容器中包含单包装的药物组合物，其在一个容器中包含含有 N-(3- 羧基 -1- 氧代丙基)-(4S)- 对 - 苯基苯基甲基)-4- 氨基 -2R- 甲基丁酸乙酯或 N-(3- 羧基 -1- 氧代丙基)-(4S)- 对 - 苯基苯基甲基)-4- 氨基 -2R- 甲基丁酸的药物组合物，在第二个容器中包含含有缬沙坦的药物组合物。

含有缬沙坦和 NEP 抑制剂的药物组合物

[0001] 本申请是申请日为 2003 年 1 月 16 日、申请号为 03802268.0、发明名称为“含有缬沙坦和 NEP 抑制剂的药物组合物”的中国专利申请的分案申请。

[0002] 血管紧张素 II 与靶细胞表面的特定受体相互作用。已经可以确定被称为例如 AT1- 和 AT2- 受体的受体亚型。最近，人们做了大量的工作试图确定与 AT1- 受体结合的物质。该类活性成分常被称为血管紧张素 II 拮抗剂。因为对 AT1- 受体具有抑制作用，所以该类拮抗剂可以被用作例如抗高血压药或用于治疗其它适应症例如充血性心衰。因此，血管紧张素 II 拮抗剂被理解为是那些可以与 AT1- 受体亚型结合的活性成分。

[0003] 如在例如 N.Eng.J.Med.316,23(1987) 第 1429-1435 页中所述的那样，肾素血管紧张素系统抑制剂是众所周知的可以降低血压和在高血压和充血性心衰中发挥有益作用的药物。已知有大量肽和非 - 肽类的肾素血管紧张素系统抑制剂，最广泛研究的是 ACE 抑制剂，其包括的药物有卡托普利、依那普利、赖诺普利、贝那普利和螺普利。虽然 ACE 抑制剂的主要作用方式涉及阻止血管收缩肽 Ang II 的形成，但是，在 Hypertension,16,4(1990) 第 363-370 页中报道了 ACE 可以裂解许多肽类底物，包括作用于血管的肽缓激肽和 P 物质。已经证明可以用 ACE 抑制剂来防止缓激肽的降解，据 Circ.Res.,66,1(1990) 第 242-248 页所报道，在一些情况中，ACE 抑制剂的活性是通过缓激肽水平的升高而不是通过 Ang II 形成的抑制来介导的。因此，不能假定 ACE 抑制剂的作用仅仅是由于阻止了血管紧张素形成和随后抑制了肾素血管紧张素系统所导致的。

[0004] 中性内肽酶 (EC 3.4.24.11 ;脑啡肽酶 ;必肽酶 ;NEP) 是一种可以在芳族氨基酸的氨基末端上裂解各种肽底物的包含锌的金属蛋白酶。见 Biochem.J.,241,(1987) 第 237-247 页。这种酶的底物非限制性地包括心钠素 (ANF，也被称为 ANP)、脑钠肽 (BNP)、met 和 leu 脑啡肽、缓激肽、神经激肽 A、和 P 物质。

[0005] ANP 是一族血管舒张、利尿和抗高血压的肽类，其一直是文献中许多最近报道的主题，例如 Annu.Rev.Pharm.Tox.,29,(1989) 第 23-54 页。一种形式——ANF 99-126 是在心脏扩张情况中由心脏释放的循环肽激素。ANF 的功能是维持盐和水的体内平衡以及调节血压。ANF 在循环中被至少两个过程迅速灭活 :在 Am.J.Physiol.,256(1989) 第 R469-R475 页中所报道的受体 - 介导的清除和在 Biochem.J.,243(1987) 第 183-187 页中所报道的通过 NEP 进行的酶灭活。以前已经证明 NEP 抑制剂增强了实验动物进行药理学 ANF 注射后的低血压、利尿、促尿钠排泄和血浆 ANF 响应。Sybertz 等人在 J.Pharmacol.Exp.Ther.250,2(1989) 第 624-631 和 Hypertension,15,2(1990) 第 152-161 页中报道了通过两种特定的 NEP 抑制剂进行的 ANF 的增强，同时，在 US 4,749,688 中一般性地公开了用 NEP 来增强 ANF。在 US 4,740,499 中，Olins 公开了噻奥芬 (thiorphan) 和凯拉托芬用于增强心房肽的应用。此外，NEP 抑制剂可降低血压和发挥 ANF- 样作用如在一些形式的实验性高血压中的利尿和增加环鸟苷 3’,5’ - 单磷酸 (cGMP) 排泄的作用。因为 ANF 的抗体将抵消血压的降低，所以 NEP 抑制剂的抗高血压作用是通过 ANF 介导的。

[0006] 长期和不进行控制的高血压血管疾病最终将导致靶器官如心和肾的各种病理学改变。持续的高血压也能导致中风的发生率增加。因此，强烈需要对抗高血压治疗的功效

进行评估，即对除了血压降低以外的其它心血管终点事件进行检查以进一步发现联合治疗的益处。

[0007] 高血压血管疾病的性质是多因素的。在某些情况中，已经将具有不同作用机理的药物联用。但是，应正确地考虑到任何具有不同作用方式的药物的组合并不是一定会导致具有有利作用的组合，因此，需要有害的副作用较少的更有效的联合治疗。

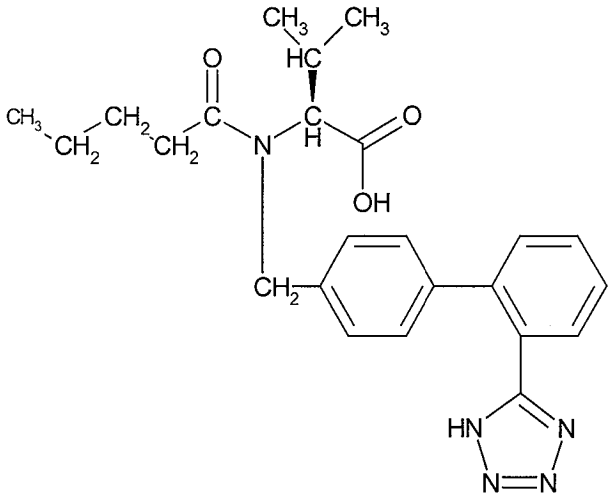
[0008] 本发明的一个方面涉及在存在或不存在可药用载体情况下的包含缬沙坦或其可药用盐和中性内肽酶（NEP）抑制剂或其药学有效的盐的药物组合以及包含该药物组合的药物组合物。

[0009] 在另一个实施方案中，本发明涉及通过施用包含缬沙坦加 NEP 抑制剂的药物组合物来治疗心和肾相关情况的方法或涉及包含缬沙坦或其可药用盐和中性内肽酶（NEP）抑制剂或其药学有效的盐的药物组合物的应用。

[0010] 在本发明的另一个实施方案中，本发明涉及一种包含缬沙坦或其可药用盐和中性内肽酶（NEP）抑制剂或其药学有效的盐以及利尿剂、尤其是氢氯噻嗪的药物组合物。

[0011] 缬沙坦是式（I）的 AT1 受体拮抗剂 (S)-N-(1- 羧基 -2- 甲基 - 丙 -1- 基)-N- 戊酰基 -N-[2'-(1H- 四唑 -5- 基) 联苯 -4- 基 - 甲基] 胺，其在 EP 0443983A 和 US5,399,578 中进行了公开，其公开的内容在这里被全文引入作为参考。

[0012]

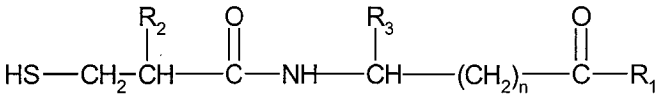


(I)

[0013] 用于所说组合的 NEP 抑制剂是式（II）的化合物及其可药用的盐，

[0014]

(II)



[0015] 其中：

[0016] R_2 是 1 至 7 个碳的烷基、三氟甲基、苯基、被取代的苯基、$-(CH_2)_{1-4}-$ 苯基或 $-(CH_2)_{1-4}-$ 被取代的苯基；

[0017] R_3 是氢、1 至 7 个碳的烷基、苯基、被取代的苯基、$-(CH_2)_{1-4}-$ 苯基或 $-(CH_2)_{1-4}-$ 被取代的苯基；

[0018] R_1 是羟基、1 至 7 个碳的烷氧基或 NH_2；

[0019] n 是从 1 至 15 的整数；且

[0020] 术语被取代的苯基涉及选自 1-4 个碳的低级烷基、1-4 个碳的低级烷氧基、1-4 个碳的低级烷硫基、羟基、Cl、Br 或 F 的取代基。

[0021] 优选的式 II 的选择性中性内肽酶抑制剂包括如下化合物，其中：

[0022] R_2 是苄基；

[0023] R_3 是氢；

[0024] n 是 1 至 9 的整数；且

[0025] R_1 是羟基。

[0026] 更优选的式 II 的选择性中性内肽酶抑制剂在文献中被报道为 SQ28,603，其是其中：

[0027] R_2 是苄基；

[0028] R_3 是氢；

[0029] n 是 1；且

[0030] R_1 是羟基的式 II 化合物。

[0031] Delaney 等人在 US 4,722,810 中公开了其中 R_2 不是三氟甲基的式 II 的选择性中性内肽酶抑制剂的制备。Delaney 等人在 US 5,223,516 中公开了其中 R_2 是三氟甲基的式 II 的选择性中性内肽酶抑制剂的制备。

[0032] 本发明范围内的 NEP 抑制剂包括在 US 4,610,816 中所公开的化合物（所说的专利在这里被引入作为参考），特别是包括 N-[N-[1(S)-羧基-3-苯基丙基]-(S)-苯基丙氨酰基]-(S)-异丝氨酸和 N-[N-[((1S)-羧基-2-苯基）乙基]-(S)-苯基丙氨酰基]-β-丙氨酸；在 US 4,929,641 中所公开的化合物，特别是 N-[2(S)-巯基甲基-3-(2-甲基苯基)-丙酰基]蛋氨酸；在南非专利申请 84/0670 中所公开的 SQ 28603(N-[2-(巯基甲基)-1-氧代-3-苯基丙基]-β-丙氨酸)；UK 69578(顺-4-[[[1-[2-羧基-3-(2-甲氧基乙氧基）丙基]-环戊基]羰基]氨基]-环己烷甲酸）及其活性对映异构体；噻奥芬及其对映异构体；反-噻奥芬 (retro-thiorphan)；磷阿米酮；和 SQ 29072(7-[[2-(巯基甲基)-1-氧代-3-苯基丙基]氨基]-庚酸)。上面所列 NEP 抑制剂的任何前体药物形式例如其中一个或多个羧酸基团被酯化的化合物也是适用的。

[0033] 本发明范围内的 NEP 抑制剂还包括 US 5,217,996 中所公开的化合物，特别是 N-(3-羧基-1-氧代丙基)-(4S)-对-苯基苯基甲基)-4-氨基-2R-甲基丁酸乙酯和 N-(3-羧基-1-氧代丙基)-(4S)-对-苯基苯基甲基)-4-氨基-2R-甲基丁酸或各种情况中的其可药用的盐；在 EP 00342850 中所公开的化合物，特别是 (S)-顺-4-[1-[2-(5-茚满基氧基羰基)-3-(2-甲氧基乙氧基）丙基]-1-环戊烷酰胺基]-1-环己烷甲酸；在 GB 02218983 中所公开的化合物，特别是 3-(1-[6-内-羟基甲基二环 [2,2,1] 庚烷-2-外-氨基甲酰基]环戊基)-2-(2-甲氧基乙基）丙酸；在 WO 92/14706 中所公开的化合物，特别是 N-(1-(3-(N-叔丁氧基羰基-(S)-脯氨酰基氨基)-2(S)-叔丁氧基-羰基丙基)环戊烷羰基)-O-苄基-(S)-丝氨酸甲酯；在 EP 00343911 中所公开的化合物；在 JP 06234754 中所公开的化合物；在 EP 00361365 中所公开的化合物，特别是 4-[[2-(巯基甲基)-1-氧代-3-苯基丙基]氨基]苯甲酸；在 WO 90/09374 中所公开的化合物，特别是 3-[1-(顺-4-羧基羰基-顺-3-丁基环己基-r-1-氨基甲酰基）环戊基]-2S-(2-甲氧基乙氧基甲基）丙酸；在 JP 07157459 中所公开的化合物，特别是 N-((2S)-2-(4-联苯

基甲基)-4-羧基-5-苯氧基戊酰基)甘氨酸;在WO94/15908中所公开的化合物,特别是N-(1-(N-羟基氨基甲酰基甲基)-1-环戊烷羰基)-L-苯基丙氨酸;在US 5,273,990中所公开的化合物,特别是(S)-(2-联苯-4-基)-1-(1H-四唑-5-基)乙基氨基)甲基膦酸;在US 5,294,632中所公开的化合物,特别是(S)-5-(N-(2-(膦酰基甲基氨基)-3-(4-联苯基)丙酰基)-2-氨基乙基)四唑;在US 5,250,522中所公开的化合物,特别是β-丙氨酸,3-[1,1'-联苯]-4-基-N-[二苯氧基氧膦基]甲基]-L-丙氨酰基;在EP 00636621中所公开的化合物,特别是N-(2-羧基-4-噻吩基)-3-巯基-2-苄基丙酰胺;在WO93/09101中所公开的化合物,特别是2-(2-巯基甲基-3-苯基丙酰氨基)噻唑-4-基甲酸;在EP 00590442中所公开的化合物,特别是((L)-(1-((2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)-甲氧基)羰基)-2-苯基乙基)-L-苯基丙氨酰基)-β-丙氨酸、N-[N-[(L)-[1-[(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)-甲氧基]羰基]-2-苯基乙基]-L-苯基丙氨酰基]-(R)-丙氨酸、N-[N-[(L)-1-羧基-2-苯基乙基]-L-苯基丙氨酰基]-(R)-丙氨酸、N-[2-乙酰硫基甲基-3-(2-甲基-苯基)丙酰基]-蛋氨酸乙酯、N-[2-巯基甲基-3-(2-甲基苯基)丙酰基]-蛋氨酸、N-[2(S)-巯基甲基-3-(2-甲基苯基)丙酰基]-(S)-异丝氨酸、N-(S)-[3-巯基-2-(2-甲基苯基)丙酰基]-(S)-2-甲氧基-(R)-丙氨酸、N-[1-[[1(S)-苄氧基羰基-3-苯基丙基]氨基]环戊基羰基]-(S)-异丝氨酸、N-[1-[[1(S)-羰基-3-苯基丙基]氨基]-环戊基羰基]-(S)-异丝氨酸、1,1'-[二硫代双-[2(S)-(2-甲基苄基)-1-氧代-3,1-亚丙基]]-二-(S)-异丝氨酸、1,1'-[二硫代双-[2(S)-(2-甲基苄基)-1-氧代-3,1-亚丙基]]-二-(S)-蛋氨酸、N-(3-苯基-2-(巯基甲基)-丙酰基)-(S)-4-(甲基巯基)蛋氨酸、N-[2-乙酰硫基甲基-3-苯基-丙酰基]-3-氨基苯甲酸、N-[2-巯基甲基-3-苯基-丙酰基]-3-氨基苯甲酸、N-[1-(2-羧基-4-苯基丁基)-环戊烷羰基]-(S)-异丝氨酸、N-[1-(乙酰硫基甲基)环戊烷-羰基]-(S)-蛋氨酸乙酯、3(S)-[2-(乙酰硫基甲基)-3-苯基-丙酰基]氨基-ε-己内酰胺;和在WO 93/10773中所公开的化合物,特别是N-(2-乙酰硫基甲基-3-(2-甲基苯基)丙酰基)-蛋氨酸乙酯。

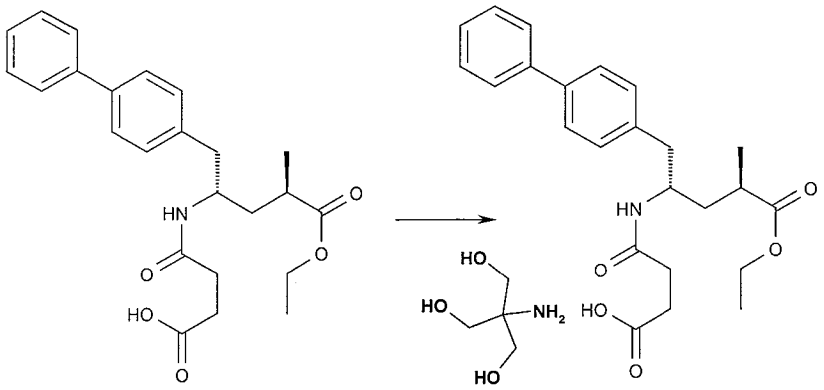
[0034] 利尿剂是例如可选自氯噻嗪、氢氯噻嗪、甲氯噻嗪和氯噻酮的噻嗪类衍生物。最优选氢氯噻嗪。

[0035] 可以相互组合的化合物可以以可药用盐的形式存在。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。具有至少一个酸性基团(例如COOH)的化合物还可以与碱形成盐。如果化合物例如既包含羧基又包含氨基,则还可以形成相应的内盐。

[0036] 对于N-(3-羧基-1-氧代丙基)-(4S)-对-苯基苯基甲基)-4-氨基-2R-甲基丁酸乙酯而言,优选的盐包括在US 5,217,996中所公开的钠盐、三乙醇胺盐和三(羟基甲基)氨基甲烷盐。三乙醇胺盐和三(羟基甲基)氨基甲烷盐的制备可以如下所述的那样来进行:

[0037] 三乙醇胺-向N-(3-羧基-1-氧代丙基)-(4S)-对-苯基苯基甲基)-4-氨基-2R-甲基丁酸乙酯(349mg,0.848mmol)中加入5ml乙醚和0.113ml(0.848mmol)在1ml乙酸乙酯中的三乙醇胺。对固体进行收集并干燥,熔点69-71℃。

[0038]



[0039] 三（羟基甲基）氨基甲烷－向N-(3-羧基-1-氧代丙基)-(4S)-对－苯基苯基甲基)-4-氨基-2R-甲基丁酸乙酯(3.2g,7.78mmol)中加入32ml乙酸乙酯和940mg(7.78mmol)三（羟基甲基）氨基甲烷。将该混悬液用45ml乙酸乙酯进行稀释并将其回流一整夜（～20小时）。将该反应冷却至0℃,过滤,用乙酸乙酯对固体进行洗涤并干燥,熔点114-115℃。

[0040] 与三乙醇胺和三（羟基甲基）氨基甲烷形成的N-(3-羧基-1-氧代丙基)-(4S)-对－苯基苯基甲基)-4-氨基-2R-甲基丁酸乙酯的盐是新的并且可以被用作NEP抑制剂。本发明的另一个实施方案是所说的新的盐、其用作NEP抑制剂。尤其是用于预防和治疗与NEP的抑制有关的情况和疾病的应用、包含这些盐的药物组合物以及其与缬沙坦的组合,尤其是用于治疗上下文中所公开的本发明的组合可以进行应用的情况和疾病。

[0041] 已经令人吃惊地发现,缬沙坦和NEP抑制剂的组合获得了比单独给予缬沙坦、ACE抑制剂或NEP抑制剂所获得的疗效更高的疗效并且出现的血管性水肿低于单独给予血管肽酶抑制剂时所观察到的血管性水肿。通过作用持续时间延长可以证明获得了更大的功效。可以通过下一次给药前回复至基准的时间或曲线下面积(AUC)来对作用的持续时间进行监测,并且将其表示为血压毫米汞柱的变化(mmHg变化）和作用持续时间（分钟、小时或天）的乘积。

[0042] 另外的益处是可以通过使用本发明被组合各药物的较低剂量来降低剂量,例如,所需的剂量不仅常常更小,并且还可以以更低的频率来进行应用,或者可以用其来降低副作用的发生率。不考虑该情况的病原学,缬沙坦或其可药用盐和NEP抑制剂或其可药用盐的组合给药在更高百分比的接受治疗的患者中产生了显著疗效,即,具有更高的响应率。这与被治疗患者的愿望和需要相一致。

[0043] 可以证实,使用缬沙坦和NEP抑制剂的联合治疗通过改善功效和具有更高的相应率而产生了更有效的抗高血压治疗（不论是对于恶性高血压、原发性高血压、肾血管性高血压、糖尿病性高血压、单纯收缩期高血压还是对于其它继发性高血压而言都是如此）。该组合还可用于治疗或预防心衰如（急性和慢性）充血性心衰、左心室机能障碍和肥厚性心肌病、糖尿病性心肌病、室上性和室性心律不齐、心房纤维颤动、心房扑动或有害的血管重构。还可以证实缬沙坦和NEP抑制剂治疗在心肌梗塞及其后遗症的治疗和预防中有益。缬沙坦加NEP抑制剂的组合还可用于治疗动脉粥样硬化、心绞痛（不论是稳定还是不稳定的心绞痛）、和肾机能不全（糖尿病性和非糖尿病性的）。此外,用缬沙坦和NEP抑制剂进行的组合治疗可以改善内皮机能障碍,从而可以在正常内皮功能被扰乱的疾病如心衰、心绞痛和糖尿病中提供益处。此外,本发明的组合还可以用于继发性醛固酮增多症、原发性和

继发性肺高血压、肾衰竭情况，如糖尿病性肾病、肾小球肾炎、硬皮病、肾小球硬化、原发性肾病的蛋白尿、以及肾血管高血压、糖尿病性视网膜病的治疗或预防、其它血管病症如偏头痛、外周血管疾病、雷诺氏病、腔的增生、认知机能障碍（如阿耳茨海默氏病）、青光眼和中风的控制。

[0044] 用类名、商品名或代码确定的活性物质的结构可以得自标准概述“默克索引”的现行版本或得自数据库，例如 Life Cycle Patents International（例如 IMS World Publications）。其相应的内容在这里被引入作为参考。在这些参考资料的基础上，本领域技术人员完全能够对该活性物质进行确定，同样也能对其进行制备并用体外和体内标准试验模型对药学适应症以及性质进行测试。

[0045] 在例如 US 专利、EP、GB、JP 或 WO 专利申请中所涉及的 NEP 抑制剂主题物质，尤其是在其权利要求或操作实施例中所公开的相应的 NEP 抑制剂及其可药用盐和药物组合物在这里都被引入作为参考。

[0046] 相关领域的技术人员完全能够对相关的试验模型进行选择以证明本发明的组合在上下文所表明的治疗适应症中的功效。

[0047] 用缬沙坦和 N-(3-羧基-1-氧代丙基)-(4S)-对-苯基苯基甲基)-4-氨基-2R-甲基丁酸乙酯通过例如使用如下的方法学来进行有代表性的研究。

[0048] 用维持正常盐饮食或用盐负载（大鼠食物中加 4-8％的盐或用 1％ NaCl 作为饮用水）的各种动物模型对药物的功效进行了评估，其中所说的动物模型包括醋酸脱氧皮质酮-盐大鼠（DOCA-盐）和自发性高血压大鼠（SHR）。

[0049] DOCA-盐试验模型使用急性或慢性研究方案。急性研究操作包括在 6 小时的实验期间内用具有内在的股动脉和静脉插管的大鼠对各试验物质的作用进行评估。急性研究操作对试验物质在 DOCA-盐高血压的确定相期间降低血压的能力进行评估。相反，慢性研究操作对试验物质在 DOCA-盐高血压的发展相期间预防或延迟血压升高的能力进行评估。因此，在慢性研究操作中可以通过无线电发射器来对血压进行监测。在开始 DOCA-盐处理前、即在诱导高血压前通过手术将无线电发射器植入到大鼠的腹主动脉中。在长达 6 星期的时间（DOCA-盐给药前约一周和其后的 5 周）内对血压进行长期监测。

[0050] 用 2-3％在氧吸入剂中的异氟烷，然后用阿米妥钠（异戊巴比妥）100mg/kg，ip 对大鼠进行麻醉。通过稳态呼吸方式来对麻醉水平进行评估。

[0051] <u>急性研究操作</u>：

[0052] 在 DOCA 植入时对大鼠进行单侧肾切除术。对左侧胁腹和颈部背面的毛发进行修剪并用无菌的酒精药签和聚维酮／碘对其进行擦拭。在手术期间，将大鼠放置到一个进行加热的垫上以将其体温维持在 37 摄氏度。

[0053] 在皮肤和下面的肌肉上切一个 20mm 的切口以暴露出左侧的肾。将该肾从周围的组织上游离下来，将其外置并在与主动脉结合处附近在肾动脉和静脉周围系两个牢固的结（3-0 丝）。然后，将肾动脉和静脉切断并将肾取出。分别用 4-0 丝缝合线和不锈钢伤口夹将肌肉和皮肤闭合。同时，在颈部的后面切一个 15mm 的切口并同时皮下植入一个包含醋酸脱氧皮质酮（100mg/kg）的可释放 3-周的小丸（Innovative Research of America，Sarasota，Florida）。然后用不锈钢夹将该伤口闭合，将两个伤口都用聚维酮／碘进行处理；在手术后，给大鼠肌内注射普鲁卡因青霉素 G（100,000U）和皮下注射丁丙诺啡

(0.05-0.1mg/kg)。立即给大鼠饮用 1% NaCl+0.2% KCl 的饮用水，将这种处理持续至少 3 周，这时动物出现高血压，从而可以用其来进行实验。

[0054] 在实验前 48 小时，将动物用异氟烷进行麻醉，并向股动脉和静脉中植入导管以进行血压测定、血的收集和试验化合物的给药。将大鼠关在树脂玻璃笼子中，使大鼠恢复 48 小时，所说的笼子还被用作实验室。

[0055] 慢性研究操作：

[0056] 这种操作与上面的操作相同，只是在单侧肾切除术和植入 DOCA 和盐前 7-10 天给大鼠植入无线电发射器。此外，大鼠也不进行放置股动脉和静脉插管的手术。无线电发射器是如 M.K.Bazil、C.Krulan 和 R.L.Webb，“对有意识的自发性高血压大鼠的心血管参数进行的遥测监测”，J.Cardiovasc.Pharmacol.22：897-905，1993 中所述的那样来进行移植的。

[0057] 然后，在计算机上对方案进行设定以在每一预定的时间点对血压、心率等等进行测量。在各时间点并以各种时间间隔来收集基准数据。例如，基准或给药前的值通常是在给药前 24 小时所收集的数据并且是由三次连续测定的平均值所组成的。

[0058] 在给药前、给药期间和给药后的各预先选择的时间点对血压、心率和活动进行测定。所有的测量都是用不受限制和不受干扰的动物进行的。由电池寿命所决定的最大研究时间可以长达 9 个月。对于这种持续时间的研究而言，给大鼠口服给药 (1-3ml/kg 基质)，每天给药不超过两次，或者通过饮用水来将药物进行给药或者通过与食物混合来将药物进行给药。对于持续时间较短，即高至 8 周的研究而言，通过皮下植入微型渗透泵来进行给药。根据药物传递速率和时间来对微型渗透泵进行选择。缬沙坦的剂量范围为 1 至 10mg/kg/ 天，N-(3- 羧基 -1- 氧代丙基)-(4S)- 对 - 苯基苯基甲基)-4- 氨基 -2R- 甲基丁酸乙酯的范围为 10 至 50mg/kg/ 天。

[0059] 此外，用 SHR 来对缬沙坦与 N-(3- 羧基 -1- 氧代丙基)-(4S)- 对 - 苯基苯基甲基)-4- 氨基 -2R- 甲基丁酸乙酯联用的作用来进行研究。通过用于抑制肾素血管紧张素系统 (RAS) 的长期盐负荷或通过用于活化 SHR 中的 RAS 的长期盐不足来改变 SHR 的高血压背景。可以通过进行这些操作来对各种试验物质的功效进行更广泛的评估。实验所用的自发性高血压大鼠 (SHR) 是由 Taconic Farms，Germantown，New York(Tac：N(SHR)fBR) 提供的。将无线电遥测装置 (Data Sciences International，Inc.，St.Paul，Minnesota) 植入到所有 14 至 16 周大的试验动物的下腹部主动脉中。在开始实验前，使所有的 SHR 在植入操作后恢复至少 2 周。用该无线电发射器连续对心血管参数进行监测并将其传递到然后可以收集数字信号并用电脑数据采集系统对其进行存储的接收器中。在其居住的笼子中对有意识的可以自由活动的 SHR 的血压 (平均动脉压、心脏收缩压和舒张压) 和心率进行监测。每隔 10 分钟对动脉血压和心率测量 10 秒钟并对其进行记录。所报告的各大鼠的数据表示为 24 小时内的均值并且是由每天所收集的 144 个 10 分钟的样品所组成的。血压和心率的基准值是由在开始药物治疗前读取的三个连续的 24 小时的平均数所组成的。在控制室的温度和湿度下将所有的大鼠都单独饲养并使其维持一种 12 小时的光暗循环。除心血管参数外，每周还对所有大鼠的体重进行测量。通过每天口服管饲法以饮用水的形式来进行治疗或者以上面所述的微型渗透泵的形式来进行治疗。如果给予饮用水，则每周对水的消耗情况进行 5 次测定。然后根据各大鼠对水的消耗情况、饮用水中的药物浓度、以及个体体重来计算各大鼠的缬沙坦和 N-(3- 羧基 -1- 氧代丙基)-(4S)- 对 - 苯基苯基甲基)-4- 氨基 -2R- 甲

基丁酸乙酯的剂量。所有在饮用水中的药物溶液每隔 3 至 4 天更新一次。缬沙坦在饮用水中的一般剂量为 3 至 30mg/kg/ 天，而 N-(3- 羧基 -1- 氧代丙基)-(4S)- 对 - 苯基苯基甲基)-4- 氨基 -2R- 甲基丁酸乙酯的剂量高度依赖于所用的特定物质。在大多数情况中，当作为单一治疗进行给药时，其每日剂量不超过 50mg/kg/ 天。对于联合给药而言，使用各物质的较低剂量，相对应的是，缬沙坦的给药量为 1 至 30mg/kg/ 天且 N-(3- 羧基 -1- 氧代丙基)-(4S)- 对 - 苯基苯基甲基)-4- 氨基 -2R- 甲基丁酸乙酯的剂量低于 50mg/kg/ 天。但是，在响应率随着联合治疗增加的情况中，该剂量与单一治疗所用的那些剂量相同。

[0060] 当通过口服管饲来进行给药时，缬沙坦的剂量为 1 至 50mg/kg/ 天且 N-(3- 羧基 -1- 氧代丙基)-(4S)- 对 - 苯基苯基甲基)-4- 氨基 -2R- 甲基丁酸乙酯的剂量不超过 100mg/kg/ 天。

[0061] 在慢性研究结束后，对 SHR 或 DOCA- 盐大鼠进行麻醉并快速取出其心脏。在分离并除去心房附件后，对左心室、左和右心室（整体）进行称重并对其进行记录。然后用体重将左心室和整个心室的质量标准化并对其进行报告。用于报告血压和心脏质量的所有值都是用组的均值 ±sem 来进行表示的。

[0062] 在进行治疗后对血管的功能和结构进行评估以对该组合的有益作用进行评估。根据 Intengan HD,Thibault G,Li JS,Schiffrin EL,Circulation1999,100(22) :2267-2275 所述的方法对 SHR 进行研究。同样，在 IntenganHD,Park JB,Schiffrin,EL,Hypertension,1999,34(4Part 2) :907-913 中对用于评价 DOCA- 盐大鼠血管功能的方法学进行了描述。

[0063] 所获得的结果表明本发明的组合具有意想不到的治疗作用。

[0064] 本发明一方面的目的是提供一种药物组合物，例如提供用于治疗或预防选自高血压、心衰如（急性和慢性）充血性心衰、左心室机能障碍和肥厚性心肌病、糖尿病性心肌病、室上性和室性心律不齐、心房纤维颤动、心房扑动、有害的血管重构、心肌梗塞及其后遗症、动脉粥样硬化、心绞痛（不稳定或稳定的心绞痛）、肾机能不全（糖尿病性和非糖尿病性的）、心衰、心绞痛、糖尿病、继发性醛固酮增多症、原发和继发性肺高血压、肾衰竭情况，如糖尿病性肾病、肾小球肾炎、硬皮病、肾小球硬化、原发性肾病的蛋白尿、以及肾血管高血压、糖尿病性视网膜病的情况或疾病、控制其它血管病症，如偏头痛、外周血管疾病、雷诺氏病、腔的增生、认知机能障碍（如阿耳茨海默氏病）、青光眼和中风的组合物，该组合物包含 (i)AT1- 拮抗剂缬沙坦或其可药用盐和 (ii)NEP 抑制剂或其可药用盐以及可药用载体。另外的活性组分可以是利尿剂，尤其是氢氯噻嗪。

[0065] 在这种组合物中，组分 (i) 和 (ii) 可以以一种组合的单位剂型或两种独立的单位剂型的形式一起、依次或者分别给药。所说的单位剂型还可以是一种固定组合。

[0066] 本发明另一方面是一种治疗或预防选自高血压、心衰如（急性和慢性）充血性心衰、左心室机能障碍和肥厚性心肌病、糖尿病性心肌病、室上性和室性心律不齐、心房纤维颤动、心房扑动、有害的血管重构、心肌梗塞及其后遗症、动脉粥样硬化、心绞痛（不稳定或稳定的心绞痛）、肾机能不全（糖尿病性和非糖尿病性的）、心衰、心绞痛、糖尿病、继发性醛固酮增多症、原发和继发性肺高血压、肾衰竭情况，如糖尿病性肾病、肾小球肾炎、硬皮病、肾小球硬化、原发性肾病的蛋白尿、以及肾血管高血压、糖尿病性视网膜病的情况或疾病、控制其它血管病症，如偏头痛、外周血管疾病、雷诺氏病、腔的增生、认知机能障碍（如阿耳茨海默氏病）、青光眼和中风的方法，其包括给需要该类治疗的哺乳动物施用治疗有效量的

(i)AT1- 拮抗剂缬沙坦或其可药用盐和 (ii)NEP 抑制剂或其可药用盐和可药用载体的组合。

[0067] 本发明的组合的各组分的治疗有效量可以被同时或相继给予并可以以任何次序被给予。

[0068] 相应的活性组分或其可药用盐还可以以水合物或包含用于结晶的其它溶剂的形式被使用。

[0069] 可以用本身公知的方法来制备本发明的药物组合物，本发明的组合物是适于经肠给药例如口服或直肠给药和胃肠外给药于包括人在内的哺乳动物（温血动物）的那些组合物，其只包含治疗有效量的药理学活性化合物或者还可以包含一种或多种可药用载体，尤其是适用于肠或胃肠外应用的载体。典型的口服制剂包括片剂、胶囊、糖浆、酏剂和混悬液。典型的可注射制剂包括溶液和混悬液。

[0070] 用于上面所述制剂的典型的可药用载体的实例有：糖类如乳糖、蔗糖、甘露醇和山梨醇；淀粉类如玉米淀粉、木薯淀粉和马铃薯淀粉；纤维素和衍生物如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和甲基纤维素；磷酸钙如磷酸二钙和磷酸三钙；硫酸钠；硫酸钙；聚乙烯吡咯烷酮；聚乙烯醇；硬脂酸；碱土金属硬脂酸盐如硬脂酸镁和硬脂酸钙；硬脂酸；植物油如花生油、棉籽油、芝麻油、橄榄油和玉米油；非离子、阳离子和阴离子表面活性剂；乙二醇聚合物；β 环糊精；脂肪醇；和水解的谷类固体、以及无毒的可相容的填充剂、粘合剂、崩解剂、缓冲剂、防腐剂、抗氧剂、润滑剂、矫味剂以及药物制剂领域常用的其它物质。

[0071] 本发明还涉及将独立的药物组合物组合于药物包形式中。即药物包将两个独立单位：缬沙坦药物组合物和 NEP 抑制剂药物组合物结合了起来。当必需以不同的剂量形式（例如胃肠外的缬沙坦制剂和口服的 NEP 制剂）将独立的组分进行给药或要以不同的给药间隔进行给药时药物包的形式特别有利。

[0072] 这些药物制剂是用于经肠给药如口服以及直肠给药或胃肠外给药于温血动物的制剂，该制剂可以仅包含药理学活性化合物或者还可以包含常用的药学辅助物质。例如，该药物制剂包含约 0.1％至 90％，优选约 1％至约 80％的活性化合物。用于经肠或胃肠外给药的药物制剂是例如单位剂型如包衣片、片剂、胶囊或栓剂的形式，并且还可以是安瓿剂。这些制剂都是用公知的方法来进行制备的，例如是通过使用常规的混合、制粒、包衣、溶解或冷冻干燥过程来进行制备的。因此，用于口服的药物制剂可以通过将活性化合物与固体赋形剂进行混合来制备，如果需要的话，可以将已经获得的混合物进行制粒，并且如果需要或必需的话，可以在加入适宜的辅助物质后将该混合物或颗粒加工成片剂或包衣片的片芯。

[0073] 该活性化合物的剂量取决于各种因素，如给药方式、温血动物的种类、年龄和 / 或个体情况。

[0074] 本发明的药物组合中活性成分的优选剂量是治疗有效的剂量，尤其是可以通过商业途径获得的这些剂量。

[0075] 在口服给药的情况中，例如对于体重为约 75kg 的患者而言，所估算的适宜的日剂量一般为约 1mg 至约 360mg。

[0076] 缬沙坦是以适宜的剂量单位形式例如胶囊或片剂的形式被供给的，其包含治疗有效量的例如约 20 至约 320mg 可被应用于患者的缬沙坦。活性组分的应用可以高至一天三次，缬沙坦的给药可以从 20mg 或 40mg 的日剂量来开始，然后增加至每天 80mg 并进一步增

加至每天 160mg，最高可高至每天 320mg。优选地，对心衰患者而言，将缬沙坦每天分别以 80mg 或 160mg 的剂量给药一次或两次。例如可以在早晨、中午或晚上服用相应的剂量。优选在心衰中每天给药一次或每天给药两次。

[0077] 在 NEP 抑制剂的情况中，优选的剂量单位形式有，例如，每天给药一次的包含约 20mg 至约 800mg，优选约 50mg 至约 700mg，更有选约 100mg 至约 600mg 并且更优选 100mg 至约 300mg 的片剂或胶囊。

[0078] 在利尿剂的情况中，优选的剂量单位形式是包含约 5mg 至约 50mg，优选约 6.25mg 至约 25mg 利尿剂的片剂或胶囊。日剂量为 6.25g、12.5mg 或 25mg 的氢氯噻嗪优选每天一次地进行给药。

[0079] 上面的剂量包含了本发明活性组分的治疗有效量。

[0080] 用下面的实施例来对本发明进行解释，但是，并不是要用其以任何方式对本发明的范围进行限制。

[0081] 制剂实施例 1：

[0082] 膜包衣片：

[0083]

组分	每一单位的组成(mg)	标准
制粒		
缬沙坦 [= 活性组分]	80.00	
微晶纤维素/Avicel PH 102	54.00	NF, Ph. Eur
交联聚维酮	20.00	NF, Ph. Eur
无水胶态硅石/ 胶态二氧化硅/Aerosil 200	0.75	Ph. Eur/ NF
硬脂酸镁	2.5	NF, Ph. Eur
混合		
无水胶态硅石/ 胶态二氧化硅/Aerosil 200	0.75	Ph. Eur/ NF
硬脂酸镁	2.00	NF, Ph. Eur
包衣		
净化水 *)	-	
DIOLACK 浅红 00F34899	7.00	
总片剂质量	167.00	

[0084] *) 在加工过程中被除去。

[0085] 该膜包衣片是例如如下所述的那样来进行制造的：

[0086] 将缬沙坦、微晶纤维素、交联聚维酮、部分无水胶态硅石/胶态二氧化硅/Aerosile 200、二氧化硅和硬脂酸镁的混合物在一种扩散混合器中进行预混合，然后通过筛分研磨机来对其进行筛分。将所得的混合物在扩散混合器中再进行预混合，用旋转压实工具将其压实，然后用筛分研磨机对其进行筛分。向所得的混合物中加入剩余的无水胶态硅石/胶态二氧化硅/Aerosile 200，在扩散混合器中制备最终的混合物。用旋转压片机将整个混合物进行压片并用使用 Diolack 浅红的膜在多孔锅中对该片剂进行包衣。

[0087] 制剂实施例 2：

[0088] 膜包衣片：

[0089]

组分	每一单位的组成(mg)	标准
制粒		
缬沙坦 [= 活性组分]	160.00	
微晶纤维素/Avicel PH 102	108.00	NF, Ph. Eur
交联聚维酮	40.00	NF, Ph. Eur
胶态无水硅石/ 胶态二氧化硅/Aerosil 200	1.50	Ph. Eur/ NF
硬脂酸镁	5.00	NF, Ph. Eur
混合		
胶态无水硅石/ 胶态二氧化硅/Aerosil 200	1.50	Ph. Eur/ NF
硬脂酸镁	4.00	NF, Ph. Eur
包衣		
Opadry 浅棕 00F33172	10.00	
总片剂质量	330.00	

[0090] 该膜包衣片按照例如与制剂实施例 1 所述相同的方法制备。

[0091] 制剂实施例 3：

[0092] 膜包衣片：

[0093]

组分	每一单位的组成(mg)	标准
片芯：内相		
缬沙坦 [=活性组分]	40.00	
硅石，胶态无水的 (胶态二氧化硅) [=助流剂]	1.00	Ph. Eur, USP/NF
硬脂酸镁 [=润滑剂]	2.00	USP/NF
交联聚维酮 [崩解剂]	20.00	Ph. Eur
微晶纤维素 [=粘合剂]	124.00	USP/NF
外相		
硅石，胶态无水的 (胶态二氧化硅) [=助流剂]	1.00	Ph. Eur, USP/NF
硬脂酸镁 [润滑剂]	2.00	USP/NF
膜包衣		
Opadry®棕 OOF 16711*)	9.40	
净化水**)	-	
总片剂质量	199.44	

[0094] *) Opadry®棕 OOF16711 着色剂的组成如下表所示。

[0095] **) 在加工过程中被除去

[0096] Opadry®组成：

[0097]

成分	组成的近似%
氧化铁，黑色 (C. I. No. 77499，E 172)	0.50
氧化铁，棕色 (C. I. No. 77499，E 172)	0.50
氧化铁，红色 (C. I. No. 77491，E 172)	0.50
氧化铁，黄色 (C. I. No. 77492，E 172)	0.50
Macrogolum(Ph. Eur)	4.00
二氧化钛 (C. I. No. 77891，E 171)	14.00

羟丙甲基纤维素 (Ph.Eur)	80.00

[0098] 薄膜包衣片剂按照例如制剂实施例 1 中的描述制备。

[0099] 制剂实施例 4：

[0100] 胶囊：

[0101]

成分	每一单位的组成 (mg)
缬沙坦［＝活性成分］	80.00
微晶纤维素	25.10
交联聚维酮	13.00
聚维酮	12.50
硬脂酸镁	1.30
十二烷基硫酸钠	0.60
外壳	
氧化铁，红色 (C.I.No.77491，EC No.E 172)	0.123
氧化铁，黄色 (C.I.No.77492，EC No.E 172)	0.123
氧化铁，黑色 (C.I.No.77499，EC No.E 172)	0.245
二氧化钛	1.540
明胶	74.969
总片重	209.50

[0102] 片剂可按照例如以下方法制备：

[0103] 制粒／干燥

[0104] 将缬沙坦和微晶纤维素在流化床制粒机中喷雾制粒，所使用的制粒溶液由溶于净化水的聚维酮和十二烷基硫酸钠组成。将所得颗粒在流化床干燥器机干燥。

[0105] 研磨／混合

[0106] 将干燥的颗粒和交联聚维酮及硬脂酸镁一起研磨。将所得物质在锥形螺杆混合机中混合约 10 分钟。

[0107] 填充胶囊

[0108] 将混合后的散装颗粒在控制的温度和湿度下填充到空的硬明胶胶囊中。将填充后的胶囊除尘、目检、重量检验、检疫，最后由质量评价部门进行评估。

[0109] 制剂实施例 5：

[0110] 胶囊：

[0111]

成分	每一单位的组成 (mg)
缬沙坦［＝活性成分］	160.00
微晶纤维素	50.20
交联聚维酮	26.00
聚维酮	25.00
硬脂酸镁	2.60
十二烷基硫酸钠	1.20
外壳	
氧化铁，红 (C.I.No.77491，EC No.E 172)	0.123
氧化铁，黄 (C.I.No.77492，EC No.E 172)	0.123
氧化铁，黑 (C.I.No.77499，EC No.E 172)	0.245
二氧化钛	1.540
明胶	74.969
总片重	342.00

[0112] 该制剂按照制剂实施例 4 的描述制备。

[0113] 制剂实施例 6：

[0114] 硬明胶胶囊：

[0115]

成分	每一单位的组成 (mg)
缬沙坦［＝活性成分］	80.00
十二烷基硫酸钠	0.60
硬脂酸镁	1.30
聚维酮	12.50
交联聚维酮	13.00

微晶纤维素	21.10
总片重	130.00

[0116] 制剂实施例 7：

[0117] 包含例如 (S)-N-(1- 羧基 -2- 甲基丙 -1- 基)-N- 戊酰基 -N-[2′ -(1H- 四唑 -5- 基) 联苯 -4- 基 - 甲基] 胺作为活性组分的硬明胶胶囊可以例如如下所示的那样来进行制备：

[0118] 组成：

[0119] (1) 缬沙坦 80.0mg

[0120] (2) 微晶纤维素 110.0mg

[0121] (3) 聚维酮 K30 45.2mg

[0122] (4) 十二烷基硫酸钠 1.2mg

[0123] (5) 交联聚维酮 26.0mg

[0124] (6) 硬脂酸镁 2.6mg

[0125] 将组分 (1) 和 (2) 用组分 (3) 和 (4) 在水中的溶液进行制粒。将组分 (5) 和 (6) 加入到该干颗粒中并将该混合物填充到 1 号硬明胶胶囊中。

[0126] 所提及的所有公开物和专利在这里都被全部引入作为参考。