



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109568253 B

(45) 授权公告日 2022.04.26

(21) 申请号 201811478216.3

(22) 申请日 2013.05.17

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 109568253 A

(43) 申请公布日 2019.04.05

(30) 优先权数据
2012902062 2012.05.18 AU

(62) 分案原申请数据
201380038290.2 2013.05.17

(73) 专利权人 罗达制药有限公司
地址 澳大利亚新南威尔士州

(72) 发明人 N·波瓦 S·佩奇 G·皮皮亚

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所
11105

代理人 邹宗亮

(51) Int.Cl.

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 47/10 (2006.01)

A61K 38/05 (2006.01)

A61K 31/55 (2006.01)

A61K 31/501 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61P 9/12 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 102188708 A, 2011.09.21

CN 101522191 A, 2009.09.02

CN 101330905 A, 2008.12.24

AU 2010201490 A1, 2010.11.04

审查员 吴莹

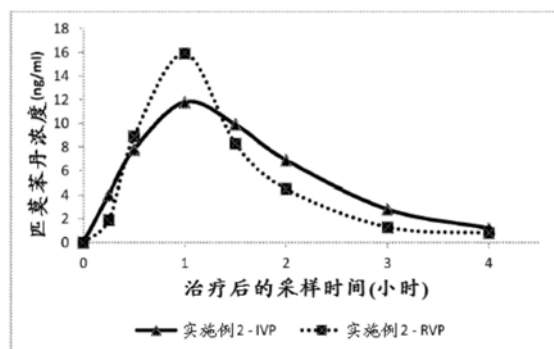
权利要求书3页 说明书28页 附图6页

(54) 发明名称

液体制剂

(57) 摘要

本发明的名称是液体制剂。本发明涉及包含丙二醇和有效量的强心扩血管剂、血管紧张素转化酶抑制剂或强心扩血管剂和血管紧张素转化酶抑制剂的组合的液体制剂以及所述制剂用于治疗心脏疾病和/或高血压的用途。



1. 一种用于口服施用的非水性口服生物可利用的液体制剂,其包含占总制剂46% v/v的丙二醇;和有效量的强心扩血管剂,所述强心扩血管剂为匹莫苯丹或其药学上或兽医学上可接受的盐;或血管紧张素转化酶抑制剂,所述血管紧张素转化酶抑制剂选自:依那普利和贝那普利和其药学上和兽医学上可接受的盐;或所述强心扩血管剂和所述血管紧张素转化酶抑制剂的组合,所述强心扩血管剂为匹莫苯丹或其药学上或兽医学上可接受的盐,和所述血管紧张素转化酶抑制剂选自依那普利和贝那普利和其药学上和兽医学上可接受的盐。

2. 如权利要求1所述的液体制剂,其包含有效量的强心扩血管剂匹莫苯丹和占总制剂46% v/v的丙二醇。

3. 如权利要求1所述的液体制剂,其包含有效量的血管紧张素转化酶抑制剂和占总制剂46% v/v的丙二醇,所述血管紧张素转化酶抑制剂选自依那普利和贝那普利和其药学上和兽医学上可接受的盐。

4. 如权利要求1所述的液体制剂,其包含占总制剂46% v/v的丙二醇和有效量的强心扩血管剂匹莫苯丹和血管紧张素转化酶抑制剂的组合,所述血管紧张素转化酶抑制剂选自依那普利和贝那普利和其药学上和兽医学上可接受的盐。

5. 如权利要求1至4中任一项所述的液体制剂,其进一步包含一种或多种其它活性剂。

6. 如权利要求5所述的制剂,其中所述其它活性剂是利尿剂。

7. 如权利要求6所述的制剂,其中所述利尿剂选自呋塞米、氢氯噻嗪、氯噻酮、布美他尼、利尿酸、托拉塞米、氯噻嗪、螺内酯、氨苯蝶啶、阿米洛利及其药学上或兽医学上的盐或其组合。

8. 如权利要求7所述的制剂,其中所述利尿剂是呋塞米或者其药学上或兽医学上可接受的盐。

9. 如权利要求1至4中任一项所述的制剂,其中所述强心扩血管剂存在的量是所述总制剂的0.1 重量%至50 重量%。

10. 如权利要求5所述的制剂,其中所述其它活性剂存在的量是所述总制剂的0.1 重量%至50 重量%。

11. 如权利要求1至4中任一项所述的制剂,其中所述血管紧张素转化酶抑制剂存在的量是所述总制剂的0.1 重量%至50 重量%。

12. 如权利要求1至4中任一项所述的制剂,其中所述制剂进一步包含一种或多种药学上或兽医学上可接受的赋形剂。

13. 如权利要求12所述的制剂,其中所述药学上或兽医学上可接受的赋形剂选自表面活性剂、粘度调节剂、香味增强剂、防腐剂和溶剂或其组合。

14. 如权利要求13所述的制剂,其中所述表面活性剂选自醋酸甘油酯、二乙二醇酯、二乙二醇醚、乙二醇酯、山萘酸甘油酯、甘油单酯和二酯、甘油单癸酰基癸酸酯、甘油单亚油酸酯、甘油单油酸酯、甘油硬脂酸酯、聚乙二醇鲸蜡硬脂基醚、聚乙二醇/甘油酯、聚乙二醇6甘油癸酰基癸酸酯、聚乙二醇20甘油单硬脂酸酯、聚乙二醇15羟基硬脂酸酯、聚乙二醇月桂酸酯、聚乙二醇月桂醚、聚乙二醇单甲基醚、聚乙二醇油酸酯、聚乙二醇油基醚、聚乙二醇40山梨糖醇七油酸酯、聚乙二醇硬脂酸酯、椰油酸聚乙二醇甘油酯、壬苯醇醚、辛苯昔醇、油烯基油酸酯、棕榈酸、泊洛沙姆、聚乙二醇蓖麻油、聚乙二醇氢化蓖麻油、聚山梨醇酯、聚乙烯醇、

丙二醇辛酸酯、丙二醇二乙酸酯、丙二醇月桂酸酯、丙二醇单棕榈酸硬脂酸酯、皂树皮、失水山梨醇酯、蔗糖酯、三甘油二异硬脂酸酯和泰洛沙泊,或其组合。

15. 如权利要求14所述的制剂,其中所述聚山梨醇酯选自聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯60、聚山梨醇酯40和聚山梨醇酯20。

16. 如权利要求13所述的制剂,其中所述粘度调节剂选自聚乙二醇、聚丙二醇、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷和羟丙基纤维素或其组合。

17. 如权利要求13或16所述的制剂,其中所述粘度调节剂存在的量是所述总制剂的0.05重量%至50重量%。

18. 如权利要求13所述的制剂,其中所述防腐剂选自苯甲酸、苯甲酸钠、丙酸钠、山梨酸、苜醇、溴硝醇、氯丁醇、苯氧乙醇、氯己定盐、羟基苯甲酸酯衍生物、苯基汞盐、硫柳汞、氯甲酚、甲酚、苯酚、苯扎氯铵、西曲溴铵、 α -生育酚、抗坏血酸、抗坏血酸钠、丁基化羟基茴香醚、丁基化羟基甲苯和焦亚硫酸钠,或其组合。

19. 如权利要求13或18所述的制剂,其中所述防腐剂存在的量是所述总制剂的0.001重量%至10重量%。

20. 如权利要求13所述的制剂,其中所述香味增强剂选自乙酰磺胺酸钾、阿力甜、阿斯巴甜、乙酰舒泛、苯甲醛、焦糖、环拉酸、地那铵苯甲酸盐、癸二酸二丁酯、赤藓醇、乙酸乙酯、肉桂酸乙酯、乙基麦芽酚、乙基香兰素、麦芽酚、谷氨酸单钠、新橘皮苷二氢查耳酮、纽甜、树莓、红樱桃、糖精、藏红花、甜菊苷、蔗糖八乙酸酯、索马甜、可可、乙酰柠檬酸三丁酯、香草、香草醛、木糖醇、右旋糖、蔗糖或葡萄糖,或其组合。

21. 如权利要求13或20所述的制剂,其中所述香味增强剂存在的量是所述总制剂的0.1重量%至40重量%。

22. 如权利要求13所述的制剂,其中所述溶剂选自甘油、乙醇、丙烯醇、丁醇、乙酸戊酯、水合戊烯、丁二醇、甘油缩甲醛、己二醇、聚乙二醇、四氢呋喃聚乙二醇醚、吡咯烷酮、丙二醇二乙酸酯、菜籽油、橄榄油、蓖麻油和花生油或其组合。

23. 如权利要求22所述的制剂,其中所述聚乙二醇为PEG300。

24. 如权利要求13或22所述的制剂,其中所述溶剂存在的量是1重量%至99.94重量%。

25. 如权利要求1至4中任一项所述的制剂,其中所述制剂适于口服施用。

26. 如权利要求1至4中任一项所述的制剂,其是兽用或人用药物制剂。

27. 权利要求1-26任一项所述的液体制剂在制备用于在受试者中治疗心脏疾病和/或高血压的药物中的用途。

28. 如权利要求27所述的用途,其中心脏疾病是选自充血性心力衰竭(CHF)、失偿型心内膜炎(DCE)、扩张型心肌病(DCM)和慢性瓣膜性心脏病或其组合的原发性心脏病。

29. 如权利要求28所述的用途,其中所述充血性心力衰竭(CHF)选自急性CHF、慢性CHF和无症状性CHF;所述扩张型心肌病(DCM)为无症状性DCM。

30. 如权利要求27所述的用途,其中心脏疾病是继发性心脏病并且选自麻醉期间心血管功能障碍和肾灌注减弱、休克、胃扩张、肠扭转、心肌缺血和肾缺血或其组合。

31. 如权利要求27至30中任一项所述的用途,其中所述受试者是伴侣动物。

32. 如权利要求31所述的用途,其中所述受试者是犬或猫。

33. 如权利要求27至30中任一项所述的用途,其中所述施用是口服施用。

34. 一种用于制备如权利要求1至26中任一项所述的用于口服施用的非水性口服生物可利用的液体制剂的方法,其中所述方法包括将有效量的占总制剂46% v/v的丙二醇与以下混合:强心扩血管剂,所述强心扩血管剂为匹莫苯丹或其药学上或兽医学上可接受的盐;或血管紧张素转化酶抑制剂,所述血管紧张素转化酶抑制剂选自依那普利和贝那普利和其药学上和兽医学上可接受的盐;或强心扩血管剂和血管紧张素转化酶抑制剂的组合,所述强心扩血管剂为匹莫苯丹或其药学上或兽医学上可接受的盐,所述血管紧张素转化酶抑制剂选自依那普利和贝那普利和其药学上和兽医学上可接受的盐。

液体制剂

[0001] 本申请为国际申请号为PCT/AU2013/000522、国际申请日为2013年5月17日、发明名称为“液体制剂”的PCT申请于2015年01月19日进入中国国家阶段后申请号为201380038290.2的中国国家阶段专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及液体制剂,特别是包含强心扩血管剂,优选匹莫苯丹,和/或血管紧张素转化酶抑制剂,优选依那普利(enalapril)或贝那普利(benazepril),以用于治疗哺乳动物(特别是犬或猫)心脏疾病和/或高血压的液体制剂。

[0003] 背景

[0004] 心脏疾病和/或高血压是在动物特别是伴侣动物和动物园动物中越来越常见的问题。例如,据估计大约10%的家养犬患有心脏疾病。犬中常见的心脏疾病包括原发性或继发性心脏疾病,诸如充血性心力衰竭(CHF)、急性CHF、慢性CHF、失偿型心内膜炎(DCE)、扩张型心肌病(DCM)、无症状性(隐匿性)CHF、无症状性DCM、慢性瓣膜性心脏病。心脏功能障碍可能与休克、胃扩张、肠扭转和心肌缺血有关。在这些疾患中,慢性瓣膜性心脏病(CVHD)(也称为瓣膜粘液瘤性变性)是更常见的之一。

[0005] CVHD在雌性犬中比雄性犬中更常见,虽然约30%的病例涉及右房室瓣或三尖瓣,但是通常侵害左房室瓣或二尖瓣。CVHD在小犬中的发病率高得多,如重量小于20kg的犬,尽管更大的犬也可能受到侵害。CVHD的起因是未知的。

[0006] 美国兽医内科学学会(American College of Veterinary Internal Medicine, ACVIM)在2009年发表了一份关于CVHD的共同声明,为心力衰竭的功能分类提出四个阶段,即:

- [0007] • I类描述患有无症状性心脏病的患者;
- [0008] • II类描述患有只在剧烈运动期间引起临床体征的心脏病的患者;
- [0009] • III类描述患有日常活动或轻微运动就引起临床体征的心脏病的患者;和
- [0010] • IV类描述患有即使在安静时也引起严重临床体征的心脏病的患者。

[0011] ACVIM共识对于CVHD治疗的建议包括施用强心扩血管剂。对于III类CVHD的急性医院治疗和慢性家庭治疗,ACVIM推荐每天两次施用强心扩血管剂匹莫苯丹(pimobendan)。

[0012] 除了用匹莫苯丹治疗之外,ACVIM共识的建议还包括用利尿剂呋塞米治疗慢性III类CVHD。利尿剂对于急性和慢性治疗两者来说都是推荐的。对于CVHD的急性治疗来说,优选呋塞米和匹莫苯丹的组合。

[0013] ACVIM共识的建议包括用诸如依那普利的血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂(ACE-I)进行CVHD的慢性治疗。对于III类CVHD的急性治疗来说,支持ACE-I疗效和安全性的证据比CVHD的慢性治疗明确性要差。此外,ACE-I可用于治疗高血压。

[0014] 针对III类CVHD慢性治疗的优选ACVIM共识是施用匹莫苯丹、呋塞米和ACE-I中的一种或多种。

[0015] 鉴于心脏疾病和/或高血压的重大问题,有必要继续开发可用于此类疾患治疗的

改善的活性剂制剂。

[0016] 概述

[0017] 在第一方面中,提供包含丙二醇和有效量的强心扩血管剂、血管紧张素转化酶抑制剂或强心扩血管剂和血管紧张素转化酶抑制剂的组合的液体制剂。

[0018] 在第二方面中,提供包含有效量的强心扩血管剂和丙二醇的液体制剂。

[0019] 在第三方面中,提供包含有效量的血管紧张素转化酶抑制剂和丙二醇的液体制剂。

[0020] 在第四方面中,提供包含丙二醇和有效量的强心扩血管剂与血管紧张素转化酶抑制剂的组合的液体制剂。

[0021] 所述制剂可以包含一种或多种其它活性剂,诸如利尿剂或钙离子通道阻滞剂。

[0022] 在第五方面中,提供治疗心脏疾病和/或高血压的方法,包括向有需要的受试者施用以上定义的制剂。

[0023] 还提供丙二醇和有效量的强心扩血管剂、血管紧张素转化酶抑制剂或强心扩血管剂与血管紧张素转化酶抑制剂的组合在用于治疗心脏疾病和/或高血压的液体制剂的制造中的用途。

[0024] 还提供用于治疗心脏疾病和/或高血压的以上定义的制剂。

[0025] 还提供用于治疗心脏疾病和/或高血压的以上定义的制剂的用途。

[0026] 心脏疾病包括原发性和继发性心脏病。原发性心脏病可以选自充血性心力衰竭(CHF)、急性CHF、慢性CHF、失偿型心内膜炎(DCE)、扩张型心肌病(DCM)、无症状性(隐匿性)CHF、无症状性DCM和慢性瓣膜性心脏病或其组合。继发性心脏病可以选自麻醉期间心血管功能障碍和肾灌注减弱、休克、胃扩张、肠扭转、心肌缺血和肾缺血或其组合。

[0027] 高血压通常与肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)的激活有关。与高血压有关的病症包括肾上腺皮质功能亢进、甲状腺功能亢进、嗜铬细胞瘤、原发性醛固酮增多症、糖尿病和肾病或其组合。

[0028] 在第六方面中,提供用于制备以上定义的制剂的方法,其包括将有效量的强心扩血管剂和/或血管紧张素转化酶抑制剂与丙二醇混合。

[0029] 在第七方面中,提供包含含有有效量的强心扩血管剂的第一制剂和含有有效量的血管紧张素转化酶抑制剂的第二制剂的试剂盒,其中所述第一和第二制剂是单独存放的并且所述第一和第二制剂中的至少一种包含丙二醇。

[0030] 在第八方面中,提供包含含有有效量的强心扩血管剂或血管紧张素转化酶抑制剂的第一制剂和含有其它活性剂的第二制剂的试剂盒,其中所述第一和第二制剂是单独存放的并且所述第一和第二制剂中的至少一种包含丙二醇。

[0031] 附图简述

[0032] 图1是展示在犬中口服施用研究兽用产品IVP和对照兽用产品RVP之后血浆匹莫苯丹浓度之间的比较的图表。

[0033] 图2是展示类似于图1中的比较的图表,其用另一种IVP与含有匹莫苯丹的商业化兽用产品(CVP)比较,来自单独的体内试验。

[0034] 图3是展示在犬中口服施用包含匹莫苯丹和丙二醇的液体制剂以及包含匹莫苯丹而不含丙二醇的液体制剂之后血浆匹莫苯丹浓度之间的比较的图表。

[0035] 图4是展示在犬中口服施用两种含有匹莫苯丹和ACE-I的组合的研究兽用产品以及含有匹莫苯丹活性成分的商业化兽用产品CVP之后血浆匹莫苯丹浓度之间的比较的图表。

[0036] 图5是展示在犬中口服施用含有匹莫苯丹和依那普利的研究兽用产品 (IVP) 和含有依那普利而不含匹莫苯丹的商业化兽用产品 (CVP) 之后血浆依那普利浓度之间的比较的图表。

[0037] 图6是展示在犬中口服施用图5的IVP和CVP之后血浆依那普利拉浓度之间的比较的图表。

[0038] 图7是展示口服施用图5和6的IVP之后依那普利和依那普利拉的血浆浓度的图表,其表明了前药依那普利在体内转化成活性依那普利拉。

[0039] 图8是展示含有匹莫苯丹和贝那普利的组合的IVP4、含有贝那普利而不含匹莫苯丹的IVP3及含有贝那普利而不含匹莫苯丹的商业化兽用产品 (CVP2) 中的血浆贝那普利浓度的比较的图表。

[0040] 图9是展示如图8所述的IVP4、IVP3和CVP2的血浆贝那普利拉浓度的比较的图表。

[0041] 图10是展示口服施用IVP3之后贝那普利和贝那普利拉血浆浓度的图表,其表明了前药贝那普利在体内转化成活性贝那普利拉。

[0042] 图11是展示口服施用IVP4之后贝那普利和贝那普利拉血浆浓度的图表,其表明了前药贝那普利在体内转化成活性贝那普利拉。

[0043] 详细描述-液体制剂

[0044] 一个方面提供包含丙二醇和有效量的强心扩血管剂、血管紧张素转化酶抑制剂或强心扩血管剂与血管紧张素转化酶抑制剂的组合的液体制剂。

[0045] 所述制剂适于向有需要的受试者(诸如犬或猫)口服或肠胃外施用,并且可以用于心脏疾病和/或高血压的急性或慢性治疗。一般来讲口服施用对于慢性治疗是优选的,而肠胃外施用可能对于急性治疗是优选的。因此,所述液体制剂可以是兽用或人用药物制剂的形式。

[0046] 一个方面提供包含有效量的强心扩血管剂和丙二醇的液体制剂。

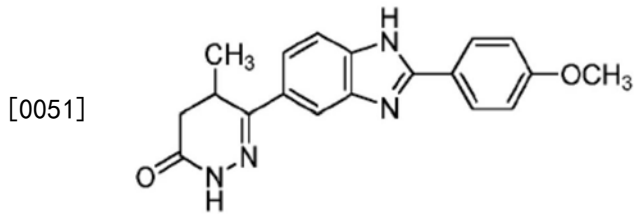
[0047] 强心扩血管剂的一个实例是匹莫苯丹。在本发明之前,匹莫苯丹可作为口服固体制剂或可注射水制剂来使用。这些制剂往往难以施用。这对于慢性疾患(诸如CVHD)的治疗来说问题尤其突出,因为动物在剩余的生命中往往需要施用所述药物治疗。

[0048] 例如,由于受试者不愿意吞咽片剂,向犬或猫施用片剂往往是挑战性的。此外,经由注射(例如静脉、肌内或皮下注射途径)施用药物治疗对于可能没有任何医学训练的动物拥有者来说是困难的,并且可能导致若干可能的并发症。此外,难以给药的受试者很可能变得对治疗感到紧张,并且因此其临床心脏疾病的管理将会达不到最佳。此外,如果动物难以给药,拥有者或护理人员会不愿施用所述治疗并且顺应性会低,这对达不到最佳心脏疾病管理增添了新的麻烦。

[0049] 已经意外地发现,包含强心扩血管剂和丙二醇的液体制剂具有出乎意料的有利性质。在这点上,已经发现包含匹莫苯丹和丙二醇的液体制剂提供了稳定和口服生物可利用的制剂。

[0050] 匹莫苯丹是(RS)-6-[2-(4-甲氧基苯基)-1H-苯并咪唑-5-基]-5-甲基-4,5-二氢

哒嗪-3(2H)-酮并且具有以下结构:



[0052] 匹莫苯丹是高度不溶于水的经取代的苯并咪唑。例如,1g匹莫苯丹溶于10,000mL水中。该溶解度已知是pH依赖性的,在pH 7的溶解度是0.1mg/100mL(或1g/1,000,000ml)。这些溶解度对于制备具有有效量的药物的溶液来说过低。此外,虽然受试者胃的pH通常较低,如对于犬是约pH 1至2,个体受试者胃pH可能相异,如犬胃的pH可能在约pH 1至约pH 8之间变化,这可能受诸如pH测量是否在禁食或饲喂状态的因素的影响。因此,在本发明之前,胃中的匹莫苯丹的溶解度是通过向施用的制剂添加柠檬酸来增加的。因此,为了提供生物可利用形式的匹莫苯丹,制备包含柠檬酸的匹莫苯丹的固体制剂。

[0053] 此外,已经证明向匹莫苯丹水溶液中添加升高浓度的羟丙基-β-环糊精(HPBCD)可以在pH大于5的含水制剂中使匹莫苯丹的溶解度增加到0.5至1.5mg/mL的浓度。然而,在介于3和5之间的pH,添加HPBCD不能有效地增加匹莫苯丹的水溶解度。此类水性制剂可用于匹莫苯丹的静脉内(IV)和/或皮下(SC)施用。

[0054] 因此,在本发明之前,由于匹莫苯丹的较低和pH依赖性水溶解度,人们已经认为诸如柠檬酸或羟丙基-β-环糊精等添加剂对于成功地制备匹莫苯丹的稳定和生物可利用制剂是必要的。

[0055] 如本文中描述的,已经发现可以把匹莫苯丹的液体制剂制备成稳定的并且是可容易和迅速全身吸收或生物可利用的匹莫苯丹,而不需要添加柠檬酸或羟丙基-β-环糊精。

[0056] 当向动物施用药物时,液体制剂比固体制剂有优势。例如,在大多数情况下,更容易以液体形式向动物施用活性剂,例如,通过注射器或其它给药装置迅速向动物口中递送剂型,不需要动物咀嚼或在一些情况下,吞咽。此外,与含有固定剂量的片剂和胶囊相比,可以通过选择施用的液体制剂的适当体积根据受试者的体重容易地调节待施用的匹莫苯丹的量。

[0057] 本发明人意外地发现可以使用丙二醇而不添加柠檬酸或环糊精形成诸如匹莫苯丹的强心扩血管剂的稳定溶液。出乎意料的是,这种液体制剂在与体内pH水平一致的pH范围提供匹莫苯丹在水溶液中的良好溶解度。本发明人还发现此类液体制剂提供口服生物可利用的强心扩血管剂。

[0058] 柠檬酸产生对诸如犬的动物来说使其厌恶的味道。因此,含有柠檬酸的片剂具有使犬厌恶的味道,这常常通过使用增味物质来掩盖,但是效果不令人满意。因此,可以使用丙二醇而不添加柠檬酸制备匹莫苯丹稳定制剂的发现具有为动物(诸如犬或猫)提供更可口的制剂的优势。这大大地改善了对动物施用匹莫苯丹制剂的简易性并且可能还有助于长期维持治疗。

[0059] 包含HPBCD的制剂中的匹莫苯丹在pH介于3和5之间的水中的溶解度是较低的。此类制剂可能不适于口服施用,因为匹莫苯丹在较宽的pH范围中不保持水中溶解度。

[0060] 因此,本发明人的发现即可以使用丙二醇而不添加HPBCD制备的匹莫苯丹的稳定

制剂具有提供口服生物可利用并且可能还适于肠胃外施用的制剂的优势。这可能有助于向受试者施用匹莫苯丹制剂并且可能还有助于心脏疾病(例如,CHF或CVHD)治疗的长期维持。

[0061] 所述液体制剂可以由溶液或乳液组成或包含溶液或乳液。溶液包含一种或多种溶于液体载体中的组分。乳液包含悬浮在另一种液体中的液体,通常是借助于乳化剂。微乳液是肉眼观察澄清的热力学稳定溶液。对于一些微乳液,一种或多种组分可以悬浮在具有太小以至于肉眼不能看到的粒度的液体载体中。

[0062] 所述强心扩血管剂可以是向有需要的受试者施用能够产生正性肌力作用和血管扩张作用的任何化合物。例如,所述强心扩血管剂可以是匹莫苯丹、左西孟旦、氨利酮、依诺昔酮、米力农、奥普力农或维司力农。通常,所述强心扩血管剂可以是匹莫苯丹。如本文中所示,“强心扩血管剂”包括匹莫苯丹、其药学上和/或兽医学上可接受的盐、衍生物、代谢物、立体异构体或前药。

[0063] 上述受试者可以是能够受益于用强心扩血管剂治疗的人或任何动物。所述动物可以是哺乳动物,通常是伴侣动物,诸如犬、马或猫,但是还可以包括其它哺乳动物物种。如本文中所使用的术语动物包括但不限于伴侣动物,诸如犬、猫、豚鼠、仓鼠、马、牛、山羊、绵羊等。通常,受试者是犬、马或猫,最通常是犬或猫。然而,需要此类治疗的动物还可以包括动物园动物,诸如猴、象、长颈鹿及其它有蹄类动物、熊、小鼠及其它小哺乳动物。

[0064] 在所述液体制剂的一个优选实施方案中,强心扩血管剂是匹莫苯丹、其药学上或兽医学上可接受的盐、立体异构体或代谢物。

[0065] 在药学上或兽医学上可接受的盐的情况下,这些包括,例如,无机盐,诸如氯化物、硫酸盐、磷酸盐、二磷酸盐、溴化物和/或硝酸盐。此外,例如,本发明的制剂还可以含有有机盐,诸如苹果酸盐、马来酸盐、富马酸盐、酒石酸盐、琥珀酸盐、乙基琥珀酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐、乳酸盐、甲磺酸盐、苯甲酸盐、抗坏血酸盐、对-甲苯磺酸盐、棕榈酸盐、水杨酸酯、硬脂酸盐、依托酸盐、葡庚糖酸盐或乳糖酸盐。同时,例如,相应的盐可以含有药学上可接受的阳离子,诸如钠、钾、钙、铝、铵。

[0066] 所述强心扩血管剂可以存在的量是总制剂的约0.01重量%至约50重量%、约0.01重量%至约45重量%、约0.01重量%至约40重量%、约0.01重量%至约35重量%、约0.01重量%至约30重量%、约0.01重量%至约25重量%、约0.05重量%至约50重量%、约0.05重量%至约35重量%、约0.05重量%至约25重量%、约0.1重量%至约50重量%、约0.1重量%至约35重量%、约0.1至约25重量%、约1重量%至约50重量%、约1重量%至约35重量%、约1重量%至约25重量%、约0.01重量%至约20重量%、0.1重量%至约50重量%、约1重量%至约20重量%、约5重量%至约20重量%、约5重量%至约50重量%、约3重量%至约25重量%、约3重量%至约50重量%或约0.1重量%至约5重量%。

[0067] 在一些实施方案中,所述强心扩血管剂存在的量小于或等于总制剂的50重量%、49重量%、48重量%、47重量%、46重量%、45重量%、44重量%、43重量%、42重量%、41重量%、40重量%、39重量%、38重量%、37重量%、36重量%、35重量%、34重量%、33重量%、32重量%、31重量%、30重量%、29重量%、28重量%、27重量%、26重量%、25重量%、24重量%、23重量%、22重量%、21重量%、20重量%、19重量%、18重量%、17重量%、16重量%、15重量%、14重量%、13重量%、12重量%、11重量%、10重量%、9重量%、8重量%、7重量%、6重量%、5重量%、4重量%、3重量%、2重量%、1重量%、0.5重量%、0.3重量%、0.1

重量%、0.05重量%或0.01重量%。

[0068] 所述制剂还包含丙二醇。丙二醇的分子式是 $C_3H_6(OH)_2$ 。

[0069] 本发明人意外地发现包含强心扩血管剂和丙二醇的液体制剂在犬中具有与市售匹莫苯丹固体制剂相当和(在一些情况下)更好的生物利用度。值得注意的是,如本文中描述的生物利用度研究所示,不同于固体市售匹莫苯丹制剂,本发明的液体制剂不需要柠檬酸来显示有效的口服生物利用度。本文中描述的生物利用度研究中的液体制剂也不包含环糊精,诸如羟丙基- β -环糊精。

[0070] 本发明人还发现包含匹莫苯丹和丙二醇的液体制剂在犬中口服施用之后比包含匹莫苯丹而不存在丙二醇的液体制剂更有效地提供生物可利用的匹莫苯丹,参见例如实施例3和图3。

[0071] 所述丙二醇可以存在的量是总制剂的约0.05重量%至约99.99重量%、约0.05重量%至约99.9重量%、约0.05至约99重量%、约0.05重量%至约97重量%、约0.05重量%至约55重量%、约0.05重量%至约50重量%、约0.05重量%至约65重量%、约5重量%至约99.99重量%、约10重量%至约99.99重量%、约20重量%至约99.99重量%、约5重量%至约60重量%、约5重量%至约50重量%、约10重量%至约50重量%或至少20重量%。例如,所述丙二醇可以存在的量是总制剂的至少65重量%、60重量%、65重量%、50重量%、49重量%、48重量%、47重量%、46重量%、45重量%、44重量%、43重量%、42重量%、41重量%、40重量%、39重量%、38重量%、37重量%、36重量%、35重量%、34重量%、33重量%、32重量%、31重量%、30重量%、29重量%、28重量%、27重量%、26重量%、25重量%、24重量%、23重量%、22重量%、21重量%重量%、20重量%重量%、19重量%、18重量%、17重量%、16重量%、15重量%、14重量%、13重量%、12重量%、11重量%、10重量%、9重量%、8重量%、7重量%、6重量%、5重量%、4重量%、3重量%、2重量%、1重量%、0.75重量%、0.5重量%、0.2重量%、0.1重量%或0.05重量%。本文中提到的任何量的丙二醇可以与本文中提到的任何量的强心扩血管剂(诸如匹莫苯丹)一起使用,前提是使用足够的丙二醇来溶解已选量的强心扩血管剂。

[0072] 特别是对于急性CHF的治疗(例如匹莫苯丹治疗)来说,但是也对于如本文中描述的任何其它治疗用途而言,一般的治疗有效目标剂量是每天约0.05至1.0mg匹莫苯丹/kg动物体重,通常是每天约0.1至0.5mg匹莫苯丹/kg动物体重,甚至更通常是每天约0.5mg匹莫苯丹/kg动物体重。日剂量通常是分份的并且作为两个相等的剂量给予,并且在严重的情况下是以大约等隔的时间间隔的三个剂量给予的。根据施用的安全性以及甚至是施用体积,匹莫苯丹在药品中的目标浓度应该适当地设定为5.0mg/ml。例如,重量为10kg的犬会将准确地得到含有2.5mg匹莫苯丹的0.5ml的剂量。本领域技术人员将能够根据动物的重量和品种以及其它需要考虑的事项(如预先存在的疾患、动物的饮食、特定的疾病状态和症状等)容易地调节液体制剂的量。此外,本领域技术人员将能够根据动物的疾病状态和严重程度按照剂量建议和实践容易地确定需要的其它强心扩血管剂的剂量。

[0073] 对于犬中的III类CVHD的慢性治疗的ACVIM共识建议包括用匹莫苯丹与ACE-I(如依那普利)或其它合适的ACE-I(诸如贝那普利)组合治疗。

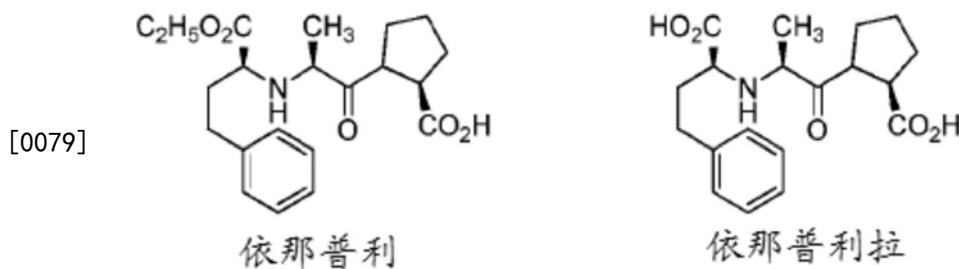
[0074] 本发明人已发现包含ACE-I和丙二醇的制剂在施用之后在动物(特别是犬)中提供口服生物可利用的量的ACE-I。

[0075] 因此,一方面提供包含有效量的血管紧张素转化酶抑制剂和丙二醇的液体制剂。

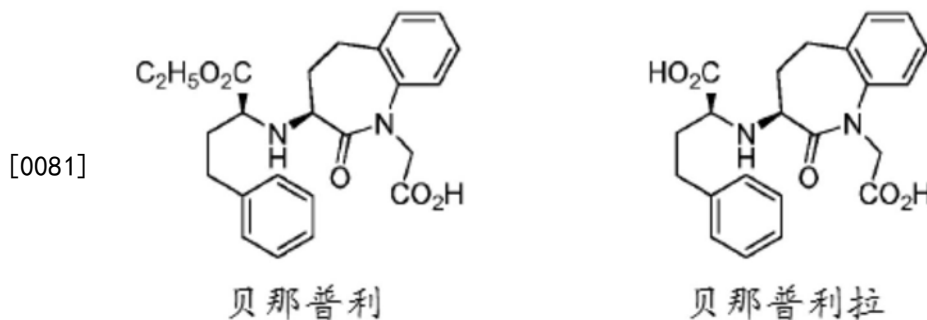
[0076] 肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (RAAS) 是复杂的并且在激活时导致血压升高。血管紧张素II是引起血管收缩的RAAS中涉及的有效的血压调节剂。因此降低血管紧张素II水平有助于通过使RAAS的这个方面去激活来降低血压。血管紧张素转化酶 (ACE) 催化血管紧张素I转化成血管紧张素II。因此,抑制ACE已经显示出是降低人和类似的动物中的血压的有效抗高血压药。此外,因为RAAS激活是引起动物 (诸如犬和猫) 高血压的主要原因之一,当动物表现出患有高血压时推荐用ACE-I作为初始治疗。

[0077] 此外,降低血压往往在心脏疾患 (诸如CHF和CVHD) 的治疗中是有用的。

[0078] 依那普利是ACE抑制剂依那普利拉的口服活性前药。依那普利和依那普利拉各自具有以下结构:



[0080] 贝那普利是ACE的另一种抑制剂贝那普利拉的口服活性前药。贝那普利和贝那普利拉各自具有以下结构:



[0082] 应理解的是,如本文中所使用,对血管紧张素转化酶抑制剂 (ACE-I) 的引用是对ACE-I的前药或ACE-I的活性形式的引用,即它包括依那普利和依那普利拉、贝那普利和贝那普利拉、其药学上和兽医学上可接受的盐或其组合。其它合适的ACE-I包括阿拉普利、西拉普利、地拉普利、福辛普利、咪达普利、莫西普利、螺普利、替莫普利、群多普利 (trandolapril)、佐芬普利 (zofenopril)、卡托普利 (captopril)、雷米普利 (ramipril)、喹那普利 (quinapril)、培哚普利 (perindopril)、赖诺普利 (lisinopril) 及其药学上和兽医学上可接受的盐及其前药或对应的活性形式,或其组合。

[0083] 所述血管紧张素转化酶可以存在的量是总制剂的约0.01重量%至约50重量%、约0.01重量%至约45重量%、约0.01重量%至约40重量%、约0.01重量%至约35重量%、约0.01重量%至约30重量%、约0.01重量%至约25重量%、约0.05重量%至约50重量%、约0.05重量%至约35重量%、约0.05重量%至约25重量%、约0.1重量%至约50重量%、约0.1重量%至约35重量%、约0.1至约25重量%、约1重量%至约50重量%、约1重量%至约35重量%、约1重量%至约25重量%、约0.01重量%至约20重量%、0.1重量%至约50重量%、约1重量%至约20重量%、约5重量%至约20重量%、约5重量%至约50重量%、约3重量%至约

25重量%、约3重量%至约50重量%或约0.1重量%至约5重量%。

[0084] 在一些实施方案中,所述血管紧张素转化酶抑制剂存在的量小于或等于总制剂的50重量%、49重量%、48重量%、47重量%、46重量%、45重量%、44重量%、43重量%、42重量%、41重量%、40重量%、39重量%、38重量%、37重量%、36重量%、35重量%、34重量%、33重量%、32重量%、31重量%、30重量%、29重量%、28重量%、27重量%、26重量%、25重量%、24重量%、23重量%、22重量%、21重量%、20重量%、19重量%、18重量%、17重量%、16重量%、15重量%、14重量%、13重量%、12重量%、11重量%、10重量%、9重量%、8重量%、7重量%、6重量%、5重量%、4重量%、3重量%、2重量%、1重量%、0.5重量%、0.3重量%、0.1重量%、0.05重量%或0.01重量%。

[0085] 丙二醇存在的量可以类似于上述的量。如上所述的任何量的丙二醇可以与上述任何量的ACE-I一起使用,前提是有足够的丙二醇用于溶解已选量的ACE-I。

[0086] 特别是对于III类CVHD的慢性治疗来说,但是也对于如本文所描述的任何其它治疗用途而言,ACE-I的一般的治疗有效目标剂量,是每天约0.05至1.0mg ACE-I/kg动物体重,通常是每天约0.1至0.5mg ACE-I/kg动物体重,甚至更通常是每天约0.5mg ACE-I/kg动物体重。日剂量通常是水摄入之后作为单个剂量给予的,然而在严重的情况下,可以在一天期间以大约等隔的时间间隔的两个或三个剂量施用。根据选择的ACE-I,按照施用的安全性以及甚至是体积,ACE-I在药品中的目标浓度应该适当地设定为5.0至10mg/ml。例如,重量为10kg的犬将会准确地得到0.5ml含有2.5mg或5.0mg ACE-I的剂量。本领域技术人员将能够根据动物的重量和品种以及其它需要考虑的事项(如预先存在的疾患、动物的饮食、特定的疾病状态和症状等)容易地调节液体制剂的量。此外,本领域技术人员将能够根据动物的疾病状态和严重程度按照剂量建议和实践容易地确定施用有效量的特定ACE-I所需要的剂量。

[0087] 例如,对于犬III类CVHD慢性治疗来说,依那普利的推荐剂量是约0.5mg/kg,PO q12h。依那普利的推荐剂量范围是0.25至0.5mg/kg,PO q12h或q24h。类似地,贝那普利的推荐剂量范围是0.25至0.5mg/kg,PO q12h或q24h。

[0088] 应理解的是类似于本文中描述的强心扩血管剂液体制剂,经由递送液体制剂向非人动物(诸如犬或猫)施用ACE-I往往比其它施用形式(例如,经由片剂)更容易。此外,在本发明之前没有ACE-I的市售非水性口服有效的即用型液体制剂。对于动物(诸如犬或猫)的慢性疾患的维持来说,即用型口服有效液体制剂是合乎需要的。

[0089] 如本文所描述,本发明人发现包含强心扩血管剂、ACE-I和丙二醇的制剂提供在公开的治疗范围之内的活性强心扩血管剂和ACE-I的血浆水平。

[0090] 因此,一方面提供包含丙二醇和有效量的强心扩血管剂与血管紧张素转化酶抑制剂的组合的液体制剂。

[0091] 由于以上描述的相对于其它制剂类型与液体制剂向动物施用活性剂的简便相关的原因,提供包含强心扩血管剂与血管紧张素转化酶抑制剂的组合的即用型液体制剂是有益的。此外,因为强心扩血管剂和血管紧张素转化酶抑制剂往往是在心脏疾病治疗中作为组合施用的,所以这种制剂可有助于治疗的顺应性以及维持。

[0092] 所述组合制剂包含类似于上述那些量的量的丙二醇、强心扩血管剂和血管紧张素转化酶抑制剂。因此,本领域技术人员将能够根据选择的特定药剂的推荐剂量容易地确定

所述组合制剂中包含的强心扩血管剂和血管紧张素转化酶抑制剂的量。此外,根据每种活性剂的浓度会容易地理解待施用的组合制剂的量,并且可以根据诸如动物重量、疾病状态和严重程度等上述因素进行调节。

[0093] 本文中描述的制剂可另外包含一种或多种药学上或兽医学上可接受的赋形剂。所述赋形剂可以是用于液体剂型的任何药学上或兽医学上可接受的赋形剂。可以存在于所述制剂中的赋形剂包括表面活性剂、增稠剂、香味增强剂、防腐剂、溶剂或其组合。

[0094] 例如,所述制剂可以包含表面活性剂。表面活性剂是在相同分子内同时含有亲水区和疏水区的化合物,使它们能够降低水相和非水相之间的表面张力,从而可实现混合。表面活性剂可以是阴离子表面活性剂、阳离子表面活性剂、两性表面活性剂或非离子表面活性剂,或者可以使用此类表面活性剂的组合。阴离子表面活性剂包括单硬脂酸铝、硬脂酰乳酸钙、十八十六烷基硫酸钠、椰油酰基依西酸钠(sodium cocoyl isetionate)、椰油酰基肌氨酸钠、十二烷基硫酸钠、月桂酰基依西酸钠或椰油酰基依西酸钠、月桂酰基肌氨酸钠、油酸钠、硬脂酸钠、硬脂酰乳酸钠和硫酸化蓖麻油。阳离子表面活性剂包括通佐溴铵。两性表面活性剂包括氨基酸、丙氨酸衍生物、咪唑啉衍生物和多地辛。非离子表面活性剂包括醋酸甘油酯、二乙二醇酯、二乙二醇醚、乙二醇酯、山嵛酸甘油酯、甘油单酯和二酯、甘油单癸酰基癸酸酯、甘油单亚油酸酯、甘油单油酸酯、甘油硬脂酸酯、聚乙二醇鲸蜡硬脂基醚、聚乙二醇/甘油酯、聚乙二醇6甘油癸酰基癸酸酯、聚乙二醇20甘油单硬脂酸酯、聚乙二醇15羟基硬脂酸酯、聚乙二醇月桂酸酯、聚乙二醇月桂醚、聚乙二醇单甲基醚、聚乙二醇油酸酯、聚乙二醇油基醚、聚乙二醇40山梨糖醇七油酸酯、聚乙二醇硬脂酸酯、椰油酸聚乙二醇甘油酯、壬苯醇醚(nonoxinol)、辛苯昔醇(octoxinol)、油烯基油酸酯、棕榈酸、泊洛沙姆、聚乙二醇蓖麻油、聚乙二醇氢化蓖麻油、聚山梨醇酯(如聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯60、聚山梨醇酯40、聚山梨醇酯20等)、聚乙烯醇、丙二醇辛酸酯、丙二醇二乙酸酯、丙二醇月桂酸酯、丙二醇单棕榈酸硬脂酸酯、皂树皮、失水山梨醇酯、蔗糖酯、三甘油二异硬脂酸酯和泰洛沙泊。

[0095] 所述表面活性剂可以存在的量是总制剂的约1重量%至约99重量%、约1重量%至约90重量%、约1重量%至约80重量%、约1重量%至约60重量%、约1重量%至约40重量%、约1重量%至约30重量%、约1重量%至约25重量%、约5重量%至约99重量%、约5重量%至约90重量%、约5重量%至约80重量%、约5重量%至约60重量%、约5重量%至约40重量%、约5重量%至约30重量%、约5重量%至约25重量%、约20重量%至约99重量%、约20重量%至约90重量%、约20重量%至约80重量%、约20重量%至约60重量%或约20重量%至约40重量%。

[0096] 例如,所述制剂可以包含粘度调节剂。粘度调节剂可以是将液体制剂的粘度调整到合适的使用稠度的任何药学上或兽医学上可接受的物质。因此,粘度调节剂可以是增稠剂或稀释剂。粘度调节剂可以是,例如,阿拉伯胶、琼脂、海藻酸、硅酸铝镁、单硬脂酸铝、膨润土、卡波姆、羧甲基纤维素、卡拉胶、纤维素、角豆胶、十八十六醇、鲸蜡醇、乙基纤维素、结冷胶、guaraprollose、羟乙纤维素、羟乙甲纤维素、羟丙纤维素、羟丙甲纤维素、甲基纤维素、聚环氧乙烷、聚乙酸乙烯酯、聚乙烯醇、聚维酮、二氧化硅、硬脂醇和黄芪胶,或其组合。通常,所述粘度调节剂可以是聚乙二醇(诸如PEG300)、聚丙二醇、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷或羟丙基纤维素,或其组合。

[0097] 所述粘度调节剂可以存在的量是总制剂的约0.05重量%至约50重量%、约0.05重

量%至约30重量%、约0.05重量%至约10重量%、约0.1重量%至约50重量%、约0.1重量%至约30重量%、约0.1重量%至约10重量%、约1重量%至约50重量%、约1重量%至约30重量%或约1重量%至约10重量%。

[0098] 本发明的制剂此外可以包含香味增强剂。所述香味增强剂可以是增强用于有需要的受试者的制剂的味道的任何物质或混合物。所述香味增强剂可以是甜味剂。因此,所述香味增强剂可以包含糖替代物或另一种味道,诸如鸡肉味或牛肉味。例如,所述香味增强剂可以是乙酰磺胺酸钾、阿力甜、阿斯巴甜、乙酰磺胺阿斯巴甜、苯甲醛、焦糖、环拉酸、癸二酸二丁酯、赤藓醇、乙酸乙酯、肉桂酸乙酯、乙基麦芽酚、乙基香兰素、麦芽酚、谷氨酸单钠、新橘皮苷二氢查耳酮、纽甜、树莓、红樱桃、糖精、藏红花、甜菊苷、蔗糖八乙酸酯、索马甜、可可(theobroma)、乙酰柠檬酸三丁酯、香草、香草醛、木糖醇、右旋糖、蔗糖或葡萄糖,或其组合。通常,所述香味增强剂可以选自乙酰磺胺酸钾和甜菊苷或其组合。

[0099] 所述香味增强剂可以存在的量是总制剂的约0.1重量%至约40重量%、0.1至约20重量%、约5重量%至约40重量%或约5重量%至约20重量%。

[0100] 本发明的制剂还可以包含防腐剂。所述防腐剂可以是抗氧化剂、抗微生物剂、游离-自由基清除剂或延长制剂贮存期限的任何其它试剂。例如,所述防腐剂可以是苯甲酸、苯甲酸钠、丙酸钠、山梨酸、苄醇、溴硝醇(bronopol)、氯丁醇、苯氧乙醇、邻-苯氧乙醇、氯己定盐、羟基苯甲酸盐衍生物、苯基汞盐、硫柳汞、氯甲酚、甲酚、苯酚、苯扎氯铵、西曲溴铵、 α -生育酚、抗坏血酸、抗坏血酸钠、丁基化羟基茴香醚、丁基化羟基甲苯或焦亚硫酸钠或其组合。通常,所述防腐剂可以是苄醇、苯氧乙醇、邻-苯基乙醇或苯酚,或其组合。更通常地,所述防腐剂可以是苄醇。

[0101] 所述防腐剂可以在制剂中存在的量是总制剂的约0.001重量%至10重量%、约0.001至约1重量%、约0.01至约10重量%或约0.01重量%至约1重量%。

[0102] 本发明的制剂还可以包含除了丙二醇之外的溶剂。例如,所述溶剂可以是甘油、乙醇、丙醇、丁醇、乙酸戊酯、水合戊烯、丁二醇、甘油缩甲醛、己二醇、聚乙二醇(如PEG300)、四氢呋喃聚乙二醇醚、吡咯烷酮、丙二醇二乙酸酯或植物油(诸如菜籽油、橄榄油、蓖麻油、花生油等),或其组合。通常,所述溶剂可以是甘油或PEG300。

[0103] 所述溶剂可以在制剂中存在的量是总制剂的约1重量%至约99.94重量%、约1重量%至约90重量%、约1重量%至约75重量%、约1重量%至约70重量%、约1重量%至约65重量%、约1重量%至约60重量%、约1%至约50重量%、约7重量%至约99.94重量%、约7重量%至约90重量%、约7重量%至约75重量%、约7重量%至约70重量%、约7重量%至约65重量%、约7重量%至约60重量%、约7%至约50重量%、约15重量%至约99.94重量%、约15重量%至约90重量%、约15重量%至约75重量%、约15重量%至约70重量%、约15重量%至约65重量%、约15重量%至约60重量%或约15%至约50重量%。

[0104] 本领域技术人员将会理解,如香味增强剂(诸如桔子味、柠檬味或酸橙味)的赋形剂可以含有少量柠檬酸。当把这种赋形剂掺入本文描述的液体制剂中时,柠檬酸的量小于经口施用之后对动物提供生物可利用量的强心扩血管剂(诸如匹莫苯丹)所需要的量。这些制剂将含有匹莫苯丹与柠檬酸的比例小于1:10的柠檬酸。

[0105] 因此,另一方面提供包含强心扩血管剂(诸如匹莫苯丹)并且排除酸性溶解度增强剂(诸如柠檬酸)的口服有效液体制剂。在一个实施方案中,根据这个方面的制剂含量小

于总制剂约5重量%、4重量%、3重量%、2重量%、1重量%、0.5重量%、0.05重量%或0.01重量%的柠檬酸,通常不含有柠檬酸。

[0106] 除了赋形剂之外,本发明的制剂还可以包含一种或多种其它活性剂。如本文所使用,“活性剂”涉及施用之后在受试者中提供治疗效果的化合物,换句话说,活性剂是药用或兽用物质。可以与强心扩血管剂(诸如匹莫苯丹)和/或ACE抑制剂(诸如,例如,依那普利或贝那普利)一起施用用于治疗心脏疾病(诸如CFH、CVHD或其它上述心脏疾患)的其它活性剂在本领域是已知的,并且包括利尿剂,诸如,例如呋塞米、螺内酯、氯噻酮或氢氯噻嗪,或其组合。可以与ACE抑制剂一起施用用于治疗高血压的其它活性剂包括钙离子通道阻滞剂,诸如,例如,氨氯地平。

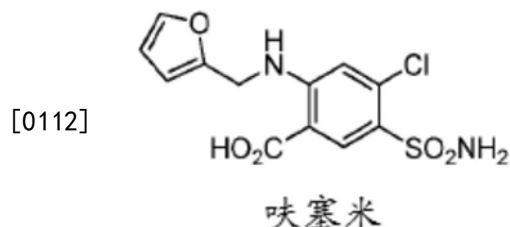
[0107] 所述其它活性剂可以存在的量是总制剂的约0.01重量%至约50重量%、约0.01重量%至约45重量%、约0.01重量%至约40重量%、约0.01重量%至约35重量%、约0.01重量%至约30重量%、约0.01重量%至约25重量%、约0.05重量%至约50重量%、约0.05重量%至约35重量%、约0.05重量%至约25重量%、约0.1重量%至约50重量%、约0.1重量%至约35重量%、约0.1至约25重量%、约1重量%至约50重量%、约1重量%至约35重量%、约1重量%至约25重量%、约0.01重量%至约20重量%、0.1重量%至约50重量%、约1重量%至约20重量%、约5重量%至约20重量%、约5重量%至约50重量%、约3重量%至约25重量%、约3重量%至约50重量%或约0.1重量%至约5重量%。

[0108] 在一些实施方案中,所述其它活性剂存在的量小于或等于总制剂的50重量%、49重量%、48重量%、47重量%、46重量%、45重量%、44重量%、43重量%、42重量%、41重量%、40重量%、39重量%、38重量%、37重量%、36重量%、35重量%、34重量%、33重量%、32重量%、31重量%、30重量%、29重量%、28重量%、27重量%、26重量%、25重量%、24重量%、23重量%、22重量%、21重量%、20重量%、19重量%、18重量%、17重量%、16重量%、15重量%、14重量%、13重量%、12重量%、11重量%、10重量%、9重量%、8重量%、7重量%、6重量%、5重量%、4重量%、3重量%、2重量%、1重量%、0.5重量%、0.3重量%、0.1重量%、0.05重量%或0.01重量%。

[0109] 应理解的是,任何上述量的其它活性剂都可以与以上定义的任何量的强心扩血管剂和/或ACE-I一起使用。强心扩血管剂、ACE-I和其它活性剂的相对量可以根据各自的相对推荐剂量来选择。

[0110] 在一个实施方案中,所述液体制剂可以包含利尿剂,诸如呋塞米、螺内酯、氯噻酮或氢氯噻嗪或其兽医学上或药理学上可接受的盐。

[0111] 呋塞米(有时称为速尿(frusemide))是下式的利尿剂:



[0113] 呋塞米是袢利尿剂并且它在高血压和水肿治疗中的用途已经描述过了。推荐呋塞米用于犬III类CVHD的急性或慢性治疗。所述共识推荐用于急性III类CVHD的呋塞米剂量应该符合临床体征的严重程度以及对首次给药(例如,约1至约4mg/kg的剂量)的反应。对于慢

性治疗,推荐更高的剂量,例如大于或等于6mg/kg q12h,或与维持动物患者舒适性所需要的剂量差不多。

[0114] 应理解的是,对“利尿剂”的引用包括对其药理学或兽医学上可接受的盐或其前药的引用。合适的利尿剂包括呋塞米、氢氯噻嗪、布美他尼、利尿酸、托拉塞米、氯噻嗪、氯噻酮、螺内酯、氨苯蝶啶、阿米洛利、其药理学或兽医学上可接受的盐或其组合。

[0115] 当本发明的液体制剂含有呋塞米或另一种利尿剂时,本领域技术人员将能够根据动物的重量和品种以及其它需要考虑的事项(如预先存在的疾患、动物的饮食、特定的疾病状态和症状等)容易地调节液体制剂的剂量。此外,本领域技术人员将能够根据动物的疾病状态和严重程度按照剂量建议和实践容易地确定要施用的特定利尿剂(如呋塞米)所需要的剂量。

[0116] 另一方面提供包含活性剂和丙二醇的液体制剂,其中所述活性剂选自强心扩血管剂、ACE-I、利尿剂及其组合。

[0117] 在一个实施方案中,根据这个方面的液体制剂包含选自匹莫苯丹、依那普利、贝那普利、呋塞米、氢氯噻嗪及其兽医学上和药理学上可接受的盐的活性剂。

[0118] 在一些实施方案中,本发明的制剂适于口服施用。通过口服施用意味着在通过口腔向有需要的受试者施用制剂之后所述活性剂是生物可利用的。对于包含强心扩血管剂的本发明制剂,口服施用一定量的制剂之后有效量的强心扩血管剂是生物可利用的并且在动物患者血浆中以治疗浓度存在。对于包含ACE-I的本发明制剂,口服施用之后有效量的ACE-I的活性形式是生物可利用的并且在动物患者血浆中以治疗浓度存在。当通过口腔施用时,包括通过口腔或颊粘膜、胃肠道或药物吸收可利用的任何其它途径的吸收。

[0119] 优选地,当添加到整个范围pH(如约1至约9)的水中时,本发明的液体制剂形成透明溶液。例如,当添加到pH约1至约2、约6至约8或约8至约9的水中时,所述液体制剂形成澄清溶液。这些溶液模拟各种生物环境的pH状态,例如,pH 8至9意在模拟口腔的pH,约pH 6至8的中性pH模拟小肠,并且约1至2的pH模拟胃。当液体制剂与调节至这些pH范围的每一个的水形成透明溶液时,其表示匹莫苯丹会保留在溶液中并且它在向有需要的受试者经口施用之后是生物可利用的。

[0120] 在一些实施方案中,所述制剂可以是无菌可注射水溶液或油溶液、乳液或混悬液的形式。这种混悬液可以根据已知的技术使用那些合适的分散剂或润湿剂和助悬剂来配制。所述无菌可注射制剂也可以是在无毒肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或混悬液,例如与N-甲基吡咯烷酮、与额外的丙二醇混合,或可在没有任何另外添加剂的情况下就是合适的。在可接受的媒介物和溶剂当中,可以使用的是水、林格氏溶液(Ringer's solution)和等渗氯化钠溶液。此外,无菌、不挥发性油通常用作溶剂或混悬介质。为了这个目的,可以使用任何温和的不挥发性油,包括合成单甘油酯或二甘油酯。此外,脂肪酸诸如油酸在可注射制剂的制备中获得应用。可注射制剂可以通过团注、静脉内(IV)、肌内(IM)和/或皮下(SC)途径施用。

[0121] 因此,一般所述液体制剂可以单独施用或以溶液、乳液或混悬液的形式施用。因此,可以直接施用液体制剂或可替代地可以用合适的载体或稀释剂进行稀释。例如,所述载体或稀释剂可为水、甘油、苯甲酸烷基酯、蜂蜡、硫酸钙、小烛树蜡、纤维素、十八十六醇、鲸蜡醇、十六烷基酯、胆固醇、椰子油、棉籽油、肌酸酐、葡萄糖结合剂、二甲亚砜、乳化蜡、赤藓

醇、油酸乙酯、甘油硬脂酸酯、硬脂、固体石蜡、肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、聚乙二醇单甲基醚、液体石蜡、微晶蜡、肉豆蔻醇、油酸、油醇、棕榈油、聚葡萄糖、牛油树脂、硅酮、软石蜡、角鲨烷、硬脂醇、可可、羊毛脂醇、羊毛脂和植物脂肪油,或其组合。

[0122] 溶液和混悬液通常是水性的,例如由水(例如无菌或无热原的水)单独制备或水与生理学上可接受的共溶剂(例如乙醇或聚乙二醇(诸如PEG 400))制备。

[0123] 此类溶液或混悬液此外可以含有其它赋形剂,例如防腐剂(诸如苯扎氯铵)、增溶剂/表面活性剂(诸如聚山梨醇酯(例如吐温80、司盘80、苯扎氯铵))、缓冲剂、等渗调节剂(例如氯化钠)、吸收增强剂和粘度增强剂。混悬液此外可以含有助悬剂(例如微晶纤维素和羧甲基纤维素钠)。

[0124] 当需要时,可以使用适合缓释活性化合物的制剂。

[0125] 本发明的制剂也可以经直肠施用。如上所述,在这些实施方案中,所述制剂被施加于受试者的直肠,并且可以是溶液或混悬液的形式。

[0126] 所述液体制剂可以提供为以兽用组合物的形式使用,这些组合物可以通过,例如,本领域惯用的方法来制备。此类兽用组合物的实例包括了那些适合于:

[0127] (a) 口服施用、外部涂覆,例如喷淋(如水溶液或非水溶液或混悬液);液体填充胶囊或丸剂;粉剂、包含颗粒或小丸的片剂(所述颗粒或小丸包含本文描述的液体制剂),并且可以,例如,与饲料的混合使用;用于在颊腔内或舌头上涂覆的膏剂;

[0128] (b) 肠胃外施用,例如通过皮下、肌内或静脉内注射,如作为无菌溶液或混悬液;

[0129] (c) 局部施加;或

[0130] (d) 经直肠或阴道内施用。

[0131] 为了容易地促进组合治疗,以上定义的制剂可以作为包含活性剂组合的试剂盒的一部分提供。

[0132] 因此,一方面提供包含含有有效量的强心扩血管剂的第一制剂和含有有效量的血管紧张素转化酶抑制剂的第二制剂的试剂盒,其中所述第一和第二制剂是单独存放的并且所述第一和第二制剂中的至少一种包含丙二醇。

[0133] 另一方面提供了包含含有有效量的强心扩血管剂或血管紧张素转化酶抑制剂的第一制剂和含有其它活性剂的第二制剂的试剂盒,其中所述第一和第二制剂是单独存放的并且所述第一和第二制剂中的至少一种包含丙二醇。

[0134] 以上定义的试剂盒的强心扩血管剂和/或血管紧张素转化酶抑制剂可以是本文描述的任何合适的强心扩血管剂或血管紧张素转化酶抑制剂。在一个实施方案中,所述强心扩血管剂是匹莫苯丹或者其药学上或兽医学上可接受的盐。在另一个实施方案中,所述血管紧张素转化酶抑制剂选自依那普利、贝那普利、其药学上或兽医学上可接受的盐或其组合。

[0135] 所述第一和第二制剂各自可以在容器中单独存放。所述容器可适于储存和分配所述制剂。适于储存的容器包括,例如,泡罩包装、小瓶、安瓿等。当使用这种容器时,所述试剂盒另外可以包括分配器,诸如注射器或带有容量标记的贮器。适于储存和分配液体制剂的容器包括,例如,注射器、带有容量标记的贮器、浸泡在液体制剂中的海绵等。

[0136] 在一些实施方案中,所述试剂盒适合于单独施用、顺序施用或同时施用所述第一和第二制剂。单独、顺序或同时施用包括经由不同途径施用,如所述第一制剂可以口服施

用,而所述第二制剂可以肠胃外施用。此外,单独和顺序施用包括通过相同或不同途径在不同的时间点施用第一和第二制剂,如相隔多达6小时,通常彼此在约2小时之内。

[0137] 在一些实施方案中,第一和第二制剂都包含丙二醇。在这些实施方案中,可以在施用第一和第二制剂之前将它们混合。

[0138] 在一个实施方案中,所述试剂盒包含含有有效量的其它活性剂的其它制剂。通常,这种制剂是液体制剂。

[0139] 所述其它活性剂可以是利尿剂,诸如任何上述合适的利尿剂,包括呋塞米、氯噻酮、氢氯噻嗪及其药学上或兽医学上可接受的盐,或其组合,或可以包括如上所述的钙离子通道阻滞剂。此外,如果所述试剂盒已经包含利尿剂,那么所述其它活性剂可以是强心扩血管剂、血管紧张素转化酶抑制剂或钙离子通道阻滞剂的任一种,以使所述试剂盒包含强心扩血管剂、血管紧张素转化酶抑制剂和利尿剂的组合。

[0140] 在另一个实施方案中,所述试剂盒包括使用说明书。

[0141] 方法

[0142] 所述液体制剂可以通过混合(加热或不加热)有效量的强心扩血管剂和/或血管紧张素转化酶抑制剂与丙二醇并且随后逐步添加任何需要的赋形剂或如果需要添加上述的其它活性剂来制备。

[0143] 因此,本发明的另一方面提供用于制备包含有效量的强心扩血管剂、血管紧张素转化酶抑制剂或强心扩血管剂和血管紧张素转化酶抑制剂与丙二醇的组的液体制剂的方法,其包括将有效量的强心扩血管剂或血管紧张素转化酶抑制剂与丙二醇混合。

[0144] 在一个实施方案中,所述方法进一步包括顺序添加一种或多种以下赋形剂:表面活性剂、粘度调节剂、香味增强剂、防腐剂和溶剂或其组合。

[0145] 例如,以下方案可以用于制备含有如下物质的液体制剂:

强心扩血管剂	0.25g
丙二醇	23ml
防腐剂	0.05ml
[0146] 粘度调节剂	10ml
香味增强剂	0.2g
表面活性剂	0.3ml
溶剂	至 50ml

[0147] 步骤1在丙二醇(15ml)中溶解强心扩血管剂同时加热至约65°C

[0148] 步骤2在搅拌下添加溶剂(5ml)。

[0149] 步骤3在搅拌下添加防腐剂。

[0150] 步骤4在搅拌下添加粘度调节剂。

[0151] 步骤5在单独的容器中,在搅拌下在丙二醇(5ml)中溶解香味增强剂。

[0152] 步骤6在搅拌下将步骤5中制备的溶液转移至步骤4中制备的本体溶液中。

[0153] 步骤7在单独的容器中,在丙二醇(3ml)和溶剂(3ml)中分散和溶解表面活性剂。在添加至所述本体溶液之前,将溶液加热至约65℃。

[0154] 步骤8将步骤6中制备的溶液与所述本体溶液混合。混合直到澄清。使其冷却。

[0155] 步骤9添加溶剂至最终批次量。

[0156] 在除了强心扩血管剂之外包含活性剂的液体制剂(包括包含强心扩血管剂和另一种活性剂的组合的液体制剂)的实施方案中,上述方法包括在搅拌下在加热或不加热的情况下根据需要在丙二醇中溶解所述活性剂的额外步骤。额外的活性剂的添加往往是与以上步骤1同时进行或在以上步骤1之后立即进行的。

[0157] 对于包含血管紧张素转化酶抑制剂(ACE-I)和丙二醇的实施方案,将所述ACE-I在类似于上述方法的方法中替换为强心扩血管剂。

[0158] 使用方法

[0159] 所述制剂可以在强心物质、降血压物质、抗炎物质和抗血栓物质具有治疗益处的疾病的治疗中使用。这些疾病包括心脏疾病和高血压。

[0160] 心脏疾病包括原发性和继发性心脏病。原发性心脏病包括,例如,充血性心力衰竭(CHF)、急性CHF、慢性CHF、失偿型心内膜炎(DCE)、扩张型心肌病(DCM)、无症状性(隐匿性)CHF、无症状性DCM和慢性瓣膜性心脏病或其组合。继发性心脏病包括,例如,麻醉期间心血管功能障碍和肾灌注削弱、休克、胃扩张、肠扭转、心肌缺血和肾缺血,或其组合。

[0161] 因此,一个实施方案提供治疗原发性或继发性心脏病的方法,包括向有需要的受试者施用以上定义的制剂。

[0162] 高血压通常与如上所述的肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)的激活有关。与高血压有关的病症包括肾上腺皮质功能亢进、甲状腺功能亢进、嗜铬细胞瘤、原发性醛固酮增多症、糖尿病和肾病或其组合。

[0163] 因此,一个实施方案提供治疗与肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)激活有关的疾病或病症的方法。

[0164] 还提供丙二醇和有效量的强心扩血管剂、血管紧张素转化酶抑制剂或强心扩血管剂与血管紧张素转化酶抑制剂的组合在用于治疗心脏疾病和/或高血压的液体制剂的制造中的用途。

[0165] 还提供用于在心脏疾病和/或高血压的治疗中使用的包含丙二醇和有效量的强心扩血管剂、血管紧张素转化酶抑制剂或强心扩血管剂与血管紧张素转化酶抑制剂的组合的液体制剂。

[0166] 还提供包含丙二醇和有效量的强心扩血管剂、血管紧张素转化酶抑制剂或强心扩血管剂与血管紧张素转化酶抑制剂的组合的液体制剂在治疗心脏疾病和/或高血压中的用途。

[0167] 在一个实施方案中,所述原发性心脏病选自充血性心力衰竭(CHF)、急性CHF、慢性CHF、失偿型心内膜炎(DCE)、扩张型心肌病(DCM)、无症状性(隐匿性)CHF、无症状性DCM和慢性瓣膜性心脏病或其组合。

[0168] 在一个实施方案中,所述继发性心脏病选自麻醉期间心血管功能障碍和/或肾灌注削弱、休克、胃扩张、肠扭转、心肌缺血和肾缺血或其组合。

[0169] 在一些实施方案中,所述受试者是伴侣动物,诸如犬或猫。

[0170] 在一些实施方案中,所述施用是口服施用。然而,在其它实施方案中,所述施用是肠胃外施用。

[0171] 如对本领域技术人员将是显而易见的那样,有效量的活性剂(诸如强心扩血管剂、ACE-I或利尿剂)将会取决于各种因素,包括选择的特定活性剂的活性、需要治疗的受试者的体重以及所治疗的疾患的类型和严重程度。技术人员将能够容易地确定向需要治疗的受试者施用的活性剂(诸如强心扩血管剂、ACE-I或利尿剂)的有效量,并且根据这个有效量,确定待施用的本发明制剂的量。

[0172] 如上文所述,匹莫苯丹的一般治疗有效量是每kg动物体重约0.2至1.0mg匹莫苯丹和施加,通常是每kg动物体重约0.3至0.6mg匹莫苯丹和施加,甚至更通常的是每kg动物体重约0.5mg匹莫苯丹。通常,每天施用两个剂量,每个剂量代表一半上述有效量。在一些情况下,可以施用第三剂量。具有持续吸收的匹莫苯丹的液体制剂可能适于每天施用一次。

[0173] 例如,用于治疗CHF的治疗有效量是约0.2至约1.0mg匹莫苯丹/kg动物体重/天,优选约0.3至约0.6mg匹莫苯丹/kg动物体重,甚至更优选约0.5mg匹莫苯丹/kg动物体重。通常,每天施用两个剂量,一个剂量在早晨,而另一个在大约12小时后。这种治疗在麻醉期间维持心血管功能和/或肾灌注、在例如由手术特别是胃肠手术以及创伤所引起的休克、胃扩张或肠扭转的情况下也是有益的。

[0174] ACE-I依那普利和贝那普利的一般治疗有效量已经在上文描述。上文也描述了呋塞米的一般治疗有效量。

[0175] 一般来讲,术语“治疗”意为影响受试者、组织或细胞以获得期望的药理和/或生理作用并且包括:(a)抑制疾病,即中止其发展或进一步发展;(b)减轻或改善疾病的影响,即造成疾病影响的衰退;(c)降低疾病的发病率或(d)预防疾病在受试者、组织或细胞中出现,所述受试者、组织或细胞易感染所述疾病或处于其危险中但是还没有确诊出具有保护性的药理和/或生理作用以致所述疾病不在所述受试者、组织或细胞中发展或出现。

[0176] 下文详细地参考了本发明的特定实施方案。虽然本发明是结合这些具体实施方案进行描述的,但是应理解并非意在将本发明限制于这些具体实施方案。相反,意在覆盖可以包括在由附加的权利要求书定义的本发明的精神和范畴之内的替代方案、改进、替换、改变和等价形式。

实施例

[0177] 实施例1:匹莫苯丹的溶解度研究

[0178] 通过在丙二醇或表1至4中描述的其它溶剂中溶解匹莫苯丹和随后在用磁力搅拌器搅拌匹莫苯丹和溶剂的同时逐步添加其余成分来制备每种制剂。一旦制备每种测试制剂,就用移液管或注射器取1ml样品并且添加至100ml pH 1-2、7或9的水中。通过向蒸馏水中添加盐酸,用电子pH计监测pH直到获得目标pH来制备酸水。通过向蒸馏水中添加氢氧化钠,用pH计监测pH变化并且在达到目标pH时停止添加NaOH来制备碱性水。

[0179] 在三种不同pH的水的100ml样品中添加并充分混合1ml每种测试制剂之后,观察每

种混合物的视觉外观并且记录和概括在表1至4中。

[0180] 表1:匹莫苯丹的溶解度

成分	V5+ stevia+ 鸡肉味	V5+ stev+ 牛肉味	V5	V6	V7
匹莫苯丹	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
辛酸/癸酸TG			0	0	0
蓖麻油					
聚山梨醇酯80	qs100	qs100	qs100	qs100	qs100
丙二醇	20	20	20	10	5

水					
描述	黄色澄清	黄色澄清	黄色澄清		
在人工胃液中的稀释物	澄清液体 没有油层	澄清液体 没有油层	澄清液体 没有油层	澄清液体 没有油层	澄清液体 没有油层
在中性 pH-7 和 pH 9 的水中的稀释物	澄清液体 没有油层	澄清液体 没有油层	澄清液体 没有油层	澄清液体 没有油层	澄清液体 没有油层

[0183] 表2:比较匹莫苯丹溶解度

成分	V1	蓖麻油+水
匹莫苯丹	0.5	0.5
辛酸/癸酸TG	40	
蓖麻油		20
聚山梨醇酯80	qs100	0
丙二醇	20	0
水		100qs
描述	混浊半透明	不溶解
在人工胃液中的稀释物	白色液体, 表面有油层的光泽没有液滴	
在中性 pH-7 和 pH 9 的水中的稀释物	白色液体, 表面有油层的光泽没有液滴	

[0185] 表3:匹莫苯丹的溶解度

成分	N2	IVPi
匹莫苯丹	0.5	0.25g
辛酸/癸酸TG	0	0
聚山梨醇酯80	100qs	0
丙二醇	20	23
200酒精标准度乙醇	湿	0
聚乙二醇300		10
苯醇		0.05

甜菊苷		0.1
乙酰磺胺酸钾		0.1
聚乙烯吡咯烷酮		0.3
甘油		qs50ml
批号	0405@54	
描述	澄清黄色	澄清黄色
人工胃液中的稀释物—描述	澄清液体没有油层	澄清液体没有油层
中性ph的水中的稀释物—描述	澄清液体没有油层	白色液体

[0187] 表4:比较匹莫苯丹溶解度

成分	N1	A_V1	A_V2
匹莫苯丹	0.5	0.5	0.5
辛酸/癸酸TG	0	40	20
聚山梨醇酯80	qs100	qs100	qs100
丙二醇	湿	0	0
200酒精标准度乙醇	0	湿	湿
聚乙二醇300			
苯醇			
甜菊苷			
乙酰磺胺酸钾			
聚乙烯吡咯烷酮			
甘油			
批号	0405@21	0405@4	0405@7
描述	黄色透明	混浊半透明	澄清几乎没有斑点
人工胃液中的稀释物—描述	澄清但是形成块状凝胶	白色液体, 表面有油层的光泽没有液滴	澄清但是形成块状凝胶。
中性ph的水中的稀释物—描述	澄清但是形成块状凝胶	白色液体, 表面有油层的光泽没有液滴	澄清但是形成块状凝胶。

[0189] 实施例2:生物利用度研究

[0190] 选择纳入六只健康成年犬予。所有犬进行一般体检(GPE),包括在实施例开始之前称重。经GPE患有明显心血管异常的犬不予纳入。

[0191] 当与食物一起施用或此后不久施用时,报告口服施用匹莫苯丹的生物利用度显著降低。因此,在治疗之前至少4小时和治疗后1小时不进行饲喂。除了第0天,对犬饲喂商业化干犬粮以维持水平。犬随时可以喝新鲜水。

[0192] 实验室对每个犬/组的治疗分配不知情。施用人员对治疗组不知情。

[0193] 评价了两种不同制剂—研究兽用产品或IVP-匹莫苯丹5mg/mL液体制剂(下面详细描述)和对照兽用产品或RVP-**Vetmedin**®(1.25、2.5和5mg)胶囊(Boehringer Ingelheim)。

[0194] 在第0天对每只犬施用一次治疗。按预定时间间隔(表5)采集血液样品并分析。

[0195] IVP液体制剂:

匹莫苯丹 0.5g

丙二醇 23ml

[0196] PEG 300 10ml

PVP 0.3g

甘油 qs 50ml

[0197] 按照表5中列出的计划治疗试验动物。根据即时预试验期间记录的犬体重计算单个剂量。

[0198] 表5:事件计划

试验日期	事件
阶段一	
预试验	选择纳入的犬 一般体检和犬称重 将所有犬分配成2组—A组和B组
预试验	驯化; 每天对犬饲喂一次干商品饲料
[0199] 第0天	日常观察记录 在时间0时, 组A用IVP治疗且组B用RVP只治疗一次 在预治疗时采集血液样品, 随后在治疗后0.25、0.5、1、1.5、2、3和4小时并且记录采集次数 一式两份地离心、标记、冷冻和储存样品; 一套转移到指定实验室, 并且一套保留

[0200] 犬中的Vetmedin®的推荐剂量是0.2-0.6mg/kg。优选的日剂量是0.5mg/kg体重。剂量应该分成大约12小时时间间隔的两次施用。每个剂量应该在饲喂之前大约一小时给予(Boehringer Ingelheim, Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority (APVMA) 注册商标)。

[0201] 在这个实施例中,用推荐总日剂量的一半(即0.25mg匹莫苯丹/kg体重)对犬给药一次。

[0202] 因为在这个实施例中胶囊形式是RVP给药的限制因素,所以将所有剂量四舍五入到最接近的多个1.25mg匹莫苯丹/犬(对应于最小可用的胶囊剂量)。在适当的情况下,使用胶囊大小的组合每只犬获得最准确的匹莫苯丹剂量。

[0203] IVP的剂量基于针对犬体重的胶囊中的等效剂量。

[0204] 表6:匹莫苯丹的剂量(匹莫苯丹的mg)

匹莫苯丹剂量: 0.25 mg/kg									
		RVP (胶囊数)					IVP (匹配这种大小的犬的RVP剂量)		
		胶囊尺寸	1.25mg	2.5mg	5mg				
体重 (kg)	剂量 (mg)						实际剂量匹莫苯丹RVP (mg/kg)	实际剂量匹莫苯丹IVP (mg)	实际剂量匹莫苯丹RVP 5mg/ml
10	2.5			1			0.25	0.50	2.5
11	2.75			1			0.23	0.50	2.5
12	3			1			0.21	0.50	2.5
13	3.25		1	1			0.29	0.75	3.75
14	3.5		1	1			0.27	0.75	3.75
15	3.75		1	1			0.25	0.75	3.75
16	4		1	1			0.23	0.75	3.75
17	4.25		1	1			0.22	0.75	5
18	4.5					1	0.28	1.00	5
19	4.75					1	0.26	1.00	5
20	5					1	0.25	1.00	5

[0206] IVP和RVP是口服施用的。

[0207] 口服施用IVP涉及将需要的剂量抽到注射器中。在嘴唇接合处将注射器引入犬的口中并且将所述剂量放置在舌头的背面。将犬口保持闭上并且使头部稍微向后靠以保证全部量的施用的产品被吞咽。

[0208] 将RVP胶囊放在口腔后部的舌根上,并且使犬口保持闭上,使头部稍微向后靠以保证胶囊被吞咽。

[0209] 治疗之后密切观察每只犬以保证IVP和RVP没有被回吐或通过其它方式排出。

[0210] 使犬禁食过夜并且直到给药1小时后才进行早晨的饲喂。尽可能接近8AM进行治疗。

[0211] 在向每组中的3只犬中以0.25mg匹莫苯丹/kg体重的剂量率口服施用之后观察到匹莫苯丹的以下血浆浓度 (ng/ml)。

[0212] 表7:口服给药匹莫苯丹的平均结果 (ng/mL)

治疗	取样时间(小时)							
	预	0.25	0.5	1	1.5	2	3	4
IVP	<0.5	4.0	7.8	11.8	9.9	6.9	2.8	1.2
RVP	<0.5	1.9	8.9	15.9	8.3	4.5	1.3	0.8

[0214] 用超高效液相色谱和串联质谱使用基于分离和定量的验证分析法分析血浆样品。定量数据是以表格和图表形式以ng/mL报告的。除一只以外其它全都犬都显示典型的吸收和消除曲线,但是两种产品的吸收偏差是不同的。

[0215] 数据表明匹莫苯丹在施用IVP之后被迅速吸收,并且匹莫苯丹以高于定量下限(LL0Q)的浓度在体循环中留存四小时以上。基于施用口服溶液的犬获得的药代动力学数据,当活性成分存在于溶液中时,很明显吸收不依赖于柠檬酸的存在。

[0216] 表8:药代动力学参数

治疗	C _{max} (ng/ml)	T _{max} (h)	AUC (ng-h/ml)
IVP	13	1.3	23
RVP	17	0.7	21

[0218] 对IVP治疗组观察到的C_{max}具有大约13ng/ml的平均值并且T_{max}在1或2小时时出现。这证明匹莫苯丹溶液与描述于Vetmedin的产品信息比较以更高的速率和更高的程度被迅速吸收。

[0219] 讨论

[0220] 这个实施例的分析部分的目的是为了确定从施用了IVP(口服溶液)或RVP(Vetmedin[®]胶囊)的六只成年犬中获得的犬血浆中的匹莫苯丹浓度。需要所述数据来确定就匹莫苯丹的胃肠吸收速率和关键药代动力学参数C_{max}、T_{max}和AUC而言IVP和RVP制剂之间的相似点或不同点。

[0221] 当在溶液中口服递送时,匹莫苯丹似乎被迅速吸收。与1.9ng/mL(RVP)相比,施用之后15分钟获得的样品中的匹莫苯丹浓度平均为4.0ng/mL(IVP)。这些结果表明,与在胶囊中递送的固体活性组分相比,溶解的匹莫苯丹几乎是立即生物可利用的。此外,溶液的快速吸收显示不需要增强、不可口的量的柠檬酸来促进药物吸收。

[0222] 基于在每个组中检查的三只犬,所述口服溶液呈现出更宽的吸收曲线;特征为比RVP略低的C_{max}、略长的T_{max}以及略大的AUC。组之间的消除速率是相当的,但是治疗后3和4小时的数据的检查表明IVP组的平均匹莫苯丹浓度显著高于RVP组的平均值。所述溶液(平均)在更长的时间内获得总体更高的全身匹莫苯丹浓度。这对于接受所述溶液的犬来说可以解释为治疗结果改善。

[0223] 结论

[0224] 这个项目涉及四十八只犬血浆样品的匹莫苯丹分析。所述样品代表了六只犬,三只各用IVP(溶液)或RVP(Vetmedin[®]胶囊)治疗。施用产品之后在指定的时间点采集血浆样品。

[0225] 开发并验证LCMS/MS测定,其能够在0.5-50ng/mL范围中确定血浆中的匹莫苯丹。

[0226] 分析产生的数据表明口服施用IVP可以在治疗的犬中产生匹莫苯丹的可能是有疗效的血浆浓度。

[0227] 施用口服溶液之后匹莫苯丹的快速摄取是明显的。产生的数据表明在消除期中,来自口服溶液的匹莫苯丹的全身浓度比RVP稍高,并且保持的时间比RVP更长。

[0228] 实施例3:生物利用度研究

[0229] 研究涉及24只各种性别(包括阉割动物)、重11.3-21.7kg、年龄介于1年9个月和5年之间的健康成年比格犬。试验犬经临床检查并且在第2天称重。按体重递减次序对犬分等级并且依次隔成3个8只动物的区段。将每个区内的动物随机分配(通过“抓阄(draw from a hat)”方式)到8个治疗组(1-8)中以使每个组具有类似的体重范围。

[0230]	研究和对照产品	
[0231]	• 研究兽用产品 (IVP)	
[0232]	IVP 1:	
	匹莫苯丹	0.25g
	丙二醇	23ml
	PEG 300	10ml
[0233]	PVP	0.3g
	甜菊苷 90%粉末	0.1g
	乙酰磺胺酸钾	0.1g
	苯醇	0.05ml
[0234]	甘油	至 50ml
[0235]	IVP 2:	
	匹莫苯丹	0.25g
	PEG 300	10g
	甜菊苷 90%粉末	0.30g
[0236]	甘油	6.0g
	聚乙烯吡咯烷酮 (PVP) K90	0.3g
	苯醇	0.05g
	甘油	至 50ml
[0237]	IVP 3:	
	贝那普利盐酸盐	0.25g
	丙二醇	23ml
	PEG 300	10ml
[0238]	PVP	0.3ml
	甜菊苷 90%粉末	0.1g
	乙酰磺胺酸钾	0.1g
	苯醇	0.05ml
	甘油	至 50ml
[0239]	IVP 4:	
	匹莫苯丹	0.25g
	贝那普利盐酸盐	0.25g
	丙二醇	23ml
	PEG 300	10ml
[0240]	PVP	0.3g
	甜菊苷 90%粉末	0.1g
	乙酰磺胺酸钾	0.1g
	苯醇	0.05ml
	甘油	至 50ml

- [0241] IVP 5:
- | | | |
|--------|-----------|--------|
| [0242] | 匹莫苯丹 | 0.25g |
| | 马来酸依那普利 | 0.25g |
| | 丙二醇 | 23ml |
| | PEG 300 | 10ml |
| | PVP | 0.3g |
| [0243] | 甜菊苷 90%粉末 | 0.1g |
| | 乙酰磺胺酸钾 | 0.1g |
| | 苜蓿醇 | 0.05ml |
| | 甘油 | 至 50ml |
- [0244] IVP 1是按照以下方案制备的:
- [0245] 步骤1在丙二醇 (15ml) 中溶解匹莫苯丹同时加热至约65℃
- [0246] 步骤2在搅拌下添加甘油 (5ml)。
- [0247] 步骤3在搅拌下添加苜蓿醇。
- [0248] 步骤4在搅拌下添加聚乙二醇300。
- [0249] 步骤5在单独的容器中,在搅拌下在丙二醇 (5ml) 中溶解甜菊苷90%粉末和乙酰磺胺酸钾。
- [0250] 步骤6在搅拌下将步骤5中制备的溶液转移至步骤4中制备的本体溶液中。
- [0251] 步骤7在单独的容器中,在丙二醇 (3ml) 和甘油 (3ml) 中分散和溶解聚乙烯吡咯烷酮K90粉末。在添加至所述本体溶液之前将溶液加热至约65℃。
- [0252] 步骤8将步骤6中制备的溶液与所述本体溶液合并。混合直到澄清。使其冷却。
- [0253] 步骤9添加甘油至最终批次量。
- [0254] IVP 2是按照以下方案的制剂:
- [0255] 步骤1. 在65℃下在PEG300中溶解匹莫苯丹 (大约30分钟)。
- [0256] 步骤2. 向混合物中添加甜菊苷90%粉末并且溶解。
- [0257] 步骤3. 在单独的容器中,合并甘油 (6.0g) 和聚乙烯吡咯烷酮 (PVP) K90 (在65℃下)
- [0258] 步骤4. 将步骤3中制备的混合物添加至溶解的匹莫苯丹中。
- [0259] 步骤5. 添加苜蓿醇。
- [0260] 步骤6. 用甘油制成50mL。混合均匀。
- [0261] IVP 3、4和5是根据与针对IVP 1列出的程序类似的程序视需要替换以上列出的成分配制的。
- [0262] • 对照兽用产品 (CVP)
- [0263] CVP 1:
- [0264] 产品名称:犬用Vetmedin[1.25mg、2.5mg、5mg]胶囊
- [0265] 活性剂:匹莫苯丹
- [0266] CVP 2:
- [0267] 产品名称:犬和猫用Fortekor 2.5mg/5mg片剂
- [0268] 活性剂:贝那普利盐酸盐
- [0269] CVP 3:

[0270] 产品名称:犬用Enalfor 2.5mg [5mg;10mg] (马来酸依那普利) 片剂

[0271] 活性剂:马来酸依那普利

[0272] b疗和样品采集

[0273] 这个实施例描述在施用了各种心血管药剂的犬中进行的单周期药代动力学研究。匹莫苯丹;贝那普利及其活性代谢物贝那普利拉;依那普利及其活性代谢物依那普利拉的浓度是在从施用如上所讨论的制剂之后数小时的试验受试者中采集的血浆样品中确定的。

[0274] 从治疗之前那天大约0730使犬禁食,在0930(第0天)或1000(第1天)施用所述治疗并且所述治疗由向犬以2分钟时间间隔口服施用IVP或RVP的单个剂量组成。治疗组1、2、4和6中的研究动物在第0天治疗一次;组3、5、7和8在第1天治疗一次。对治疗组1给予匹莫苯丹0.5%溶液(IVP 1)。对治疗组2给予匹莫苯丹0.5%溶液(IVP2)。对治疗组3给予贝那普利0.5%溶液(IVP 3)。对治疗组4给予匹莫苯丹0.5%和贝那普利溶液0.5%的溶液(IVP 4)。对治疗组5给予匹莫苯丹0.5%和依那普利溶液1.0%的溶液(IVP 5)。对治疗组6给予含有匹莫苯丹的胶囊(CVP 1)。对治疗组7含有贝那普利盐酸盐的片剂(CVP2)。对治疗组8给予含有马来酸依那普利的片剂(CVP3)。在施用片剂或胶囊之后立即通过注射器给予每只犬一个小水团(5-10mL)以确保片剂到达胃中而不是潜在地卡在“干”的食管中。液体制剂是使用1.0mL注射器施用的。水可随意使用。犬在治疗后被单独放置在围栏中3小时,随后饲养在每个围栏3只犬的治疗组中。治疗后至少4小时不能喂食物。

[0275] 在第2天治疗之前和在治疗后15分钟、30分钟、60分钟、90分钟、2小时、3小时、4小时、8小时、12小时和24小时采集血液样品。使用新的无菌针和偏心螺口注射器(eccentric luer syringes)通过头或颈静脉的静脉穿刺从犬中采集血液样品(大约5mL)并且直接注射到含有肝素锂和凝胶分离器(gel separator)的单个8mL Vacuette®中。离心样品并且使用新的一次性塑料吸管收集血浆。

[0276] 使用基于用超高效液相色谱-串联质谱的仪器测定验证的分析法,测定血浆中的匹莫苯丹浓度。样品制备涉及在仪器测定之前的脱蛋白步骤。

[0277] 贝那普利、贝那普利拉、依那普利和依那普利拉是使用基于用超高效液相色谱-串联质谱的仪器测定的分析法确定的。低检测限是使用用于样品制备的固相提取获得的。

[0278] 使用分析物与氘代内标物的比例制备的基质匹配校正曲线可用于分析物定量。对于定量测定来说校正曲线相关系数超过0.99。匹莫苯丹、贝那普利、贝那普利拉、依那普利和依那普利拉的定量下限(LLoQ)确定为0.2ng/mL,这被认为对该研究来说是足够的。

[0279] 结果

[0280] 表9:匹莫苯丹、依那普利、依那普利拉、贝那普利和贝那普利拉生物利用率的药代动力学(PK)研究的全面总结

组	分析物	描述	Tmax h	Cmax ng/ml	AUC _{0-xh} ng.h/ml	x
组7	贝那普利	CVP 2	0.58	9.91	5.55	3h
组3	贝那普利	IVP 3	0.50	6.04	3.17	3h
组4	贝那普利	IVP 4	0.42	24.73	16.94	3h
组3	贝那普利拉	IVP 3	2.00	31.17	130.04	24h
组7	贝那普利拉	CVP 2	2.33	11.33	91.67	24h
组4	贝那普利拉	IVP 4	1.67	24.55	113.99	24h
组8	依那普利	CVP 3	1.50	25.50	58.01	24h
组5	依那普利	IVP 5	0.50	11.99	29.25	24h
组8	依那普利拉	CVP 3	3.00	80.37	578.55	24h
组5	依那普利拉	IVP 5	3.67	38.63	328.78	24h
组6	匹莫苯丹	CVP 1	1.42	8.13	12.66	4h
组1	匹莫苯丹	IVP 1	0.50	25.40	32.00	4h
组2	匹莫苯丹	IVP 2	0.83	10.57	21.04	4h
组4	匹莫苯丹	IVP 4	0.58	14.70	21.58	4h
组5	匹莫苯丹	IVP 5	0.42	12.73	14.31	4h

[0282] 讨论

[0283] • 匹莫苯丹药代动力学 (PK)

[0284] 向组1、2、4、5和6施用包含匹莫苯丹的组合物,即分别是IVP1、2、4和5以及CVP1。以0.25mg/kg的目标剂量率向组1、2、4、5和6中的所有动物施用匹莫苯丹。

[0285] 表10:给药后24小时的匹莫苯丹药代动力学

组	IVP/CVP	0	0.25	0.5	1	1.5	2	3	4	8	12	24
1	IVP 1	0.00	14.56	25.40	14.44	9.57	5.52	2.22	0.94	0.05	0.05	0.05
2	IVP 2	0.00	5.58	9.86	9.08	7.40	5.67	3.55	1.44	0.05	0.05	0.05
6	CVP 1	0.00	4.32	3.76	4.87	4.00	3.28	2.69	1.18	0.05	0.05	0.05
4	IVP 4	0.00	12.24	13.97	8.62	6.38	4.22	2.05	1.12	0.05	0.05	0.05
5	IVP 5	0.00	10.00	11.78	5.71	3.63	2.11	0.85	0.36	0.05	0.05	0.05

[0287] 表11:匹莫苯丹PK结果的总结

组	描述	Tmax h	Cmax ng/ml	AUC _{0-4h} ng.h/ml
组1	IVP 1	0.50	25.40	32.00
组2	IVP 2	0.83	10.57	21.04
组4	IVP 4	0.58	14.70	21.58
组5	IVP 5	0.42	12.73	14.31
组6	CVP 1	1.42	8.13	12.66

[0289] 所有治疗组显示了施用之后的匹莫苯丹的生物利用率。IVP 1 (包含匹莫苯丹和丙二醇)比商业化兽用产品Vetmedin (包含匹莫苯丹和柠檬酸的固体制剂)显示出更高的AUC (图2)。与以上实施例2中讨论的早期试验相比,这些结果显示Vetmedin的AUC降低,这很可能是由于天然的生物差异。

[0290] IVP1 (即包含匹莫苯丹和丙二醇) 也显示出比 IVP 2 (即包含匹莫苯丹并且排除丙二醇) 有更高的 AUC。IVP 2 同时含有 PEG300 和甘油, 并且这些结果表明与包含结构上类似于丙二醇的能够溶解匹莫苯丹的溶剂 (即 PEG300 和甘油) 的液体制剂相比, 丙二醇对于提高匹莫苯丹口服施用之后的生物利用率来说是更有效的 (图3)。

[0291] IVP 4 和 5 都包含匹莫苯丹和 ACE-I 的组合。两者都显示提供在治疗范围之内并且大于 CVP1 的 AUC (图4)。然而, IVP 4 和 5 显示出低于 IVP 1 的 AUC, 表明 ACE-I 的存在可能影响匹莫苯丹的生物吸收。然而, 如上所述, 在经口施用 IVP 4 和 5 之后测定的匹莫苯丹的 AUC、C_{max} 和 T_{max} 适用于在本文中描述的方法中的治疗中。此外, 与其它溶剂 (如 PEG300 和甘油) 相比, 丙二醇的提高的有效性在这些组合制剂中是特别有用的, 以在经口施用之后提供匹莫苯丹目标血浆浓度。

[0292] • 依那普利 PK

[0293] 依那普利是活性剂依那普利拉的口服有效前药。测定了依那普利和依那普利拉的血浆浓度。依那普利拉的浓度与该 ACE-I 剂量的有效性有关。

[0294] 表12: 给药后24小时的依那普利和依那普利拉药代动力学

组	IVP/CVP	0	0.25	0.5	1	1.5	2	3	4	8	12	24
5	IVP 5 (依那普利)	0.00	9.94	11.99	8.72	6.61	4.76	2.51	1.60	0.53	0.26	0.05
8	CVP3 (依那普利)	0.00	0.62	10.89	17.73	11.81	7.38	7.98	6.37	0.98	0.57	0.17
5	IVP 5 (依那普利拉)	0.00	0.20	1.45	5.35	18.71	31.71	37.50	37.97	17.10	9.05	3.19
8	CVP3 (依那普利拉)	0.00	0.05	0.38	11.99	29.34	50.15	62.19	77.03	37.43	10.77	4.92

[0296] 表13: 依那普利 PK 结果的总结

组	分析物	描述	T _{max} h	C _{max} ng/ml	AUC _{0-xh} ng.h/ml	x
组8	依那普利	CVP 3	1.50	25.50	58.01	24h
组5	依那普利	IVP 5	0.50	11.99	29.25	24h

[0298] 表14: 依那普利拉 PK 结果的总结

组	分析物	描述	T _{max} h	C _{max} ng/ml	AUC _{0-xh} ng.h/ml	x
组8	依那普利拉	CVP3	3.00	80.37	578.55	24h
组5	依那普利拉	IVP 5	3.67	38.63	328.78	24h

[0300] 如图7所示, 依那普利拉浓度随着依那普利浓度降低而升高。这种关系是由于依那普利体内转化为依那普利拉。

[0301] 虽然在施用 CVP3 之后这些数据显示依那普利拉的 AUC 比 IVP 5 更高, 但是 IVP5 的 AUC 与施用 0.5mg/kg 剂量的依那普利之后的公开的依那普利拉的 AUC 一致。向犬以 0.5mg/kg 施用依那普利之后公开的依那普利拉的 AUC 是 393ng/h/ml (=23,589ng/min/ml) (参见, 例如, Toutain, P.L., H.P. Lefebvre 和 V. Laroute. 2000. New insights on effect of kidney insufficiency on disposition of angiotensin converting enzyme inhibitors: case

of enalapril and benazepril in dogs.J Pharmacol Exp Ther 292:1094-103)。

[0302] • 贝那普利PK

[0303] 如上对于依那普利所讨论的,贝那普利是活性贝那普利拉的前药。因此,贝那普利拉的浓度与每种制剂的有效ACE-I剂量有关。

[0304] 表15:给药后24小时贝那普利和贝那普利拉的药代动力学

组	IVP /CVP (分析物)	0	0.25	0.5	1	1.5	2	3	4	8	12	24
3	IVP3 (贝那普利)	0.00	4.85	2.00	2.17	0.13	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
4	IVP4 (贝那普利)	0.00	13.7	22.1	6.11	2.76	0.85	0.33	0.11	0.05	0.05	0.05
[0305]	7	CVP2 (贝那普利)	0.00	4.51	6.0	3.33	0.72	0.18	0.05	0.05	0.05	0.05
3	IVP3 (贝那普利拉)	0.00	1.92	5.87	15.2	24.3	31.2	15.4	8.75	4.10	2.71	1.48
4	IVP4 (贝那普利拉)	0.00	1.09	6.86	16.9	17.4	22.1	9.58	6.36	4.93	2.26	2.36
7	CVP2 (贝那普利拉)	0.00	0.40	2.39	5.55	8.65	9.47	9.68	7.95	4.23	2.65	1.47

[0306] 表16:贝那普利PK结果的总结

组	分析物	描述	Tmax h	Cmax ng/ml	AUC _{0-xh} ng.h/ml	x	
[0307]	组7	贝那普利	CVP2	0.58	9.91	5.55	3h
组3	贝那普利	IVP 3	0.50	6.04	3.17	3h	
组4	贝那普利	IVP 4	0.42	24.73	16.94	3h	

[0308] 表17:贝那普利拉PK结果的总结

组	分析物	描述	Tmax h	Cmax ng/ml	AUC _{0-xh} ng.h/ml	x	
[0309]	组7	贝那普利拉	CVP2	2.33	11.33	91.67	24h
[0310]	组3	贝那普利拉	IVP 3	2.00	31.17	130.04	24h
组4	贝那普利拉	IVP 4	1.67	24.55	113.99	24h	

[0311] 如图10和11所示,贝那普利拉浓度随着贝那普利在体内转化成贝那普利拉而升高。

[0312] 施用IVP 3和4都导致活性贝那普利拉的AUC比CVP 2更高。以0.5mg/kg向犬施用贝那普利之后公开的贝那普利拉的AUC是230ng/h/ml (=13.790ng/min/ml),对于0.25mg/kg的剂量来说=114.9ng/h/ml(参见例如Toutain, P.L., H.P. Lefebvre和V.Laroute.2000.New insights on effect of kidney insufficiency on disposition of angiotensin converting enzyme inhibitors:case of enalapril and benazepril in dogs.J Pharmacol Exp Ther 292:1094-103)。IVP 3和4的结果都与这个值一致。

[0313] IVP 3仅包含贝那普利而IVP 4包含贝那普利和匹莫苯丹作为活性成分。对于IVP 3来说贝那普利拉的AUC比IVP 4更高。施用IVP 4之后贝那普利浓度在前3小时中具有比IVP 3更高的Cmax和AUC,这可能是由于IVP 4的贝那普利拉的AUC较低缘故。

[0314] 结论

[0315] 这些结果表明包含匹莫苯丹和丙二醇的液体制剂在口服施用之后可有效地向动

物提供匹莫苯丹。此外,这些结果表明丙二醇有出乎意料的功效,因为IVP1的C_{max}和AUC大大超过了不存在丙二醇的类似的IVP2的C_{max}和AUC。此外,所述结果表明包含匹莫苯丹和依那普利/贝那普利与丙二醇的组合的液体制剂可提供口服生物可利用的量的两种活性剂。此外,包含贝那普利和丙二醇的液体制剂可在犬中口服施用之后提供生物可利用的贝那普利拉。

[0316] 应理解的是,本文中对现有技术文档的引用不相当于认可所述文档成为澳大利亚或任何其它国家中的本领域普通常识的一部分。

[0317] 在本发明的附加权利要求书和前面描述中,除了除非由于表达语言或必要的暗示上下文需要之外,否则词语“包括”或变型诸如“包含”或“含有”是以广义的方式使用的,即表示在本发明的多种实施方案中存在陈述的特征但是不排除存在或添加另外的特征。

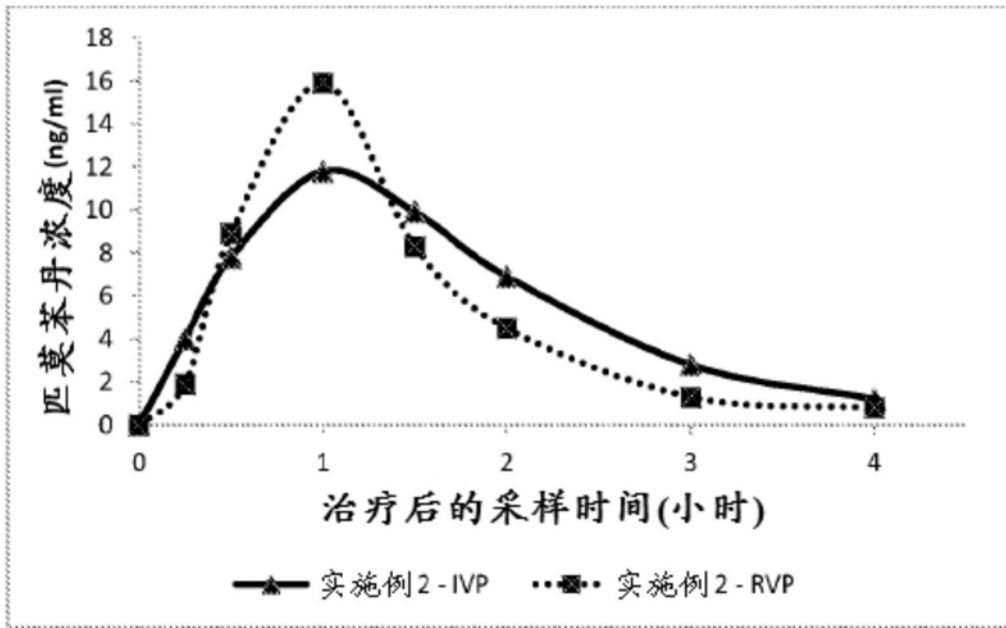


图1

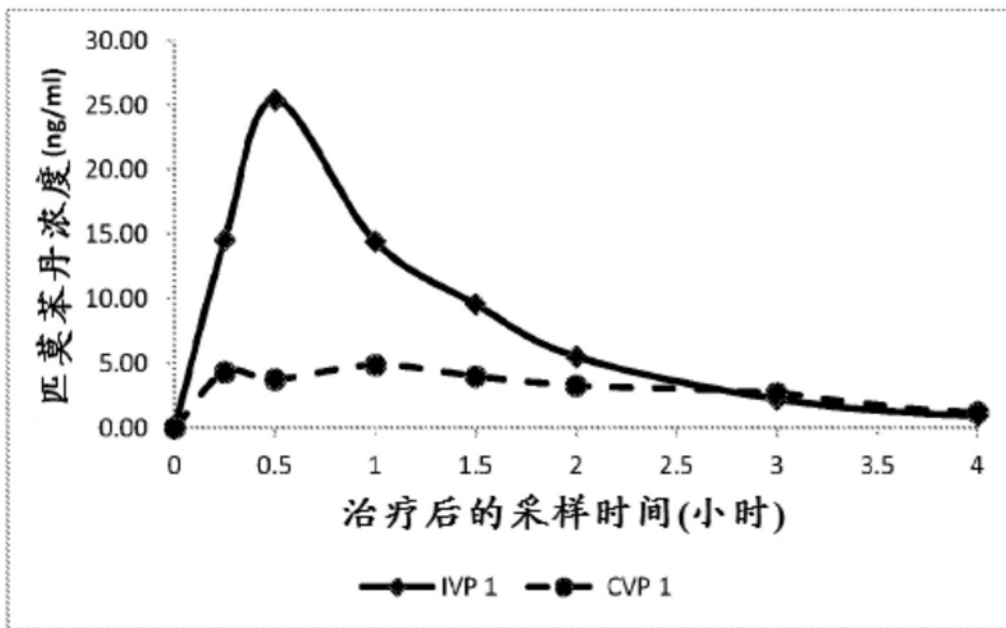


图2

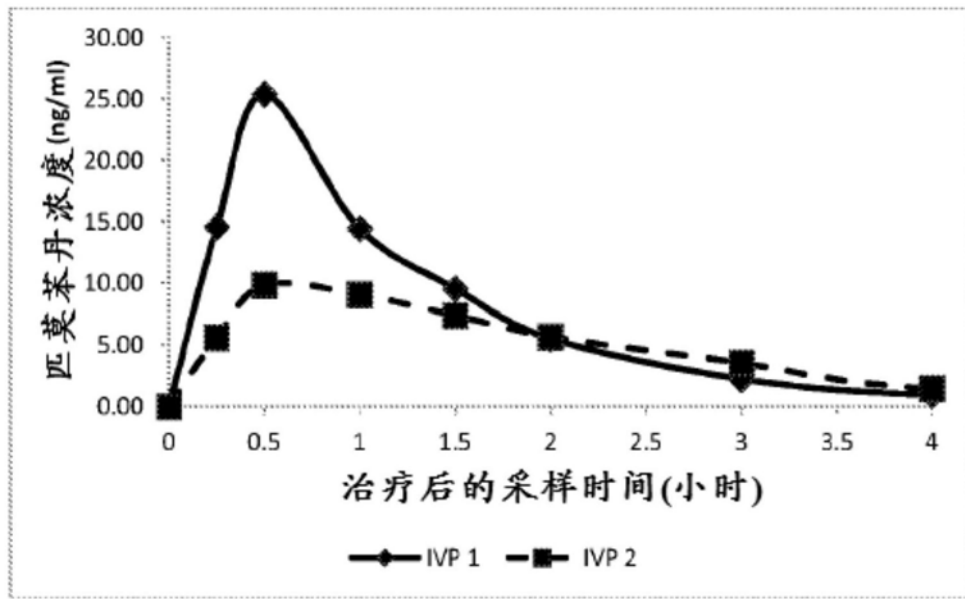


图3

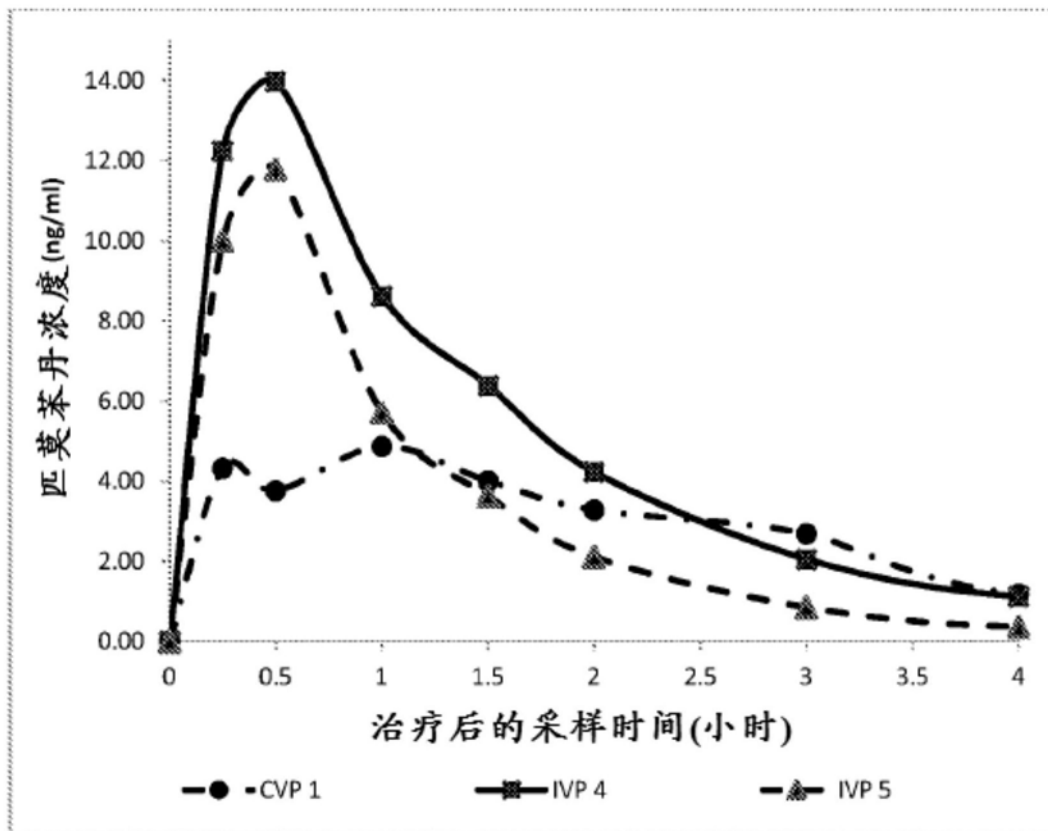


图4

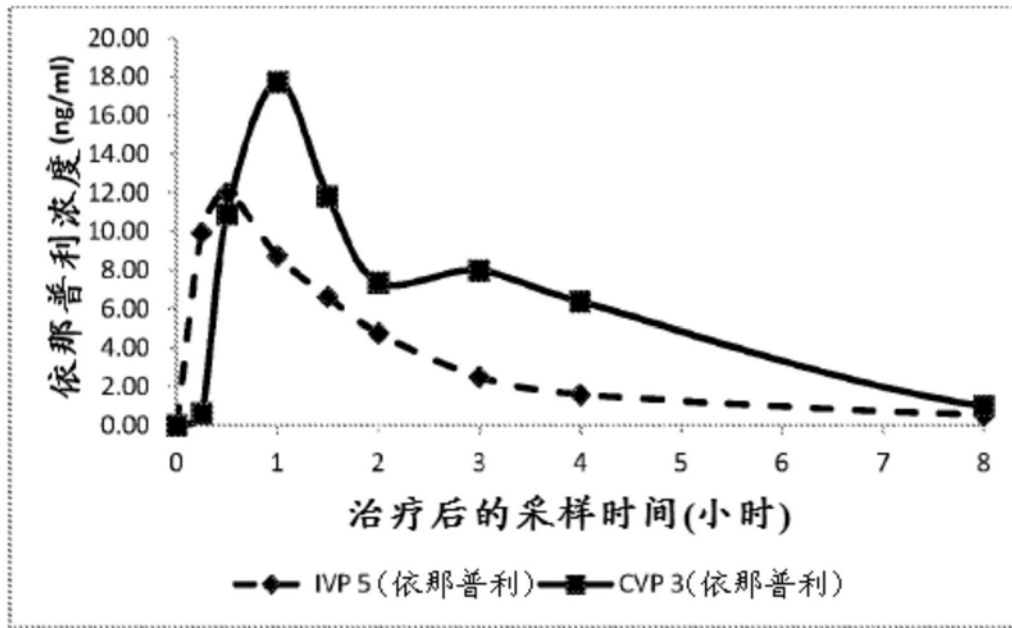


图5

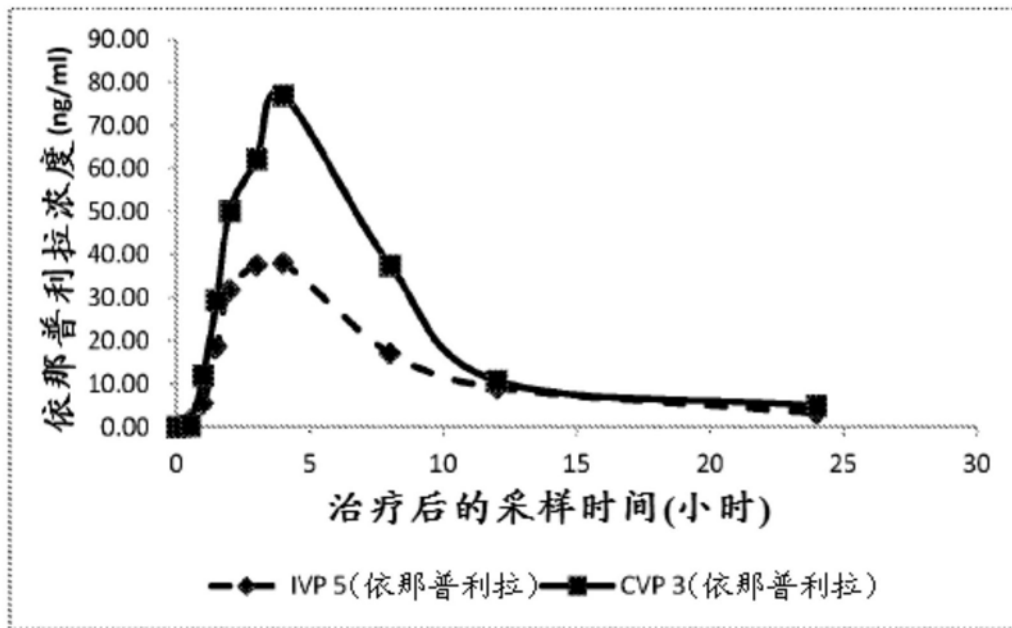


图6

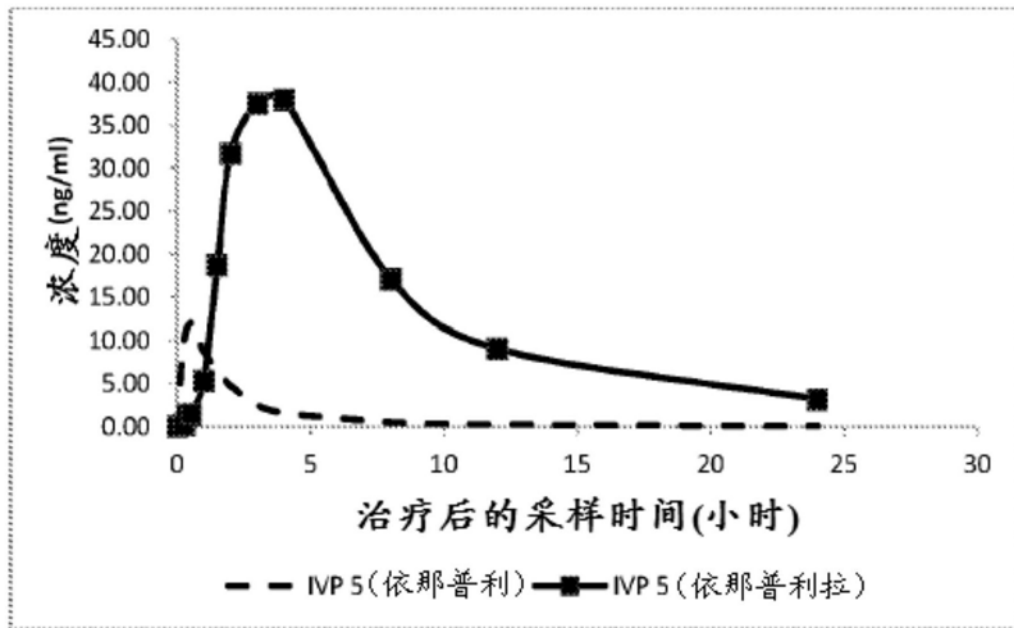


图7

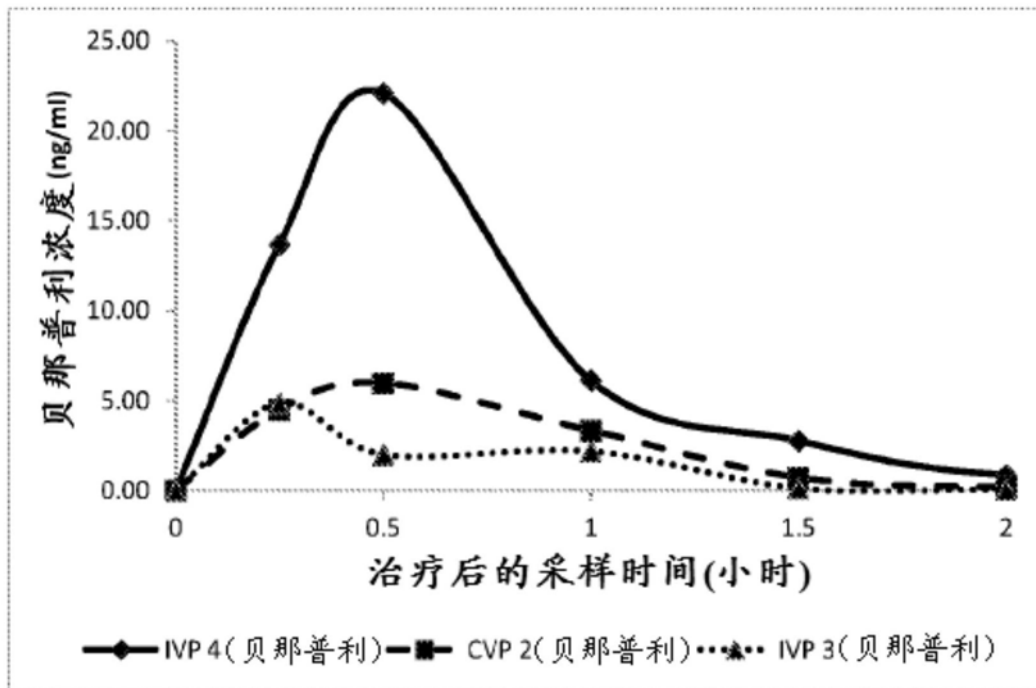


图8

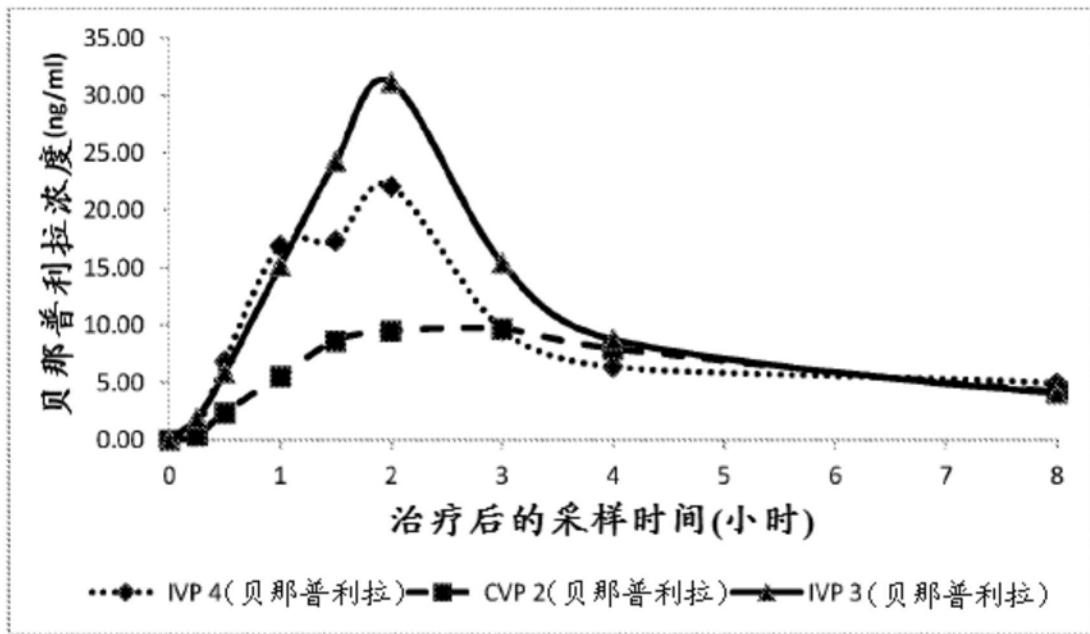


图9

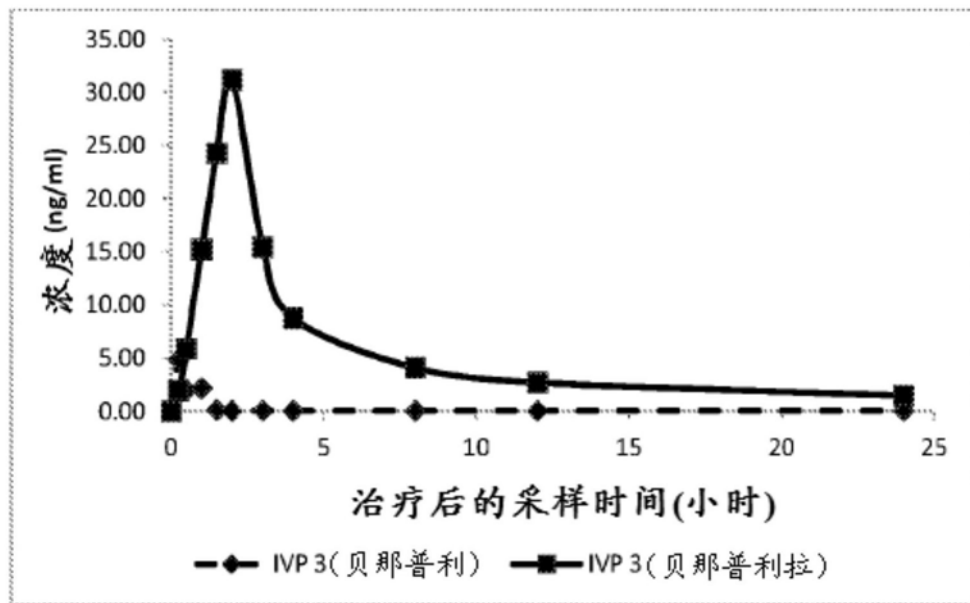


图10

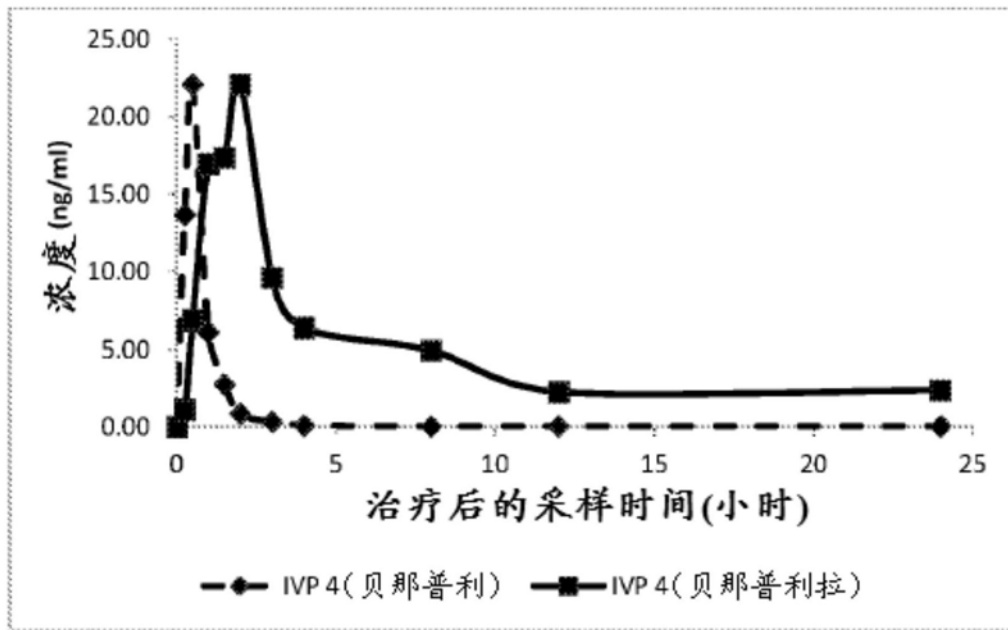


图11