



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101098689 B

(45) 授权公告日 2013. 02. 13

(21) 申请号 200680001733. 0

A61K 31/41 (2006. 01)

(22) 申请日 2006. 11. 08

A61P 3/10 (2006. 01)

(30) 优先权数据

A61P 9/00 (2006. 01)

60/735, 093 2005. 11. 09 US

A61P 9/10 (2006. 01)

60/735, 541 2005. 11. 10 US

60/789, 332 2006. 04. 04 US

60/822, 086 2006. 08. 11 US

(56) 对比文件

W0 2004/101535 A1, 2004. 11. 25, 说明书第 2 页倒数第 3 行至倒数第 1 行.

(85) PCT 申请进入国家阶段日

CN 1615134 A, 2005. 05. 11, 说明书第 3 页第 7 行至第 10 行, 第 7 页第 12 行至第 14 行, 第 9 页第 3 行至第 14 页第 9 行.

2007. 07. 02

(86) PCT 申请的申请数据

EP 0443983 A1, 1991. 08. 28, 说明书第 1 页第 2 行至第 43 页第 24 行.

PCT/US2006/043710 2006. 11. 08

(87) PCT 申请的公布数据

US 5217996 A, 1993. 06. 08, 说明书第 1 栏第 6 行至第 23 栏第 38 行.

W02007/056546 EN 2007. 05. 18

(73) 专利权人 诺瓦提斯公司

审查员 张朝磊

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 冯丽丽 S·E·格特弗雷德森

P·卡普因斯基 P·A·萨顿

M·普拉沙德 M·J·吉尔吉斯

胡斌 刘玉刚 T·J·布莱克洛克

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 黄革生 隋晓平

(51) Int. Cl.

A61K 31/216 (2006. 01)

权利要求书 2 页 说明书 27 页 附图 2 页

(54) 发明名称

血管紧张素受体拮抗剂和 NEP 抑制剂的药物组合产品

(57) 摘要

本发明公开特定的组合产品、连接的前药或血管紧张素受体拮抗剂和 NEPi 的复合物, 它们可以用于治疗高血压。

1. 固体形式的 [3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基{2''-(四唑-5-基)联苯-4'-基甲基}氨基)丁酸]三钠半五水合物。

2. 权利要求1的复合物,为结晶形式。

3. 权利要求2的 [3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基{2''-(四唑-5-基)联苯-4'-基甲基}氨基)丁酸]三钠半五水合物超分子的不对称单位,该不对称单位每个均含有6个ARB和NEPi部分、18个钠原子和15个水分子,其中所述ARB部分为(S)-N-戊酰基-N-[[2'-(1H-四唑-5-基)联苯-4-基]甲基]-缬氨酸部分,所述NEPi部分为(2R,4S)-5-联苯-4-基-4-(3-羧基-丙酰基氨基)-2-甲基-戊酸乙基酯分子部分。

4. 权利要求1、2或3的复合物,其特征在于:

傅里叶变换衰减全反射红外光谱法(ATR-FTIR)光谱具有下列吸收光带,以波长的倒数表示(cm^{-1})($\pm 2\text{cm}^{-1}$):2956(w),1711(st),1637(st),1597(st),1488(w),1459(m),1401(st),1357(w),1295(m),1266(m),1176(w),1085(m),1010(w),1942(w),907(w),862(w),763(st),742(m),698(m),533(st)。

5. 权利要求1、2或3的复合物,其特征在于:

Scintag XDS2000粉末衍射仪测定的X-射线粉末衍射图谱包括下列晶格平面间隔:
 $d[\text{\AA}](\pm 0.1\text{\AA})$: 21.2(s),17.0(w),7.1(s),5.2(w),4.7(w),4.6(w),4.2(w),3.5(w),3.3(w)。

6. 双重作用的复合物,该复合物为 [3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基{2''-(四唑-5-基)联苯-4'-基甲基}氨基)丁酸]三钠半五水合物,可如下获得:

- (i) 将(S)-N-戊酰基-N-[[2'-(1H-四唑-5-基)-联苯-4-基]-甲基]-缬氨酸和(2R,4S)-5-联苯-4-基-4-(3-羧基-丙酰基氨基)-2-甲基-戊酸乙酯溶于适当的溶剂;
- (ii) 将碱性Na化合物溶于适当的溶剂;
- (iii) 将步骤(i)和(ii)得到的溶液合并;
- (iv) 固体沉淀并将其干燥,得到双重作用的复合物;或者
通过下列步骤并交换步骤(i)和(ii)中使用的溶剂得到双重作用的复合物:
- (iva) 将由步骤(iii)得到的溶液蒸发至干;
- (va) 将固体再溶于适当的溶剂;
- (via) 固体沉淀并将其干燥,得到双重作用的复合物。

7. 权利要求6的复合物,其中步骤(i)和/或(va)中的适当的溶剂为丙酮。

8. 权利要求6的复合物,其中碱性Na化合物为NaOH、 Na_2CO_3 、 NaHCO_3 、NaOMe、NaOAc或NaOCHO。

9. 权利要求6的复合物,为结晶形式。

10. 权利要求6-9中任一项的复合物,为水合物形式。

11. 药用组合物,它包含:

(a) 权利要求1-10中任一项的复合物;和

(b) 至少一种药学上可接受的添加剂。

12. 权利要求 11 的药用组合物,其中药学上可接受的添加剂选自:稀释剂或填充剂、崩解剂、助流剂、润滑剂、粘合剂、着色剂及其组合。

13. 制备权利要求 1-5 中任一项的双重作用的复合物的方法,所述方法包括下列步骤:

(i) 将 (S)-N-戊酰基-N-{[2'-(1H-四唑-5-基)-联苯-4-基]-甲基}-缬氨酸和 (2R,4S)-5-联苯-4-基-4-(3-羧基-丙酰基氨基)-2-甲基-戊酸乙酯溶于适当的溶剂;

(ii) 将碱性 Na 化合物溶于适当的溶剂;

(iii) 将步骤 (i) 和 (ii) 得到的溶液合并;

(iv) 固体沉淀并将其干燥,得到双重作用的复合物;或者

通过下列步骤并交换步骤 (i) 和 (ii) 中使用的溶剂得到双重作用的复合物:

(iva) 将由步骤 (iii) 得到的溶液蒸发至干;

(va) 将固体再溶于适当的溶剂;

(via) 固体沉淀并将其干燥,得到双重作用的复合物。

14. 权利要求 13 的方法,其中步骤 (i) 和 / 或 (va) 中适当的溶剂为丙酮。

15. 权利要求 13 或 14 的方法,其中碱性 Na 化合物为 NaOH、Na₂CO₃、NaHCO₃、NaOMe、NaOAc 或 NaOCHO。

16. 权利要求 1-10 中任一项的复合物在制备治疗或预防疾病或病症的药物中的用途,所述疾病或病症选自高血压、急性和慢性心衰、左心室功能不全、肥厚型心肌病、糖尿病性心肌病、室上型和心室型心律失常、房颤、心房扑动、有害的血管重塑、心肌梗塞及其后遗症、动脉硬化症、不稳定或稳定型绞痛、继发性醛甾酮过多症、原发性和继发性肺高血压、糖尿病性肾病、血管球性肾炎、硬皮病、肾小球硬化、原发性肾病蛋白尿、肾血管高血压、糖尿病性视网膜病、偏头痛、外周血管疾病、雷诺氏病、腔增生、认知障碍、青光眼和中风。

17. 权利要求 1-10 中任一项的复合物在制备治疗或预防疾病或病症的药物中的用途,所述疾病或病症选自充血性心衰、糖尿病和非糖尿病性肾功能不全和心绞痛。

18. 权利要求 16 的用途,所述疾病或病症为高血压。

19. 药用组合物,它包括:

(a) 权利要求 1-10 中任一项的复合物;

(b) 治疗药物,选自抗糖尿病药、降血脂药、抗肥胖药和抗高血压药;和

(c) 至少一种药学上可接受的添加剂。

20. 权利要求 19 的药用组合物,其中治疗药物为氨氯地平苯磺酸盐。

21. 权利要求 19 的药用组合物,其中治疗药物为氢氯噻嗪。

22. 权利要求 16 的用途,所述疾病或病症为急性和慢性心衰。

血管紧张素受体拮抗剂和 NEP 抑制剂的药物组合产品

技术领域

[0001] 本发明涉及双重作用的复合物 (compound) 以及血管紧张素受体阻断剂和中性内肽酶抑制剂的组合产品,特别是双重作用的分子,其中血管紧张素受体阻断剂和中性内肽酶抑制剂通过非共价键连接,或者是血管紧张素受体阻断剂和中性内肽酶抑制剂的超分子络合物 (complex),也称为连接的前药,例如混合的盐或共结晶体,本发明还涉及含有此类双重作用的复合物或组合产品的药物组合产品、制备此类双重作用的复合物的方法以及采用此类双重作用的复合物或组合产品治疗患者的方法。特别的是,本发明涉及双重作用复合物或在一种分子中具有相同或不同作用模式的两种活性成分的超分子络合物。

背景技术

[0002] 血管紧张素 II 是引起血管收缩的激素,而血管收缩又导致高血压和心脏劳损。人们已经知道血管紧张素 II 能够与靶细胞表面上的受体相互作用。目前已经鉴别出血管紧张素 II 的两种受体亚型,称为 AT1 和 AT2。最近一段时间,人们付出了巨大的努力鉴定能够与 AT1 受体结合的物质。现在已经知道,血管紧张素受体阻断剂 (ARBs, 血管紧张素 II 拮抗剂) 能够通过阻止血管紧张素 II 与其在血管壁上的受体结合,从而导致血压降低。由于能够抑制 AT1 受体,所以此类拮抗剂可以用于抗高血压,或者用于治疗充血性心衰以及其它适应症。

[0003] 中性内肽酶 (EC 3.4.24.11; 脑啡肽酶; atriopeptidase; NEP) 为含锌的金属蛋白酶,它能够裂解各种疏水残基的氨基端上的肽底物 [参见 Pharmacol Rev, Vol. 45, p. 87 (1993)]。该酶的底物包括但不限于心房利钠肽 (ANP, 也称为 ANF)、脑利钠肽 (BNP)、甲硫氨酸脑啡肽和亮氨酸脑啡肽、缓激肽、神经激肽 A、内皮缩血管肽-1 和 P 物质。ANP 为强有力的血管舒张药和促尿钠排泄药 [参见 J Hypertens, Vol. 19, p. 1923 (2001)]。向正常受试者输注 ANP 导致尿钠排泄和利尿的可重现性的显著地增加,包括钠排泄分数、尿的流速和肾小球滤过率的增加 [参见 J Clin Pharmacol, Vol. 27, p. 927 (1987)]。然而,ANP 具有较短的循环半衰期,并且肾脏皮质膜中的 NEP 是能够降解该肽的重要的酶 [参见 Peptides, Vol. 9, p. 173 (1988)]。所以,NEP 抑制剂 (中性内肽酶抑制剂, NEPi) 能够降低 ANP 的血浆水平,因而能够导致促尿钠排泄和利尿作用。

[0004] 所以,药物 (例如血管紧张素受体阻断剂和中性内肽酶抑制剂) 可以用于控制高血压。原发性高血压为多基因疾病,靠单一治疗无法完全控制。2000 年,在经济发达国家约 33300 万成人、美国约 6500 万 (三分之一的成人) 患有高血压 [参见 Lancet, 第 365 卷, 第 217 页 (2005) 以及 Hypertension, 第 44 卷, 第 398 页 (2004)]。长期和不受控制的高血压血管疾病最终将导致靶器官 (例如心脏和肾脏) 的病理性改变。持续的高血压也能够导致中风的发病率增加。所以,除了降低血压的效果外,还迫切需要对抗高血压治疗的效果、另外的心血管终点 (endpoints) 加以评估,从而进一步判断组合治疗的益处。

[0005] 高血压血管疾病的性质为多因素的。在某些情况下,不同作用机制的药物可以联合应用。然而,仅考虑不同作用模式的药物的任意联合不一定会得到具有很好效果的组合。

因此,既需要有效的组合治疗同时它又不会产生有害的副作用。

发明内容

[0006] 在第一方面,本发明涉及双重作用的复合物,例如超分子络合物,包括

[0007] (a) 血管紧张素受体拮抗剂;

[0008] (b) 中性内肽酶抑制剂 (NEPi);和任选的

[0009] (c) 药学上可接受的阳离子。

[0010] 本发明也涉及双重作用的复合物,例如超分子络合物,可通过下列步骤获得:

[0011] (i) 将血管紧张素受体拮抗剂和中性内肽酶抑制剂 (NEPi) 溶于适当的溶剂;

[0012] (ii) 将 Cat 碱性化合物溶于适当的溶剂,其中 Cat 为阳离子;

[0013] (iii) 将步骤 (i) 和 (ii) 获得的溶液混合;

[0014] (iv) 固体沉淀并干燥得到双重作用的复合物;或者

[0015] 通过下列步骤并将步骤 (i) 和 (ii) 使用的溶剂交换得到双重作用的复合物:

[0016] (iva) 将得到的溶液蒸发至干;

[0017] (va) 将固体重新溶于适当的溶剂;

[0018] (via) 固体沉淀并干燥得到双重作用的复合物。

[0019] 本发明也涉及连接的前药,包括:

[0020] (a) 血管紧张素受体拮抗剂或其药学上可接受的盐;和

[0021] (b) NEPi 或其药学上可接受的盐,

[0022] 其中血管紧张素受体拮抗剂或其药学上可接受的盐与 NEPi 或其药学上可接受的盐通过连接基团连接。

[0023] 本发明也涉及下列组合产品,包括:

[0024] (a) 血管紧张素受体拮抗剂的药学上可接受的盐;和

[0025] (b) 中性内肽酶抑制剂 (NEPi) 的药学上可接受的盐;

[0026] 其中血管紧张素受体拮抗剂和 NEPi 的药学上可接受的盐为相同的,并选自 Na、K 或 NH₄ 盐。

[0027] 在优选的实施方案中,血管紧张素受体拮抗剂和 NEPi 具有酸性基团,该基团有助于形成双重作用复合物,例如本发明的超分子络合物。

[0028] 优选,血管紧张素受体拮抗剂选自缬沙坦、氯沙坦、伊贝沙坦、替米沙坦、依普罗沙坦、坎地沙坦、奥美沙坦、沙普利沙坦 (sapisartan)、他索沙坦、依利沙坦及其组合。

[0029] 在优选的实施方案中,NEPi 选自下列物质:SQ 28,603;N-[N-[1cc-羧基-3-苯基丙基]-(S)-苯丙氨酰基]-(S)-异丝氨酸;N-[N-(((1S)-羧基-2-苯基)乙基]-(S)-苯丙氨酰基]-β-丙氨酸;N-[2(S)-巯基甲基-3-(2-甲基苯基)-丙酰基]蛋氨酸;(cis-4-[[[1-[2-羧基-3-(2-甲氧基乙氧基)丙基]-环戊基]羰基]氨基]-环己烷羧酸);thiorphan;retro-thiorphan;麟酰二肽;SQ 29072;N-(3-羧基-1-氧代丙基)-(4S)-对-苯基苯基甲基)-4-氨基-2R-甲基丁酸乙酯;(S)-cis-4-[1-[2-(5-茛满基氧基羰基)-3-(2-甲氧基乙氧基)丙基]-1-环戊烷甲酰胺基]-1-环己烷羧酸;3-(1-[6-内-羟基甲基双环[2,2,1]庚烷-2-外-氨甲酰基]环戊基)-2-(2-甲氧基乙基)丙酸;N-(1-(3-(N-叔-丁氧基羰基)-(S)-脯氨酰基氨基)-2(S)-叔-丁氧基-羰基

丙基)环戊烷羰基)-O-苄基-(S)-丝氨酸甲酯;4-[[2-(巯基甲基)-1-氧代-3-苯基丙基]氨基]苯甲酸;3-[1-(cis-4-羧基羰基-cis-3-丁基环己基-r-1-氨甲酰基)环戊基]-2S-(2-甲氧基乙氧基甲基)丙酸;N-((2S)-2-(4-联苯基甲基)-4-羧基-5-苯氧基戊酰基)甘氨酸;N-(1-(N-羟基氨甲酰基甲基)-1-环戊烷羰基)L-苯基丙氨酸;(S)-(2-联苯-4-基)-1-(1H-四唑-5-基)乙基氨基)甲基膦酸;(S)-5-(N-(2-(膦酰基甲基氨基)-3-(4-联苯基)丙酰基)-2-氨基乙基)四唑; β -丙氨酸;3-[1,1'-联苯基]-4-基-N-[二苯氧基氧膦基(phosphinyl)]甲基]-L-丙氨酰基;N-(2-羧基-4-噻吩基)-3-巯基-2-苄基丙酰胺;2-(2-巯基甲基-3-苯基丙酰氨基)噻唑-4-基羧酸;(L)-(1-((2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)-甲氧基)羰基)-2-苯基乙基)-L-苯丙氨酰基)- β -丙氨酸;N-[N-(L)-[1-[(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)-甲氧基]羰基]-2-苯基乙基]-L-苯丙氨酰基)-(R)-丙氨酸;N-[N-(L)-1-羧基-2-苯基乙基]-L-苯丙氨酰基)-(R)-丙氨酸;N-[2-乙酰基硫甲基-3-(2-甲基-苯基)丙酰基]-蛋氨酸乙酯;N-[2-巯基甲基-3-(2-甲基苯基)丙酰基]-蛋氨酸;N-[2(S)-巯基甲基-3-(2-甲基苯基)丙酰基)-(S)-异丝氨酸;N-(S)-[3-巯基-2-(2-甲基苯基)丙酰基)-(S)-2-甲氧基-(R)-丙氨酸;N-[1-[[1(S)-苄基氧基羰基-3-苯基丙基]氨基]环戊基羰基)-(S)-异丝氨酸;N-[1-[[1(S)-羰基-3-苯基丙基]氨基]-环戊基羰基)-(S)-异丝氨酸;1,1'-[二硫代二-[2(S)-(2-甲基苄基)-1-氧代-3,1-丙烷二基]]-二(S)-异丝氨酸;1,1'-[二硫代二-[2(S)-(2-甲基苄基)-1-氧代-3,1-丙烷二基]]-二(S)-蛋氨酸;N-(3-苯基-2-(巯基甲基)-丙酰基)-(S)-4-(甲基巯基)蛋氨酸;N-[2-乙酰基甲硫基-3-苯基-丙酰基]-3-氨基苯甲酸;N-[2-巯基甲基-3-苯基-丙酰基]-3-氨基苯甲酸;N-[1-(2-羧基-4-苯基丁基)-环戊烷-羰基)-(S)-异丝氨酸;N-[1-(乙酰基硫甲基)环戊烷-羰基)-(S)-蛋氨酸乙酯;3(S)-[2-(乙酰基硫甲基)-3-苯基-丙酰基]氨基- ϵ -己内酰胺;N-(2-乙酰基硫甲基-3-(2-甲基苯基)丙酰基)-蛋氨酸乙酯;或其组合。优选,双重作用的复合物或其组合(特别是超分子络合物)为混合的盐或共结晶体。也优选连接的前药为混合的盐或共结晶体。

[0030] 在第二方面,本发明涉及药用组合物,包括下列成分:

[0031] (a) 前述双重作用的复合物或其组合,例如前述络合物;和

[0032] (b) 至少一种药学上可接受的添加剂。

[0033] 本发明还涉及含有连接的前药的药用组合物,包括下列成分:

[0034] (a) 血管紧张素受体拮抗剂或其药学上可接受的盐;

[0035] (b) NEPi 或其药学上可接受的盐;

[0036] 其中血管紧张素受体拮抗剂或其药学上可接受的盐与 NEPi 或其药学上可接受的盐通过连接基团连接;和

[0037] (c) 至少一种药学上可接受的添加剂。

[0038] 在第三方面,本发明涉及制备双重作用的复合物的方法,所述复合物特别是超分子络合物,包括

[0039] (a) 血管紧张素受体拮抗剂;

[0040] (b) 中性内肽酶抑制剂(NEPi);和任选的

[0041] (c) 药学上可接受的选自 Na、K 和 NH_4 的阳离子。

[0042] 所述方法包括下列步骤：

[0043] (i) 将血管紧张素受体拮抗剂和中性内肽酶抑制剂 (NEPi) 溶于适当的溶剂；

[0044] (ii) 将 Cat 碱性化合物溶于适当的溶剂，其中 Cat 代表阳离子；

[0045] (iii) 将步骤 (i) 和 (ii) 获得的溶液合并；

[0046] (iv) 固体沉淀并干燥得到双重作用的复合物；或者

[0047] 通过下列步骤并将步骤 (i) 和 (ii) 使用的溶剂交换得到双重作用的复合物：

[0048] (iva) 将得到的溶液蒸发至干；

[0049] (va) 将固体重新溶于适当的溶剂；

[0050] (via) 固体沉淀并干燥得到双重作用的复合物。

[0051] 本发明也涉及制备连接的前药的方法，所述前药包括

[0052] (a) 血管紧张素受体拮抗剂或其药学上可接受的盐；

[0053] (b) NEPi 或其药学上可接受的盐，其中血管紧张素受体拮抗剂或其药学上可接受的盐和 NEPi 或其药学上可接受的盐通过连接基团连接；所述方法包括向血管紧张素受体拮抗剂和 NEPi 的混合物中加入连接基团和溶剂；

[0054] (d) 分离连接的前药。

[0055] 在第四方面，本发明涉及治疗或预防疾病或病症的方法，所述疾病或病症为例如高血压、心衰（急性和慢性）、充血性心衰、左心室功能不全和肥厚型心肌病、糖尿病性心肌病、室上型和心室型心律失常、房颤、心房扑动、有害的血管重塑、心肌梗塞及其后遗症、动脉硬化症、心绞痛（不稳定或稳定型）、肾功能不全（糖尿病和非糖尿病性）、心衰、心绞痛、糖尿病、继发性醛固酮过多症、原发性和继发性肺高血压、肾衰疾病（例如糖尿病性肾病、血管球性肾炎、硬皮病、肾小球硬化、原发性肾病蛋白尿以及肾血管高血压）、糖尿病性视网膜病，其它血管疾病，例如偏头痛、外周血管疾病、雷诺氏病、luminal hyperplasia、认知障碍（例如阿尔茨海默氏的认知障碍）、青光眼和中风，所述方法包括给予给予需要此类治疗的患者前述双重作用的复合物或其组合物，特别是给予超分子络合物或前述连接的前药，优选给予复合物。

附图说明

[0056] 图 1 为 [3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-((戊酰基{2''-(四唑-5-ylate)联苯-4'-基甲基}氨基)丁酸)]三钠半水合物超分子络合物的晶胞 (cell) 图示，它包括两个不对称单位。采用下列颜色标记：灰色=碳原子；蓝色=氮原子；红色=氧原子；紫色=钠原子。

[0057] 详述

[0058] 本发明涉及双重作用的复合物或其组合产品，特别是超分子络合物或连接的前药，或者特别是具有不同作用机制的两种活性成分的超分子络合物，所述活性成分为血管紧张素受体拮抗剂和中性内肽酶抑制剂，它们可以形成独特的分子体用于治疗患有各种心血管和/或肾脏疾病的患者。

[0059] 本发明的一个实施方案涉及物理组合产品，包括：

[0060] (a) 血管紧张素受体拮抗剂的药学上可接受的盐；和

[0061] (b) 中性内肽酶抑制剂 (NEPi) 的药学上可接受的盐；

[0062] 其中血管紧张素受体拮抗剂和 NEPi 的药学上可接受的盐为相同的并选自 Na、K 或 NH_4 盐。

[0063] 特别是,优选两种活性成分彼此组合以形成单一的双重作用的复合物,尤其是超分子络合物。如此,则形成新的分子或超分子体,它们具有明显不同于上述物理组合的性质。

[0064] 所以,本发明涉及双重作用的复合物,特别是超分子络合物,包括:

[0065] (a) 血管紧张素受体拮抗剂;

[0066] (b) 中性内肽酶抑制剂 (NEPi);和

[0067] (c) 药学上可接受的阳离子,优选选自 Na、K 和 NH_4 。

[0068] 本发明也涉及双重作用的复合物,特别是超分子络合物,可通过下列步骤获得:

[0069] (i) 将血管紧张素受体拮抗剂和中性内肽酶抑制剂 (NEPi) 溶于适当的溶剂;

[0070] (ii) 将 Cat 碱性化合物例如 $(\text{Cat})\text{OH}$ 、 $(\text{Cat})_2\text{CO}_3$ 、 $(\text{Cat})\text{HCO}_3$ 溶于适当的溶剂,其中 Cat 代表阳离子,优选选自 Na、K 和 NH_4 ;

[0071] (iii) 将步骤 (i) 和 (ii) 获得的溶液合并;

[0072] (iv) 固体沉淀并干燥得到双重作用的复合物;或者

[0073] 通过下列步骤并将步骤 (i) 和 (ii) 使用的溶剂交换得到双重作用的复合物:

[0074] (iva) 将得到的溶液蒸发至干;

[0075] (va) 将固体重新溶于适当的溶剂;

[0076] (via) 固体沉淀并干燥得到双重作用的复合物。

[0077] 本发明另外涉及连接的前药,包括:

[0078] (a) 血管紧张素受体拮抗剂或其药学上可接受的盐;和

[0079] (b) NEPi 或其药学上可接受的盐,

[0080] 其中血管紧张素受体拮抗剂或其药学上可接受的盐和 NEPi 或其药学上可接受的盐通过连接基团连接。

[0081] 两种成分均连接到连接基团上,从而形成连接的前药。优选,连接的前药为基本上纯的;此处所用“基本上纯的”是指纯度至少为 90%,更优选至少为 95%,最优选至少为 98%。

[0082] 在本发明的一个优选的实施方案中,连接的前药具有的结构应使得通过连接基团连接两种成分能够形成超分子络合物。

[0083] 在本发明中,术语“双重作用的复合物”是指这些复合物在一种复合物中具有两种不同的作用模式,一种为产生自 ARB 分子部分的血管紧张素受体阻断,另一种为产生自 NEPi 分子部分的中性内肽酶抑制。

[0084] 在本发明中,术语“复合物”是指在两种药物活性成分内包含共价键并且在这两种药物活性成分 (ARB 和 NEPi 分子部分) 之间存在非共价相互作用的化学物质。通常,在两种药物活性成分 (ARB 和 NEPi 分子部分) 之间可以观察到氢键。在阳离子和两种药物活性成分 (ARB 和 NEPi 分子部分) 之一或两者之间可能存在离子键。在复合物中有可能存在其它类型的键,例如范德华力。为方便说明,本发明双重作用的复合物可以如下所示:

[0085] $(\text{ARB})-(\text{L})_m-(\text{NEPi})$

[0086] 其中 L 为连接基团,例如阳离子或非共价键,m 为 1 或大于 1 的整数。或者,ARB 和

NEPi 部分可以通过非共价键连接,例如通过氢键。或者,它们可以通过连接基团例如阳离子连接。

[0087] 在一个实施方案中,双重作用的复合物可以是连接的前药,即通过连接基团例如阳离子连接两个药物活性成分(ARB 和 NEPi)形成这些成分的前药,当连接的前药被摄取和吸收时,它们能够被立即释放。

[0088] 在优选的实施方案中,双重作用的复合物为络合物,特别是超分子络合物。

[0089] 在本发明中,术语“超分子络合物”是指两种药物活性成分、阳离子及任何其它物质(例如溶剂,尤其是水)之间的相互作用,它们之间通过非共价分子间键而相互作用。这些相互作用导致超分子络合物中存在的成分相互结合,该结合使得该络合物不同于这些成分的物理混合物。

[0090] 非共价分子间的键可以是本领域中已知的任何能够形成此类超分子络合物的相互作用,例如氢键、范德华力和 $\pi-\pi$ 堆积。也可以存在离子键。优选存在离子键和另外的氢键从而在络合物中形成相互作用的网状结构。超分子络合物优选以固态存在,但也可以以液态存在。本发明优选的实施方案中,络合物为结晶体,在此情况下,优选为混合的结晶体或共结晶体。

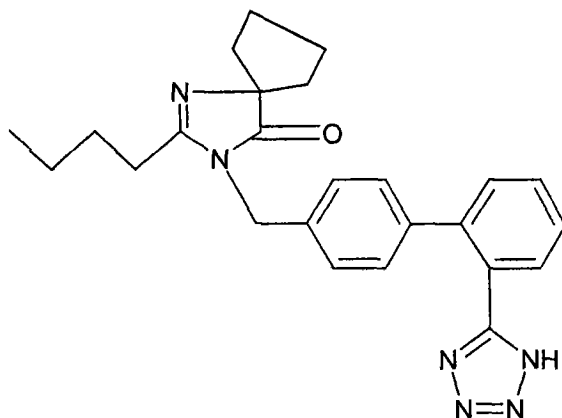
[0091] 通常,双重作用的复合物、特别是超分子络合物表现的性质(例如熔点、IR 光谱等)不同于它们的物理混合物。

[0092] 优选,双重作用的复合物、特别是超分子络合物,在两种药物活性成分和任何溶剂(如果存在的话,优选水)之间具有非共价键(尤其是氢键)的网状结构。并且更优选,双重作用的复合物、特别是超分子络合物,在两种药物活性成分和任何溶剂(如果存在的话,优选水)之间具有非共价键(尤其是离子键和氢键)的网状结构。阳离子优选与多个氧配基结合,从而在这些氧配基之间形成连接。氧配基来自两种药物活性成分的羰基和羧酸盐/酯基团,优选也来自任何溶剂,如果溶剂存在,优选水。

[0093] 双重作用的复合物含有血管紧张素受体拮抗剂的分子部分。这意味着衍生自血管紧张素受体拮抗剂的分子部分参与了双重作用的复合物的构建。血管紧张素受体拮抗剂为复合物的一部分,并与 NEP 抑制剂直接连接或者通过非共价键间接连接。为方便起见,在本申请中,当描述复合物的该部分时可以采用术语“血管紧张素受体拮抗剂”。适用于本发明的血管紧张素受体拮抗剂(ARBs)包括但不限于缬沙坦、氯沙坦、伊贝沙坦、替米沙坦、依普罗沙坦、坎地沙坦、奥美沙坦、沙普利沙坦(saprisartan)、他

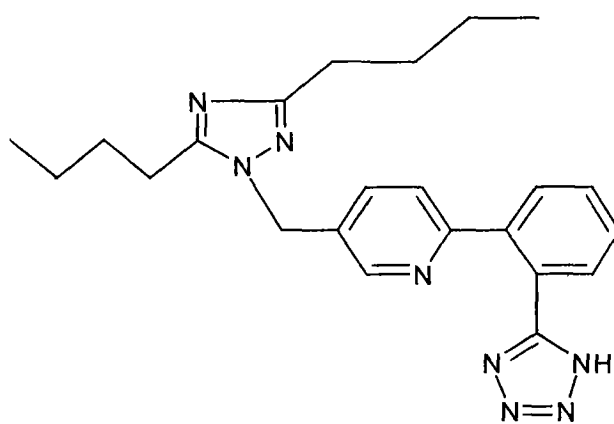
[0094] 索沙坦、依利沙坦、具有下式的称为 E-1477 的化合物:

[0095]



[0096] 具有下式的称为 SC-52458 的化合物：

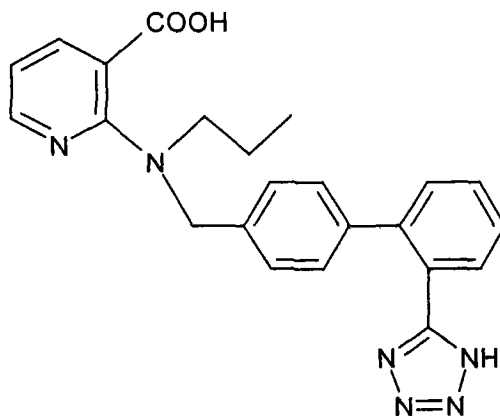
[0097]



和

[0098] 具有下式的称为 ZD-8731 的化合物：

[0099]



•

[0100] 适当的血管紧张素 II 受体拮抗剂包括但不限于乙酸沙拉新、坎地沙坦酯、CGP-63170、EMD-66397、KT3-671、LR-B/081、缬沙坦、A-81282、BIBR-363、BIBS-222、BMS-184698、坎地沙坦、CV-11194、EXP-3174、KW-3433、L-161177、L-162154、LR-B/057、LY-235656、PD-150304、U-96849、U-97018、UP-275-22、WAY-126227、WK-1492. 2K、YM-31472、氯沙坦钾、E-4177、EMD-73495、依普罗沙坦、HN-65021、伊贝沙坦、L-159282、ME-3221、SL-91. 0102、他索沙坦、替米沙坦、UP-269-6、YM-358、CGP-49870、GA-0056、L-159689、L-162234、L-162441、L-163007、PD-123177、A-81988、BMS-180560、CGP-38560A、CGP-48369、

DA-2079、DE-3489、DuP-167、EXP-063、EXP-6155、EXP-6803、EXP-7711、EXP-9270、FK-739、HR-720、ICI-D6888、ICI-D7155、ICI-D8731、isoteoline、KRI-1177、L-158809、L-158978、L-159874、LR B087、LY-285434、LY-302289、LY-315995、RG-13647、RWJ-38970、RWJ-46458、S-8307、S-8308、沙普利沙坦、沙拉新、Sarmesin、WK-1360、X-6803、ZD-6888、ZD-7155、ZD-8731、BIBS39、CI-996、DMP-811、DuP-532、EXP-929、L-163017、LY-301875、XH-148、XR-510、佐拉沙坦和 PD-123319。

[0101] 上面的 ARBs 的组合也包括在本发明的范围内。

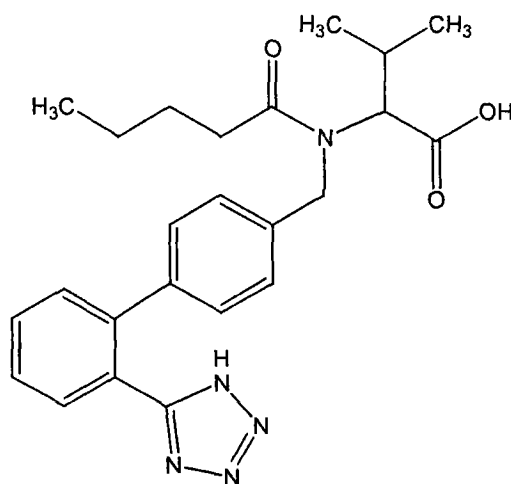
[0102] 用于制备本发明组合产品或络合物的 ARBs 可以购自商业,或者可以根据已知的方法制备。ARBs 可以其游离形式以及任何适当的盐或酯的形式用于本发明。

[0103] 优选的盐的形式包括酸加成盐。具有至少一个酸性基团(例如,COOH 或 5-四唑基)的复合物也可以与碱形成盐。与碱形成的适当的盐为,例如,金属盐(例如碱金属或碱土金属盐,如钠、钾、钙或镁盐),或与氨或有机胺形成的盐(例如吗啉、硫代吗啉、哌啶、吡咯烷、单-、二-或三-低级烷基胺(如,乙基-、叔-丁基-、二乙基-、二异丙基-、三乙基-、三丁基-或二甲基丙基胺)或单-、二-或三-羟基低级烷基胺(如,单-、二-或三-乙醇胺)。也可以形成相应的内盐。也包括不适用于药用但可以用于如游离化合物 I 或其药学上可接受的盐的分离或纯化的盐。更优选的盐为例如选自无定形单钠盐、无定形或结晶形缬沙坦的二钠盐(特别是其水合物形式)、无定形缬沙坦的单钾盐、无定形或结晶形缬沙坦的二钾盐(特别是其水合物形式)、结晶形缬沙坦的钙盐(特别是其水合物形式,主要是四水合物)、结晶形缬沙坦的镁盐(特别是其水合物形式,主要是六水合物)、结晶形缬沙坦的钙/镁混合盐(特别是其水合物形式)、结晶形缬沙坦的双-二丙基铵盐(特别是其水合物形式,主要是半水合物)、无定形缬沙坦的单-L-精氨酸盐、无定形缬沙坦的双-L-精氨酸盐、无定形缬沙坦的单-L-赖氨酸盐、无定形缬沙坦的双-L-赖氨酸盐。

[0104] 当制备双重作用的复合物、特别是本发明的络合物时,优选采用 ARB 的游离形式。

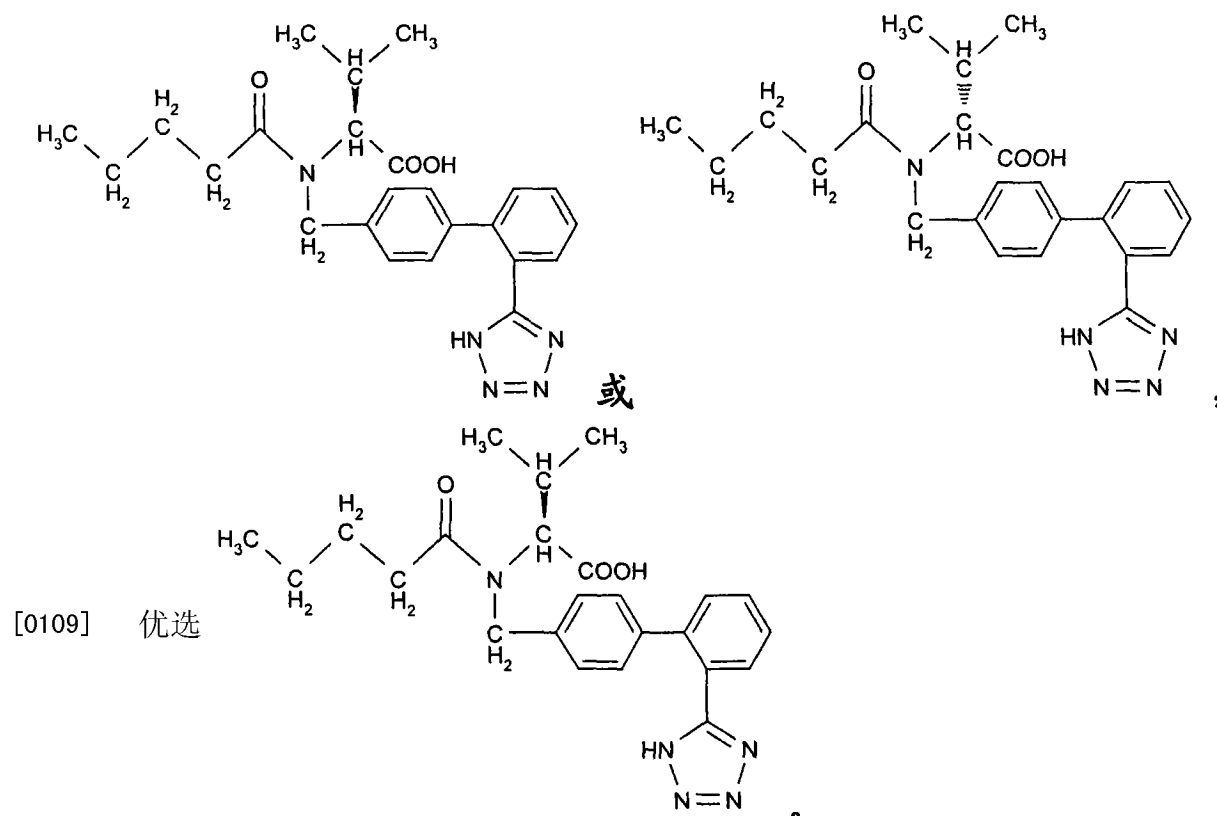
[0105] 在本发明的优选实施方案中,用于本发明组合产品和络合物的血管紧张素受体阻断剂为缬沙坦,其分子结构如下所示:

[0106]



[0107] 缬沙坦可以是外消旋形式,或者是下面所示的两种异构体之一:

[0108]



[0110] 用于本发明的缬沙坦 ((S)-N-戊酰基-N-[[2'-(1H-四唑-5-基)-联苯-4-基]-甲基]-缬氨酸) 可以购自商业, 或者可以根据已知的方法制备。例如, 缬沙坦的制备描述于美国专利号 5, 399, 578 和 EP 0 443 983 中, 它们均以其全部公开引入本文作为参考。缬沙坦可以其游离酸的形式以及任何适当的盐的形式用于本发明。另外, 羧基的酯或其它衍生物可以用于连接的前药的合成, 同样也可以采用四唑的盐和衍生物。提及 ARBs 时也包括其药学上可接受的盐。

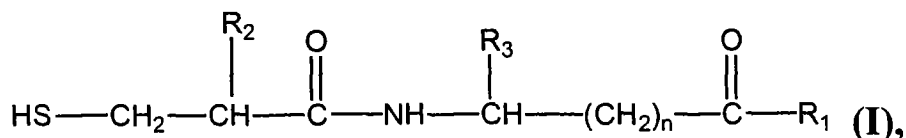
[0111] 优选, ARB 为双质子酸。所以根据溶液的 pH, 血管紧张素受体阻断剂的荷电为 0、1 或 2。

[0112] 在本发明的组合产品中, ARB 为药学上可接受的盐的形式, 所述盐选自 Na、K 或 NH_4 盐, 优选为 Na 盐。它包括这些阳离子的单-和二-盐, 优选二-盐。特别是在缬沙坦的实例中, 这意味着羧酸部分和四唑部分均成盐。

[0113] 在双重作用的复合物 (特别是本发明的超分子络合物) 中, 在制备中通常采用 ARB 的游离形式, 络合物中的阳离子部分可以通过采用碱如 (Cat)OH 引入。

[0114] 双重作用的复合物包含中性内肽酶抑制剂的分子部分。这意味着衍生自中性内肽酶抑制剂的分子部分参与了双重作用的复合物的构建。中性内肽酶抑制剂为复合物的一部分并且与 ARB 直接相连或通过非共价键间接相连。为方便起见, 在本申请中, 当描述复合物的这一部分时, 采用术语“中性内肽酶抑制剂”。适用于本发明的中性内肽酶抑制剂包括下式 (I) 的这些化合物:

[0115]



[0116] 其中：

[0117] R_2 为 1-7 个碳的烷基、三氟甲基、苯基、取代的苯基、 $-(CH_2)_{1-4}$ -苯基或 $-(CH_2)_{1-4}$ -取代的苯基；

[0118] R_3 为氢、1-7 个碳的烷基、苯基、取代的苯基、 $-(CH_2)_{1-4}$ -苯基或 $-(CH_2)_{1-4}$ -取代的苯基；

[0119] R_1 为羟基、1-7 个碳的烷氧基或 NH_2 ；

[0120] n 为 1-15 的整数；

[0121] 术语取代的苯基中的取代基选自：1-4 个碳的低级烷基、1-4 个碳的低级烷氧基、1-4 个碳的低级烷硫基、羟基、Cl、Br 或 F。

[0122] 优选的式 (I) 中性内肽酶抑制剂包括其中基团如下定义的化合物：

[0123] R_2 为苄基；

[0124] R_3 为氢；

[0125] n 为 1-9 的整数；且

[0126] R_1 为羟基。

[0127] 另一个优选的中性内肽酶抑制剂为 (3S, 2' R)-3-{1-[2'-(乙氧基羰基)-4'-苯基-丁基]-环戊-1-羰基氨基}-2,3,4,5-四氢-2-氧代-1H-1-苯并氮杂 **革**-1-乙酸或其药学上可接受的盐。

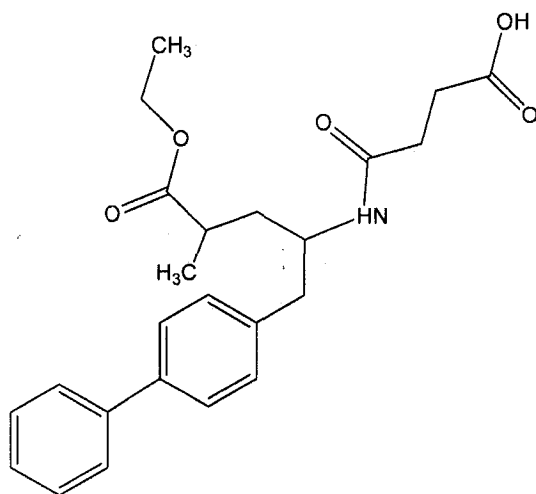
[0128] 适用于本发明的中性内肽酶抑制剂包括但不限于下列物质：SQ28,603；N-[N-[1(S)-羧基-3-苯基丙基]-(S)-苯丙氨酰基]-(S)-异丝氨酸；N-[N-[(1S)-羧基-2-苯基)乙基]-(S)-苯丙氨酰基]- β -丙氨酸；N-[2(S)-巯基甲基-3-(2-甲基苯基)-丙酰基]蛋氨酸；(cis-4-[[1-[2-羧基-3-(2-甲氧基乙氧基)丙基]-环戊基]羰基]氨基)-环己烷羧酸)；thiorphan；retro-thiorphan；膦酰二肽；SQ 29072；(2R, 4S)-5-联苯-4-基-5-(3-羧基-丙酰基氨基)-2-甲基-戊酸乙酯；N-(3-羧基-1-氧代丙基)-(4S)-对-苯基苯基甲基)-4-氨基-2R-甲基丁酸；(S)-cis-4-[1-[2-(5-茛满基氧基羰基)-3-(2-甲氧基乙氧基)丙基]-1-环戊烷甲酰胺基]-1-环己烷羧酸；3-(1-[6-内-羟基甲基双环[2,2,1]庚烷-2-外-氨甲酰基]环戊基)-2-(2-甲氧基乙基)丙酸；N-(1-(3-(N-叔-丁氧基羰基)-(S)-脯氨酰基氨基)-2(S)-叔-丁氧基-羰基丙基)环戊烷羰基)-O-苄基-(S)-丝氨酸甲酯；4-[[2-(巯基甲基)-1-氧代-3-苯基丙基]氨基]苯甲酸；3-[1-(cis-4-羧基羰基-cis-3-丁基环己基-r-1-氨甲酰基)环戊基]-2S-(2-甲氧基乙氧基甲基)丙酸；N-((2S)-2-(4-联苯基甲基)-4-羧基-5-苯氧基戊酰基)甘氨酸；N-(1-(N-羟基氨甲酰基甲基)-1-环戊烷羰基)-L-苯基丙氨酸；(S)-(2-联苯-4-基)-1-(1H-四唑-5-基)乙基氨基)甲基膦酸；(S)-5-(N-(2-(膦酰基甲基氨基)-3-(4-联苯基)丙酰基)-2-氨基乙基)四唑； β -丙氨酸；3-[1,1'-联苯基]-4-基-N-[二苯氧基氧膦基]甲基]-L-丙氨酰基；N-(2-羧基-4-噻吩基)-3-巯基-2-苄基丙酰胺；2-(2-巯基甲基-3-苯基丙酰基氨基)噻唑-4-基羧酸；(L)-(1-((2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)-甲氧基)羰基)-2-苯基乙基)-L-苯丙氨酰基]- β -丙氨酸；N-[N-[(L)-1-[(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)-甲氧基]羰基]-2-苯基乙基]-L-苯丙氨酰基]-(R)-丙氨酸；N-[N-[(L)-1-羧基-2-苯基乙基]-L-苯丙氨酰基]-(R)-丙氨酸；N-[2-乙酰基硫甲基-3-(2-甲基-苯基)丙酰基]-蛋氨酸乙酯；

N-[2- 巯基甲基 -3-(2- 甲基苯基) 丙酰基]- 蛋氨酸; N-[2(S)- 巯基甲基 -3-(2- 甲基苯基) 丙酰基]-(S)- 异丝氨酸; N-(S)-[3- 巯基 -2-(2- 甲基苯基) 丙酰基]-(S)-2- 甲氧基-(R)- 丙氨酸; N-[1-[[1(S)- 苄基氧基羰基 -3- 苯基丙基] 氨基] 环戊基羰基]-(S)- 异丝氨酸; N-[1-[[1(S)- 羰基 -3- 苯基丙基] 氨基]- 环戊基羰基]-(S)- 异丝氨酸; 1, 1'-[二硫代二-[2(S)- (2- 甲基苄基)-1- 氧代 -3,1- 丙烷二基]]- 二-(S)- 异丝氨酸; 1,1'-[二硫代二-[2(S)- (2- 甲基苄基)-1- 氧代 -3,1- 丙烷二基]]- 二-(S)- 蛋氨酸; N-(3- 苯基 -2-(巯基甲基)- 丙酰基)-(S)-4-(甲基巯基) 蛋氨酸; N-[2- 乙酰基硫甲基 -3- 苯基 - 丙酰基]-3- 氨基苯甲酸; N-[2- 巯基甲基 -3- 苯基 - 丙酰基]-3- 氨基苯甲酸; N-[1-(2- 羰基 -4- 苯基丁基)- 环戊烷 - 羰基]-(S)- 异丝氨酸; N-[1-(乙酰基硫甲基) 环戊烷 - 羰基]-(S)- 蛋氨酸乙酯; 3(S)-[2-(乙酰基硫甲基)-3- 苯基 - 丙酰基] 氨基 - ϵ - 己内酰胺; N-(2- 乙酰基硫甲基 -3-(2- 甲基苯基) 丙酰基)- 蛋氨酸乙酯; 及其组合。

[0129] 中性内肽酶抑制剂可以购自商业, 或者可以根据已知的方法制备, 例如下列文献中所述的方法: U. S. 专利号 4, 722, 810、U. S. 专利号 5, 223, 516、U. S. 专利号 4, 610, 816、U. S. 专利号 4, 929, 641、南美专利申请 84/0670、UK69578、U. S. 专利号 5, 217, 996、EP 00342850、GB 02218983、WO 92/14706、EP 00343911、JP 06234754、EP 00361365、WO 90/09374、JP 07157459、WO 94/15908、U. S. 专利号 5, 273, 990、U. S. 专利号 5, 294, 632、U. S. 专利号 5, 250, 522、EP 00636621、WO 93/09101、EP 00590442、WO 93/10773、U. S. 专利号 5, 217, 996, 以上每个公开均在此引入作为参考。中性内肽酶抑制剂可以其游离形式或者以任何适当的盐的形式用于本发明。提及中性内肽酶抑制剂也包括其药学上可接受的盐。

[0130] 另外, 任何羧基基团的酯或其它衍生物以及任何其它酸性基团的盐和衍生物也可以用于连接的前药的合成。在本发明的优选的实施方案中, NEPi 为式 (II) 的 5- 联苯 -4- 基 -5-(3- 羧基 - 丙酰基氨基)-2- 甲基 - 戊酸乙酯或者是水解形式 5- 联苯 -4- 基 -5-(3- 羧基 - 丙酰基氨基)-2- 甲基 - 戊酸。

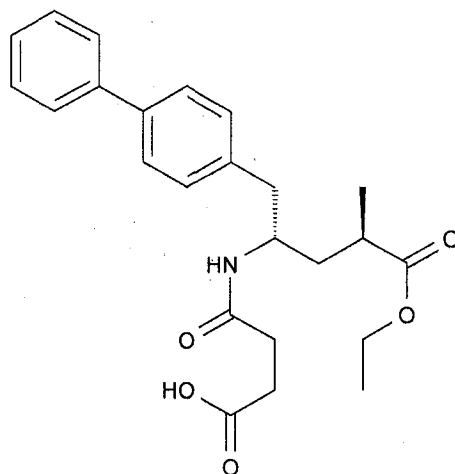
[0131]



(II).

[0132] 式 (II) 化合物可以是 (2R,4S)、(2R,4S)、(2R,4S) 或 (2R,4S) 异构体的形式。优选下面所示的 (2R,4S)-5- 联苯 -4- 基 -4-(3- 羧基 - 丙酰基氨基)-2- 甲基 - 戊酸乙酯:

[0133]



[0134] 式 (II) 化合物是 NEP 的特异性抑制剂, 公开于 U. S. 专利号 5, 217, 996。它可以购自商业, 或者根据已知的方法制备。式 (II) 化合物可以其游离形式或任何适当的盐或酯的形式用于本发明。

[0135] 优选 NEPi 为单质子酸。所以, 根据溶液的 pH, NEPi 荷电为 0 或 1。

[0136] 在本发明的组合产品中, NEPi 为药学上可接受的盐的形式, 选自 Na、K 或 NH_4 盐, 优选 Na 盐。

[0137] 在双重作用的复合物中 (特别是本发明的超分子络合物中), 在制备中通常采用 NEPi 的游离形式, 络合物中的阳离子可以通过采用碱 (Cat)OH 引入。

[0138] 双重作用的复合物优选在 ARB 和 NEPi 之间为非共价键。另外, 它任选含有连接基团, 例如药学上可接受的阳离子。

[0139] 连接基团包括但不限于通常为认为是安全的 (GRAS) 化合物或其它药理学上可接受的化合物。连接基团可以是离子或中性分子。在其中连接基团为离子的情况下, 连接的前药为盐, 当连接基团为中性分子时, 连接的前药为共结晶体。不受任何特定理论的束缚, ARB 和 NEPi 的酸性部分贡献出质子给碱性连接基团, 从而使得所有的三种成分结合形成一个分子。当连接的前药被需要治疗的宿主摄入后, 偏酸性的消化环境使得连接的前药分离为单个成分, 所以随着摄入和吸收它转化为活性成分, 从而提供其有益的生物学作用以治疗相应的疾病。

[0140] 在连接的前药盐或双重作用的复合物的情况下, 连接部分或阳离子分别优选为带有单 -、二 - 或三 - 价阳离子、有机碱或氨基酸。优选用于连接的前药和双重作用的复合物 (尤其是络合物) 的阳离子 (Cat) 为碱性阳离子, 更优选为金属阳离子。优选的金属阳离子包括但不限于 Na、K、Ca、Mg、Zn、Fe 或 NH_4 。也可以胺碱和成盐试剂, 例如, N, N' - 双苄基乙撑二胺 (benzathine)、hydrabamine、乙二胺、n-n- 二苄基 - 乙二胺、L- 精氨酸、氢氧化胆碱、N- 甲基 - 葡糖胺 (葡甲胺)、L- 赖氨酸、二甲基氨基乙醇 (Deanol)、叔 - 丁基胺、二乙胺、2-(二乙基氨基) - 乙醇、4-(2- 羟基乙基) - 吗啉、Thromethanine (TRIS)、4- 乙酰氨基苯酚、2- 氨基 - 2- 甲基 - 1, 3- 丙二醇、2- 氨基 - 2- 甲基 - 丙醇、苄基胺、环己基胺、二乙醇胺、乙醇胺、咪唑、哌嗪和三乙醇胺。

[0141] 最优选的阳离子为 Na、K 或 NH_4 , 例如 Na。在一个实施方案中, 优选 Ca。

[0142] 当连接的前药为共结晶体时, 连接部分也可以为能够提供氢键官能度的中性分子。

[0143] 在一个实施方案中,本发明连接的前药入下面所示,其中图示(1)和(2)代表盐,图示(3)代表共结晶体:

[0144] $\text{NEPi} \cdot \text{Xa} \cdot \text{ARB}$ 图示(1)

[0145] $\text{NEPi} \cdot \text{XaYb} \cdot \text{ARB}$ 图示(2)

[0146] $\text{NEPi} \cdot \text{Zc} \cdot \text{ARB}$ 图示(3),

[0147] 其中

[0148] X 为 Ca、Mg、Zn 或 Fe;

[0149] Y 为 Na、K 或 NH_4 ;

[0150] Z 为中性分子;且

[0151] A、b 和 c 代表连接的前药的化合价,优选 a、b 和 c 为 1^+ 、 2^+ 或 3^+ 价。

[0152] 在上述图示(1)和(2)的连接的前药中,优选 NEPi 为单质子酸且 ARB 为二质子酸。根据溶液的 pH,血管紧张素受体阻断剂荷电为 0、1 或 2, NEPi 荷电为 0 或 1,因而整个分子是中性的。ARB 与 NEPi 的比例为 1 : 1、1 : 2、1 : 3、3 : 1、2 : 1、1 : 1,优选为 1 : 1、1 : 2 或 1 : 3,最优选为 1 : 1。

[0153] 多成分盐(特别是锌和钙的盐)在文献中已有报道:例如,Chem PharmBull,第 53 卷,第 654 页(2005)。这些离子需要配位几何构型以有助于多成分体系的结晶。金属离子均具有由原子轨道决定的配位几何构型。

[0154] 缬沙坦含有两种酸性基团:羧酸和四唑。在本发明该方面的一个实施方案中,缬沙坦和 NEPi 的连接的前药的分子结构中包含羧酸和连接基团之间的键合或者包含四唑基团和连接基团之间键合。在另一个实施方案中,连接的前药包含连接缬沙坦羧酸基团、四唑基团和 NEPi 的三价连接基团。

[0155] 在本发明该方面的一个实施方案中,缬沙坦通过钙盐离子连接 (2R,4S)-5- 联苯-4-基-5-(3-羧基-丙酰基氨基)-2-甲基-戊酸乙酯。

[0156] 在本发明优选的实施方案中,在组合产品和超分子络合物中血管紧张素受体拮抗剂和中性内肽酶抑制剂之间的摩尔比为 1 : 1、1 : 2、1 : 3、3 : 1、2 : 1,更优选为 1 : 1。在连接的前药中也是如此。并且,在络合物中,血管紧张素受体拮抗剂、中性内肽酶抑制剂和阳离子之间的摩尔比为 1 : 1 : 1、1 : 1 : 2、1 : 1 : 3,更优选为 1 : 1 : 3。这同样适用于连接的前药。

[0157] 组合产品或双重作用的复合物,特别是本发明的络合物,可以含有溶剂。在双重作用的复合物(特别是络合物)中更特别优选如此,其中溶剂可以有助于分子内结构,例如超分子相互作用。优选的溶剂包括水、甲醇、乙醇、2-丙醇、丙酮、乙酸乙酯、甲基-叔-丁基醚、乙腈、甲苯和二氯甲烷,优选水。如果溶剂存在,则活性成分的每个分子的一或多个分子也可以存在。为此,也就是说当溶剂的化学计量的量存在时,则相应于每个活性成分分子,优选存在 1、2、3、4 或 5(更优选为 3)个溶剂(例如水)分子。或者,溶剂可以以非化学计量的量存在。这意味着可以优选任何化学计量的溶剂,例如,相应于每个活性成分分子,可以存在 0.25、0.5、0.75、1.25、1.5、1.75、2.25、2.5、2.75、3.25、3.5、3.75、4.25、4.5 和 4.75(优选 2.5)个溶剂(例如水)分子。如果双重作用的复合物(特别是络合物)为结晶形式,则溶剂可以作为分子的一部分被填充和截留在晶格中

[0158] 所以在本发明优选的实施方案中,双重作用的复合物(特别是超分子络合物)如

下面通式所述：

[0159] $[\text{ARB}(\text{NEPi})]\text{Na}_{1-3} \cdot x\text{H}_2\text{O}$, 其中 x 为 0、1、2 或 3, 例如优选 3,

[0160] $[\text{ARB}(\text{NEPi})]\text{Na}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, 其中 x 为 0、1、2 或 3, 例如更优选 3,

[0161] [缬沙坦 ((2R,4S)-5- 联苯-4-基-5-(3-羧基-丙酰基氨基)-2-甲基-戊酸乙酯) $\text{Na}_3 \cdot x \text{H}_2\text{O}$, 其中 x 为 0、1、2 或 3, 例如 3。

[0162] 所以在本发明优选的实施方案中, 双重作用的复合物 (特别是超分子络合物) 如下面通式所述：

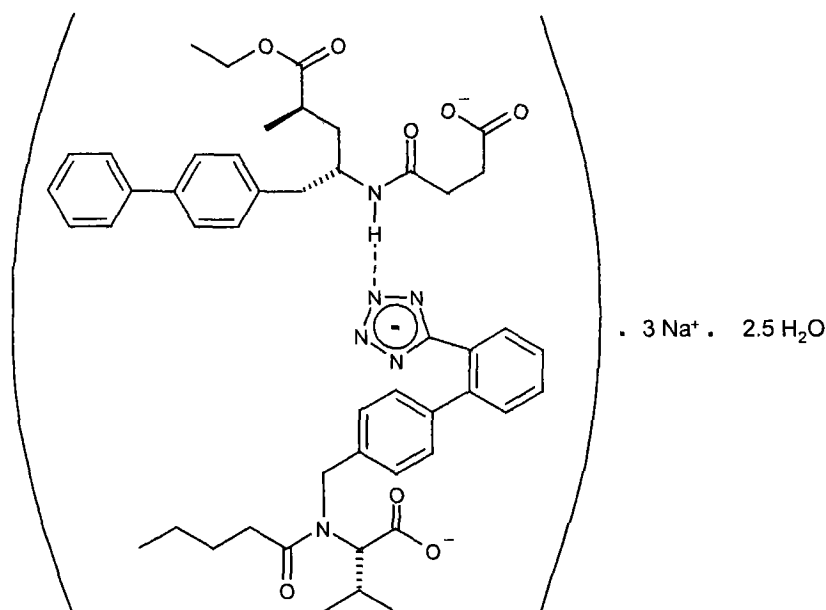
[0163] $[\text{ARB}(\text{NEPi})]\text{Na}_{1-3} \cdot x\text{H}_2\text{O}$, 其中 x 为 0-3, 例如优选 2.5,

[0164] $[\text{ARB}(\text{NEPi})]\text{Na}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, 其中 x 为 0-3, 例如更优选 2.5,

[0165] [(N-戊酰基-N-{[2'-(1H-四唑-5-基)-联苯-4-基]-甲基}-缬氨酸)((5-联苯-4-基-5-(3-羧基-丙酰基氨基)-2-甲基-戊酸乙酯) $\text{Na}_3 \cdot x \text{H}_2\text{O}$, 特别是 [(S)-N-戊酰基-N-{[2'-(1H-四唑-5-基)-联苯-4-基]-甲基}-缬氨酸)((2R,4S)-5-联苯-4-基-5-(3-羧基-丙酰基氨基)-2-甲基-戊酸乙酯) $\text{Na}_3 \cdot x \text{H}_2\text{O}$, 其中 x 为 0-3, 例如 2.5。在最优选的实施例中, 络合物名称为 [3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基{2''-(四唑-5-ylate)联苯-4'-基甲基}氨基)丁酸]三钠半五水合物。

[0166] 用于正式计算相对分子量的 [3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基{2''-(四唑-5-基(ylate))联苯-4'-基甲基}氨基)丁酸]三钠半五水合物的简化的结构如下所示：

[0167]



[0168] 缬沙坦含有两个酸性基团：羧酸和四唑。在本发明该方面的一个实施方案中, 缬沙坦和 NEPi 的双重作用的复合物 (特别是络合物) 的分子结构中包含羧酸与阳离子 (例如钠) 或溶剂 (例如水) 之间的相互作用, 或包含在四唑基团与阳离子 (例如 Na) 或溶剂 (例如水) 之间的连接基团。在另一个实施方案中, 双重作用的复合物 (特别是络合物) 包含缬沙坦羧酸基团、四唑基团或 NEPi 基团与阳离子 (例如 Na) 或溶剂 (例如水) 之间的相互作用。

[0169] 本发明的组合产品或双重作用的复合物（特别是络合物）优选为固体形式。在固体状态中，它可以是结晶、部分结晶、无定形或多晶型形式，优选为结晶形式。

[0170] 本发明的组合产品或双重作用的复合物（特别是络合物）与两种活性成分通过简单的物理混合得到的 ARB 和 NEPi 的混合物截然不同。所以，它具有不同的性质，能够使其特别适用于生产和治疗的应用。双重作用的复合物（特别是络合物）与混合物的差别可以通过 (S)-N-戊酰基-N-[[2'-(1H-四唑-5-基)-联苯-4-基]-甲基]-缬氨酸和 (2R,4S)-5-联苯-4-基-5-(3-羧基-丙酰基氨基)-2-甲基-戊酸乙酯的双重作用的复合物举例说明，该复合物的特征在于非常明显的光谱峰和位移，这在物理混合物中却没有观察到。

[0171] 具体讲，此类双重作用的复合物优选的特征在于采用 Scintag XDS2000 粉末衍射仪得到的 X-射线粉末衍射图谱，该仪器采用 Cu-K α 照射 ($\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$)，于室温下 (25°C) 使用 Peltier-cooled Silicon 检测仪进行。扫描范围在 2θ 区间自 1.5° 至 40° ，扫描速度为 $3^\circ / \text{分钟}$ 。在 X-射线衍射图谱中最重要的反射包括下列晶格平面间隔 (interlattice plane intervals)：

[0172] [3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基{2''-(四唑-5-ylate)联苯-4'-基甲基}氨基)丁酸]三钠半五水合物的优选的特征获自确定的 X-射线衍射图谱的晶格平面间隔 d ，下列数值为以 $[\circ]$ 表示的 2θ 的平均值 (误差范围为 ± 0.2)：

[0173] 4.5、5.5、5.6、9.9、12.8、15.7、17.0、17.1、17.2、18.3、18.5、19.8、21.5、21.7、23.2、23.3、24.9、25.3、27.4、27.9、28.0、30.2，

[0174] 或者误差范围为 ± 0.1 的平均值：

[0175] 4.45、5.52、5.57、9.94、12.82、15.66、17.01、17.12、17.2、18.32、18.46、19.76、21.53、21.72、23.17、23.27、24.88、25.3、27.4、27.88、28.04、30.2，

[0176] X-射线衍射图谱中最强烈的反射显示下列晶格平面间隔：

[0177] $2\theta [^\circ]$ ：4.5、5.6、12.8、17.0、17.2、19.8、21.5、27.4，特别是 4.45、5.57、17.01、17.2、19.76、21.5、27.4。

[0178] 对于一种给定的物质，验证上述晶格平面间隔的平均值和 X-射线衍射实验测定的强度的优选的方法包括计算得自单晶结构的平面间隔及其强度。该结构测定得到晶胞常数和原子位置，它使得相应于固体的 X-射线衍射图谱能够通过计算机辅助计算方法加以计算。采用的程序为应用软件 Materials Studio (Accelrys) 中的 Powder Pattern。下表显示了这些通过测定和计算单晶数据得到的数据比较，即 [3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基{2''-(四唑-5-ylate)联苯-4'-基甲基}氨基)丁酸]三钠半五水合物的最重要的线的晶格平面间隔和强度的数据比较：

[0179] 表

[0180]

测定值		计算值		测定值		计算值	
2 θ [°]	强度	2 θ [°]	强度	2 θ [°]	强度	2 θ [°]	强度
4.45	非常强	4.15	非常强	19.76	强	19.6	非常弱
5.52	强	5	强	21.53	弱	19.8	非常弱
5.57	强	6.5	强	21.72	非常弱	21.4	非常弱
9.94	非常弱	9.75	弱	23.17	弱	23.1	非常弱
12.82	非常强	12.6	弱	23.27	弱	23.15	非常弱
15.66	非常弱	15.05	强	24.88	非常弱		非常弱
17.01	弱	16.9	非常强	25.3	弱	25.3	非常弱
17.12	强	17.1	强	27.4	弱	27.3	非常弱
17.2	弱	17.15	弱	27.88	非常弱	27.9	非常弱
18.32	弱	18.25	非常弱	28.04	弱		
18.46	弱	18.3	弱	30.2	弱		
相对强度在 100%-50%之间为非常强, 50%-10%为强, 10%-5%为弱, 低于 5%为非常弱。							

[0181] 本发明涉及 [3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基 {2''-(四唑-5-ylate) 联苯-4'-基甲基} 氨基) 丁酸] 三钠半五水合物,它是一种结晶固体,其特征在于通过单晶 X-射线分析和 X-射线粉末模型获得的数据和参数。关于单晶 X-射线衍射方法的理论的深入探讨以及对结晶数据和参数的评价的定义可以参见 Stout & Jensen, X-Ray Structure Determination; A Practical Guide, Mac Millan Co., New York, N. Y. (1968) 第 3 章。

[0182] 结晶数据

[0183] 通式 $C_{48}H_{55}N_6O_8Na_3 \cdot 2.5H_2O$

[0184] 分子量 957.99

[0185] 结晶颜色 无色

[0186] 结晶形状 扁平:六边形

[0187] 结晶体系 单斜晶系

[0188] 空间群 $P2_1$

[0189] 晶胞参数 $a = 20.344 \text{ \AA}$

[0190] $b = 42.018 \text{ \AA}$

[0191] $c = 20.374 \text{ \AA}$

[0192] $\alpha = 90^\circ$

[0193] $\beta = 119.29^\circ$

[0194] $\gamma = 90^\circ$

- [0195] 单位晶胞体积
- [0196] 15190.03 Å³
- [0197] Z(单位晶胞中不对称单位的数量) 2
- [0198] 计算的强度 1.26845g/cm³
- [0199] 单晶 X-射线测定的数据
- [0200] 衍射仪 Nonius KappaCCD
- [0201] X-射线发生器 具有铜旋转阳极的 Nonius
- [0202] FR571 X-射线发生器
- [0203] 温度 270 K 和 150 K
- [0204] 注意：
- [0205] 两种适当的单晶的两组数据是在不同的温度下收集的,以保证在冷却期间不会发生相改变。
- [0206] 在 Fourier 图谱中没有观察到水的氢原子或胺氮原子,所以精制(refinement)中不包括它们。
- [0207] 用于结构解析的计算机程序：
- [0208] SHELXD(Sheldrick, **Göttingen**)
- [0209] 在三维空间,单位晶胞通过三个边长(a、b和c)和三个轴间角(α、β和γ)而加以定义。因此,可以确定单位晶胞的体积V_c。对这些结晶参数的加以区分的描述参见 Stout & Jensen(见上述)第3章。得自单晶测定(特别是原子坐标、各向同性热参数、氢原子坐标以及相应的各向同性热参数)的[3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨基甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基{2''-(四唑-5-ylate)联苯-4'-基甲基}氨基)丁酸]三钠半五水合物详细资料表明单斜晶系的单位晶胞的存在,其C₄₈H₅₅N₆O₈Na₃•2.5H₂O的12个结构单位的晶胞含量以两个折叠位置的两个不对称单位存在。
- [0210] 单晶 X-射线结构测定的无中心间隔群P2₁为常规的对映体纯的分子的间隔群。该间隔群中有两个一般位置(general position),这意味着对于单位晶胞中的12个结构单位,在不对称单位中一定有18个钠离子和15个水。
- [0211] 含有两个不对称单位的[3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨基甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基{2''-(四唑-5-ylate)联苯-4'-基甲基}氨基)丁酸]三钠半五水合物的超分子络合物的单位晶胞的图示见图1。
- [0212] 基于单晶结构溶液,[3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨基甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基{2''-(四唑-5-ylate)联苯-4'-基甲基}氨基)丁酸]三钠半五水合物超分子的不对称单位每一个均含有6个ARB和NEPi部分、18个钠原子和15个水分子。[3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨基甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基{2''-(四唑-5-ylate)联苯-4'-基甲基}氨基)丁酸]三钠半五水合物可以称为钠超分子络合物,可以被氧配基配位。这些氧来自上述部分的12个羧酸盐基团和18个羰基基团以及15个水分子中的13个。该结晶是这些钠络合物的无限三维空间网状结构。
- [0213] 此类复合物也可以通过采用傅里叶变换衰减全反射红外光谱法(ATR-FTIR)光谱仪(Nicolet Magna-IR 560)而得到的红外吸收光谱定性,采用下面所述的重要波段(以波

长数据的倒数 (cm^{-1}) 表示) 定性:

[0214] 2956(w), 1711(st), 1637(st), 1597(st), 1488(w), 1459(m), 1401(st), 1357(w), 1295(m), 1266(m), 1176(w), 1085(m), 1010(w), 1942(w), 907(w), 862(w), 763(st), 742(m), 698(m), 533(st)。络合物的特征特别在于下列峰: 1711(st), 1637(st), 1597(st) 和 1401(st)。ATR-IR 的所有吸收波段的误差为 $\pm 2\text{cm}^{-1}$ 。吸收波段的强度表示如下: (w) = 弱; (m) = 中; 和 (st) = 强。

[0215] 此类复合物也可以通过由拉曼光谱仪测定的拉曼光谱定性, 该光谱仪具有 785nm 激光激发源 (Kaiser Optical Systems, Inc.), 以下列重要波段 (以波长数据的倒数 (cm^{-1}) 表示):

[0216] 3061(m), 2930(m, 宽), 1612(st), 1523(m), 1461(w), 1427(w), 1287(st), 1195(w), 1108(w), 11053(w), 1041(w), 1011(w), 997(m), 866(w), 850(w), 822(w), 808(w), 735(w), 715(w), 669(w), 643(w), 631(w), 618(w), 602(w), 557(w), 522(w), 453(w), 410(w), 328(w)。

[0217] 所有的拉曼波段的误差 $\pm 2\text{cm}^{-1}$ 。吸收波段的强度表示如下: (w) = 弱; (m) = 中; 和 (st) = 强。

[0218] 此类复合物也可以通过由差示扫描量热法测定的不同的熔化性质而定性。采用 Q1000 (TA Instruments) 设备, 用于此类络合物的熔化启动温度和最大峰温度分别为 139°C 和 145°C 。加热速度为 10 K/min 。

[0219] 本发明第二个实施方案涉及药用组合物, 它包括组合产品、连接的前药或双重作用的复合物 (特别是本文中所述的络合物) 和至少一种药学上可接受的添加剂。包括 ARB 和 NEPi 的组合产品和络合物详细资料如上面本发明第一个实施方案中所述。

[0220] 本发明药用组合物可以根据众所周知的方法制备, 它们适用于胃肠给药 (例如口服或直肠给药) 和胃肠外给药, 给予哺乳动物 (温血动物), 包括人, 所述组合物包括治疗有效量的组合产品或双重作用的复合物 (特别是络合物), 它们可以单独使用或与至少一种药学上可接受的载体 (特别是适用于胃肠或肠胃外应用的载体) 组合使用。典型的口服制剂包括片剂、胶囊、糖浆、酏剂和悬浮液。典型的注射制剂包括溶液剂和悬浮液。

[0221] 适用于本发明的药学上可接受的添加剂包括但不限于稀释剂或填充剂、崩解剂、助流剂、润滑剂、粘合剂、着色剂及其组合, 前提是它们是化学惰性的, 因而不会对组合产品或双重作用的复合物产生负面影响, 固体制剂中每一种添加剂的量可以在本领域常规范围内改变。适用于上述制剂的典型的药学上可接受的载体的实例为: 糖类, 例如乳糖、蔗糖、甘露醇和山梨醇; 淀粉类, 例如玉米淀粉、木薯淀粉和土豆淀粉; 纤维素及其衍生物, 例如羧甲基纤维素钠, 乙基纤维素和甲基纤维素; 磷酸钙类, 例如磷酸二钙和磷酸三钙; 硫酸钠; 硫酸钙; 聚乙烯吡咯烷酮; 聚乙烯醇; 硬脂酸; 硬脂酸碱土金属盐, 例如硬脂酸镁和硬脂酸钙; 硬脂酸; 植物油类, 例如花生油、棉籽油、芝麻油、橄榄油和玉米油; 非离子、阳离子和阴离子表面活性剂; 乙二醇聚合物; β -环糊精; 脂肪醇类; 和谷物水解固形物以及其它无毒的可相容的填充剂、粘合剂、崩解剂、缓冲剂、防腐剂、抗氧剂、润滑剂、着色剂等, 在药物制剂中常用到的辅料。

[0222] 用于胃肠或肠胃外给药的药物制剂例如单位剂型, 例如包衣片剂、片剂、胶囊或栓剂以及安瓿。它们可以根据众所周知的方法制备, 例如, 采用传统的混合、制粒、包衣、溶解或冷冻干燥。所以, 用于口服的药用组合物可以通过将连接的前药、组合产品或双重作

用的复合物（特别是络合物）与固体赋形剂混合而获得，如果需要，将上述获得的混合物制粒，并且如果需要或必须，在加入适当的辅料后，将所述混合物或颗粒制成片剂或包衣片剂的片芯。

[0223] 组合产品或双重作用的复合物（特别是络合物）中的活性化合物的剂量取决于多种因素，例如，给药的模式、温血动物的种类、年龄和 / 或个体情况。在动物疾病模型中设定疗效的口服给药的剂量范围自约 0.1mg/kg/ 天至约 1000mg/kg/ 天，人类治疗设定的剂量范围自约 0.1mg/ 天至约 2000mg/ 天。连接的前药的优选的剂量范围自约 40mg/ 天至约 960mg/ 天，更优选约 80mg/ 天至约 640mg/ 天。ARB 成分给药的剂量自约 40mg/ 天至约 320mg/ 天，NEPi 成分给药的剂量自约 40mg/ 天至约 320mg/ 天。更优选，ARB/NEPi 的剂量分别包括 40mg/40mg、80mg/80mg、160mg/160mg、320mg/320mg、40mg/80mg、80mg/160mg、160mg/320mg、320mg/640mg、80mg/40mg、160mg/80mg 和 320mg/160mg。这些剂量为“治疗有效量”。本发明药用组合物的连接的前药、组合产品或双重作用的复合物（特别是络合物）的优选的剂量为治疗有效剂量。

[0224] 药用组合物可以含有另一种治疗成分，例如，每一种均为本领域报道的有效治疗剂量：包括 a) 抗糖尿病药物，例如胰岛素、胰岛素衍生物和模拟物；胰岛素促分泌剂，例如磺酰脲类如格列甲嗪、优降糖和亚莫利；促胰岛素磺酰脲受体配体类，例如格列奈类如那格列奈和瑞格列奈；过氧化物酶体增殖物激活受体（PPAR）配体；蛋白酪氨酸磷酸酯酶-1B（PTP-1B）抑制剂，例如 PTP-112；GSK3（糖原合酶激酶-3）抑制剂，例如 SB-517955、SB-4195052、SB-216763、NN-57-05441 和 NN-57-05445；RXR 配体，例如 GW-0791 和 AGN-194204；钠-依赖型葡萄糖共输送体抑制剂，例如 T-1095；糖原磷酸化酶 A 抑制剂，例如 BAY R3401；双胍类，例如二甲双胍； α -葡萄糖苷酶抑制剂，例如阿卡波糖；GLP-1（胰高血糖素样肽-1），GLP-1 类似物例如 Exendin-4 和 GLP-1 模拟物；和 DPP-IV（二肽酶 IV）抑制剂，例如 LAF237；

[0225] b) 降血脂药物，例如 3-羟基-3-甲基-甲基戊二酰辅酶 A（HMG-CoA）还原酶抑制剂，例如，洛伐他汀、匹伐他汀、新伐他汀、普伐他汀、西立伐他汀、美伐他汀、velostatin、氟伐他汀、达伐他汀、阿托伐他汀、瑞舒伐他汀和雷伐它汀；鲨烯合酶抑制剂；FXR（法尼酯 X 受体）和 LXR（肝 X 受体）配体；考来烯胺；贝特类；烟酸和阿司匹林；

[0226] c) 抗肥胖药物，例如奥利司他；和

[0227] d) 抗高血压药物，例如，袢利尿药，如依他尼酸、呋塞米和托拉塞米；血管紧张素转化酶（ACE）抑制剂，例如苯那普利、卡托普利、依那普利、福辛普利、赖诺普利、莫西普利、培哚普利、喹那普利、雷米普利和群多普利；Na-K-ATP 酶膜泵抑制剂，例如地高辛；ACE/NEP 抑制剂，例如奥马曲拉（omapatrilat）、山帕曲拉和法西多曲； β -肾上腺素能受体阻断剂，例如醋丁洛尔、阿替洛尔、倍他索洛尔、比索洛尔、美托洛尔、纳多洛尔、普萘洛尔、索他洛尔和噻吗洛尔；正性肌力药物，例如地高辛、巴酚丁胺和米力农；钙通道阻滞剂，例如，氨氯地平、苧普地尔、地尔硫革、非洛地平、尼卡地平、尼莫地平、硝苯地平、尼索地平和维拉帕米；醛甾酮受体拮抗剂；和醛甾酮合酶抑制剂。最优选的组合成分为利尿剂（例如氢氯噻嗪）和 / 或钙通道阻滞剂（例如氨氯地平或其盐）。

[0228] 其它的抗糖尿病化合物由 Patel Mona 描述于 Expert Opin Investig Drugs, 2003, 12(4), 623-633, 在图 1-7 中，它们在此引入作为参考。本发明复合物可以同时给药、在其它

活性成分之前或之后给药,或者分别以相同或不同的给药途径给药,或者在同一制剂中一起给药。

[0229] 由编码、通用名或商品名识别的治疗药物的结构可以得自现行版“Merck Index”的标准目录,或者得自数据库例如Patents International(如IMS World Publications)。其相应的内容在此引入作为参考。

[0230] 因此,本发明提供还含有治疗有效量的另一种治疗药物的药用组合物,所述另一种治疗药物优选选自抗糖尿病药、降血脂药、抗肥胖药或抗高血压药,最优选选自上述抗糖尿病药物、抗高血压药物或降血脂药物。

[0231] 本领域技术人员完全能够选择有关的实验模型以证明上下文中所述的本发明的组合产品在治疗所述适应症中的功效。

[0232] 代表性研究采用下列复合物进行:[3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基{2''-(四唑-5-ylate)联苯-4'-基甲基}氨基)丁酸]三钠半五水合物,例如应用于下列方法学研究:

[0233] [3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基{2''-(四唑-5-ylate)联苯-4'-基甲基}氨基)丁酸]三钠半五水合物的抗高血压和中性内肽酶 24.11 (NEP)-抑制活性在清醒大鼠中进行评价。在过度表达人肾素及其底物、人血管紧张素原的双转基因大鼠(dTGRs)中评价血压降低的作用(Bohlender等,High human renin hypertension in transgenic rats. Hypertension ;29(1 Pt 2):428-34,1997)。总之,这些动物均具有血管紧张素 II-依赖型高血压。[3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基{2''-(四唑-5-ylate)联苯-4'-基甲基}氨基)丁酸]三钠半五水合物的 NEP-抑制作用在被输注外源性心房钠利尿肽(ANP)的清醒 Sprague-Dawley 大鼠中进行测定。血浆 ANP 水平的增加被用作体内 NEP 抑制的指标。在两种模型中,[3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基{2''-(四唑-5-ylate)联苯-4'-基甲基}氨基)丁酸]三钠半五水合物以粉末填充入明胶微囊中口服给药。结果总结如下。

[0234] ●清醒 dTGRs,爆发性高血压大鼠动物模型口服给药后,[3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基{2''-(四唑-5-ylate)联苯-4'-基甲基}氨基)丁酸]三钠半五水合物具有剂量依赖及持久的抗高血压作用。

[0235] ●快速给予[3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基{2''-(四唑-5-ylate)联苯-4'-基甲基}氨基)丁酸]三钠半五水合物,它能够以剂量依赖的方式抑制 NEP 并在较长期的时间内发挥作用,标志在于它对输注外源性 ANP 的清醒 Sprague-Dawley 大鼠具有增加血浆 ANP 免疫反应性(ANPir)的作用。

[0236] ●

[0237] 体内抗高血压作用

[0238] 将 dTGRs 装上无线电遥测传感器,用于连续测量动脉血压和心率。将动物随机分为赋形剂组(空白胶囊)或治疗组(剂量为 2、6、20 或 60mg/kg,口服)。在所有的组中,24

小时平均动脉压 (MAP) 的基线约为 170-180mmHg。[3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基{2''-(四唑-5-ylate)联苯-4'-基甲基}氨基)丁酸]三钠半五水合物剂量依赖性地降低 MAP。得自治疗组的值为剂量依赖性的,得自三个最高剂量组的结果与赋形剂对照组明显不同。

[0239] 体内 NEP 的抑制

[0240] [3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基{2''-(四唑-5-ylate)联苯-4'-基甲基}氨基)丁酸]三钠半五水合物对 NEP 的体内抑制的程度和持续时间可以根据前述方法进行评定 (Trapani 等, CGS 35601 and its orally active prodrug CGS 37808 astriple inhibitors of endothelin-converting enzyme-1, neutral endopeptidase24.11, and angiotensin-converting enzyme. J Cardiovasc Pharmacol ;44(Suppl 1):S211-5, 2004)。将 Rat ANP(1-28)以 450ng/kg/min 的速度静脉输入清醒、长期插管的雄性 Sprague-Dawley 大鼠。输注 1 小时后,将大鼠随机分配到六组之一:未处理对照组、赋形剂(空白胶囊)对照组或四种剂量药物组之一(2、6、20 或 60mg/kg,口服)。ANP 输注持续另外的 8 小时。收集用于测定血浆 ANPir 的血样,通过商业酶免疫分析试剂盒于下列时间测定:-60 分钟(即开始 ANP 输注之前)、-30 分钟(ANP 输注开始后 30 分钟)、0 分钟(“基线”;ANP 输注后 60 分钟,但在给予药物或其赋形剂前)以及给药后 0.25、0.5、1、2、3、4、5、6、7 和 8 小时。

[0241] 输注 ANP 之前,ANPir 较低(0.9-1.4ng/ml),并且所有 6 组均是相似的。ANP 快速输注(30 分钟)将 ANPir 提高至~10ng/ml。在实验期间未处理组和赋形剂对照组一直保持该 ANPir 水平。相反,快速(15 分钟内)给予[3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基{2''-(四唑-5-ylate)联苯-4'-基甲基}氨基)丁酸]三钠半五水合物使得 ANPir 剂量依赖性地增加。总之,口服快速给予 LCZ696 剂量依赖性地增加 NEP,其作用时间较长,标志在于血浆 ANPir 的增加。

[0242] 该得到的结果表明本发明复合物的意想不到的治疗效果。

[0243] 第三方面,本发明涉及制备 ARB 或其药学上可接受的盐和 NEPi 或其药学上可接受的盐的连接的前药的方法,该方法包括下列步骤:

[0244] (a) 向溶剂中加入无机盐形成试剂,形成连接的前药的盐形成溶液;

[0245] (b) 向 ARB 和 NEPi 混合物中加入盐形成溶液,使得 ARB 和 NEPi 形成连接的前药;和

[0246] (c) 分离连接的前药。

[0247] 优选,各成分以相同的当量加入。

[0248] 无机盐形成试剂包括但不限于:氢氧化钙、氢氧化锌、甲醇钙、乙酸钙、碳酸氢钙、甲酸钙、氢氧化镁、乙酸镁、甲酸镁和碳酸氢镁、氢氧化钠、甲醇钠、乙酸钠、甲酸钠。无机盐形成试剂将连接的部分释放进溶剂,使得当 ARB 和 NEPi 存在时形成连接的前药。

[0249] 本发明的范围内包括的溶剂包括但不限于优选 ARB、NEPi 和无机盐形成试剂在其中的具有低溶解度并使得连接的前药能够结晶的溶剂。此类溶剂可以包括但不限于水、甲醇、乙醇、2-丙醇、乙酸乙酯、甲基-叔-丁基醚、乙腈、甲苯和二氯甲烷以及此类溶剂的混合物。

[0250] 当无机盐形成试剂和溶剂混合时,它们应该具有促进连接的前药形成的 pH。pH 可

以在约 2 至约 6 之间,优选在约 3 和约 5 之间,最优选在 3.9 和 4.7 之间。

[0251] 连接的前药可以通过结晶和色谱分离。色谱法的特定的类型包括例如配体特异性树脂色谱、反相树脂色谱和离子交换树脂色谱。

[0252] 特定的实例包括使得连接的前药的一种成分的二价盐与另一种成分的单价盐反应。通过使得缬沙坦的钙盐与 NEPi 成分的钠盐反应合成缬沙坦和一元 (nono-basic)NEPi 的特殊混合的盐。通过选择性结晶或配体特异性树脂色谱、反相树脂色谱或离子交换树脂色谱进行需要的混合的盐的分离。同样,该方法可以采用两种成分的单价盐进行,例如两种成分的钠盐。

[0253] 在本发明该方面的另一个实施方案中,获得连接的前药的共结晶体。在制备连接的前药的共结晶体的方法中,无机盐形成试剂用能够提供氢结合性能的中性分子代替。溶剂可以是分子的一部分,填充并被截留在晶格中。

[0254] 在第三方面的优选的实施方案中,本发明涉及制备双重作用的复合物的方法,所述复合物包括:

[0255] (a) 血管紧张素受体拮抗剂;

[0256] (b) 中性内肽酶抑制剂 (NEPi);和任选

[0257] (c) 药学上可接受的阳离子;

[0258] 所述方法包括下列步骤:

[0259] (i) 将血管紧张素受体拮抗剂和中性内肽酶抑制剂 (NEPi) 溶于适当的溶剂;

[0260] (ii) 将 Cat 碱性化合物溶于适当的溶剂,其中 Cat 为阳离子;

[0261] (iii) 将步骤 (i) 和 (ii) 获得的溶液合并;

[0262] (iv) 固体沉淀并干燥,得到双重作用的复合物;或者

[0263] 通过下列步骤并交换步骤 (i) 和 (ii) 中使用的溶剂,获得双重作用的复合物:

[0264] (iva) 将得到的溶液蒸发至干;

[0265] (va) 将固体重新溶于适当的溶剂;

[0266] (via) 固体沉淀并干燥,得到双重作用的复合物。

[0267] 关于络合物(包括 ARB、NEPi 和阳离子)的详细资料如上面本发明第一实施方案中所述。

[0268] 优选,在步骤 (i) 中,加入的 ARB 和 NEPi 的量为相同的摩尔量。ARB 和 NEPi 均优选采用游离的形式。步骤 (i) 中使用的溶剂可以是能够溶解 ARB 和 NEPi 的任何溶剂。优选的溶剂包括那些上述溶剂,即水、甲醇、乙醇、2-丙醇、丙酮、乙酸乙酯、乙酸异丙基酯、甲基-叔-丁基醚、乙腈、甲苯、DMF、NMF 和二氯甲烷以及此类溶剂的混合物,所述混合物例如乙醇-水、甲醇-水、2-丙醇-水、乙腈-水、丙酮-水、2-丙醇-甲苯、乙酸乙酯-庚烷、乙酸异丙基酯-丙酮、甲基-叔-丁基醚-庚烷、甲基-叔-丁基醚-乙醇、乙醇-庚烷、丙酮-乙酸乙酯、丙酮-环己烷、甲苯-庚烷,更优选丙酮。

[0269] 优选,步骤 (ii) 中 Cat 碱性化合物为能够与 ARB 和 NEPi 的酸性官能团形成盐的化合物。实例包括某些上述化合物,例如氢氧化钙、氢氧化锌、甲醇钙、乙醇钙、乙酸钙、碳酸氢钙、甲酸钙、氢氧化镁、乙酸镁、甲酸镁、碳酸氢镁、氢氧化钠、碳酸钠、碳酸氢钠、甲醇钠、乙醇钠、乙酸钠、甲酸钠、氢氧化钾、碳酸钾、碳酸氢钾、甲醇钾、乙醇钾、乙酸钾、甲酸钾、氢氧化铵、甲醇铵、乙醇铵和碳酸铵。也可以采用高氯酸盐。也可以采用此类上述胺碱或盐形

成试剂,特别是 benzathine、L- 精氨酸、cholin、乙二胺、L- 赖氨酸或哌嗪。通常,无机碱与本文中特定的 Cat 一起使用。优选,碱性化合物为 (Cat)OH、(Cat)₂CO₃、(Cat)HCO₃,更优选 Cat (OH),例如 NaOH。碱性化合物应用的量为相当于 ARB 或 NEPi 的至少 3 当量,优选它以化学计量的量应用从而得到双重作用的复合物,特别是具有三个阳离子的络合物。步骤 (ii) 中使用的溶剂可以是能够溶解 Cat (OH) 的任何溶剂或溶剂混合物。优选的溶剂包括水、甲醇、乙醇、2- 丙醇、丙酮、乙酸乙酯、乙酸异丙基酯、甲基 - 叔 - 丁基醚、乙腈、甲苯和二氯甲烷以及此类溶剂的混合物,更优选水。

[0270] 在步骤 (iii) 中,将步骤 (i) 和 (ii) 中得到的溶液合并。这可以通过下列步骤代替:将步骤 (i) 中得到的溶液加至步骤 (ii) 中得到的溶液中,或反之亦然,优选,将步骤 (ii) 中得到的溶液加至步骤 (i) 中得到的溶液中。

[0271] 根据第一个可选择的方法,一旦合并并优选混合,双重作用的复合物(特别是络合物)在步骤 (iv) 中沉淀。通常于室温下通过将溶液搅拌适当的时间来促进该混合和沉淀,例如搅拌 20 分钟至 6 小时,优选 30 分钟至 3 小时,更优选 2 小时。加入双重作用的复合物的晶种是有益的。该方法有助于沉淀形成。

[0272] 在第一可供选择的步骤 (iv) 中,通常加入共溶剂。采用的共溶剂为复合形式 ARB 和 NEPi 在其中具有低溶解度的溶剂,它使得复合物能够沉淀。该共溶剂代替的蒸馏(连续蒸馏或分步蒸馏)导致溶剂中共溶剂的量占优势。优选的溶剂包括乙醇、2- 丙醇、丙酮、乙酸乙酯、乙酸异丙基酯、甲基 - 叔 - 丁基醚、乙腈、甲苯和二氯甲烷以及此类溶剂的混合物,更优选乙酸异丙基酯。优选,采用有助于沉淀的最小量的溶剂。通过例如过滤收集固体,将其干燥得到双重作用的复合物,特别是本发明的络合物。干燥步骤可以在室温下进行或者在提高的温度下进行,例如 30-60℃,优选 30-40℃。可以采用减压以有助于除去溶剂,优选,干燥在常压下或减压下 进行,例如 10-30bar,如 20bar。

[0273] 根据第二个可供选择的方法,一旦合并和优选混合后,双重作用的复合物(特别是复合的混合物)优选形成澄清的溶液。通常于室温下通过将溶液搅拌适当的时间来进行该混合,例如搅拌 20 分钟至 6 小时,优选 30 分钟至 3 小时,更优选 1 小时。如果需要,可以提高温度以保证得到澄清的溶液。

[0274] 然后,将获得的混合物进一步通过溶剂交换来处理以得到双重作用的复合物,特别是络合物。

[0275] 在第二个可供选择的方法的步骤 (iva) 中,优选在提高的温度下将溶液蒸发至干,例如高于室温至 50℃,更优选 30-40℃。

[0276] 优选,在步骤 (va) 中,使用的溶剂或溶剂混合物为络合物形式的 ARB 和 NEPi 在其中具有低溶解度的溶剂,它能够使得双重作用的复合物(特别是络合物)形成沉淀。优选的溶剂包括上述步骤 (i) 中的溶剂,例如水、乙醇、2- 丙醇、丙酮、乙酸乙酯、乙酸异丙基酯、甲基 - 叔 - 丁基醚、乙腈、甲苯和二氯甲烷以及此类溶剂的混合物,更优选乙酸异丙基酯。优选,采用能够有助于形成沉淀的最小量的溶剂或溶剂混合物。

[0277] 在步骤 (via) 中,沉淀可以在室温下进行。它可以通过将混合物静置或通过搅拌混合物进行,优选通过搅拌进行。该步骤优选通过搅拌和 / 或超声处理进行。沉淀后,通过例如过滤收集固体,将其干燥得到本发明复合物。干燥步骤可以在室温下进行或者在提高的温度下进行,例如 30-60℃,优选室温。可以采用减压以有助于除去溶剂,优选,干燥在常

压下进行。

[0278] 第四方面,本发明涉及治疗或预防疾病或病症的方法,所述疾病例如高血压、心衰(急性和慢性的)、充血性心衰、左心室功能不全和肥厚型心肌病、糖尿病性心肌病、室上型和心室型心律失常、房颤、心房扑动、有害的血管重塑、心肌梗塞及其后遗症、动脉硬化症、绞痛(不稳定或稳定型)、肾功能不全(糖尿病和非糖尿病性)、心衰、心绞痛、糖尿病、继发性醛固酮过多症、原发性和继发性肺高血压、肾衰疾病(例如糖尿病性肾病、血管球性肾炎、硬皮病、肾小球硬化、原发性肾病蛋白尿以及肾血管高血压)、糖尿病性视网膜病,其它血管疾病,例如偏头痛、外周血管疾病、雷诺氏病、luminal hyperplasia、认知障碍(例如阿尔茨海默氏认知障碍)、青光眼和中风,所述方法包括给予给予需要此类治疗的患者前述组合产品、连接的前药或双重作用的复合物,特别是络合物。

[0279] 第一个实施方案的组合产品、连接的前药或双重作用的复合物(特别是络合物)可以单独给药,或者以第二实施方案的药用组合物的形式给药。不管组合产品、连接的前药或双重作用的复合物(特别是络合物)采用何种方式给药,剂量(即治疗有效量)是相同的。

[0280] 考虑到作为一线治疗、制剂的方便性和生产的方便性,组合产品、连接的前药或双重作用的复合物(特别是络合物)较 ARBs 或中性内肽酶抑制剂单独的联合应用或其它 ARB/NEPi 联合应用更为有利。

[0281] 参照下列实施例说明本发明的特定实施方案。可以理解,这些实施例的公开只是用于阐述本发明,并非以任何方式限制本发明。

[0282] 实施例 1

[0283] [缬沙坦((2R,4S)-5-联苯-4-基-5-(3-羧基-丙酰基氨基)-2-甲基-戊酸乙酯) $\text{Na}_3 \cdot 2.5 \text{H}_2\text{O}$

[0284] 通过将 0.42g 的 (2R,4S)-5-联苯-4-基-5-(3-羧基-丙酰基氨基)-2-甲基-戊酸乙酯游离酸(~95%的纯度)和 0.41g 的缬沙坦游离酸溶于 40ml 丙酮中制备缬沙坦和 (2R,4S)-5-联苯-4-基-5-(3-羧基-丙酰基氨基)-2-甲基-戊酸乙酯的双重作用的复合物。另外,将 0.111g 的 NaOH 溶于 7ml H_2O 中。将两种溶液合并,于室温下搅拌 1 小时,得到澄清的溶液。将该溶液于 35°C 蒸发得到玻璃状固体。然后,将玻璃状固体残留物置于 40ml 丙酮中,将得到的混合物搅拌并超声处理直到沉淀形成(~5 分钟)。过滤沉淀物并将固体于室温下空气中干燥 2 天直到获得稳定量的结晶固体。

[0285] 多种定性方法都能够证明缬沙坦和 (2R,4S)-5-联苯-4-基-5-(3-羧基-丙酰基氨基)-2-甲基-戊酸乙酯的存在以及相对于简单的物理混合物的络合物的形成。络合物的重要光谱峰在例如 XRPD、IR 和拉曼光谱中都能够观察到,而它们在物理混合物中却不存在。详见下面的定性部分。

[0286] 实施例 2

[0287] [缬沙坦((2R,4S)-5-联苯-4-基-5-(3-羧基-丙酰基氨基)-2-甲基-戊酸乙酯) $\text{Na}_3 \cdot 2.5 \text{H}_2\text{O}$ 的可供选择的制备方法

[0288] 将 22.96mmol 的 (2R,4S)-5-联苯-4-基-5-(3-羧基-丙酰基氨基)-2-甲基-戊酸乙酯游离酸(~95%的纯度)和缬沙坦(10.00g;22.96mmol)溶于丙酮(300mL)中制备缬沙坦和 (2R,4S)-5-联苯-4-基-5-(3-羧基-丙酰基氨基)-2-甲基-戊酸乙酯的双

重作用的复合物。将悬浮液于室温下搅拌 15 分钟得到澄清的溶液。然后,将 NaOH(2.76g; 68.90mmol) 的水(8mL)溶液在 10 分钟内加至上述溶液中。10 分钟内开始形成固体沉淀。或者,可以通过加入晶种诱导沉淀形成。将该悬浮液于 20-25℃搅拌 2 小时。将该悬浮液于 15-30℃减压(180-250mbar)浓缩至批容积为~150mL。然后,将乙酸异丙基酯(150mL)加至该批中,将悬浮液再次于 15-30℃减压(180-250mbar)浓缩至批容积为~150mL。将该操作过程(将 150mL 的乙酸异丙基酯加至该批并浓缩)再重复一次。将悬浮液于 20-25℃搅拌 1 小时。氮气环境下通过布式漏斗过滤收集固体,用乙酸异丙基酯(20mL)洗涤,于 35℃减压(20mbar)干燥,得到复合物。

[0289] 定性显示与实施例 1 中的产物相同。

[0290] 实施例 3

[0291] [缬沙坦((2R,4S)-5-联苯-4-基-5-(3-羧基-丙酰基氨基)-2-甲基-戊酸乙酯) $\text{Na}_3 \cdot 2.5 \text{H}_2\text{O}$ 的可供选择的制备方法,采用晶种方法

[0292] 向反应器中加入 2.00kg(2,323mmol)的 AHU377 钙盐和 20L 的乙酸异丙基酯。将该悬浮液于 23±3℃搅拌,加入 4.56L 的 2 N HCl。将混合物于 23±3℃搅拌 15 分钟,得到澄清的两相溶液。分离有机层并用 3×4.00L 的水洗涤。将有机层于 30-100mbar 和 22±5℃浓缩,得到~3.5L(3.47kg)的 AHU377 游离酸乙酸异丙基酯溶液,为无色溶液

[0293] 向含有~3.5L(3.47kg)的 AHU377 游离酸乙酸异丙基酯溶液的反应器中加入 1.984kg(4,556mmol)的缬沙坦和 40L 的丙酮。将反应混合物于 23±3℃搅拌,得到澄清的溶液,将其过滤进一个反应器。于 23±3℃,在 15-30 分钟内向反应混合物中加入 547.6g(13,690mmol)的 NaOH 的 1.0L 水溶液(将其冷却至 20±5℃并在线过滤),同时保持内部温度在 20-28℃(产生轻微的放热)。将烧瓶用 190mL 水冲洗,加入反应混合物中。将反应混合物于 23±3℃搅拌 15 分钟,加入 4.0g 的[缬沙坦((2R,4S)-5-联苯-4-基-5-(3-羧基-丙酰基氨基)-2-甲基-戊酸乙酯) $\text{Na}_3 \cdot 2.5 \text{H}_2\text{O}$ 晶种在 50mL 乙酸异丙基酯中的浆状物。将混合物于 23±3℃搅拌 2 小时,得到悬浮液。将该悬浮液在 20 分钟内加热至 40±3℃,20 分钟内加入 20 L 的乙酸异丙基酯,同时保持内部温度在 40±3℃。将悬浮液于此温度下再搅拌 30 分钟。于内部温度 35±5℃(T_j 45±5℃)将混合物减压(200-350 mbar)浓缩,得到~35L 白色浆状物(收集溶剂:~25L)。然后加入 30L 的乙酸异丙基酯,将该混合物于 35±5℃(T_j 45±5℃)减压(100-250 mbar)浓缩,得到~30L 白色浆状物(收集溶剂:~40L)。再次加入 40L 的乙酸异丙基酯,将该混合物于 35±5℃(T_j 45±5℃)减压(100-200mbar)浓缩,得到~30L 的白色浆状物(收集溶剂:~30L)。将反应混合物 20 分钟内冷却至 23±3℃,于此温度下再搅拌 3 小时。在氮气环境下经布式漏斗聚丙烯垫过滤收集固体。将固体用 2×5L 的乙酸异丙基酯洗涤,于 35℃减压(20mbar)干燥直到乙酸异丙基酯的含量<0.5%,得到上述产物,为白色固体。

[0294] 定性显示得到的产物与实施例 1 中相同。

[0295] X-射线粉末衍射

[0296] 采用 Scintag XDS2000 粉末衍射仪得到 X-射线粉末图谱,对样品的最重要的线进行晶格平面间隔计算,得到下列结果:

[0297] $d[\text{Å}]$: 21.2(s), 17.0(w), 7.1(s), 5.2(w), 4.7(w), 4.6(w), 4.2(w), 3.5(w), 3.3(w)

[0298] 所有的晶格平面间隔的误差为 $\pm 0.1 \text{ \AA}$ 。峰强度表示如下：(w) = 弱；(m) = 中；(st) = 强。

[0299] $2\theta [^\circ]$ 的平均值表示为（误差范围 ± 0.2 ）

[0300] 4.5, 5.5, 5.6, 9.9, 12.8, 15.7, 17.0, 17.1, 17.2, 18.3, 18.5, 19.8, 21.5, 21.7, 23.2, 23.3, 24.9, 25.3, 27.4, 27.9, 28.0, 30.2。

[0301] 元素分析

[0302] 元素分析得到样品中存在的元素的下列测定值。在误差范围内，元素分析的结果与通式 $(C_{48}H_{55}N_6O_8Na_3) \cdot 2.5H_2O$ 一致：

[0303] 实测值：C :60.05% H :6.24% N :8.80%

[0304] 计算值*：C :60.18% H :6.31% N :8.77%

[0305] 红外光谱

[0306] 采用傅里叶变换衰减全反射红外光谱法 (ATR-FTIR) 光谱仪 (NicoletMagna-IR 560) 获得样品的红外吸收光谱，下面列出重要光带，以波长的倒数表示 (cm^{-1})：

[0307] 2956(w), 1711(st), 1637(st), 1597(st), 1488(w), 1459(m), 1401(st), 1357(w), 1295(m), 1266(m), 1176(w), 1085(m), 1010(w), 1942(w), 907(w), 862(w), 763(st), 742(m), 698(m), 533(st)。

[0308] ATR-IR 的所有的吸收光带的误差为 $\pm 2cm^{-1}$ 。

[0309] 吸收光带的强度表示如下：(w) = 弱；(m) = 中；(st) = 强。

[0310] 拉曼光谱

[0311] 具有 785nm 激光激发源的扩散拉曼光谱仪 (Kaiser Optical Systems, Inc.) 测定的样品的拉曼光谱具有下列以波长倒数 (cm^{-1}) 表示的光带：

[0312] 3061(m), 2930(m, 宽), 1612(st), 1523(m), 1461(w), 1427(w), 1287(st), 1195(w), 1108(w), 11053(w), 1041(w), 1011(w), 997(m), 866(w), 850(w), 822(w), 808(w), 735(w), 715(w), 669(w), 643(w), 631(w), 618(w), 602(w), 557(w), 522(w), 453(w), 410(w), 328(w)。

[0313] 所有的拉曼光带的误差为 $\pm 2cm^{-1}$ 。

[0314] 吸收光带的强度表示如下：(w) = 弱；(m) = 中；和 (st) = 强。

[0315] 高分辨率 CP-MAS ^{13}C NMR 光谱

[0316] 采用 Bruker-BioSpin AVANCE 500 NMR 色谱仪，通过高分辨率 CP-MAS (Cross Polarization Magic Angle Spinning) ^{13}C NMR 光谱学测定样品，所述色谱仪装配有 300 瓦高能量 1H 、两个 500 瓦高能量 X- 放大器（必须的高能量预-放大器）、一个“MAS”控制器和 4mm BioSolids 高分辨率 Bruker 探针。

[0317] 将每一个样品填充到 4mm ZrO_2 转子中。关键实验参数为 3msec ^{13}C 接触时间、12 KHz 的魔角旋转速度，“ramped”接触时间，采用“SPINAL64” 1H 去耦合方案，循环延迟时间为 10 秒，于 293deg K 进行 1024 次扫描。以于 176.04ppm 处的甘氨酸羰基作外标测定化学位移。

[0318] 高分辨率 CP-MAS ^{13}C NMR 显示下列重要的峰 (ppm)：

[0319] 179.0, 177.9 177.0, 176.7, 162.0, 141.0, 137.2, 129.6, 129.1, 126.7, 125.3, 64.0, 61.5, 60.4, 50.2, 46.4, 40.6, 38.6, 33.5, 32.4, 29.8, 28.7, 22.3, 20.2, 19.1, 17.8, 16.8, 13.1, 12.1, 11.1。

[0320] 缬沙坦和 (2R,4S)-5- 联苯 -4- 基 -5-(3- 羧基 - 丙酰基氨基)-2- 甲基 - 戊酸乙酯的单独钠盐的物理混合物显示两种盐的简单惰性混合物。然而,与 1 : 1 的钠盐混合物相比,实施例 1 中制备的络合物样品具有明显不同的光谱特征。

[0321] DSC 和 TGA

[0322] 采用 Q1000 (TA Instruments) 仪器,通过差示扫描量热法 (DSC) 测定,样品的熔融起始温度和最高峰温度分别为 139°C 和 145°C。

[0323] DSC 和热重分析法 (TGA) 显示,当加热时,水合的水通过两步释放:第一步发生在 100°C 以下,第二步发生在 120°C 以上。

[0324] DSC 和 TGA 仪器的加热速度为 10K/ 分钟。

[0325] 实施例 4

[0326] 流程 (1) 中连接的前药的制备

[0327] 缬沙坦钙盐和 (2R,4S)-5- 联苯 -4- 基 -5-(3- 羧基 - 丙酰基氨基)-2- 甲基 - 戊酸乙酯的连接的前药制备如下:于室温下,将 114mg 的缬沙坦钙盐和 86mg 的 (2R,4S)-5- 联苯 -4- 基 -5-(3- 羧基 - 丙酰基氨基)-2- 甲基 - 戊酸乙酯游离酸溶于 2mL 甲醇中,然后将甲醇蒸发。随后向玻璃状固体残留物中加入 3mL 乙腈并平衡 10 分钟。超声处理,然后磁力搅拌 20 小时。过滤收集约 120mg 白色固体。液相色谱 (LC) 和元素分析表明 (2R,4S)-5- 联苯 -4- 基 -5-(3- 羧基 - 丙酰基氨基)-2- 甲基 - 戊酸乙酯和缬沙坦之间的比例为 1 : 1。X- 射线粉末衍射表明样品为无定形。

[0328] 流程 (2) 中连接的前药的制备

[0329] 缬沙坦钙盐和 (2R,4S)-5- 联苯 -4- 基 -5-(3- 羧基 - 丙酰基氨基)-2- 甲基 - 戊酸乙酯和 Tris 的连接的前药制备如下:将 57mg 的缬沙坦钙盐、43mg 的 (2R,4S)-5- 联苯 -4- 基 -5-(3- 羧基 - 丙酰基氨基)-2- 甲基 - 戊酸乙酯游离酸和 12.6mg 的三 (羟基甲基) 氨基甲烷 (Tris) 溶于 2mL 甲醇中,然后将甲醇蒸发。随后,向玻璃状固体残留物中加入 3mL 乙腈并平衡 10 分钟。超声处理,然后 磁力搅拌 20 小时。过滤收集约 83mg 的白色固体。LC 和元素分析表明 (2R,4S)-5- 联苯 -4- 基 -5-(3- 羧基 - 丙酰基氨基)-2- 甲基 - 戊酸乙酯和缬沙坦之间的比例为 1 : 1。X- 射线粉末衍射表明样品为无定形。

[0330] 通过上面特定的实施方案说明了本发明,但很显然,在不背离本公开发明理念的情况下,可以采用多种变化、改变和变通方法。因此,所有的此类变化、改变和变通方法都包含在附加的权利要求的精神和范围内。本文所引用的所有的专利申请、专利以及其它出版物均以其全部内容引入作为参考。

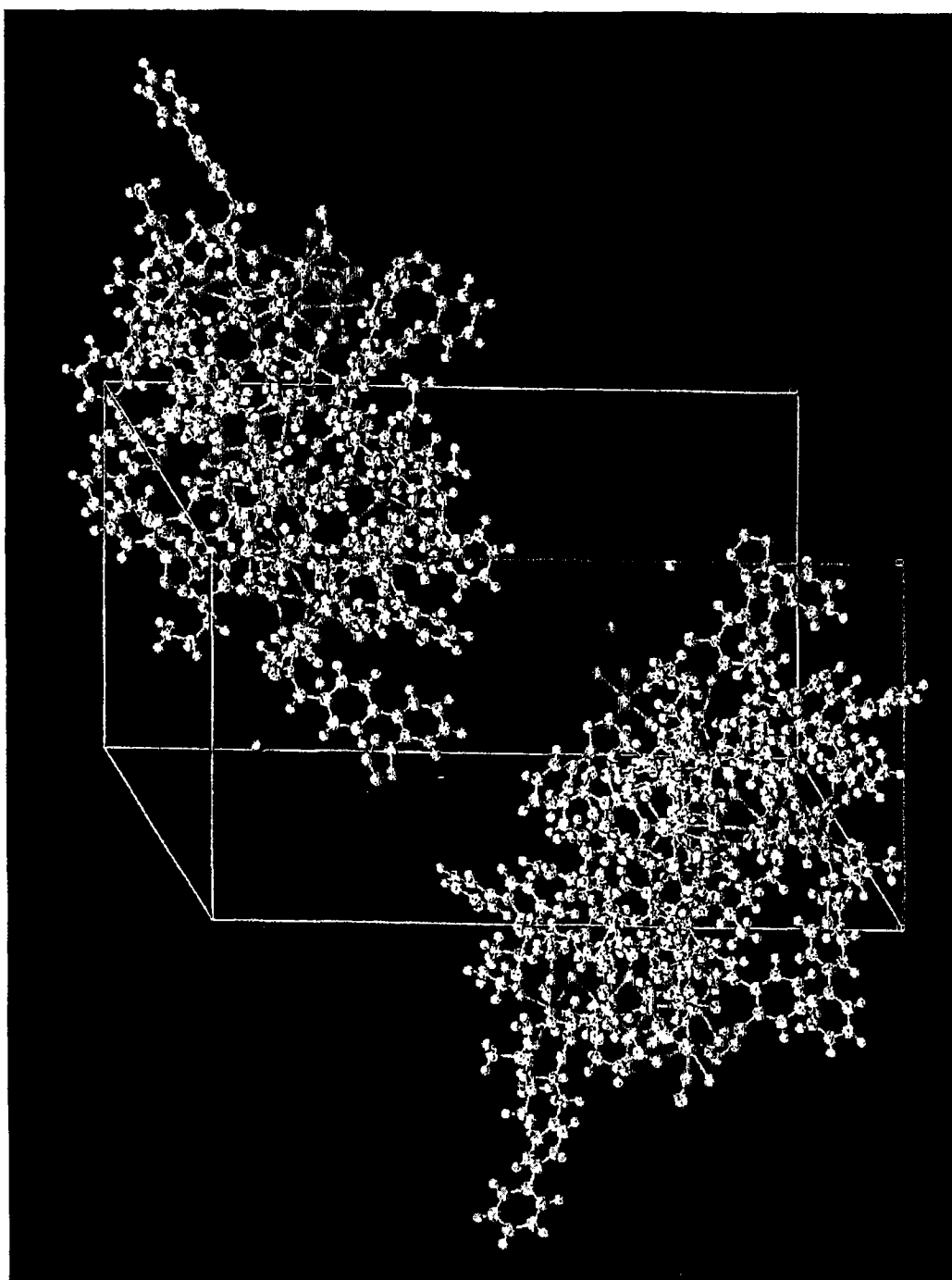


图 1

包括两个不对称单位的 [3-((1S,3R)-1-联苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基氨甲酰基)丙酸-(S)-3'-甲基-2'-(戊酰基(2''-(四唑-5-ylate)联苯-4'-基甲基)氨基)丁酸]三钠半五水合物超分子络合物的晶胞 (cell)。

灰色=碳原子;兰色=氮原子;

红色=氧原子;紫色=钠原子。