

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 014 022**

51 Int. Cl.:

A61K 31/41 (2006.01)
A61K 31/216 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
C07D 403/10 (2006.01)
C07C 233/47 (2006.01)
C07C 231/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.01.2017 PCT/CN2017/071625**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.07.2017 WO17125031**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.01.2017 E 17741062 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.03.2025 EP 3406610**

54 Título: **Metabolito antagonista del receptor de angiotensina II y compuesto inhibidor de NEP, y método de preparación de este**

30 Prioridad:

20.01.2016 CN 201610038846
30.03.2016 CN 201610193099
16.06.2016 CN 201610430248

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
16.04.2025

73 Titular/es:

SHENZHEN SALUBRIS PHARMACEUTICALS CO., LTD (100.00%)
37F Main Tower Lvjing Plaza, Che Gong Miao No. 6009 Shennan Road Futian District Shenzhen, Guangdong 518040, CN

72 Inventor/es:

YAN, JIE;
XU, WENJIE;
ZHI, JIANQIONG;
LI, SONG;
WANG, YANG y
ZHENG, YANXIN

74 Agente/Representante:

FERNÁNDEZ POU, Felipe

ES 3 014 022 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Metabolito antagonista del receptor de angiotensina II y compuesto inhibidor de NEP, y método de preparación de este

5

Campo técnico

Esta invención pertenece al campo de la química farmacéutica, en particular, implica los compuestos del metabolito del antagonista del receptor de angiotensina II y el inhibidor de NEP, y los métodos de preparación de estos.

10

Antecedentes de la invención

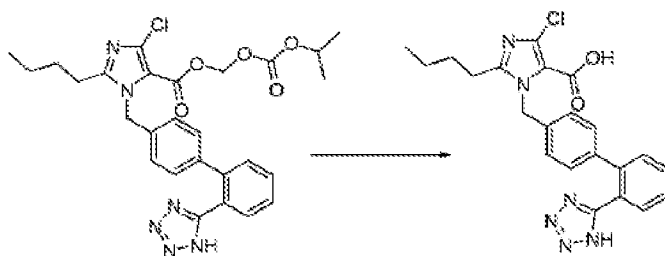
Allisartan isoproxil (CAS: 947331-05-7), nombre químico: ácido 2-butil-4-cloro-1-[2'-(1H-tetrazol-5-il)-1,1'-bifenil-metil]-imidazol-5-carboxílico, 1-[(isopropoxi)-carbonilo]-metiléster, nombre comercial: Xinlitan, es un nuevo tipo de antagonista del receptor de angiotensina II (AT1). Su fórmula estructural se publicó por primera vez en la patente china CN200610023991.0, y también se dieron a conocer sus aplicaciones en la preparación de medicaciones antihipertensivos. Al ser comparado con otros productos antihipertensivos del mismo tipo (como losartán), el allisartan isoproxil muestra baja toxicidad, buena eficacia antihipertensiva y otras ventajas.

15

20

Allisartan isoproxil juega un papel en el tratamiento al hidrolizar y metabolizar a EXP3174. Sin embargo, EXP3174 muestra baja biodisponibilidad, y efecto terapéutico deficiente mientras se usa solo como medicación, ya que su fuerte polaridad de estructura molecular dificulta la etapa a través de la membrana celular por difusión u otras formas de absorción pasiva como la difusión, y sus absorciones pasivas solo pueden mejorarse por la optimización de estructura. Sin embargo, muchos métodos, tales como la optimización de la estructura, la optimización de la administración de la preparación informados en la técnica anterior, no pueden mejorar la biodisponibilidad de EXP3174 de manera efectiva.

25



30

Allisartan Isoproxil

EXP3174

Neprilisina (NEP) es un tipo de endopeptidasa neutral que degrada varios péptidos vasoactivos endógenos, tal como péptido natriurético, bradiquinina, y también puede reducir el nivel de adrenomedulina, mientras que el inhibidor de neprilisina puede mejorar el nivel de estas sustancias para antagonizar la vasoconstricción, la retención de sodio y activación excesiva del sistema neuroendocrino.

35

La hipertensión es la enfermedad cardiovascular más común cuyo síndrome clínico se caracteriza por la elevación de la presión arterial sistémica. Se divide en hipertensiones primarias y secundarias, entre las cuales, los pacientes con hipertensión primaria representan más del 95% del total de pacientes con hipertensión. Con el desarrollo de la economía social y la mejora del nivel de vida de las personas, la morbilidad de la hipertensión aumenta continuamente. La hipertensión, si no puede controlarse y tratarse efectivamente, puede causar que la arteriosclerosis coronaria se convierta en una enfermedad coronaria o angina, y también puede causar enfermedad cardíaca hipertensiva, insuficiencia cardíaca y otras complicaciones graves. Además, la hipertensión a largo plazo puede causar daño renal, cerebral, cardiovascular y otros daños orgánicos.

40

45

Como las causas y la patogénesis de la hipertensión son diversas, el control inadecuado de la presión arterial afectará la estructura y función de múltiples órganos en el cuerpo, los pacientes con hipertensión también sufrirán enfermedades o daños de otros órganos, tal como enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, hiperlipemia. Para el tratamiento, la combinación con fármacos antihipertensivos con diferentes mecanismos es útil para controlar la presión arterial de manera más efectiva, lo que es más importante, puede mostrar un efecto sinérgico que es útil para reducir la cantidad de uso de fármacos y reducir aún más las reacciones secundarias.

50

La insuficiencia cardíaca (HF para abreviar) es una de las enfermedades cardiovasculares más comunes en la actualidad, que es un grupo de síndromes clínicos complejos de llenado ventricular o deterioro de la

55

5 eyección causados por una estructura o función cardíaca anormal, y se manifiesta clínicamente principalmente como disnea y debilidad (limitada tolerancia al ejercicio), así como la retención de líquidos (congestión pulmonar y edema periférico). La insuficiencia cardíaca es la etapa grave y final de varias enfermedades cardíacas con una alta morbilidad (*China Guideline for Diagnosis and Treatment of Heart Failure, 2014*).

10 En el pasado, más de una década, se progresó poco en medicamentos contra la insuficiencia cardíaca. Hasta ahora, el inhibidor de enzima conversora de angiotensina (ACEI) sigue siendo la primera opción que se ha demostrado capaz de reducir la tasa de mortalidad de los pacientes, así como el fármaco reconocido para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca con la mayoría de la medicina basada en evidencias acumuladas. Para esta serie de fármacos, el efecto secundario más común es la tos seca con la incidencia de 1~30% durante el tratamiento con ACEI, que a menudo ocurre en la etapa temprana (de varios días a varias semanas) de la medicación, puede mostrar un efecto acumulativo; el tratamiento también puede conducir a edema angioneurótico. EXP3174 muestra potencial en el tratamiento de hipertensión, sin embargo, al estar limitado por su extremadamente baja biodisponibilidad, lo que conduce a su menor capacidad de compra de fármacos, no se puede llevar a cabo un estudio adicional sobre su indicación.

20 Desde 2005, debido a la prevalencia de los factores de riesgo de enfermedad cardiovascular, el número de pacientes con enfermedad cardiovascular en nuestro país ha aumentado continuamente. De acuerdo con las estadísticas, los pacientes con enfermedades cardiovasculares en nuestro país son aproximadamente 290 millones, que incluye 270 millones de pacientes con hipertensión y aproximadamente 4,500 mil pacientes con insuficiencia cardíaca (*Chinese Cardiovascular Disease Report, 2013*).

25 Un complejo de sal de sodio (LCZ696) de Valsartan-Sacubitril y su método de preparación se describió en la patente WO2007056546. Específicamente, LCZ696 es una sal trisódica compleja (compuesto) supermolecular que contiene 2.5 moléculas de agua cristalina y está compuesta por enlaces de valsartán y AHU377 a través de enlaces no covalentes, el compuesto muestra acción dual, que es bloqueo de receptores de angiotensina e inhibición neutral de endopeptidasa, muestra clínicamente el efecto sobre la disminución de la presión arterial. Los datos clínicos experimentales informados muestran que, siendo comparado con el grupo de tratamiento de enalapril, LCZ696 reduce la tasa de hospitalización de pacientes con insuficiencia cardíaca en un 21%, y los síntomas de insuficiencia cardíaca y restricción física también disminuyen, es superior a enalapril en la reducción de la tasa de mortalidad y la tasa de hospitalización en pacientes con insuficiencia cardíaca (*N Engl J Med, 2014, 371 (1): 993-1004*). Sin embargo, debido a la influencia comprensiva de los componentes (AT1, NEPi, catión, etc.) que forman el compuesto u otros factores desconocidos, LCZ696 muestra una fácil absorción de humedad y una menor estabilidad en condiciones de humedad y temperatura, además, también es fácil de mostrar efecto electrostático que afecta la fluidez del producto; las propiedades mencionadas anteriormente conducen a requisitos relativamente rigurosos en el entorno de producción durante la preparación de la medicación clínica de LCZ696.

40 Por lo tanto, para buscar un compuesto que muestra un buen efecto terapéutico y pocos efectos secundarios, y se utiliza para el tratamiento de una serie de enfermedades cardiovasculares, que incluyen hipertensión, insuficiencia cardíaca, etc., y otras complicaciones, y muestra la propiedad fisicoquímica conveniente para la producción es el problema técnico que no se ha resuelto de acuerdo con las tecnologías existentes. Esta invención proporciona una serie de complejos supermoleculares (compuestos) que se componen de compuestos químicos con efecto bloqueante de receptores de angiotensina II (AT1) y el inhibidor de neprilisina (NEPi), muestran de doble efecto tanto del bloqueo del receptor de angiotensina II y los efectos inhibidores de la endopeptidasa neutra, y tiene propiedades fisicoquímicas más beneficiosas durante la producción.

50 Agencia Europea de Medicamentos: Assessment report Entresto International non-proprietary (2015) se refiere a Entresto, que está indicado para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca (NYHA clase I-IV) en pacientes con disfunción sistólica. Tamaki et al, (1997) se refiere a EXP3174, el principal metabolito activo del Losartán. Macdonald et al. (2015) se refieren al desarrollo de inhibidores combinados de los receptores de la angiotensina/neprilisina (IRA) para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca crónica (IC) y a la revisión de los principales ensayos clínicos del LCZ696.

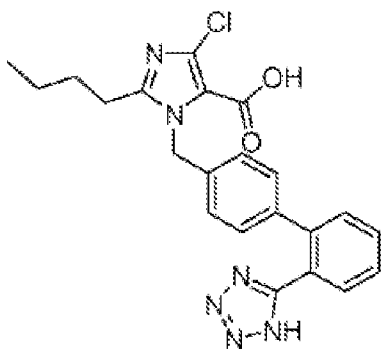
Descripción detallada de la invención

60 El primer objetivo de esta invención es superar las deficiencias de las tecnologías existentes, y proporciona una serie de complejos supermoleculares (compuestos) de doble acción; los complejos supermoleculares (compuestos) se componen de la siguiente manera:

- 1) compuesto químico con efecto bloqueante del receptor de angiotensina II (AT1);
- 65 2) inhibidor de neprilisina (NEPi);

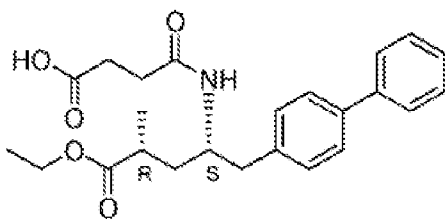
3) catión farmacéuticamente aceptable.

En una realización, el compuesto con efecto bloqueante del receptor de angiotensina II (AT1) es el metabolito de allisartan isoproxil (EXP3174), su fórmula química es $C_{22}H_{21}ClN_6O_2$, y la estructura se muestra a continuación:



EXP3174

En una realización, el inhibidor de neprilisina (NEPi) es AHU377 (Sacubitril, CAS: 149709-62-6), su fórmula química es $C_{24}H_{29}NO_5$, y la estructura se muestra a continuación:



AHU377

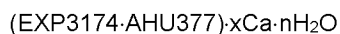
El AHU377 mencionado anteriormente es un tipo de inhibidores de neprilisina específicos y se describe por primera vez en la patente de EE. UU US5217996.

En una realización, el catión farmacéuticamente aceptable mencionado es ion calcio (Ca^{2+}). Las tecnologías conocidas consideran que los compuestos bloqueantes del receptor de angiotensina II (AT1) pueden combinarse con cualquier catión para formar un complejo supermolecular; sin embargo, el inventor descubrió después de experimentos que se forman complejos supermoleculares con otros cationes, tal como ion sodio (Na^+), potasio (K^+), no se puede obtener como se esperaba.

El complejo supermolecular (compuesto) se compone del enlace del compuesto mencionado anteriormente con el efecto bloqueante del receptor de angiotensina II (AT1), el inhibidor de neprilisina y el catión farmacéuticamente aceptable mediante enlaces no covalentes, entre los cuales, los enlaces no covalentes mencionados son conocidos por una persona experta en la técnica, que incluye, pero no se limita a, enlace de hidrógeno, enlace de coordinación, enlace iónico, metabolito de allisartan isoproxil (EXP3174) contiene dos grupos ácidos, concretamente, ácido carboxílico y tetrazol, y AHU377 contiene un tipo de grupo ácido, concretamente, ácido carboxílico.

El mencionado complejo supermolecular (compuesto) puede contener además solventes. Los solventes mencionados se empaquetan y/o retienen en las redes cristalinas como parte de una molécula, lo que contribuye a la estructura intramolecular, como la interacción supermolecular. Los solventes mencionados son los solventes comunes en la técnica, tales como agua, metanol, etanol, alcohol 2-propílico, acetona, acetato de etilo, metil-terc-butil éter, acetonitrilo, metilbenceno, diclorometano, en el que, se prefiere el agua. El complejo supermolecular (compuesto) mencionado también se puede considerar como solvato de sal de calcio.

En una realización, la unidad de fórmula de la supermolécula mencionada se muestra a continuación:



en donde, la proporción molar x de Ca^{2+} es 0.5~ 2, tal como 0.5, 1, 1.5, 2; la proporción molar n de solvente

es 0~3, tal como 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3.

En una realización, el complejo supermolecular mencionado (compuesto) se compone de 1 proporción molar de metabolito de isoproxilo de allisartán (EXP3174), 1 proporción molar de AHU377 y 1.5~2 proporciones molares de Ca^{2+} mediante enlace no covalente, y contiene 1~3 proporciones molares de moléculas de agua, en las que, el valor de la proporción molar de Ca^{2+} puede ser de 1.5 o 2, el del agua puede ser 1, 1.5, 2, 2.5 o 3, y se prefieren 2-3 proporciones molares de moléculas de agua, en donde, la proporción molar de Ca^{2+} puede ser 1.5 o 2, mientras que la del agua puede ser 2, 2.5 o 3, y en realizaciones preferidas, la unidad de fórmula del complejo supermolecular mencionado (compuesto) se muestra como sigue:

Por ejemplo, puede ser

(EXP3174·AHU377)·1.5Ca·1H₂O;

(EXP3174·AHU377)·1.5Ca·1.5H₂O;

(EXP3174·AHU377)·1.5Ca·2H₂O;

(EXP3174·AHU377)·1.5Ca·2.5H₂O;

(EXP3174·AHU377)·1.5Ca·3H₂O;

o bien, la unidad de fórmula del complejo supermolecular (compuesto) mencionado se muestra a continuación:

(EXP3174·AHU377)·2Ca·nH₂O (n es un valor arbitrario de 1 a 3, y se prefiere un valor arbitrario de 2 a 3)

Por ejemplo, puede ser

(EXP3174·AHU377)·2Ca·1H₂O;

(EXP3174·AHU377)·2Ca·1.5H₂O;

(EXP3174·AHU377)·2Ca·2H₂O;

(EXP3174·AHU377)·2Ca·2.5H₂O;

(EXP3174·AHU377)·2Ca·3H₂O;

Los expertos en la técnica entenderán que el metabolito de allisartan isoproxil (EXP3174), AHU377, Ca^{2+} y moléculas de solvente llenarán las células de estructura del complejo supermolecular (compuesto) en forma de varias unidades de fórmula.

El complejo supermolecular (compuesto) difiere de la mezcla física obtenida por simple mezclado de dos ingredientes activos. El complejo supermolecular (compuesto) obtenido difiere significativamente de las sales de calcio EXP3174 y AHU377 en el espectro XRD, y la propiedad de solubilidad en varios solventes (tal como agua, etanol, etanol-agua), así como otras propiedades físicas o propiedades químicas, tal como la higroscopicidad, punto de fusión y espectro infrarrojo.

Para un complejo supermolecular (compuesto) obtenido en esta invención, su espectro de difracción de polvo de rayos X (XRD) muestra picos de difracción con una intensidad de absorción comparativamente fuerte a 4.35°, 5.15°, 5.90°, 12.80° y 15.85° con el intervalo de error aceptable de $\pm 0.2^\circ$, para los picos con fuerte intensidad de absorción, rara vez se ven afectados por la característica del producto, el instrumento de prueba, las condiciones de prueba y otros factores, por lo tanto, la reproducibilidad es muy alta, también puede ser entendida por el experto en la técnica que, para compuestos específicos, que se ve afectado por la característica del producto, el instrumento de prueba, las condiciones de prueba y otros factores, la reproducibilidad de los picos con intensidad de absorción relativamente débil puede no ser alta, y el inventor también encontró el fenómeno en las pruebas repetidas, las muestras del complejo supermolecular (compuesto) del mismo lote/diferentes lotes también muestran las características de reproducibilidad mencionadas anteriormente. Además, el espectro de difracción de polvo de rayos X (XRD) del complejo supermolecular (compuesto) muestra picos de difracción con una repetibilidad más fuerte en 9.00°, 10.15° y 15.02° con un margen de error aceptable de $\pm 0.2^\circ$; más específicamente, el espectro de difracción de polvo de rayos X del complejo supermolecular (compuesto) muestra los siguientes picos en una prueba:

ES 3 014 022 T3

Número	2θ (°, ±0.2)	Intensidad relativa (%)
1	4.35	70.97
2	5.15	100.00
3	5.90	32.67
4	9.00	2.80
5	10.15	3.40
6	12.80	5.21
7	15.02	5.59
8	15.85	8.27
9	16.81	2.57
10	20.27	2.39
11	22.09	2.48
12	23.79	1.34
13	26.22	1.87

El espectro de XRD del complejo supermolecular (compuesto) se muestra en la Figura 1.

- 5 La relación molar de EXP3174 a AHU377 en el complejo supermolecular (compuesto) se puede obtener directa/indirectamente a través del método analítico de contenido, por ejemplo, la masa/contenido de EXP3174 y AHU377 (ácido libre) en complejo supermolecular (compuesto) puede determinarse mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), y la relación molar de 1:1 puede obtenerse por conversión adicional.
- 10 La calorimetría de barrido diferencial (DSC) del complejo supermolecular (compuesto) muestra dos picos endotérmicos de deshidratación a $94.4 \pm 10^\circ\text{C}$ y $164.1 \pm 10^\circ\text{C}$, ya que el complejo supermolecular (compuesto) contiene aguas cristalinas, la persona experta en la técnica puede entender que, en diferentes condiciones de prueba, tal como velocidad de calentamiento y diferentes características de muestra, tal como el tamaño de grano de la muestra, algunos picos (tal como pico endotérmico de deshidratación) en el espectro DSC pueden mostrar grandes fluctuaciones, por ejemplo, las posiciones del pico endotérmico de deshidratación en espectros obtenidos bajo diferentes tasas de calentamiento tienen diferencias relativamente grandes, y hay otro pico endotérmico en el espectro a $244.6 \pm 5^\circ\text{C}$. Más específicamente, el DSC del complejo supermolecular (compuesto) de este ejemplo se muestra en la figura 2.
- 15
- 20 El espectro Raman del complejo supermolecular (compuesto) muestra picos de difracción a la longitud de onda de (cm^{-1}) 3.061 (m), 2.935 (m, ancho), 1.613 (st), 1.521 (m), 1.482 (w), 1.286 (m), 995 (w), 816 (w, ancho) y 408 (w), y las intensidades en las bandas de ondas de absorción se expresan como abajo, (w) = débil, (m) = medio y (st) = fuerte.
- 25 El espectro infrarrojo (cm^{-1}) del complejo supermolecular (compuesto) muestra picos de difracción en las bandas de onda importantes de 3.383 (st, ancho), 1.709 (m), 1.634 (m), 1.577 (st), 1.549 (st), 1.459 (st), 1.407 (st), 1.262 (m), 1.173 (w), 762 (m), 698 (w), etc. Las intensidades en las bandas de ondas de absorción se expresan a continuación, (w) = débil, (m) = medio y (st) = fuerte.
- 30 Para la prueba del contenido de agua en el complejo supermolecular (compuesto), los métodos comúnmente utilizados en la técnica, tales como el método de Karl Fischer y/o la termogravimetría se pueden adoptar. Específicamente, el espectro de análisis termogravimétrico (TG) del complejo supermolecular (compuesto) muestra que el contenido de agua del complejo supermolecular (compuesto) es del 5.0%, mientras que el contenido de agua se determina que es del 4.9% mediante el método de Karl Fischer.
- 35 El espectro de absorción atómica del complejo supermolecular (compuesto) muestra que el contenido de calcio del complejo supermolecular (compuesto) es de 6.46%.
- 40 Los valores medidos del análisis elemental del complejo supermolecular (compuesto) son C: 57.81%, H: 5.48% y N: 10.36%.
- A juzgar por la información anterior, la unidad de fórmula del complejo supermolecular (compuesto) es $(\text{EXP3174} \cdot \text{AHU377})^3 \cdot 1.5\text{Ca}^{2+} \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$.
- 45 Para el otro complejo supermolecular (compuesto) obtenido mencionado en esta invención, su espectro de XRD es similar al del complejo supermolecular (compuesto) mencionado anteriormente. Específicamente, su espectro XRD muestra picos de difracción con una intensidad de absorción relativamente fuerte a 4.40° , 5.19° y 5.96° con un margen de error aceptable de $\pm 0.2^\circ$; además, su espectro XRD también muestra picos de difracción con una repetibilidad comparativamente fuerte a 15.82° y 26.34° con un margen de error aceptable de $\pm 0.2^\circ$; más específicamente, el espectro de XRD del complejo supermolecular (compuesto) tiene los siguientes picos en una prueba:
- 50

Número	2θ (°, ±0.2)	Intensidad relativa (%)
1	4.40	77.30
2	5.19	100.00
3	5.96	19.78
4	15.82	5.11
5	26.34	3.44

El espectro de XRD del complejo supermolecular (compuesto) se muestra en la Figura 5.

- 5 La relación molar de EXP3174 a AHU377 en complejo supermolecular (compuesto) se puede obtener directa/indirectamente con el método analítico de contenido, por ejemplo, la masa/contenido de EXP3174 y AHU377 (ácido libre) en complejo supermolecular (compuesto) se puede determinar mediante HPLC, y la relación molar de 1:1 puede obtenerse por conversión adicional.
- 10 El DSC del complejo supermolecular (compuesto) muestra que hay dos picos endotérmicos de deshidratación a $95.4 \pm 10^\circ\text{C}$ y $166.4 \pm 10^\circ\text{C}$, ya que el complejo supermolecular (compuesto) contiene aguas cristalinas, el experto en la técnica puede entender que, bajo diferentes condiciones de prueba, tal como velocidad de calentamiento, y diferentes características de muestra, tal como tamaño de grano de muestra, picos parciales (tal como pico endotérmico de deshidratación) en el espectro DSC pueden mostrar grandes fluctuaciones, por ejemplo, las posiciones del pico endotérmico de deshidratación en espectros obtenidos bajo diferentes velocidades de calentamiento tienen diferencias relativamente grandes, y hay otro pico endotérmico en el espectro a $242.4 \pm 5^\circ\text{C}$. Más específicamente, encuentra que, después de múltiples repeticiones, la diferencia de la DSC existe objetivamente entre el complejo supermolecular (compuesto) preparado por diferentes ejemplos, y la DSC del complejo supermolecular (compuesto) de este ejemplo se muestra en la figura 6.

Para el ensayo del contenido de agua en el complejo supermolecular (compuesto), los métodos comúnmente utilizados en la técnica, tales como el método de Karl Fischer y/o la termogravimetría se pueden adoptar. Específicamente, encuentra que, después de múltiples repeticiones, la diferencia de TG entre el complejo supermolecular (compuesto) y el complejo supermolecular anterior existe objetivamente, más específicamente, el espectro muestra que el contenido de agua del complejo supermolecular (compuesto) es 3.97%, mientras que el contenido de agua se determina en 3.83% según el método de Karl Fischer.

El espectro de absorción atómica del complejo supermolecular (compuesto) muestra que el contenido de calcio del complejo supermolecular (compuesto) es del 6.50%.

Los valores medidos del análisis elemental del complejo supermolecular (compuesto) son C: 58.51%, H: 5.41% y N: 10.25%.

35 A juzgar por la información anterior, la unidad de fórmula del complejo supermolecular (compuesto) es $(\text{EXP3174} \cdot \text{AHU377})^3 \cdot 1.5\text{Ca}^{2+} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Otro objetivo de esta invención es proporcionar un método de preparación para una serie de complejos supermoleculares (compuestos) mencionados en esta invención, y se incluyen los siguientes pasos:

- 40 1) El compuesto con efecto bloqueante del receptor de angiotensina II (AT1) e inhibidor de neprilisina (NEPi) se disuelve en un solvente adecuado;
- 45 2) La sal iónica de calcio y/o hidróxido de ion de calcio farmacéuticamente aceptable se disuelven o suspenden en un solvente adecuado;
- 3) La mezcla obtenida en la etapa 2) se agrega lentamente a la solución obtenida en la etapa 1), o la sal iónica de calcio y/o el hidróxido de ion de calcio (directamente en forma sólida) se añaden respectivamente con solvente al sistema de reacción en orden y la mezcla se agita para la cristalización completa;
- 50 4) El sólido se precipita y se seca para obtener el complejo supermolecular (compuesto) mencionado.

La reacción se puede realizar a temperaturas de reacción conocidas por los expertos en la técnica, tales como las temperaturas de reacción incluyen baja temperatura, temperatura ambiente o calentamiento, en las que la temperatura está entre la temperatura ambiente y 45°C preferiblemente y la temperatura ambiente mencionada significa $20 \pm 10^\circ\text{C}$.

Específicamente, la preparación de la serie mencionada de complejos supermoleculares (compuestos) puede verse afectada por la cantidad agregada, los solventes de reacción y otros factores, por lo que no es fácil

obtener un método de preparación estable, en el que el compuesto con efecto bloqueante del receptor de angiotensina II (AT1) y el inhibidor de neprilisina (NEPi) son sustancias libres que se pueden obtener mediante el uso directo de sustancia libre o mediante la liberación de la sal correspondiente; la selección de solventes de reacción influye en la obtención de la serie mencionada de complejos supermoleculares (compuestos), que se manifiesta porque el complejo supermolecular (compuesto) no puede obtenerse como se espera mediante algunos sistemas de solventes probados, específicamente, el sistema de solvente mencionado que puede obtenerse el compuesto contiene acetona y/o isopropanol, y las cantidades añadidas del efecto bloqueante del receptor de angiotensina II (AT1) e inhibidor de neprilisina (NEPi) son básicamente las mismas que la relación molar de las dos moléculas en la estructura del complejo supermolecular (compuesto);

Las sales iónicas de calcio mencionadas en la etapa 2) son sales iónicas de calcio comunes en la técnica, tales como CaCl_2 , CaSO_4 , hidróxido de ion calcio significa $\text{Ca}(\text{OH})_2$ que es preferido; la cantidad de Ca^{2+} en sales de iones de calcio mencionadas corresponde básicamente a la relación de Ca^{2+} en la estructura del complejo supermolecular (compuesto).

Específicamente, para el método de preparación específico del complejo supermolecular (compuesto), se incluyen las siguientes etapas de preparación:

1) La sal AHU377 se libera para obtener la solución que contiene ácido libre AHU377, y el solvente se elimina;

2) El ácido libre AHU377 obtenido en la etapa 1) y EXP3174 se disuelven en solvente orgánico;

3) La sal iónica de calcio y/o el hidróxido de ion de calcio farmacéuticamente aceptable se disuelven o suspenden en un solvente adecuado;

4) la mezcla obtenida en la etapa 3) se agrega lentamente a la solución obtenida en la etapa 2), o la sal iónica de calcio y/o el hidróxido de ion de calcio (directamente en forma sólida) se añaden respectivamente con solvente al sistema de reacción en orden;

5) La mezcla resultante se agita para la cristalización completa, se filtra para obtener las precipitaciones sólidas, y se seca para obtener el mencionado complejo supermolecular (compuesto).

Las sales de AHU377 mencionadas en la etapa 1) son las sales metálicas/no metálicas comunes, tales como sal de calcio, sal de magnesio, sal de zinc, sal férrica, sal de sodio, sal de amina, sal de dietilamina, trietilamina, en la que, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ es preferido; para el solvente mencionado, se prefiere acetato de isopropilo;

Específicamente, mientras se prepara el complejo supermolecular (compuesto) que contiene 1.5 moléculas de ion calcio, es decir (EXP3174·AHU377)·1.5Ca·nH₂O, 0.7~1.2:1 se prefiere como la relación molar de EXP3174 a AHU377 mencionado en la etapa 2);

Para la sal iónica de calcio y/o hidróxido de ion de calcio mencionado en la etapa 3), se prefiere el hidróxido de ion calcio, es decir $\text{Ca}(\text{OH})_2$, específicamente, cuando se prepara el complejo supermolecular (compuesto) que contiene 1.5 moléculas de ion de calcio positivo, la relación molar de cantidad de ion de calcio en la sal iónica de calcio citada a AHU377 es 1.3~2:1; para el solvente adecuado mencionado, se prefieren acetona y/o isopropanol; además, se necesita agregar una cantidad adecuada de agua al sistema, 1~8:1 g/mL es preferible como la relación de peso/volumen de AHU377 a agua, además con diferentes cantidades de agua puede obtener los complejos supermoleculares (compuestos) que contiene diferentes aguas cristalinas; específicamente, la adición con menos cantidad de agua dentro del rango de cantidad adecuada es favorable para obtener el complejo supermolecular (compuesto) con menos aguas cristalinas, mientras que la adición con más cantidad de agua dentro del rango de cantidad adecuada es favorable para obtener el complejo supermolecular (compuesto) con más aguas cristalinas; más específicamente, como se describe en el Ejemplo 2, cuando la relación de peso/volumen de AHU377 a agua es 2.36:1 g/mL, la unidad de fórmula del complejo supermolecular (compuesto) obtenida de la reacción es (EXP3174·AHU377)·1.5Ca·2.5H₂O, y como se describe en el Ejemplo 3, cuando la relación de peso/volumen de AHU377 a agua es 3.93:1 g/mL, la unidad de fórmula del complejo supermolecular (compuesto) obtenida de la reacción es (EXP3174·AHU377)·1.5Ca·2H₂O;

La temperatura mencionada en la etapa 4) puede ser la temperatura de reacción bien conocida por el experto en la técnica, en la cual, se prefiere la temperatura entre la temperatura ambiente y 45°C, y la temperatura ambiente mencionada significa 20±10°C.

El complejo supermolecular (compuesto) mencionado en el primer objetivo de esta invención puede obtenerse usando el método mencionado anteriormente, y la unidad de fórmula del complejo supermolecular (compuesto) obtenido preferiblemente usando las formas específicas del método mencionado anteriormente

se selecciona de cualquier de las siguientes unidades de fórmula:

(EXP3174·AHU377)·1.5Ca·1H₂O;

5 (EXP3174·AHU377)·1.5Ca·1.5H₂O;

(EXP3174·AHU377)·1.5Ca·2H₂O;

10 (EXP3174·AHU377)·1.5Ca·2.5H₂O;

(EXP3174·AHU377)·1.5Ca·3H₂O;

(EXP3174·AHU377)·2Ca·1H₂O;

15 (EXP3174·AHU377)·2Ca·1.5H₂O;

(EXP3174·AHU377)·2Ca·2H₂O;

(EXP3174·AHU377)·2Ca·2.5H₂O;

20

(EXP3174·AHU377)·2Ca·3H₂O.

25 El tercer objetivo de esta invención es proporcionar un tipo de complejo supermolecular (compuesto) de esta invención en la preparación de un fármaco para el tratamiento de una serie de enfermedades cardiovasculares, que incluyen hipertensión, insuficiencia cardíaca y otras complicaciones.

30 Específicamente, las enfermedades/complicaciones mencionadas incluyen, pero no se limitan a, hipertensión, insuficiencia cardíaca aguda y crónica, insuficiencia cardíaca congestiva, arritmia, fibrilación auricular, infarto de miocardio, arteriosclerosis, enfermedad coronaria, angina de pecho inestable o estable, hipertensión pulmonar, hipertensión renovascular, etc., así como otros daños de riñón, cerebro, corazón y otros órganos causados por la hipertensión a largo plazo.

35 El fármaco mencionado está compuesto por el complejo supermolecular (compuesto) de la invención y el portador farmacéutico, en el que, el porcentaje en masa del complejo supermolecular (compuesto) mencionado en esta invención es 0.1~99.9% en el fármaco.

40 Al ser comparados con el ingrediente único, los análogos descritos en las tecnologías existentes, la mezcla obtenida por mezcla física, así como productos similares, los complejos supermoleculares (compuestos) de esta invención muestran ventajas en solubilidad, estabilidad, etc., que corresponden a un mejor efecto terapéutico clínico y farmacoadtividad, y más aplicable mientras se aplica en producción y tratamiento.

45 Los portadores de fármacos mencionados incluyen, pero sin limitación, la mezcla obtenida mezclando uno o más en rellenos, disgregantes, aglutinantes, lubricantes, agentes tensoactivos, etc., en una proporción arbitraria.

El fármaco mencionado incluye, pero no se limita a, cápsulas, polvos, gránulos, tabletas, inyecciones, etc.

50 El experto en la técnica puede demostrar que los complejos supermoleculares (compuestos) de esta invención tienen ventajas en solubilidad, higroscopicidad, estabilidad y otros aspectos por solubilidad y otros experimentos relevantes, o seleccionar un modelo experimental relevante para demostrar la eficacia de los complejos supermoleculares (compuestos) mencionado en esta invención mientras se usa en fármacos para el tratamiento de la serie mencionada de enfermedades cardiovasculares, tales como hipertensión e insuficiencia cardíaca y otras complicaciones.

55 Específicamente, como los complejos supermoleculares (compuestos) respectivamente obtenidos en los Ejemplos 2 y 3 de esta invención, cuya propiedad de solubilidad mejora significativamente en comparación con EXP3174, por ejemplo, muestra una mejor solubilidad en agua, etanol, etanol-agua y otros solventes comunes; además, el complejo supermolecular (compuesto) obtenido en esta invención muestra ventajas en la higroscopicidad en comparación con la mezcla obtenida por mezcla física en la misma proporción y análogos descritos en las tecnologías existentes.

60 El modelo animal se usa para evaluar exhaustivamente la actividad crónica a corto plazo, aguda y crónica de los compuestos obtenidos.

65 Específicamente, las actividades anti-insuficiencia cardíaca (a corto plazo, aguda) de los complejos supermoleculares (compuestos) obtenidos en el Ejemplo 2 y el Ejemplo 3 se prueban en modelo animal

(rata), la ligadura de la arteria coronaria descendente anterior izquierda se usa para preparar la modelo animal con insuficiencia cardíaca, el fármaco terapéutico se administra al animal de modelado mediante pre-sonda, una vez al día durante 7 días continuos, la rata se administra continuamente durante tres días después de la modelación exitosa. El experimento encuentra que los compuestos obtenidos muestran una ventaja en la reducción de la presión sanguínea, que es significativamente superior a la administración única, y el resultado está de acuerdo con lo esperado.

La actividad anti-insuficiencia cardíaca (a largo plazo, crónica) de los complejos supermoleculares (compuestos) obtenidos en el Ejemplo 2 y el Ejemplo 3 se prueba adicionalmente en modelo animal (rata), se adopta la ligadura de la arteria coronaria descendente anterior izquierda para preparar el modelo animal con insuficiencia cardíaca, el fármaco terapéutico se administra al animal después de una semana de recuperación postoperatoria por sonda, una vez al día durante 4 semanas continuas, el experimento encuentra que los compuestos obtenidos muestran una ventaja en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca que es significativamente superior al de administración única, y que es significativamente superior a la de la mezcla física.

La persona experta en la técnica puede comprender que el efecto terapéutico de la administración a corto plazo (corto plazo, modelo animal agudo con insuficiencia cardíaca) en animales de prueba se puede observar como el efecto sobre la disminución de la presión sanguínea, mientras que la administración a largo plazo (a largo plazo, modelo animal crónico con insuficiencia cardíaca) se observa como el efecto en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca.

Los resultados experimentales exhaustivos muestran que, al ser comparados con los índices de ratas no tratadas en el grupo modelo de insuficiencia cardíaca, los de las ratas en el grupo compuesto mejoran significativamente; todos los índices de animales en el grupo compuesto también son similares a los de animales sanos en el grupo blanco; al ser comparado con un solo grupo de fármacos con la misma dosis, el grupo compuesto puede retrasar de manera significativa y preferente el proceso de insuficiencia cardíaca de las ratas, y mostrar una actividad anti-insuficiencia cardíaca significativamente mejor comparada con una sola administración.

Los resultados experimentales también indican que la serie de complejos supermoleculares (compuestos) en esta invención también muestran ventajas de propiedad fisicoquímica en comparación con el complejo supermolecular (compuesto) similar que se había descrito; específicamente, la higroscopicidad de la serie de complejos supermoleculares (compuestos) en esta invención es mejor que la de LCZ696, que demostró que LCZ696 es más fácilmente higroscópico que los complejos supermoleculares (compuestos) en esta invención bajo las mismas condiciones; además, la fluidez de la serie de complejos supermoleculares (compuestos) en esta invención es también mejor que la de LCZ696, lo que demuestra que, en las mismas condiciones de ensayo de propiedades del polvo, LCZ696 es apenas fluye, mientras que la fluidez de la serie de complejos supermoleculares (compuestos) en esta invención es relativamente más beneficiosa para el proceso de producción, y el efecto electrostático de los complejos supermoleculares (compuestos) en esta invención es significativamente mejor que el de LCZ696.

Las siguientes ventajas y efectos beneficiosos se incluyen en esta invención con respecto a la tecnología existente:

1. una serie de complejos supermoleculares (compuestos) con acción doble y compuestos de metabolito de allisartan isoproxil (EXP3174) e inhibidor de neprilisina (AHU377) se proporcionan en esta invención, y muestran ventajas de efecto terapéutico, higroscopicidad, fluidez y otros aspectos comparados con los productos descritos en la técnica anterior;

2. se proporcionan métodos de preparación de complejos supermoleculares (compuestos) mencionados en esta invención;

3. se proporciona el uso de complejos supermoleculares (compuestos) en esta invención para la preparación de fármacos que tratan una serie de enfermedades cardiovasculares, tales como hipertensión, insuficiencia cardíaca y otras complicaciones.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1 Espectro XRD del compuesto obtenido en el Ejemplo 2

Figura 2 Espectro DSC del compuesto obtenido en el Ejemplo 2

Figura 3 Comparación del espectro XRD de la sal de calcio EXP3174, AHU377 y el compuesto obtenido en el Ejemplo 2

Figura 4 Espectro TG del compuesto obtenido en el Ejemplo 2

Figura 5 Espectro XRD del compuesto obtenido en el Ejemplo 3

5 Figura 6 Espectro de DSC del compuesto obtenido en el Ejemplo 3

Figura 7 Espectro TG del compuesto obtenido en el Ejemplo 3

10 Figura 8 Curvas de absorción de humedad de los compuestos obtenidos en el Ejemplo 2 y el Ejemplo 3 en el entorno de RH = 75% y RH = 85%

Descripción detallada de los Ejemplos

15 La invención se describió adicionalmente en detalle en combinación con los Ejemplos y las Figuras siguientes

En los siguientes ejemplos:

20 La difracción de polvo de rayos X se probó por el difractómetro de rayos X Empyrean con la condición de prueba del rayo K α objetivo Cu, voltaje: 40KV, corriente: 40mA, hendidura de emisión: 1/32°, hendidura antidispersión: 1/16°, Ranura antidispersión: 7.5 mm, rango de 2 θ : 3°-60°, longitud de la etapa: 0.02° y duración de cada etapa: 40 s.

25 El DSC se probó por el calorímetro de barrido diferencial DSC204F1 fabricado por NETZSCH, Alemania, con la condición de prueba de atmósfera: N₂, 20 mL/min; escáner: calienta desde la temperatura ambiente a 250°C a una velocidad de 10°C/min, y registra la curva de calentamiento.

30 El contenido de agua se probó por el analizador gravimétrico térmico TG209 fabricado por NETZSCH, Alemania con la condición de prueba de atmósfera: N₂, 20 mL/min; escáner: temperatura ambiente a 700°C, velocidad de calentamiento: 10°C/min.

EXP3174 utilizado en el Ejemplo fue de fabricación propia con una pureza del 98.3%.

35 La sal de calcio AHU377 utilizada en el Ejemplo fue fabricada por la propia empresa con una pureza del 99.4%.

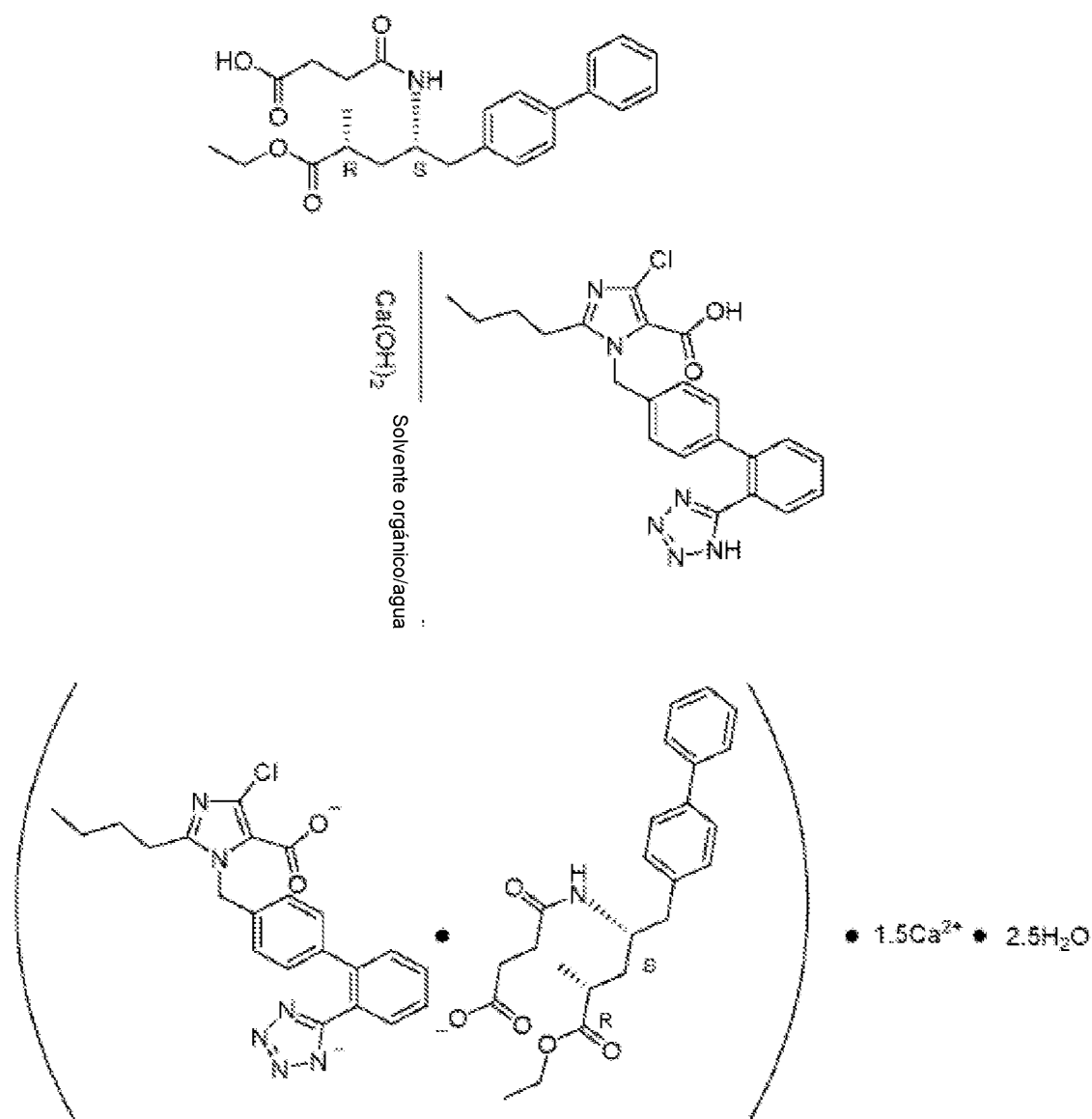
Ejemplo 1

Preparación de ácido libre AHU377

40 Se añadieron 2.1 g de sal de calcio AHU377 y 40 mL de acetato de isopropilo a un matraz de boca única de 250 mL, luego se añadieron 4.5 mL de ácido clorhídrico 2 mol/L a temperatura ambiente, y se agitó para disolver. El líquido se separó, se recogió la capa orgánica y se lavó con 20 mL de agua dos veces; el disolvente se eliminó al vacío a 35 °C para obtener el ácido libre AHU377.

Ejemplo 2

Preparación del compuesto



A temperatura ambiente, se añadieron 2.36 g de ácido libre AHU377 preparado de acuerdo con el método del Ejemplo 1, se añadieron 2 g de EXP3174 y 40 mL de acetona a un matraz de tres bocas de 250 mL, y la mezcla se disolvió para la clarificación; a temperatura ambiente, se añadieron 1.3 equivalentes de hidróxido de calcio sólido correspondientes a AHU377 y 1 mL de agua, se agitó durante 10 h a temperatura ambiente, se suplementaron con 40 mL de acetona, y luego se hizo reaccionar durante 8 h, mediante un embudo Buchner se filtró bajo la protección del nitrógeno, el sólido se lavó con acetona para obtener un sólido blanco, se obtuvieron 3.5 g de sólido con una pureza del 99% mediante HPLC después de secar al vacío a 35°C, y en el producto la relación molar de EXP3174 a AHU377 fue 1:1 a través del cálculo.

La XRD del producto obtenido se mostró como la Figura 1, y el espectro DSC se mostró como la Figura 2.

Al ser comparado con los espectros XRD de la sal de calcio EXP3174 y AHU377, se encontró que (como se muestra en la Figura 3), el producto obtenido era significativamente diferente, y se determinó que el producto obtenido se obtuvo como compuesto mediante análisis exhaustivo de XRD espectro y prueba de HPLC.

Específicamente, el espectro de XRD mostró picos de difracción con una intensidad de absorción comparativamente fuerte a 4.35°, 5.15°, 5.90°, 12.80° y 15.85° con un margen de error aceptable de $\pm 0.2^\circ$. Además, el espectro de XRD del complejo supermolecular (compuesto) también mostró picos de difracción con una repetibilidad comparativamente fuerte a 9.00°, 10.15° y 15.02° con un margen de error aceptable de $\pm 0.2^\circ$; más específicamente, el espectro de XRD que se muestra en la Figura 1 mostró los siguientes picos:

Tabla 1. Pico en el espectro XRD del producto obtenido en el Ejemplo 2

ES 3 014 022 T3

Número	2θ (°, ±0.2)	Intensidad relativa (%)
1	4.35	70.97
2	5.15	100.00
3	5.90	32.67
4	9.00	2.80
5	10.15	3.40
6	12.80	5.21
7	15.02	5.59
8	15.85	8.27
9	16.81	2.57
10	20.27	2.39
11	22.09	2.48
12	23.79	1.34
13	26.22	1.87

El espectro Raman del producto obtenido mostró picos de difracción a la longitud de onda (cm⁻¹) de 3.061 (m), 2.935 (m, ancho), 1.613 (st), 1.521 (m), 1.482 (w), 1.286 (m), 995 (w), 816 (w, ancho) y 408 (w).

5

El espectro infrarrojo (cm⁻¹) del producto obtenido mostró picos de difracción en la banda de onda importante de 3.383 (st, ancho), 1.709 (m), 1.634 (m), 1.577 (st), 1.549 (st), 1.459 (st), 1.407 (st), 1.262 (m), 1.173 (w), 762 (m), 698 (w), etc. Las intensidades en la banda de ondas de absorción se expresaron a continuación, (w) = débil, (m) = medio y (st) = fuerte.

10

Análisis elemental: valores medidos: C: 57.81%; H: 5.48%; N: 10.36%; valor teórico (calculado en (EXP3174·AHU377)³·1.5Ca²⁺·2.5H₂O): C: 58.08%; H: 5.47%; N: 10.31%.

15

El espectro de TG del producto obtenido se mostró en la Figura 4, y el contenido de agua determinado por TG fue del 5.0%.

El contenido de agua determinado por el método de Karl Fischer fue del 4.9%.

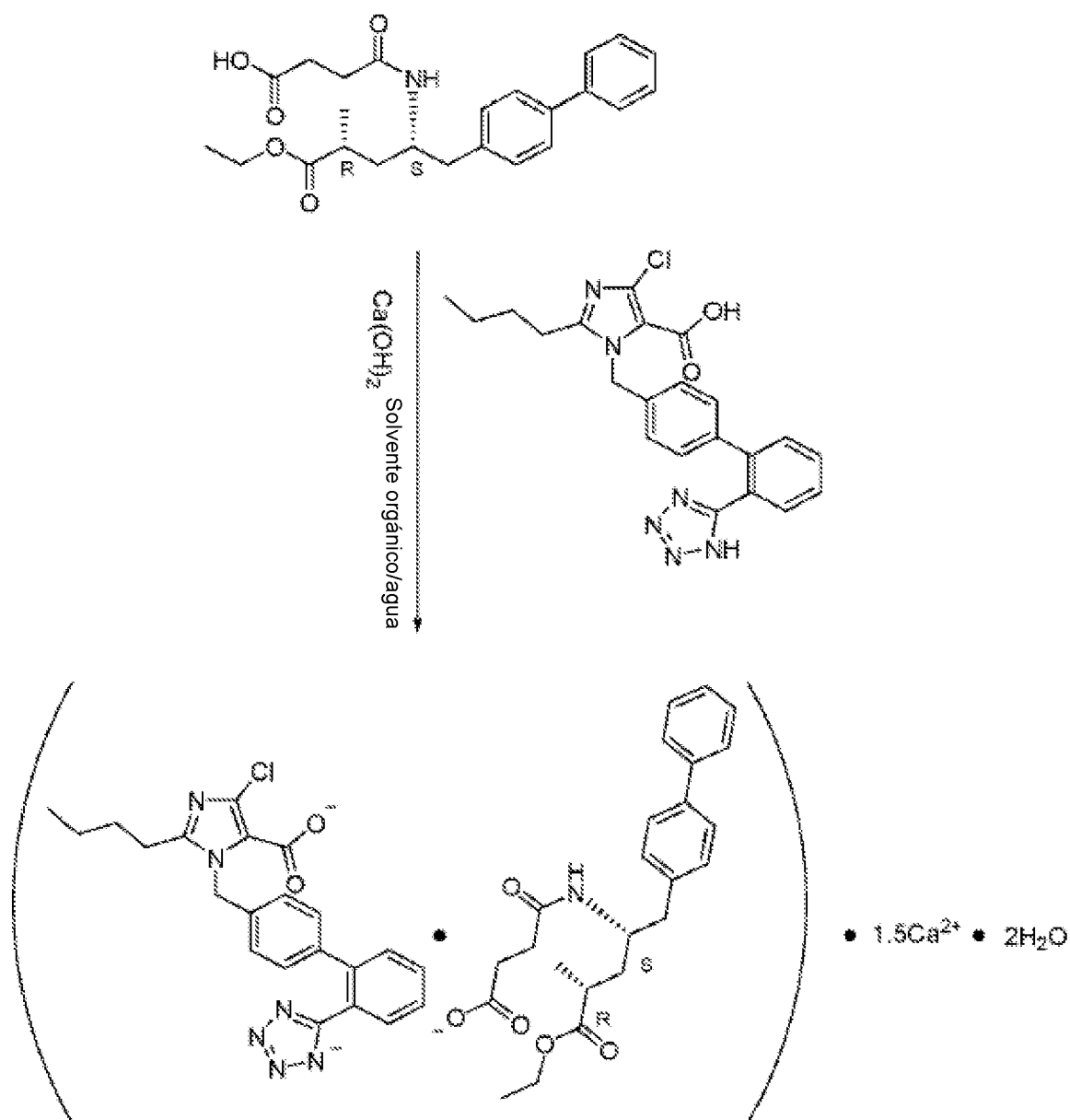
20

El contenido de calcio determinado por el método de absorción atómica fue del 6.46%.

La unidad de fórmula del compuesto descrito fue (EXP3174·AHU377)³·1.5Ca²⁺·2.5H₂O, que se determinó mediante análisis exhaustivo.

25

Ejemplo 3



A temperatura ambiente, se añadieron 2.36 g de ácido libre AHU377 obtenido de acuerdo con el método del Ejemplo 1, se añadieron 2 g de EXP3174 y 40 mL de acetona a un matraz de tres bocas de 250 mL, y la mezcla se disolvió para la clarificación; a temperatura ambiente, se añadieron 1.6 equivalentes de hidróxido de calcio sólido equivalente correspondientes a AHU377 y 0.6 mL de agua, se agitó durante 6 h a 35°C, se suplementaron 40 mL de acetona, y luego se hizo reaccionar durante 8 h a través de un embudo Buchner bajo la protección de nitrógeno, el sólido se lavó con acetona para obtener un sólido blanco, se obtuvieron 3.1 g de sólido después de secarse a vacío a 50°C durante 8 h, y la relación molar de EXP3174 a AHU377 en el producto obtenido fue de 1:1 mediante cálculo.

El espectro de DSC del producto obtenido se muestra en la Figura 6.

Análisis elemental: valores medidos: C: 58.51%; H: 5.41%; N: 10.25%; valores teóricos (calculados en $(\text{EXP3174} \cdot \text{AHU377})^3 \cdot 1.5\text{Ca}^{2+} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$): C: 58.68%; H: 5.46%; N: 10.41%.

El espectro de TG del producto obtenido se mostró en la Figura 7, y el contenido de agua determinado por TG fue 3.97%.

El contenido de agua determinado por el método de Karl Fischer fue del 3.83%.

El contenido de calcio determinado por el método de absorción atómica fue 6.50%.

ES 3 014 022 T3

La unidad de fórmula del compuesto descrito fue $(\text{EXP3174}\cdot\text{AHU377})^3\cdot 1.5\text{Ca}^{2+}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, que se determinó mediante análisis exhaustivo.

- 5 El espectro XRD del producto obtenido tendía a ser consistente con el del producto obtenido en el Ejemplo 2 (como se muestra en la Figura 5), específicamente, el espectro XRD del compuesto supermolecular (complejo) mostraba picos de difracción con una intensidad de absorción comparativamente fuerte a 4.40° , 5.19° y 5.96° con un margen de error aceptable de $\pm 0.2^\circ$. Además, el espectro de XRD del compuesto supermolecular (complejo) también mostró picos de difracción con una repetibilidad comparativamente fuerte a 15.82° y 26.34° con un margen de error aceptable de $\pm 0.2^\circ$; más específicamente, el espectro de XRD que se muestra en la Figura 5 mostró los siguientes picos:

Número	2θ ($^\circ$, ± 0.2)	Intensidad relativa (%)
1	4.40	77.30
2	5.19	100.00
3	5.96	19.78
4	15.82	5.11
5	26.34	3.44

Ejemplo 4

15

Preparación del compuesto

- A temperatura ambiente, se añadieron 2.40 g de ácido libre AHU377 obtenido de acuerdo con el método del Ejemplo 1, 2 g de EXP3174, 40 mL de acetona y 10 mL de isopropanol a un matraz de tres bocas de 250 mL y la mezcla se disolvió para clarificación; a temperatura ambiente, se añadieron 1.5 equivalentes de hidróxido de calcio sólido correspondientes a AHU377 y 1 mL de agua, se agitó durante 6 h a 40°C , se suplementaron 40 mL de acetona y luego se hizo reaccionar durante 8 h, mediante un embudo Buchner se filtró bajo protección de nitrógeno, el sólido se lavó con acetona para obtener un sólido blanco, se obtuvieron 3.3 g de sólido después de secarse al vacío a 35°C durante 16 h con una pureza del 99% mediante prueba de HPLC, y la relación molar de EXP3174 a AHU377 en el producto obtenido fue 1:1 por cálculo.

El espectro XRD, el espectro DSC, el espectro Raman y el espectro infrarrojo del producto obtenido tienden a ser consistentes con los del producto obtenido en el Ejemplo 2.

- 30 La unidad de fórmula del compuesto descrito fue $(\text{EXP3174}\cdot\text{AHU377})^3\cdot 1.5\text{Ca}^{2+}\cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$, que se determinó mediante la combinación de análisis elemental, prueba de contenido de agua y contenido de calcio.

Ejemplo 5

- 35 A temperatura ambiente, se añadieron 2.4 g de ácido libre AHU377 obtenido de acuerdo con el método del Ejemplo 1, 2.1 g de EXP3174 y 50 mL de isopropanol a un matraz de tres bocas de 250 mL, y la mezcla se disolvió hasta la clarificación; a temperatura ambiente, se añadieron 1.4 equivalentes de hidróxido de calcio sólido correspondientes a AHU377 y 0.6 mL de agua, se agitó durante la noche a temperatura ambiente, se suplementaron aproximadamente 40 mL de isopropanol y luego se hizo reaccionar durante 8 h a través de un embudo Buchner se filtró bajo protección de nitrógeno, el sólido se lavó con acetona para obtener un sólido blanco, se obtuvieron 2.8 g de sólido después de secarse al vacío a 50°C durante 10 h, y la relación molar de EXP3174 a AHU377 en el producto obtenido fue de 1:1 a través del cálculo.

- 45 El espectro de XRD y el espectro de DSC del producto obtenido tienden a ser consistentes con el del producto obtenido en el Ejemplo 3.

La unidad de fórmula del compuesto descrito fue $(\text{EXP3174}\cdot\text{AHU377})^3\cdot 1.5\text{Ca}^{2+}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, que se determinó mediante la combinación de análisis elemental, prueba de contenido de agua y prueba de contenido de calcio.

50

Ejemplo comparativo 1

- 55 Se intentó preparar los compuestos de sal de sodio EXP3174-AHU377 de acuerdo con la velocidad de la cantidad añadida y las etapas de preparación en cada ejemplo de la patente WO2007056546, y los resultados fueron los siguientes:

TABLA 2. Tasa de carga y resultados de la reacción

Número	Velocidad de carga	Etapas de preparación	Sistema de solvente	Resultados
1		WO2007056546 Ejemplo 1		Sin sólido precipitado
2		WO2007056546 Ejemplo 2		Precipitación sin compuesto sólido
3		WO2007056546 Ejemplo 3		Sin sólido precipitado
4	WO2007056546 Ejemplo 1	WO2007056546 Ejemplo 1	Isopropil éter	Precipitación sin compuesto sólido
5	WO2007056546 Ejemplo 1	WO2007056546 Ejemplo 1	Acetonitrilo	Precipitación sin compuesto sólido
6	WO2007056546 Ejemplo 1	WO2007056546 Ejemplo 1	Acetato de etilo	Precipitación sin compuesto sólido
7	WO2007056546 Ejemplo 1	WO2007056546 Ejemplo 1	Diclorometano	Precipitación sin compuesto sólido
8	WO2007056546 Ejemplo 1	WO2007056546 Ejemplo 1	Acetato de Isopropilo	Precipitación sin compuesto sólido
9	WO2007056546 Ejemplo 1	WO2007056546 Ejemplo 1	Tetrahidrofurano	Sin sólido precipitado
10	WO2007056546 Ejemplo 1	WO2007056546 Ejemplo 1	Alcohol N-butílico	Sin sólido precipitado

El inventor no pudo obtener el complejo supermolecular (compuesto) particionado con ion de sodio después de probar muchos métodos; también, el inventor tampoco logró obtener el complejo supermolecular (compuesto) particionado por el ion de potasio después de probar muchos métodos.

5

Ejemplo 6

La actividad anti-insuficiencia cardíaca (a corto plazo, aguda) de los compuestos obtenidos en los Ejemplos 2 y 3 se ensayó adicionalmente en un modelo animal (rata).

10

Se preparó el modelo animal con insuficiencia cardíaca usando ligadura de la arteria coronaria descendente anterior izquierda, el fármaco terapéutico para el animal de modelado se administró por pre-ejecución, una vez al día durante 7 días continuos, y se administró continuamente durante tres días después del modelado exitoso.

15

Los detalles fueron los siguientes:

1. Animal de laboratorio

20

Ratas macho SD de 6 semanas de edad;

2. Método experimental

25

Preparación previa a la prueba: Todos los animales se dividieron en 5 grupos por bloques aleatorizados, 6 ratas en cada grupo, y los animales se aclimataron durante 3 días antes del tratamiento de prueba;

30

Proceso experimental: el fármaco terapéutico se administró a los animales de prueba por pre-ejecución, una vez al día durante 7 días continuos. La operación se realizó el día 8, se anestesiaron los animales, se conectó la tráquea a un respirador, se conectó un electrocardiógrafo (ECG) para el registro en tiempo real, se abrió la cavidad torácica entre la 3ª y la 4ª costilla, se ligó la arteria coronaria descendente anterior izquierda. La elevación del segmento ST del ECG indicó una ligadura exitosa, se cerró la cavidad torácica y se suturó la piel;

35

El fármaco terapéutico se administró continuamente a los animales mediante alimentación forzada después de la operación una vez al día durante 3 días continuos. Los animales se anestesiaron el día 11, se midió el ECG y luego se midió la presión arterial y la presión del ventrículo izquierdo mediante intubación de la arteria carótida.

40

3. Registro de datos

Presión sanguínea: presión arterial media (mAP) y presión media del ventrículo izquierdo, los datos en cada grupo fueron los siguientes:

45

Tabla 3. Datos sobre la actividad anti-insuficiencia cardíaca (a corto plazo, aguda) en el modelo animal (rata)

Grupo	Dosis de administración (mg/kg)	mAP (mmHg)	mLVP (mmHg)
Grupo de toracotomía no tratado	--	111	69
EXP3174	30	106	61
Sal de calcio AHU377	30	104	63
LCZ696	68	78	44
Grupo de compuesto 1 del ejemplo 2	22	85	53
Grupo de compuesto 2 del ejemplo 2	67	78	43
Grupo de compuesto 1 del ejemplo 3	22	87	52
Grupo de compuesto 2 del ejemplo 3	67	75	45

De los resultados anteriores, observamos que los animales posmodelados con ligadura de arteria coronaria tenían una elevación compensatoria de la presión sanguínea debido al daño de la función parcial del miocardio. El experto en la técnica podría entender que, en el protocolo de prueba de la actividad anti-insuficiencia cardíaca (a corto plazo, aguda) en el modelo animal (rata), la administración a corto plazo afectó significativamente la presión sanguínea de los animales de prueba, el efecto terapéutico sobre la insuficiencia cardíaca se encarnó primero como el efecto sobre la disminución de la presión arterial, por lo tanto, el resultado experimental estuvo de acuerdo con lo esperado; A partir de los datos obtenidos, observamos que el efecto de mejora de la medicación única de EXP3174 y AHU377 sal de calcio en mAP y mLVP no fue significativo en comparación con aquellos en el grupo animal no tratado, mientras que el efecto sobre la disminución de la presión sanguínea en los Ejemplos 2 y 3 significativo, y mostró dosis-dependiente por comparación de diferentes dosis; La posterior prueba adicional encontró que el peso de los animales de prueba en el grupo correspondiente también aumentó significativamente en comparación con los del grupo no tratado.

Ejemplo 7

La actividad anti-insuficiencia cardíaca (a largo plazo, crónica) de los compuestos obtenidos en el Ejemplo 2 y el Ejemplo 3 se ensayó adicionalmente en un modelo animal (rata).

Se preparó el modelo animal con insuficiencia cardíaca utilizando ligadura de arteria coronaria descendente anterior izquierda, el fármaco terapéutico se administró a los animales por sonda después de una semana de recuperación postoperatoria, una vez por día durante 4 semanas continuas, el efecto de los índices de insuficiencia cardíaca primaria de los animales de prueba, tal como la frecuencia cardíaca, el área de fibrosis miocárdica, la fracción de eyección, el grosor de la pared cardíaca se registraron y los datos obtenidos fueron los siguientes:

Tabla 4. Datos sobre la actividad anti-insuficiencia cardíaca (a largo plazo, crónica) en el modelo animal (rata)

Grupo	Dosis de administración (mg/kg)	Frecuencia cardíaca (latidos/min)	Fibrosis de miocardio (%)	Fracción de eyección (%)	Espesor de pared cardíaca (cm)
Grupo sano blanco*	--	419.7	3.24	87.2	0.214
Grupo Modelo**	--	392.1	40.09	51.3	0.147
Grupo de mezclado físico***	70	405.8	8.96	63.1	0.157
EXP3174	30	427.8	62.89	47.9	0.136
Sal de calcio AHU377	30	378.9	54.88	53.3	0.137
LCZ696	68	412.9	11.51	70.6	0.169
Grupo de compuesto 1 del ejemplo 2	22	414.9	7.56	66.6	0.178
Grupo de compuesto 2 del ejemplo 2	67	423.2	4.22	65.9	0.164
Grupo de compuesto 1 del ejemplo 3	22	417.3	7.37	65.3	0.181
Grupo de compuesto 2 del ejemplo 3	67	422.5	4.17	66.8	0.169

del ejemplo 3

* Las ratas no fueron administradas con fármacos después de la toracotomía.

** Las ratas no fueron administradas con fármacos después de la toracotomía y la ligadura.

*** La mezcla física obtenida de la mezcla de sales de calcio EXP3174 y AHU377 en la relación de masa de 1:1.

Los resultados experimentales anteriormente mencionados mostraron que tanto los grupos de compuestos de baja dosis (22 mg/kg) como de dosis alta (67 mg/kg) mostraron la eficacia de la insuficiencia cardíaca crónica;

Específicamente, comparados con los índices de ratas no tratadas en el grupo modelo de insuficiencia cardíaca, los de los grupos compuestos de dosis bajas (22 mg/kg) y dosis altas (67 mg/kg) mejoraron significativamente, cerrándose a los de animales en aquellos grupos de operación simulada.

Al ser comparados con índices en un solo grupo de fármacos con la misma dosis, tanto los grupos de dosis bajas (22 mg/kg) como los de dosis alta (67 mg/kg) podrían retrasar de manera significativa y preferible el proceso de insuficiencia cardíaca de ratas, y mostró una actividad anti-insuficiencia cardíaca significativamente mejor que una sola medicación;

Lo que es más importante, en la comparación con los índices de la mezcla física, nos sorprendió encontrar que tanto los grupos de compuestos de baja dosis (22 mg/kg) como de alta dosis (67 mg/kg) mostraron mejores efectos terapéuticos que otros grupos experimentales, y más inesperadamente, el grupo de dosis baja mostró un mejor efecto terapéutico que la mezcla física; en la comparación con el grupo de prueba LCZ696 (68 mg/kg), encontramos que el rendimiento integral en el mismo grupo de dosis (67 mg/kg) fue ligeramente mejor, mientras que incluso el grupo de dosis baja (22 mg/kg) también mostró actividad al grupo de prueba LCZ696, e incluso mostró una ligera ventaja en algunos índices, tales como fibrosis de miocardio, lo que indica que los complejos supermoleculares (compuestos) mencionados en esta invención eran potenciales para alcanzar el objetivo de reducción en la dosificación clínica.

Ejemplo 8

Higroscopicidad

Se preparó LCZ696 (pureza: 99.4%) usando el método descrito en el Ejemplo 1 de la patente WO2007056546, respectivamente se analizó la higroscopicidad (muestra simple) junto con las muestras obtenidas en el Ejemplo 2 mencionado anteriormente y el Ejemplo 3 bajo las condiciones de RH 75% y RH 85%, y los resultados se muestran en el tabla a continuación (para la curva de absorción de humedad, ver Figura 8):

Tabla 5. Datos comparativos de higroscopicidad

Muestra de prueba	RH 75% (%)		RH 85% (%)	
	Día 0	Día 5	Día 0	Día 5
LCZ696	4.9	--*	4.9	--
Ejemplo 2	4.9	+1.31%**	4.9	+1.57%
Ejemplo 3	3.83	+1.50%	3.83	+2.10%

* La muestra convertida en solución (delicuescencia), y el contenido de agua no pudo ser probado.

** Incremento del contenido de agua.

De la tabla anterior, observamos que los complejos supermoleculares (compuestos) mencionados en esta invención mostraron ventajas de higroscopicidad (baja) mejores de lo esperado bajo las condiciones de RH 75% y RH 85%, específicamente, aunque los complejos supermoleculares (compuestos) obtenidos en el Ejemplo 2 y el Ejemplo 3 se expusieron al ambiente de almacenamiento de RH 75% durante 5 días, los incrementos de masa fueron <2.00% y cuando se expusieron al ambiente de almacenamiento de RH 85%, los incrementos de masa fueron <2.50%, visto desde las curvas de absorción de humedad de ambos complejos, el incremento de la masa de las muestras fue suave durante el experimento, lo que demuestra que las muestras habían mejorado la higroscopicidad (menor); además, la pureza de las muestras de prueba tampoco mostró cambios significativos en la prueba de contenido realizada simultáneamente en el experimento;

Sin embargo, para LCZ696, las muestras de prueba no pudieron mantener el estado sólido hasta el final del experimento, específicamente, las muestras de prueba fueron completamente delicuescentes al final del experimento (en una forma soluble), mostrando que su higroscopicidad (baja) era mucho menos que el de los complejos supermoleculares (compuestos) mencionados en esta invención.

5

Fluidez

LCZ696 se preparó usando el método descrito en el Ejemplo 1 de la patente WO2007056546, las muestras obtenidas en el Ejemplo 2 mencionado anteriormente y el Ejemplo 3 se trituraron en el intervalo de distribución de tamaños de partículas similar al de LCZ696, y los resultados se muestran en el tabla siguiente.

10

Tabla 6. Datos de comparación de fluidez

Muestra de prueba	Ángulo de respuesta (°)	Densidad volumétrica (g/mL)
LCZ696	57.35	0.527
Ejemplo 2	44.79	0.641
Ejemplo 3	43.64	0.630

15

A partir de los datos anteriores, se observó que los complejos supermoleculares (compuestos) mencionados en esta invención mostraron fluidez moderada, y ningún fenómeno electrostático obvio, y la propiedad del polvo era mejor que la de LCZ696; sin embargo, para LCZ696, mostró estancado durante la prueba de ángulo de reposo, por lo tanto, para causar dificultades durante el despido, su ángulo de reposo determinado fue de 57.35° después del despido fuerte, el polvo mostró un fenómeno electrostático con menos densidad aparente, y las propiedades del polvo fueron más pobres que las de los complejos supermoleculares (compuestos) obtenidos en el Ejemplo 2 y en el Ejemplo 3.

20

Ejemplo 9

25

Prueba de estabilidad acelerada

Los complejos supermoleculares (compuestos) obtenidos en el Ejemplo 2 y el Ejemplo 3 se almacenaron bajo condiciones de 40°C, 75% de RH durante 6 meses para probar la estabilidad de almacenamiento en condiciones aceleradas (con paquete), y los resultados se muestran en el tabla a continuación:

30

Tabla 7. Datos de estabilidad acelerada

Muestra	Día 0	Día 30	Día 180
Ejemplo 2	99.85%	99.79%	99.84%
Ejemplo 3	99.91%	99.94%	99.90%

35

Conocido a partir de los datos anteriores, los complejos supermoleculares (compuestos) en esta invención mostraron una mayor estabilidad que cumplía los requisitos de la preparación farmacéutica clínica.

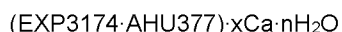
40

En conclusión, mostró que la serie de complejos supermoleculares (compuestos) en esta invención tenían mejores efectos anti-insuficiencia cardíaca aguda y efectos de insuficiencia cardíaca crónica con menos dosis de administración, que son útiles para reducir la dosificación del fármaco; mostraron mayores ventajas en propiedades higroscópicas (menores) que las de los productos predicados abiertos en tecnologías existentes, también mostraron ventajas en las propiedades del polvo (fluidez, densidad aparente, etc.) y mostraron propiedades fisicoquímicas más convenientes para la producción; podríamos saber que la serie de complejos supermoleculares (compuestos) en esta invención tenía una mejor perspectiva en la medicación clínica.

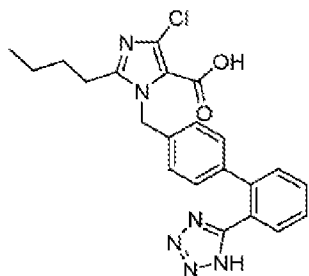
REIVINDICACIONES

1. Compuestos complejos supermoleculares de metabolito del receptor de angiotensina II e inhibidor de NEP, la unidad de fórmula de los compuestos se muestra a continuación:

5



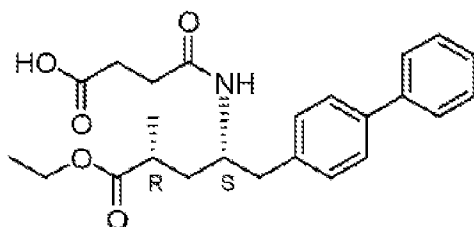
la estructura de EXP3174 se muestra a continuación,



EXP3174

10

la estructura de AHU377 se muestra a continuación,



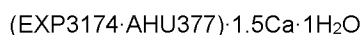
AHU377

15

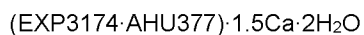
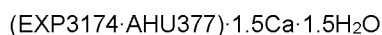
en donde x es 1.5. o 2, n es un valor arbitrario de 1 a 3, opcionalmente en donde n es un valor arbitrario de 2 a 3.

2. Los compuestos complejos supermoleculares de metabolito del receptor de angiotensina II e inhibidor de NEP según la reivindicación 1, en donde la unidad de fórmula de los compuestos es cualquiera de las siguientes:

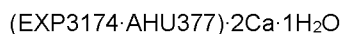
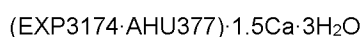
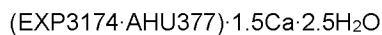
20



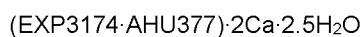
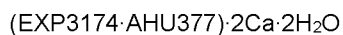
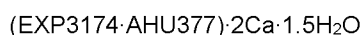
25



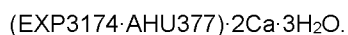
30



35



40



3. Los compuestos complejos supermoleculares de metabolito del receptor de angiotensina II e inhibidor de NEP según cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en donde el espectro XRD de los compuestos muestra picos de difracción a 4.35°, 5.15°, 5.90°, 12.80° y 15.85° con el intervalo de error aceptable de $\pm 0.2^\circ$, o el

45

ES 3 014 022 T3

espectro XRD de los compuestos muestra picos de difracción a 4.40°, 5.19° y 5.96° con un margen de error aceptable de ± 0.2°, opcionalmente en el que el espectro de XRD de los compuestos también muestra picos de difracción a 9.00°, 10.15° y 15.02° con un margen de error aceptable de ± 0.2°, o el espectro de XRD de los compuestos también muestra picos de difracción a 15.82° y 26.34° con un margen de error aceptable de ± 0.2°.

5

4. Los compuestos complejos supermoleculares de metabolito del receptor de angiotensina II e inhibidor de NEP según la reivindicación 3, en donde el espectro XRD de los compuestos muestra picos de difracción como se indica a continuación:

10

Número	2θ (°, ±0.2)	Intensidad relativa (%)
1	4.35	70.97
2	5.15	100.00
3	5.90	32.67
4	9.00	2.80
5	10.15	3.40
6	12.80	5.21
7	15.02	5.59
8	15.85	8.27
9	16.81	2.57
10	20.27	2.39
11	22.09	2.48
12	23.79	1.34
13	26.22	1.87

o el espectro XRD de los compuestos muestran los picos de difracción que se indican a continuación:

Número	2θ (°, ±0.2)	Intensidad relativa (%)
1	4.40	77.30
2	5.19	100.00
3	5.96	19.78
4	15.82	5.11
5	26.34	3.44

5. Los compuestos supercomplejos moleculares de metabolito del receptor de angiotensina II e inhibidor de NEP según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el espectro DSC de los compuestos muestran dos picos endotérmicos de deshidratación a 94.4±10 °C y 164.1±10 °C, y un pico endotérmico en el espectro a 244.6±5 °C; o bien, el espectro DSC de los compuestos muestra dos picos endotérmicos de deshidratación a 95.4±10 °C y 166.4±10 °C, y un pico endotérmico en el espectro a 242.4±5 °C.

20

6. El método de preparación de los compuestos de complejo supermolecular de metabolito del receptor de angiotensina II e inhibidor de NEP según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde se incluyen las siguientes etapas de preparación:

1) se libera la sal AHU377 para obtener la solución que contiene AHU377 ácido libre, y se elimina el disolvente;

25

2) se disuelven el ácido AHU377 libre obtenido en la etapa 1) y el EXP3174 en disolvente orgánico;

3) se disuelven o suspenden en disolvente adecuado la sal iónica de calcio farmacéuticamente aceptable y/o el hidróxido iónico de calcio

30

4) la mezcla obtenida en la etapa 3) se añade lentamente a la solución obtenida en la etapa 2), o la sal iónica de calcio y/o el hidróxido iónico de calcio (directamente en forma sólida) se añaden o se añaden respectivamente con disolvente al sistema de reacción en orden;

35

ES 3 014 022 T3

5) se agita la mezcla para su cristalización completa, se filtra para obtener las precipitaciones sólidas, y se seca para obtener el compuesto;

5 en donde la sal de AHU377 mencionada en la etapa 1) se selecciona entre sal de calcio, sal de magnesio, sal de zinc, sal férrica, sal de sodio, sal de amina, sal de dietilamina, trietilamina, el disolvente mencionado en la etapa 1) es acetato de isopropilo; la relación molar de EXP3174 a AHU377 mencionada en la etapa 2) es de 0.7~1.2: 1; en la etapa 3), la relación molar de la cantidad de ion calcio en la sal iónica de calcio con AHU377 es de 1,3~2: 1; el/los disolvente(s) adecuado(s) mencionado(s) es/son acetona y/o isopropanol; además, es necesario añadir al disolvente una cantidad adecuada de agua, la relación peso/volumen de AHU377 con respecto al agua es de 1~8:1 g/mL; preferentemente, cuando la relación peso/volumen de AHU377 con respecto al agua es de 2.36:1 g/ml, la unidad de fórmula del compuesto obtenido de la reacción es (EXP3174·AHU377)·1.5Ca·2.5H₂O; cuando la relación peso/volumen de AHU377 con respecto al agua es de 3.93:1 g/mL, la unidad de fórmula del compuesto obtenido de la reacción es (EXP3174·AHU377)·1.5Ca·2H₂O; la temperatura de reacción mencionada en la etapa 4) está comprendida entre temperatura ambiente y 45 °C.

7. Compuestos de complejo supermolecular de metabolito del receptor de angiotensina II e inhibidor de NEP según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en la preparación de fármaco para el tratamiento de insuficiencia cardiaca o hipertensión, opcionalmente en donde el porcentaje en masa del compuesto en el fármaco es de 0.1~99.9%.

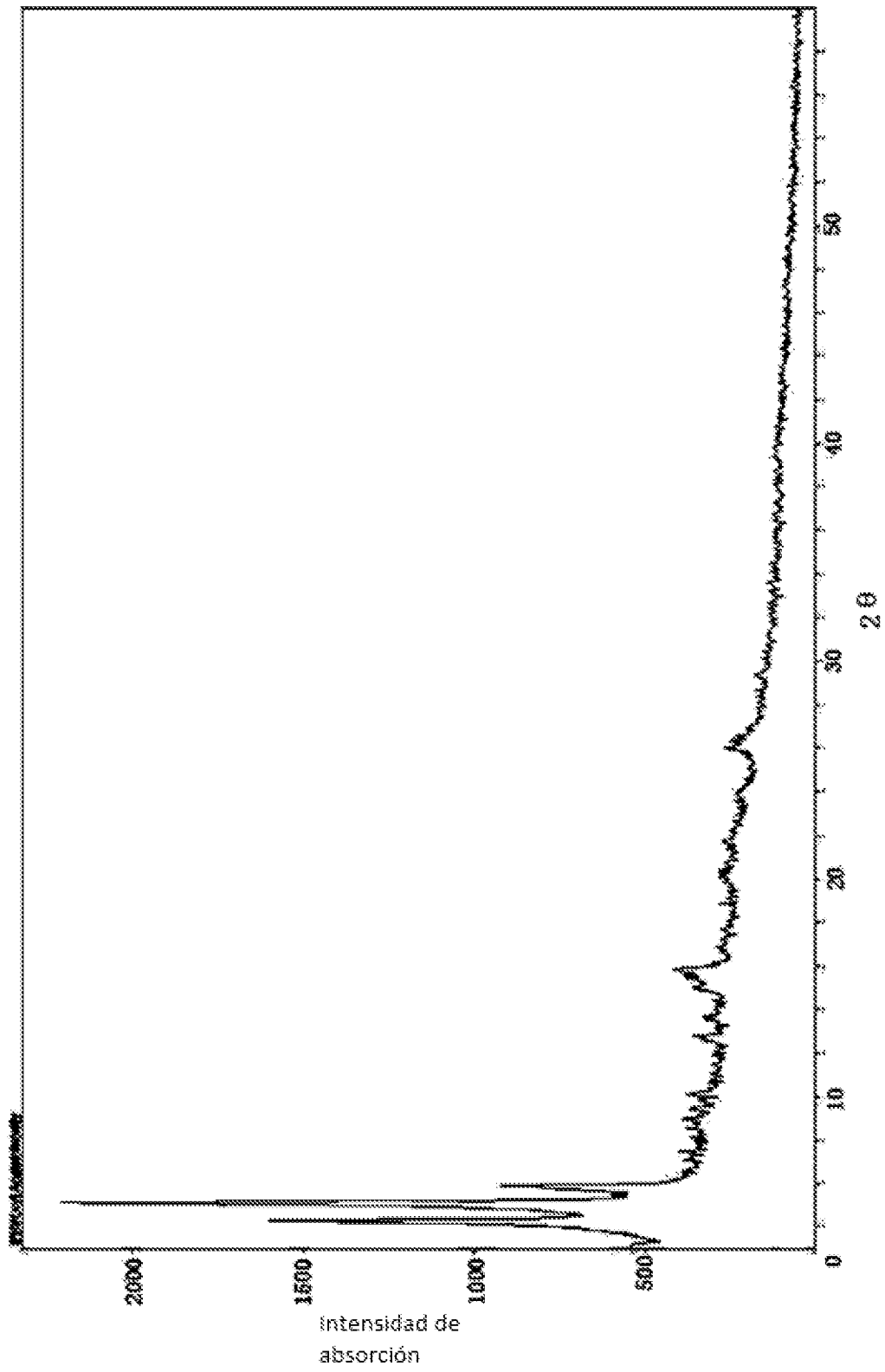


Figura 1

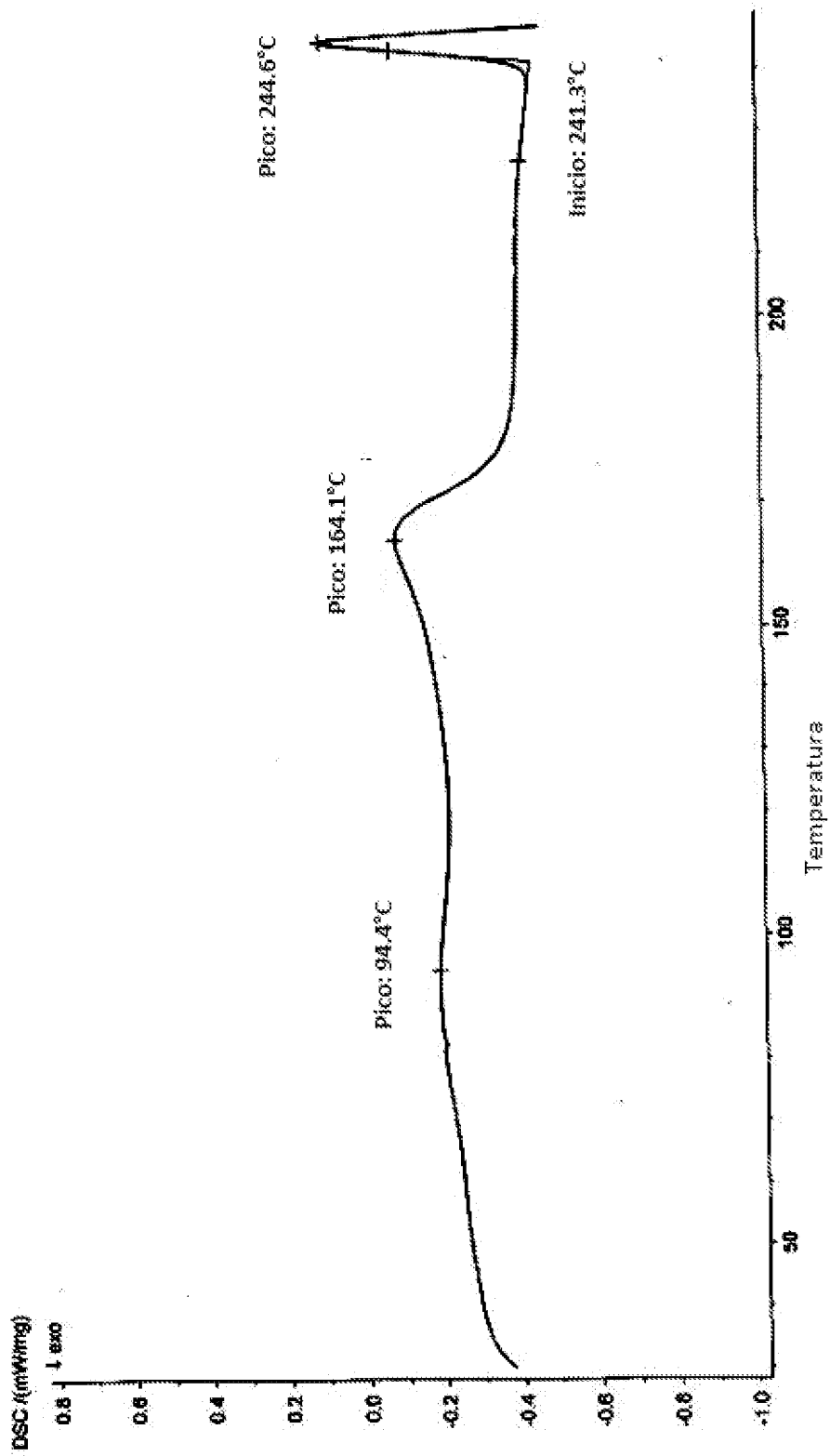


Figura 2

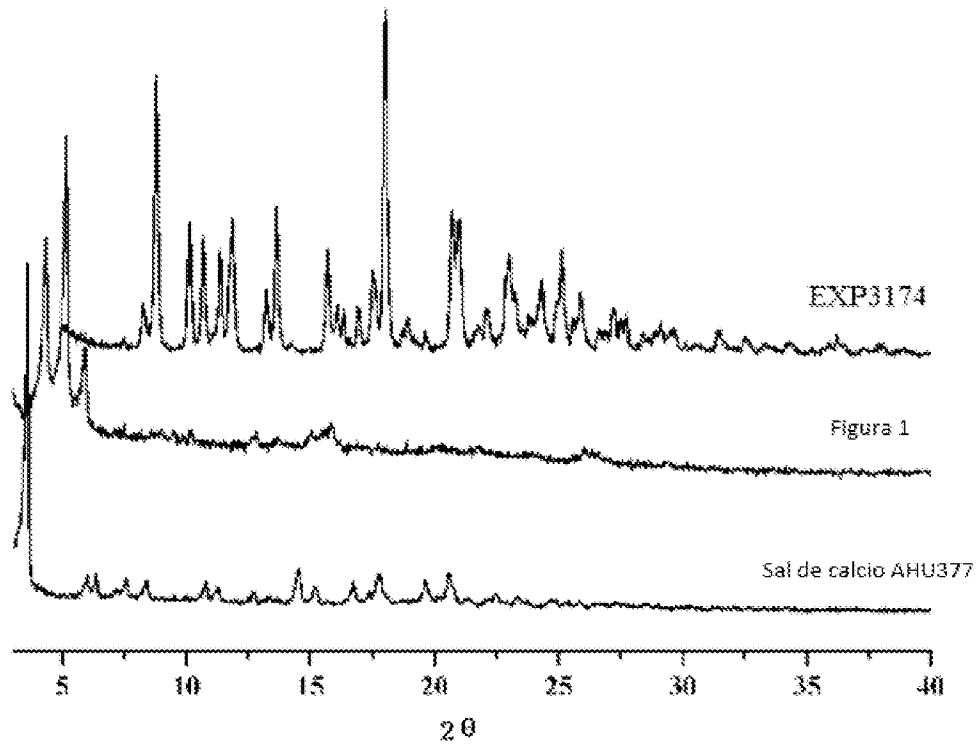


Figura 3

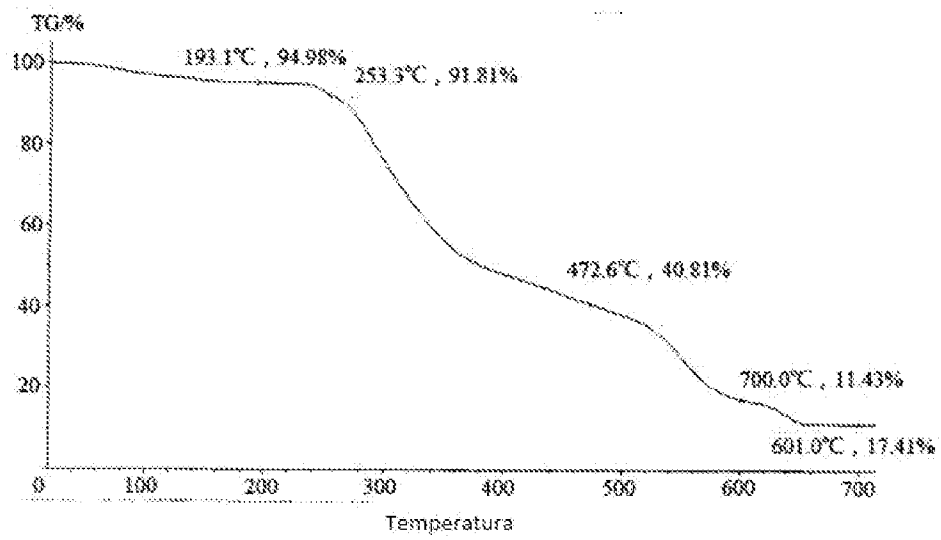


Figura 4

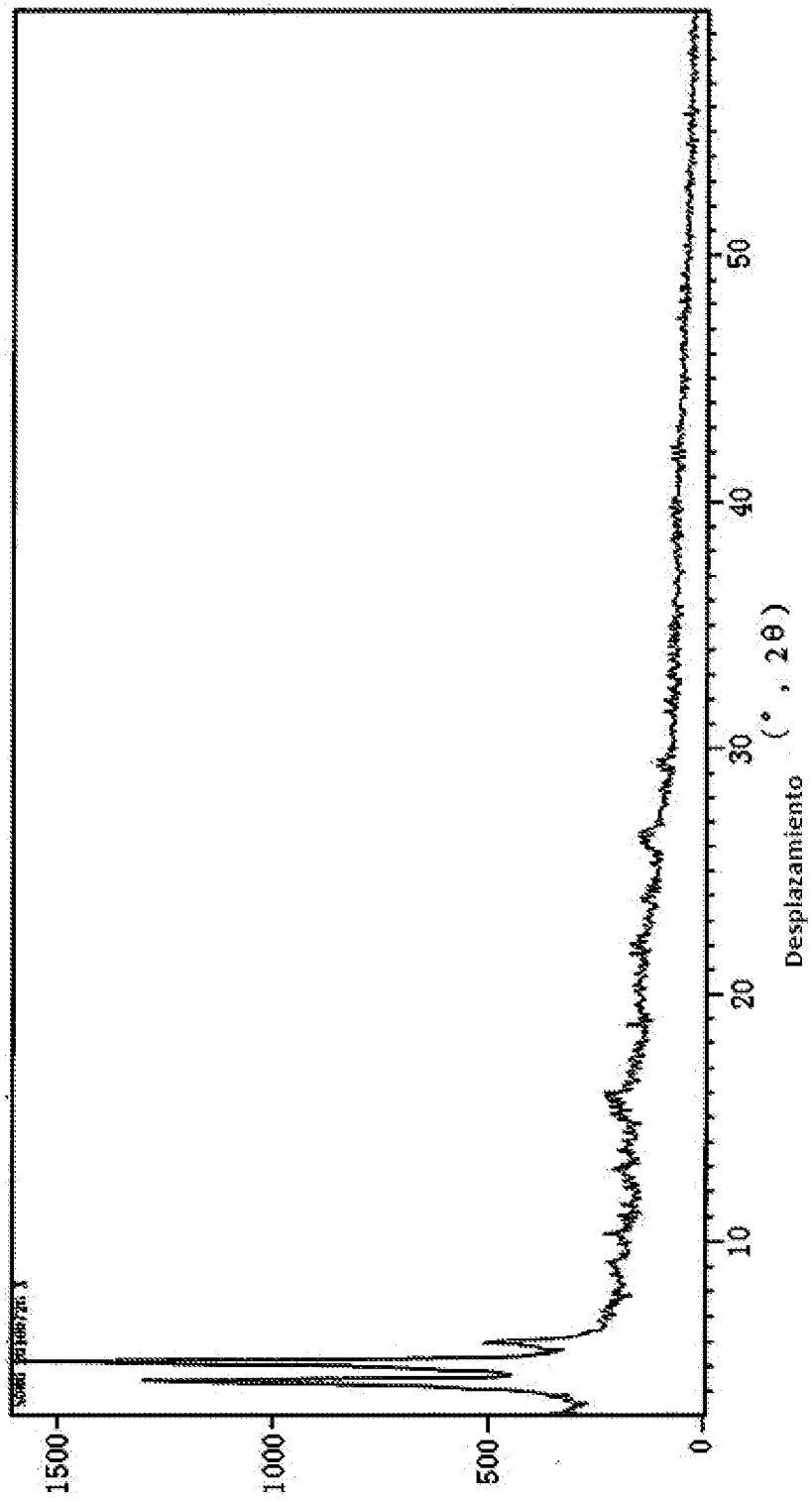


Figura 5

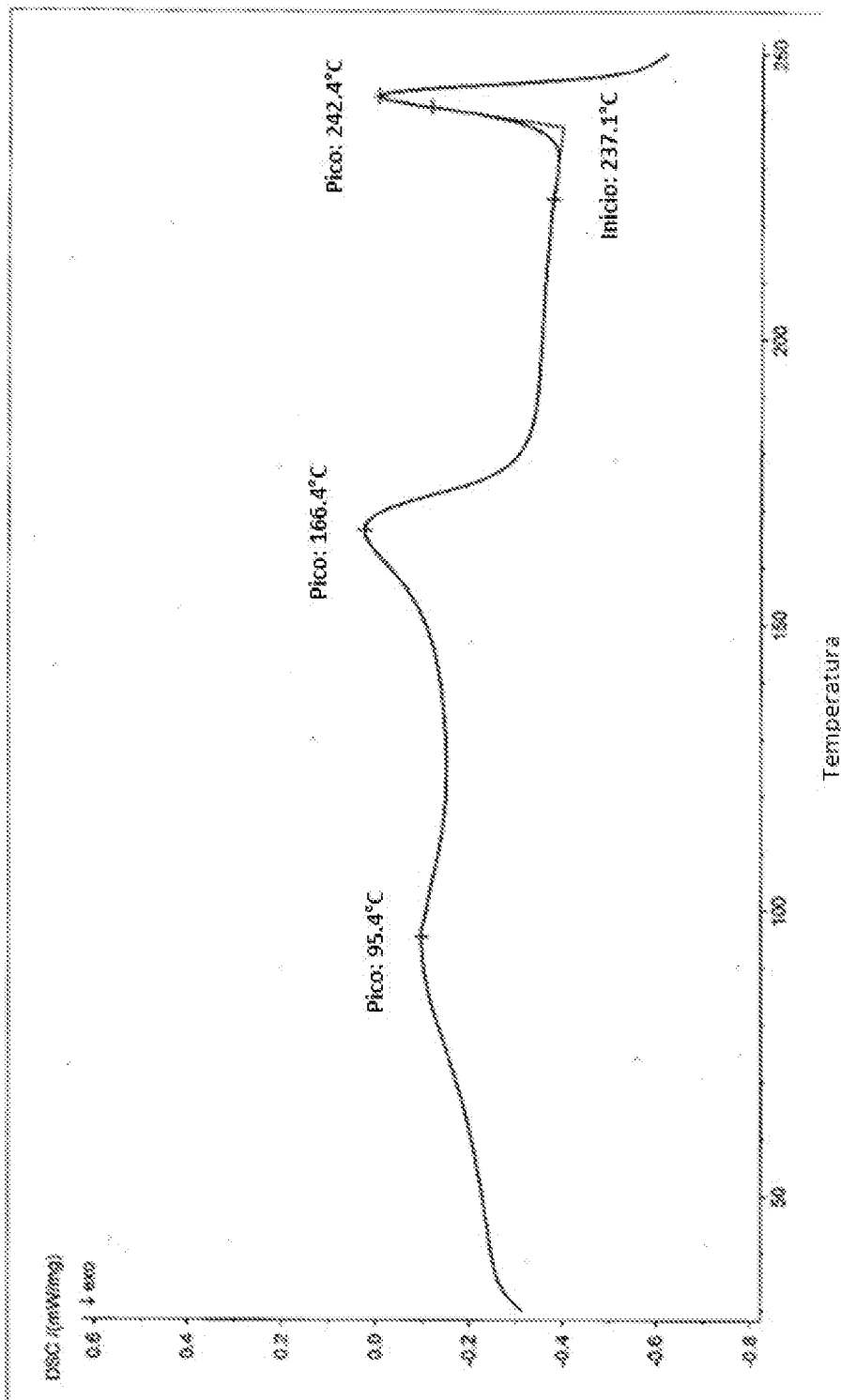


Figura 6

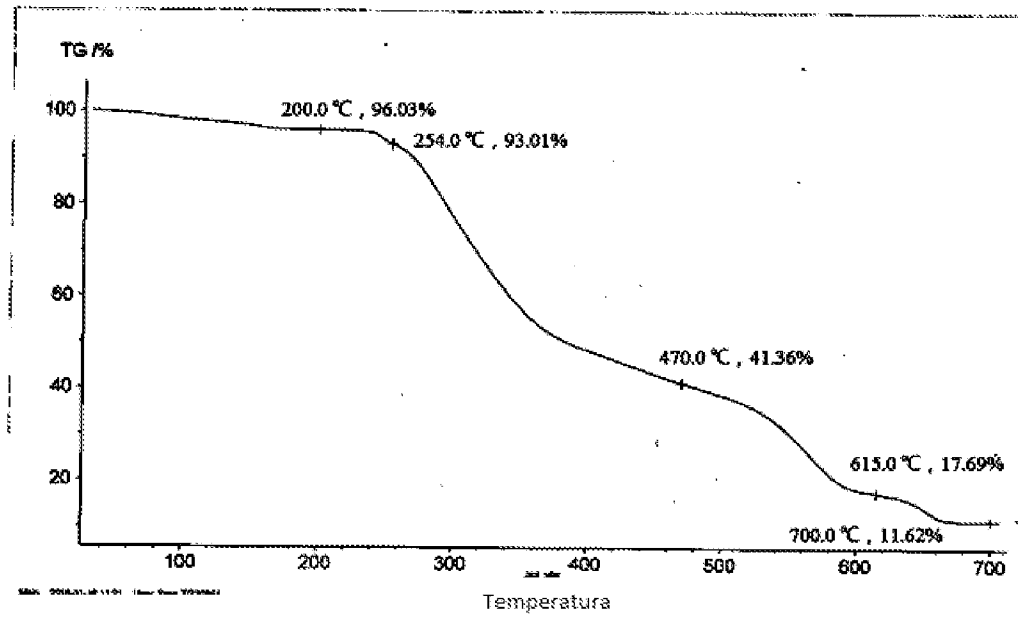


Figura 7

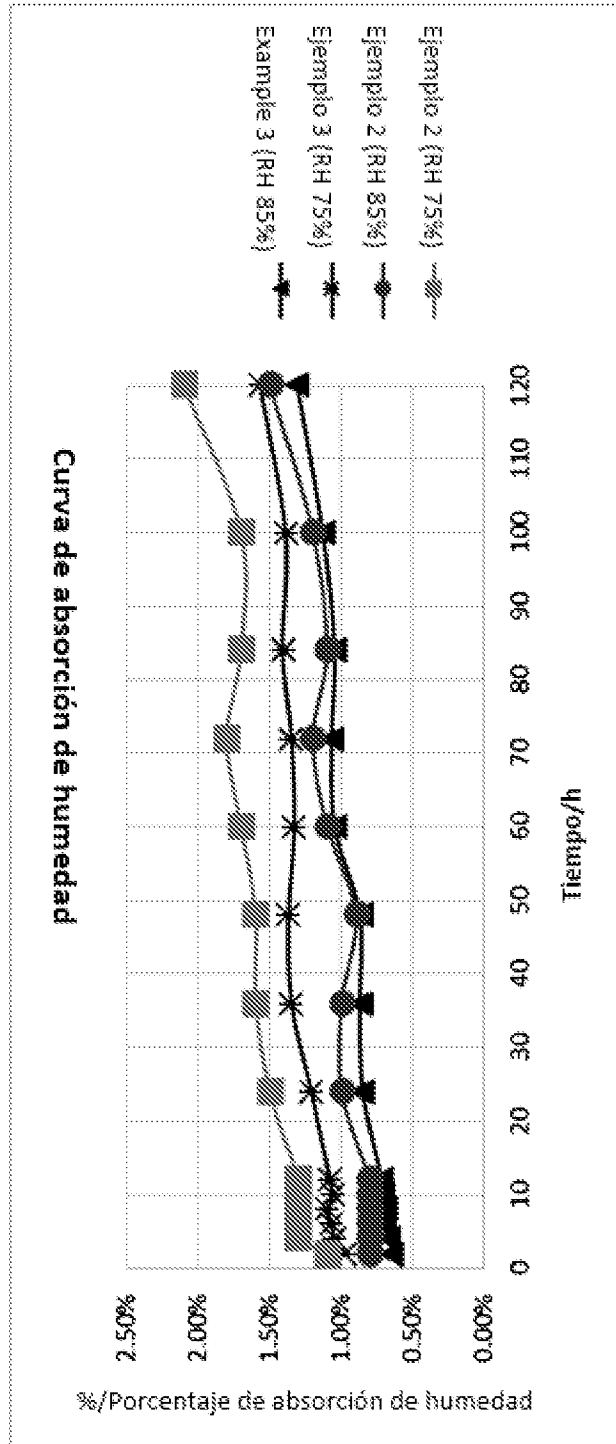


Figura 8