



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104755086 A

(43) 申请公布日 2015. 07. 01

(21) 申请号 201380055135. 1

(22) 申请日 2013. 10. 09

(30) 优先权数据

61/717, 429 2012. 10. 23 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 04. 22

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2013/059239 2013. 10. 09

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/064566 EN 2014. 05. 01

(71) 申请人 辉瑞公司

地址 美国纽约

(72) 发明人 V·克莱林 J·盖尔 N·塔米米

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

72002

代理人 安琪 张晓威

(51) Int. Cl.

A61K 31/519(2006. 01)

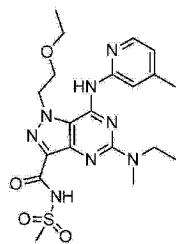
A61P 13/12(2006. 01)

权利要求书1页 说明书11页 附图1页

(54) 发明名称

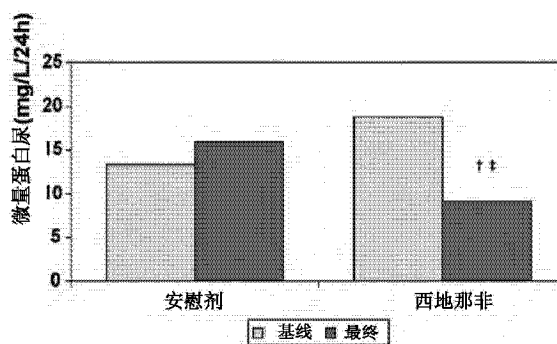
四取代的吡唑并[4,3-d]嘧啶化合物用于治疗糖尿病肾病的用途

(57) 摘要



1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙

基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺本发明涉及在患者中延缓向终末期肾病(ESRD)进展的方法,其包括给药1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺。本发明还包括给药药物组合物以延缓向ESRD的进展。



1. 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐,其用于治疗终末期肾病。

2. 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐以及至少一种载体、稀释剂或赋形剂,其用于治疗终末期肾病。

3. 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐,其用于治疗糖尿病肾病。

4. 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐以及至少一种载体、稀释剂或赋形剂,其用于治疗糖尿病肾病。

5. 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐,其用于治疗慢性肾病。

6. 权利要求5的用途,其中所述慢性肾病是3期或4期的。

7. 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐以及至少一种载体、稀释剂或赋形剂,其用于治疗慢性肾病。

8. 权利要求7的用途,其中所述慢性肾病是3期或4期的。

9. 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐,其用于减少尿中的白蛋白。

10. 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐以及至少一种载体、稀释剂或赋形剂,其用于减少尿中的白蛋白。

11. 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐,其用于治疗巨白蛋白尿。

12. 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐以及至少一种载体、稀释剂或赋形剂,其用于治疗巨白蛋白尿。

四取代的吡唑并 [4, 3-d] 嘧啶化合物用于治疗糖尿病肾病的用途

发明领域

[0001] 本发明涉及利用四取代的吡唑并 [4, 3-d] 嘧啶化合物或者包含所述四取代的吡唑并 [4, 3-d] 嘧啶化合物的药物组合物来治疗和 / 或预防糖尿病肾病和 / 或慢性肾病的进展的方法。

[0002] 发明背景

[0003] 糖尿病肾病 (DN) 是糖尿病引起的进行性肾病,其影响多达 40% 的 I 型或 II 型糖尿病患者。DN 的特征在于蛋白尿 (尿中的蛋白)、引起终末期肾病 (ESRD) 的肾功能的进行性下降、高血压以及升高的心血管发病率及死亡率。ESRD 是一种威胁生命的疾病状况,其存在完全或几乎完全的肾功能丧失,从而需要透析或肾脏移植。

[0004] 目前患有糖尿病肾病的患者的标准护理疗法通过利用血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制剂和 / 或血管紧张素 II 受体阻断剂 (ARB) 来靶向肾素血管紧张素系统 (RAS),但是这些药物的最佳剂量的使用受到高钾血症 (高血清钾水平) 的风险的限制,所述高钾血症是一种严重的副作用。高钾血症可以导致心率异常,并且在某些极端情况下引起死亡。鉴于目前可用的延缓糖尿病肾病进展的治疗的效力一般,医药上亟需单独或与目前的护理疗法标准联合使用的化合物,其延缓患者向终末期肾病的进展。

[0005] 本发明涉及一种用于治疗 DN 和 CKD 的新疗法,其靶向 NO 信号传导途径,与 RAS 方法不同,其使用 5 型磷酸二酯酶 (PDE5) 抑制剂 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并 [4, 3-d] 嘧啶-3-甲酰胺。

发明内容

[0006] 本发明涉及延缓患者的 CKD 特别是糖尿病肾病的进展和 / 或预防患者的 ESRD 的方法,其包括向有此需要的患者给药治疗有效量的 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并 [4, 3-d] 嘧啶-3-甲酰胺 (实施例 1 化合物) 或其药学可接受的盐的步骤。

[0007] 在另一实施方案中,本发明涉及延缓患者的 CKD 特别是糖尿病肾病的进展和 / 或预防患者的 ESRD 的方法,其包括向有此需要的患者给药药物组合物的步骤,所述药物组合物包含:治疗有效量的 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并 [4, 3-d] 嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐以及至少一种药学可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

附图说明

[0008] 图 1 示出在 II 型糖尿病男性患者中,用柠檬酸西地那非以每日 50mg 给药 30 天进行治疗后 (n = 20),相对于基线或安慰剂 (n = 20),微量蛋白尿明显减少。

[0009] 发明详述

[0010] 一氧化氮 (NO) 有助于维持正常的肾功能。NO 产生和 / 或可用性在患有晚期 DN 的患者中降低。降低的 NO 信号传导促成成人中的蛋白尿的产生和 DN 的进展。尿中的白蛋白越多, 则向 ESRD 的进展越快。微量蛋白尿被定义为人中的尿白蛋白与肌酐的比例 (UACR) 为 30mg/g-300mg/g, 而巨白蛋白尿则被定义为 UACR>300mg/g。糖尿病肾病中巨白蛋白尿的存在与肾病的进展密切相关。

[0011] 慢性肾病又称为慢性肾疾病, 是数月或数年内伴随着降低的肾小球滤过率 (GFR) 的进行性肾功能丧失, 其表现出降低的肾功能和 CDK 的进展。以毫升 / 分钟 (mL/min) 表示的 GFR 定义 CKD 的 5 个阶段: >90mL/min 为 1 期; 60-89mL/min 为 2 期; 30-59mL/min 为 3 期; 15-29mL/min 为 4 期; 并且 <15mL/min 为 5 期。受损的 NO 信号传导与 CKD 有关。这由以下的组合导致: NO 产生的减少、NO 被活性氧物质耗尽 / 失活以及可溶性鸟苷酸环化酶 (sGC) 功能失调。相关的 NO 缺陷和功能失调的 sGC 促成高血压并且加速肾病的进展。

[0012] 抑制 PDE5 可以恢复 NO 信号传导途径的完整性, 从而获得许多有益效果, 包括降低蛋白尿和降低血压。NO 通过剪应力和诸如缓激肽的局部血管活性物质的作用从神经末端和心血管系统中的血管内皮细胞释放。NO 通过活化鸟苷酸环化酶引起平滑肌舒张, 从而引起环状 5'-单磷酸鸟苷 (cGMP) 增加。PDE5 特异性降解 cGMP, 因此人 PDE5 的抑制剂可以使得 cGMP 水平升高。升高的 cGMP 降低细胞内钙水平, 从而使得平滑肌细胞舒张, 并最终导致动脉压降低、血管阻力降低和血流增加。

[0013] 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡啶并[4, 3-d]嘧啶-3-甲酰胺(实施例 1 化合物)是人 PDE5 的选择性和竞争性抑制剂 ($IC_{50} = 0.71nM$)。实施例 1 化合物对大鼠 PDE5 表现出相当的酶抑制效力 ($IC_{50} = 0.93nM$), 并且在大鼠的分离主动脉研究中功能性地增强 NO 的血管舒张作用 ($EC_{50} = 3.1nM$)。实施例 1 化合物在犬和大鼠中表现出低清除, 从而实现长半衰期值, 并且在犬和大鼠中都表现出高口服生物利用度。实施例 1 化合物对主要的人细胞色素 P450 酶没有表现出明显的抑制, 因此不大可能显著改变作为这些酶的底物的共给药药物的代谢。

[0014] 在另一实施方案中, 本发明涉及治疗或预防患者的糖尿病肾病的进展的方法, 其包括向需要此类治疗的患者给药治疗有效量的 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡啶并[4, 3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐的步骤。

[0015] 在另一实施方案中, 本发明涉及治疗或预防患者的糖尿病肾病的进展的方法, 其包括向需要此类治疗的患者给药药物组合物的步骤, 所述药物组合物包含治疗有效量的 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡啶并[4, 3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐以及至少一种载体、稀释剂或赋形剂。

[0016] 在另一实施方案中, 本发明涉及治疗或预防患者的慢性肾病的进展的方法, 其包括向需要此类治疗的患者给药治疗有效量的 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡啶并[4, 3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐的步骤。特别地, 本发明的方法可以用于治疗或预防 3 期或 4 期 CKD。

[0017] 在另一实施方案中, 本发明涉及治疗或预防患者的慢性肾病的进展的方法, 其

包括向需要此类治疗的患者给药药物组合物的步骤,所述药物组合物包含治疗有效量的 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐以及至少一种载体、稀释剂或赋形剂。特别地,本发明的方法可以用于治疗或预防 3 期或 4 期 CKD。

[0018] 在另一实施方案中,本发明涉及降低患者的尿中的白蛋白的方法,其包括向需要此类治疗的患者给药治疗有效量的 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐的步骤。

[0019] 在另一实施方案中,本发明涉及降低患者的尿中的白蛋白的方法,其包括向需要此类治疗的患者给药药物组合物的步骤,所述药物组合物包含治疗有效量的 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐以及至少一种载体、稀释剂或赋形剂。

[0020] 在另一实施方案中,本发明涉及治疗或预防患者的巨蛋白尿的方法,其包括向需要此类治疗的患者给药治疗有效量的 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐的步骤。

[0021] 在另一实施方案中,本发明涉及治疗或预防患者的巨蛋白尿的方法,其包括向需要此类治疗的患者给药药物组合物的步骤,所述药物组合物包含治疗有效量的 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐以及至少一种载体、稀释剂或赋形剂。

[0022] 在另一实施方案中,1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐可以与其它 5 型磷酸二酯酶(PDE5)抑制剂组合使用,所述其它 PDE5 抑制剂包括但不限于阿伐那非、罗地那非、米罗那非、西地那非、他达拉非、伐地那非和乌地那非。所述组合可以分别给药或者在同一药物组合物中给药。

[0023] 在另一实施方案中,1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐可以与血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂组合使用,所述 ACE 抑制剂包括但不限于卡托普利、依那普利、赖诺普利、培哚普利和雷米普利。所述组合可以分别给药或者在同一药物组合物中给药。

[0024] 在另一实施方案中,1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐可以与血管紧张素 II 受体阻断剂(ARB)组合使用,所述 ARB 包括但不限于氯沙坦、坎地沙坦、缬沙坦、厄贝沙坦、替米沙坦、依普罗沙坦、奥美沙坦和阿齐沙坦。所述组合可以分别给药或者在同一药物组合物中给药。

[0025] 在另一实施方案中,1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐可以与血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂和血管紧张素 II 受体阻断剂(ARB)这两者组

合使用。所述 ACE 抑制剂包括但不限于卡托普利、依那普利、赖诺普利、培哚普利和雷米普利。所述血管紧张素 II 受体阻断剂 (ARB) 包括但不限于氯沙坦、坎地沙坦、缬沙坦、厄贝沙坦、替米沙坦、依普罗沙坦、奥美沙坦和阿齐沙坦。所述组合可以分别给药或者在同一药物组合物中给药。

[0026] 应当理解,本发明的方法可以使用溶液、悬浮液、无定形固体或晶体固体形式的 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺,其中所述晶体固体包括多晶型物、水合物、溶剂合物或其组合。特别地,本发明涵盖 US2008/0194591 中公开的多晶型物 A、B 和 C 的用途。优选的多晶型物是形式 B 和 C 或其组合。最优选的多晶型物是形式 C。

[0027] 定义

[0028] 本文所用的术语“实施例 1 化合物”指 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺或其药学可接受的盐。

[0029] 除非本文另外指明,术语“慢性肾病或 CKD”包括 1-5 期。应当理解,本发明涵盖治疗或预防 CKD 的所有五个阶段的进展。

[0030] 本文所用的术语“患者”指人。

[0031] 本文所用的术语“药学可接受的盐”表示这样的盐,其在合理的医疗判断的范围内,适合于与患者和低等动物的组织接触而没有不适当的毒性、刺激、过敏应答等,并且具有相称的合理益处/风险比例。药学可接受的盐是本领域公知的。例如, S. M. Berge 等人在 Berge 等人, J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66:1-19 中详细描述了药学可接受的盐。所述盐可以在本发明的实施例 1 化合物的最终分离和纯化期间原位制备,也可以通过使实施例 1 化合物的游离碱与合适的有机或无机酸反应来分别制备。代表性的酸加成盐包括但不限于乙酸盐、己二酸盐、藻酸盐、柠檬酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、碳酸氢盐、硫酸氢盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、二葡萄糖酸盐 (digluconate)、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、富马酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙磺酸盐(羟乙基磺酸盐)、乳酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、烟酸盐、2-萘磺酸盐、草酸盐、扑酸盐、果胶酸盐 (pectinate)、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐和对甲苯磺酸盐。

[0032] 本发明还提供药物组合物,其包含与一种或多种无毒的药学可接受的载体配制的实施例 1 化合物。所述药物组合物可以特别地配制为用于以固体或液体形式口服给药,用于胃肠外注射,或者用于直肠给药。

[0033] 本文所用的术语“药学可接受的载体”表示任何类型的无毒、惰性的固体、半固体或液体填充剂、稀释剂、封装材料 (encapsulating material) 或配制助剂。可以充当药学可接受的载体的材料的一些实例有糖,如乳糖、葡萄糖和蔗糖;淀粉,如玉米淀粉和马铃薯淀粉;纤维素及其衍生物,如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和醋酸纤维素;粉状黄芪胶;麦芽;明胶;滑石;赋形剂,如可可脂和栓剂蜡;油,如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和豆油;多元醇,如丙二醇;酯,如油酸乙酯和月桂酸乙酯;琼脂;缓冲剂,如氢氧化镁和氢氧化铝;藻酸;无热原水;等渗盐水;林格氏溶液;乙醇和磷酸盐缓冲溶液;以及其他无毒的相容润滑剂,如月桂基硫酸钠和硬脂酸镁;并且根据配制人员的判断,着色剂、释放

剂、包衣剂、甜味剂、风味和芳香剂、防腐剂以及抗氧化剂也可以存在于所述组合物中。本发明提供药物组合物，其包含与一种或多种无毒的药学可接受的载体配制的实施例 1 化合物。所述药物组合物可以配制为用于以固体或液体形式口服给药，用于胃肠外注射，或者用于直肠给药。

[0034] 本发明的药物组合物可以以下方式向患者给药：口服、肠胃外、腹膜内、局部（例如通过散剂、软膏剂或滴剂）、含服或者作为口服或鼻喷雾剂。本文所用的术语“肠胃外”指给药方式，其包括静脉内、肌肉内、腹膜内、胸骨内、皮下、关节内注射和输注。

[0035] 用于肠胃外注射的本发明的药物组合物包括药学可接受的无菌水性或非水性溶液剂、分散液、混悬剂或乳剂以及用于复原成无菌注射溶液剂或分散液的无菌粉末。合适的水性或非水性载体、稀释剂、溶剂或媒介物的实例包括水、乙醇、多元醇（丙二醇、聚乙二醇、甘油等）、其合适的混合物、植物油（如橄榄油）和可注射有机酯如油酸乙酯。合适的流动性可以通过例如使用诸如卵磷脂的包衣，通过在分散液的情况下维持所需的粒径以及通过使用表面活性剂来维持。

[0036] 这些组合物还可以包含辅剂，例如防腐剂、润湿剂、乳化剂和分散剂。可以通过各种抗菌剂和抗真菌剂如对羟苯甲酸酯、氯丁醇、酚、山梨酸等来确保防止微生物的作用。还可以期望地包含等渗剂如糖、氯化钠等。可注射药物形式的延长吸收可以通过使用延缓吸收的物质如单硬脂酸铝和明胶来实现。

[0037] 在一些情况下，为了延长药物的效应，通常期望延缓药物从皮下或肌肉注射的吸收。这可以通过使用水溶性不好的晶体或无定形材料来实现。药物的吸收速率取决于其溶出速率，这又可以取决于晶体大小和晶形。或者，肠胃外给药的药物形式的延迟吸收是通过将所述药物溶于或悬浮于油媒介物中来实现的。

[0038] 除了实施例 1 化合物外，混悬剂还可以包含助悬剂，例如乙氧基化异硬脂醇、聚氧乙烯山梨醇酯和聚氧乙烯脱水山梨醇酯、微晶纤维素、偏氢氧化铝 (aluminum metahydroxide)、膨润土、琼脂、黄芪胶及其混合物。

[0039] 若期望，并且为了更有效的分布，实施例 1 化合物可以被并入缓释或靶向递送系统中，例如聚合物基质、脂质体和微球。它们可以例如通过经细菌过滤器 (bacteria-retaining filter) 过滤或者通过掺入无菌固体组合物形式的灭菌剂来进行灭菌，所述无菌固体组合物形式的灭菌剂可以在使用前即溶于无菌水或其他无菌可注射介质。

[0040] 若需要，实施例 1 化合物还可以为微囊化形式，其包含一种或多种上文所述的药学可接受的载体。片剂、糖锭剂、胶囊剂、丸剂和颗粒剂的固体剂型可以用包衣和壳来制备，例如肠溶衣、控释包衣和药物配制领域公知的其他包衣。在此类固体剂型中，实施例 1 化合物可以与至少一种惰性稀释剂如蔗糖、乳糖或淀粉混合。在通常的实践中，此类剂型还可以包含除了惰性稀释剂以外的其他物质，例如压片润滑剂和其他压片助剂如硬脂酸镁和微晶纤维素。在胶囊剂、片剂和丸剂的情况下，所述剂型还可以包含缓冲剂。它们可以任选地包含遮光剂，并且还可以是这样的组合物，其仅或者优选地在肠道的某一部分以延迟方式释放一种或多种活性成分。可用的包埋组合物的实例包括聚合物物质和蜡。

[0041] 可注射贮库 (depot) 形式可以通过在生物可降解聚合物如聚乳酸-聚乙醇酸 (polylactide-polyglycolide) 中形成药物的微囊化基质来制备。取决于药物与聚合物的

比例以及所用的特定聚合物的性质,可以控制药物释放的速率。其他生物可降解聚合物的实例包括聚(原酸酯)和聚(酸酐)。贮库可注射制剂还可以通过将药物包埋(entrap)在与身体组织相容的脂质体或微乳剂中来制备。

[0042] 可注射制剂可以通过经细菌过滤器过滤或者通过掺入无菌固体组合物形式的灭菌剂来进行灭菌,所述无菌固体组合物形式的灭菌剂可以在使用前即溶于或分散于无菌水或其他无菌可注射介质。

[0043] 可注射制剂如无菌可注射水性或油性混悬剂可以根据已知的技术利用合适的分散或润湿剂和助悬剂来配制。无菌可注射制剂还可以是在无毒、肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液剂、混悬剂或乳剂,例如在 1,3-丁二醇中的溶液剂。可以使用的可接受媒介物和溶剂包括水、林格氏溶液、U.S.P. 和等渗氯化钠溶液。此外,无菌不挥发油通常用作溶剂或悬浮介质。为此目的,可以使用任何温和的不挥发油,包括合成的单甘油酯或二甘油酯。此外,脂肪酸如油酸也用于制备可注射制剂。

[0044] 用于口服给药的固体剂型包括胶囊剂、片剂、丸剂、散剂和颗粒剂。在此类固体剂型中,将实施例 1 化合物与以下混合:至少一种惰性药学可接受的载体如柠檬酸钠或磷酸钙,和/或 a) 填充剂或填料(extender),如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和水杨酸;b) 粘合剂,如羧甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯树胶;c) 湿润剂,如甘油;d) 崩解剂,如琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、藻酸、某些硅酸盐和碳酸钠;e) 溶解阻滞剂(solution retarding agent),如石蜡;f) 吸收促进剂,如季铵化合物;g) 润湿剂,如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯;h) 吸附剂,如高岭土和膨润土;和 i) 润滑剂,如滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、月桂基硫酸钠;以及它们的混合物。在胶囊剂、片剂和丸剂的情况下,所述剂型还可以包含缓冲剂。

[0045] 相似类型的固体组合物还可以在软和硬明胶胶囊中利用乳糖(sucrose)或乳糖(milk sugar)以及高分子量聚乙二醇等作为填充剂。

[0046] 片剂、糖锭剂、胶囊剂、丸剂和颗粒剂的固体剂型可以用包衣和壳来制备,例如肠溶衣和制药领域公知的其他包衣。它们可以任选地包含遮光剂,并且还可以是这样的组合物,其仅或者优选地在肠道的某一部分以延迟方式释放一种或多种活性成分。可用的包埋组合物的实例包括聚合物物质和蜡。

[0047] 用于口服给药的液体剂型包括药学可接受的乳剂、微乳剂、溶液剂、混悬剂、糖浆剂和酏剂。除了实施例 1 化合物以外,所述液体剂型还可以包含本领域中常用的惰性稀释剂,例如水或其他溶剂,增溶剂和乳化剂,如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺、油(特别是棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、四氢糠醇、聚乙二醇和脱水山梨醇的脂肪酸酯以及它们的混合物。

[0048] 除了惰性稀释剂以外,口服组合物还可以包含辅剂,如润湿剂、乳化剂和助悬剂、甜味剂、风味剂和芳香剂。

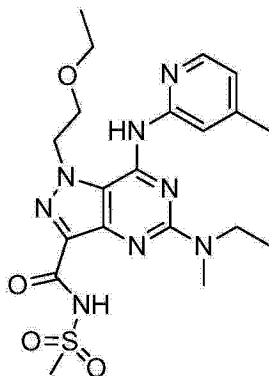
[0049] 在本发明的药物组合物中,可以改变实施例 1 化合物的实际剂量水平以获得实现对于特定患者、组合物和给药方式期望的治疗应答的实施例 1 化合物的有效量。所选的剂量水平会取决于实施例 1 化合物的活性、给药途径、治疗的疾病状况的严重性以及治疗的患者的健康状况和之前的治疗历史。

[0050] 向患者给药的实施例 1 化合物的总每日剂量为 0.3-400mg。若期望, 可以为了给药目的将有效的每日剂量分为多个剂量, 例如每天 2-4 次单独的剂量。

[0051] 合成制备

[0052] 实施例 1 化合物

[0053]



[0054] 1-(2-乙氧基乙基)-5-(乙基(甲基)氨基)-7-((4-甲基吡啶-2-基)氨基)-N-(甲基磺酰基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-甲酰胺

[0055] 标题化合物如美国专利 No. 7, 572, 799 (见实施例 115) 所述制备。标题化合物的多晶型形式 A、B 和 C 如美国公开专利申请 No. 2008/0194591 (US 专利申请 No. 11/913, 091) 所述制备。US 7, 572, 799 和 US 2008/0194591 援引加入本文。

[0056] 生物学 / 药理学

[0057] 在小鼠和大鼠的单剂量毒性研究中, 没有观察到死亡; 最大非致死剂量为 2000mg/kg。在犬中, 给药高达 1000mg/kg 的剂量, 没有观察到副作用。

[0058] 在人中, 在 46 名 21-49 岁的健康男性志愿者中, 以单剂量和多剂量临床研究评价实施例 1 化合物。单剂量和多剂量临床研究都以口服溶液剂或混悬剂进行, 单剂量为 0.3-400mg, 多剂量为 30-200mg。在给药单剂量溶液剂后, 实施例 1 化合物在人中快速吸收, C_{max} 的发生时间 (T_{max}) 为 1.1-1.5 小时。终末半衰期没有随剂量明显改变, 并且为 11.9-15.7 小时。给药多剂量后, 实施例 1 化合物快速吸收 (T_{max} 为 1.1-3.5 小时), 并且第 1 天和第 13 天的 $t_{1/2}$ 为 11.6-14.5 小时。实施例 1 化合物的单剂量良好耐受, 没有发生严重的副作用。在多剂量研究中, 实施例 1 化合物在 30-200mg 的剂量范围中良好耐受。生命体征没有明显改变, 报导任何剂量的 ECG、实验室安全性测试结果或者身体检查结果。

[0059] 表 1

[0060]

测定 / 模型	实施例 1 化合物效力 / 效果
PDE5 酶 (人血小板)	$IC_{50} = 0.71nM$
PDE5 酶 (大鼠血小板)	$IC_{50} = 0.93nM$
PDE5 酶 (犬血小板)	$IC_{50} = 0.65nM$

主动脉环舒张 (aortic ring relaxation, 大鼠)	$EC_{50} = 3.1nM$
体内 SHR (口服给药)	$EC_{max} = 6.5nM$ (未结合的血浆浓度)
PDE6 酶 (人视锥)	$IC_{50} = 28.9nM$
PDE6 酶 (人视杆)	$IC_{50} = 63.6nM$
PDE11 酶 (人)	$IC_{50} = 26.3nM$

[0061] IC_{50} = 50%抑制浓度 ; EC_{50} = 有效浓度 ; EC_{max} = 最大有效浓度 ; SHR = 自发性高血压大鼠。

[0062] 实施例 1 化合物是人 PDE5 的竞争性抑制剂, 利用源自血小板的酶测定的平均 IC_{50} 为 0.71nM(0.34ng/mL)。针对大鼠和犬的源自血小板的 PDE5 的效力类似, 分别为 0.93 和 0.65nM。实施例 1 化合物的针对人视锥和视杆的 PDE6 IC_{50} 效力分别为 28.9nM(41 倍选择性) 和 63.6nM(90 倍选择性)。实施例 1 化合物针对人 PDE11 的 IC_{50} 为 26.3nM(37 倍选择性)。相对于 PDE 酶 1、2、3、4A、4B、4D、7B、8A、9 和 1, 存在大于 1000 倍选择性。

[0063] 在分离的大鼠主动脉环中证实了实施例 1 化合物的直接功能性效应。实施例 1 化合物诱导主动脉环血管舒张, 平均 EC_{50} 值为 3.1nM。

[0064] 每日口服给药后, 在通过无线电遥测技术连续监测的有意识的自发性高血压大鼠 (SHR) 中评价实施例 1 化合物的抗高血压效力。在对应于约 7 倍大鼠 PDE5 IC_{50} 的游离血浆浓度下实现平均动脉压 (MAP) 的显著降低。用实施例 1 化合物治疗 SHR 在 14 天的给药期内诱导 MAP 明显且持续的降低。类似地, 用 ACE 抑制剂依那普利治疗在 14 天的给药期内诱导 MAP 明显且持续的降低。当与 ACE 抑制剂组合时, 实施例 1 化合物提供了比单独的 ACE 抑制剂更大的 MAP 降低效果。

[0065] 在如表 2 所示的一系列安全性药理学的研究中评价实施例 1 化合物。对于体内研究, 使用口服暴露途径。给药地西洋或咪塞米的大鼠分别在运动行为和流体 / 电解质分泌研究中充当阳性对照。多非利特在多非利特和 hERG 测定中分别用于测定可靠性或用作阳性对照。在剩余的研究中没有同时评价阳性对照或给药阳性对照的动物, 因为这些研究使用良好表征的模型来评价安全性参数。

[0066] 表 2

[0067]

研究	浓度或剂量
[³ H]多非利特结合测定	0.003-100 μ M
hERG 测定	3 μ M 和 10 μ M
浦肯野纤维测定	0.01 μ M, 0.1 μ M, 1 μ M, 10 μ M
体内耐受 - 大鼠 外观/行为 - 单剂量	100 mg/kg, 300 mg/kg, 1000 mg/kg
中枢神经系统 - 大鼠 运动行为	3 mg/kg, 30 mg/kg, 300 mg/kg
肾 - 大鼠 流体和电解质分泌	3 mg/kg, 30 mg/kg, 300 mg/kg
肺功能 - 大鼠 呼吸参数	3 mg/kg, 30 mg/kg, 300 mg/kg
心血管 - 麻醉的犬 PK/PD 评价, 进行监测	1.47-387 μ g/kg/min
心血管 - 有意识的犬 血液动力学和 ECG 参数	0.5 mg/kg, 1.5 mg/kg, 5 mg/kg

[0068] 在 hERG 膜片钳测定、犬浦肯野纤维测定或高达 10 μ M (4.77 μ g/mL) 的 [³H] 多非利特结合测定中没有观察到相关效果。在 30 μ M (14.3 μ g/mL) 和 100 μ M (47.7 μ g/mL) 下, 实施例 1 化合物分别竞争性地代替 5.5% 和 32.5% 的 [³H] 多非利特。4.77 μ g/mL 的无效果浓度约为 30mg 剂量后获得的基于人药物动力学 (PK) 的 C_{max} (约 0.011 μ g/mL 作为游离部分) 的 426 倍, 这是良好耐受的, 表明 QT 延长的低可能性。

[0069] 给药高达 300mg/kg 的实施例 1 化合物的大鼠的结果证实了由降低的抬升 (rearing) 和中心抬升 (center rearing) 组成的小的非剂量相关的效果, 但是对肺功能没有副作用。实施例 1 化合物在尿量和电解质分泌中证实了剂量相关的减少, 这与其他 PDE5 抑制剂的结果一致。

[0070] 在犬中, 0.5mg/kg、1.5mg/kg 和 5mg/kg 的实施例 1 化合物诱导小的但显著的血压和左心室舒张末期压的降低。这些心血管效果与得自 cGMP 特异性 PDE5 的抑制的血管平滑肌中的 cGMP 升高一致。在犬中, 实施例 1 化合物与 ECG 参数的任何相关效果无关。在给药单剂量和多剂量的实施例 1 化合物的人中没有观察到对 ECG 参数的临床相关效果。在 5mg/kg 下犬中的 C_{max} 为 12.8mg/mL, 或者是 30mg 剂量后在人中测定的 C_{max} (1.57-1.63 μ g/mL) 的 8 倍, 这是良好耐受的。

[0071] 液相色谱 / 质谱法用于测定来自大鼠、犬和人的 PK 和毒动学研究的血浆样品中的实施例 1 化合物浓度。对于毒动学研究, 对于 50 μ L 血浆样品, 该方法在 10-1000ng/mL 的浓度范围内得到了验证。放射测量法用于测定来自体外和体内代谢研究的生物样品中的来自 [¹⁴C] 实施例 1 化合物的放射性。

[0072] 给药单剂量后的实施例 1 化合物的绝对口服生物利用度在大鼠中为 82% 并且在犬中为 77%。静脉内 (IV) 给药实施例 1 化合物后, 大鼠和犬中的血浆清除低于对应物种中的肝脏血流的清除, 表明实施例 1 化合物是低清除化合物。在大鼠和犬中, 稳态分布体积低于全身含水量。

[0073] 在给药放射性标记的实施例 1 化合物的大鼠的组织分布研究中, 由于大部分的剂量保留在胃肠道中, 全身分布通常与组织血流成比例。实施例 1 化合物的血浆蛋白结合值

在大鼠、犬和人中测定为 99.3%，并且在兔血浆中测定为 98.8%。

[0074] 在大鼠和犬中，大于 80% 的给药剂量（总放射性）在粪便中消除。大部分的放射性在 48 小时内恢复。大鼠和犬中恢复的总放射性大于 92%。

[0075] 在人肝微粒体中测定实施例 1 化合物抑制 CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 和 CYP3A4（咪达唑仑、睾酮和非洛地平）的潜力。没有观察到 IC_{50} 值 $>30 \mu M$ 的抑制。

[0076] 在口服单剂量给药 20mg/kg、200mg/kg 或 2000mg/kg 的实施例 1 化合物并且观察 14 天的小鼠或大鼠中，没有死亡、临床体征或对体重的影响，并且没有病理发现。在口服单剂量给药 100mg/kg、300mg/kg 或 1000mg/kg 的大鼠中没有观察到毒性，而在口服单剂量给药 100mg/kg、500mg/kg 或 1000mg/kg 的犬中发生轻度的胃肠效应。

[0077] 在大鼠和犬中的单剂量毒性 / 毒动学研究中评价微粉化的实施例 1 化合物（多晶型 C），以与多晶型 B 的暴露进行比较。微粉化的实施例 1 化合物的多晶型 C 使得能在大鼠和犬中比多晶型 B 给药更高的剂量。在等同剂量的多晶型 B 和 C 下（犬中 100mg/kg，并且大鼠中 100mg/kg 和 300mg/kg），这些多晶型的全身暴露之间没有差异。

[0078] 在由微生物回复突变测定、体外细胞遗传测定（人淋巴细胞）和体内大鼠微核测定组成的一系列遗传毒理学测定中评价实施例 1 化合物。研究设计和剂量选择与经济合作与发展的协调和组织的国际会议（International Conference on Harmonization and Organization for Economic Cooperation and Development）对诱变性和诱裂性测定的指导一致。有或无外源代谢激活的所有体外测试均利用高达细胞毒性或不溶性所限制的浓度进行。实施例 1 化合物在体外或体内测定中没有遗传毒性（表 3）。

[0079] 表 3

[0080]

测试系统	剂量	结果
诱变性: 鼠伤寒沙门氏杆菌(<i>Salmonella typhimurium</i>) (菌株 TA-1535, TA-1537)和大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i>) (菌株 WP2uvrA)	50-5000 mg/平板 ($\pm S9$)	阴性
体外诱裂性: 人外周淋巴细胞中的结构染色体畸变	100, 350, 500, $\mu g/mL$ (3h-S9) 100, 200, 350, $\mu g/mL$ (3h+S9) 12.5, 50, 100, $\mu g/mL$ (24h-S9)	阴性
体外诱裂性 大鼠骨髓中的微核测定	VC, 100, 300, $\mu 600$ mg/kg/day	阴性

[0081] S9 = 来自用 Aroclor 1254 处理的大鼠的肝的线粒体后上清液 ;VC = 媒介物对照。

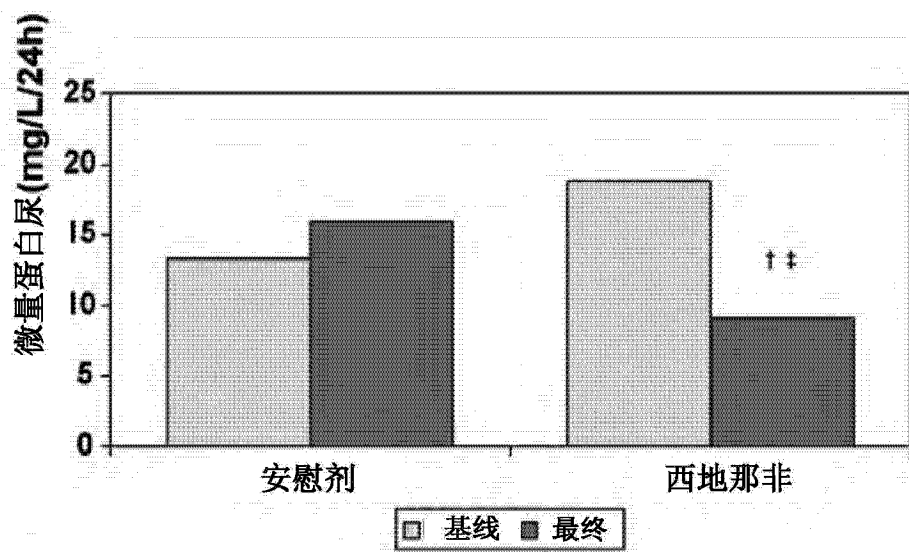
[0082] PDE5 抑制剂西地那非在患有早期糖尿病肾病的 II 型糖尿病患者中减少蛋白尿（图 1）。该数据支持 PDE5 抑制剂用于治疗在人中具有合适的药物动力学 (PK) 和安全性特性的 DN 和 / 或 CKD 的用途。实施例 1 化合物是强效且选择性的 PDE5 抑制剂，其在人口服给药后良好耐受。与西地那非相比，实施例 1 化合物看起来是更为强效的 PDE5 抑制剂，并且具有更大的 PDE5/PDE6 选择性。此外，实施例 1 化合物在人中具有 3-4 倍长的半衰期（表 4）。这些优势使得实施例 1 化合物对于治疗或延缓人特别是糖尿病患者中的蛋白尿、DN 和 / 或 CKD 的进展优于西地那非。

[0083] 表 4

[0084]

标准	实施例 1 化合物	西地那非
PDE5IC ₅₀ (nM)	0.71	4*
PDE5/PDE6 选择性	41 倍	9 倍 *
人半衰期 (hr)	11.9-15.7	3.7

[0085] * 如 Ballard 等人, The Journal of Urology, 159:2164-2171, Jun 1998 报导。



Grover-Paez 等人, Diabetes Research and Clinical Practice, 78: 136-140 (2007)

图 1