

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 31/506

A61P 3/06 A61P 3/10

A61P 13/12 A61P 43/00

C07D239/47



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02807645.1

[43] 公开日 2004 年 5 月 26 日

[11] 公开号 CN 1499971A

[22] 申请日 2002.4.2 [21] 申请号 02807645.1

[30] 优先权

[32] 2001.4.3 [33] JP [31] 103994/2001

[86] 国际申请 PCT/JP2002/003289 2002.4.2

[87] 国际公布 WO02/080924 日 2002.10.17

[85] 进入国家阶段日期 2003.9.29

[71] 申请人 山之内制药株式会社

地址 日本东京

[72] 发明人 藤森明 汤山弘法 田原敦生

园田理惠 柴崎久美子

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所

代理人 胡 焯

权利要求书 2 页 说明书 17 页 附图 3 页

[54] 发明名称 芳基乙烯磺酰胺衍生物的新用途

[57] 摘要

N - [6 - 甲氧基 - 5 - (2 - 甲氧基苯氧基) - 2 - (嘧啶 - 2 - 基) 嘧啶 - 4 - 基] - 2 - 苯基乙烯磺酰胺或其药学上许可的盐的新用途。能够改善糖尿病患者的以下特定症状：(1) 血糖上升，(2) 并发早期肾病后的血中脂质上升，(3) 并发早期肾病后的肾功能障碍，(4) 并发早期肾病后尿中白蛋白的排泄增加，(5) 并发早期肾病后肾小球过度滤过，(6) 转为慢性肾衰竭后的肾功能障碍，(7) 转为慢性肾衰竭后的尿蛋白排泄增加。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

- 1、医药组合物，其特征在于，以 N-[6-甲氧基-5-(2-甲氧基苯氧基)-2-(嘧啶-2-基)嘧啶-4-基]-2-苯基乙烯磺酰胺或其药学上许可的盐为有效成分，改善糖尿病患者的选自以下(1)~(7)的 1 个以上的特定症状：
- 5 (1)血糖上升，
(2)并发早期肾病后的血中脂质上升，
(3)并发早期肾病后的肾功能障碍，
(4)并发早期肾病后尿中白蛋白排泄的增加，
10 (5)并发早期肾病后肾小球过度滤过，
(6)转为慢性肾衰竭后的肾功能障碍，
(7)转为慢性肾衰竭后的尿蛋白排泄增加。
- 2、如权利要求 1 所述的医药组合物，其特征还在于，为改善糖尿病患者的血糖上升的医药组合物。
- 15 3、如权利要求 1 所述的医药组合物，其特征还在于，为改善并发早期肾病后的糖尿病患者的血中脂质上升的医药组合物。
- 4、如权利要求 1 所述的医药组合物，其特征还在于，为改善并发早期肾病后的糖尿病患者的肾功能障碍的医药组合物。
- 5、如权利要求 4 所述的医药组合物，其特征还在于，为改善并发早期肾病后的糖尿病患者的尿中白蛋白排泄增加的医药组合物。
- 20 6、如权利要求 4 所述的医药组合物，其特征还在于，为改善并发早期肾病后的糖尿病患者的肾小球过度滤过的医药组合物。
- 7、如权利要求 1 所述的医药组合物，其特征还在于，为改善转为慢性肾衰竭后的糖尿病患者的肾功能障碍的医药组合物。
- 25 8、如权利要求 7 所述的医药组合物，其特征还在于，为改善转为慢性肾衰竭后的糖尿病患者的尿蛋白排泄增加的医药组合物。
- 9、医药组合物，其特征在于，以 N-[6-甲氧基-5-(2-甲氧基苯氧基)-2-(嘧啶-2-基)嘧啶-4-基]-2-苯基乙烯磺酰胺或其药学上许可的盐为有效成分，改善糖尿病性肾病患者的肾功能障碍。
- 30 10、如权利要求 9 所述的医药组合物，其特征还在于，为改善糖尿病性肾病患者的尿中白蛋白排泄增加的医药组合物。
- 11、如权利要求 9 所述的医药组合物，其特征还在于，为改善糖尿病性肾

病患者的肾小球过度滤过的医药组合物。

12、医药组合物，其特征在于，以 N-[6-甲氧基-5-(2-甲氧基苯氧基)-2-(嘧啶-2-基)嘧啶-4-基]-2-苯基乙烯磺酰胺或其药学上许可的盐为有效成分，改善 ET 诱发的早期肾病患者的肾功能障碍。

5 13、如权利要求 12 所述的医药组合物，其特征还在于，为改善 ET 诱发的早期肾病患者的尿中白蛋白排泄增加的医药组合物。

14、如权利要求 12 所述的医药组合物，其特征还在于，为改善 ET 诱发的早期肾病患者的肾小球过度滤过的医药组合物。

10 15、医药组合物，其特征在于，以 N-[6-甲氧基-5-(2-甲氧基苯氧基)-2-(嘧啶-2-基)嘧啶-4-基]-2-苯基乙烯磺酰胺或其药学上许可的盐为有效成分，改善慢性肾衰竭患者的肾功能障碍。

16、如权利要求 15 所述的医药组合物，其特征还在于，为改善慢性肾衰竭患者的尿蛋白排泄增加的医药组合物。

15 17、如权利要求 1~16 中任一项所述的医药组合物，其特征还在于，不使全身血压发生变化。

18、如权利要求 1~17 中任一项所述的医药组合物，其特征还在于，为口服制剂。

芳基乙烯磺酰胺衍生物的新用途

5 技术领域

本发明涉及 N-[6-甲氧基-5-(2-甲氧基苯氧基)-2-(嘧啶-2-基)嘧啶-4-基]-2-苯基乙烯磺酰胺或其盐的新用途。

背景技术

10 内皮素(endothelin, 以下称“ET”)是由 21 个氨基酸组成的内源性具生理活性的肽, 已知存在氨基酸序列稍有不同的 ET-1、ET-2 和 ET-3 三种异肽(isopeptide)。ET 通过与靶细胞膜上的 ET 受体结合而呈现生理活性, ET 受体至今至少已知有 ET_A 和 ET_B 两种亚型存在。ET_A 受体对 ET-1 及 ET-2 的亲合性高于 ET-3, 而 ET_B 受体对 ET-1、ET-2 和 ET-3 显示同等的亲合性。

15 N-[6-甲氧基-5-(2-甲氧基苯氧基)-2-(嘧啶-2-基)嘧啶-4-基]-2-苯基乙烯磺酰胺(以下称“化合物 A”)或其盐, 在国际公开第 97/22595 号公报中被揭示, 具体揭示了其抑制 ET-1 对 ET_A 受体的结合及抑制 ET-1 诱发的血管收缩、升压的作用, 但除此外的作用未具体揭示。另一方面, 指出与 ET 可能有关的疾病, 例如例举了原发性高血压、肺动脉高压、红细胞生成素诱发的高血压、环孢素 A 诱发的高血压、支气管哮喘、急性肾衰竭、慢性肾衰竭、肾小球肾炎、
20 环孢素诱发的肾衰竭、急性心肌梗塞、不稳定型心绞痛、慢性心力衰竭、主要是蛛网膜下出血后的脑血管痉挛、脑缺血障碍、尿失禁、良性前列腺肥大、动脉硬化、雷诺综合征、糖尿病性末梢循环障碍、糖尿病性肾病、先兆子痫、早产、消化性溃疡、肝功能衰竭、风湿病、PTCA 后的再狭窄、慢性呼吸衰竭、
25 慢性阻塞性肺病、肺心病、急性呼吸衰竭、肺水肿、郁血性肝病、成人呼吸窘迫综合征、间质性肺炎、肺纤维化、青光眼、变形性关节炎、慢性类风湿性关节炎、肝硬变、炎症性肠病、癌等许多疾病的名称。

发明的揭示

30 本发明者以创制新型治疗药为目的, 对化合物 A 或其盐用于更具体的疾病的治疗的可能性进行了深入探讨, 结果意外地发现化合物 A 或其盐能改善前述国际公开第 97/22595 号公报中未具体揭示的糖尿病的以下特定症状。即,

糖尿病中的(1)血糖上升, (2)并发早期肾病后的血中脂质上升, (3)并发早期肾病后的肾功能障碍, (4)并发早期肾病后尿中白蛋白排泄增加, (5)并发早期肾病后肾小球过度滤过, (6)转为慢性肾衰竭后的肾功能障碍, (7)转为慢性肾衰竭后的尿蛋白排泄增加。

5 即如下述试验例 1 所示, 化合物 A 或其盐对链佐星(STZ)诱发糖尿病的大鼠, 口服 1mg/kg/day 对 STZ 所引起的显著的血中葡萄糖浓度上升、血中胆固醇浓度上升和血中甘油三酯浓度上升均显现明显的改善作用。糖尿病并发早期肾病时的病症常显现为血中胆固醇浓度或血中甘油三酯浓度的上升, 这是肾功能障碍引起的白蛋白等蛋白质泄漏的结果。

10 这些改善作用在上述国际公开第 97/22595 号公报中未揭示, 也未暗示, 是本发明者首次发现的化合物 A 或其盐的新作用。而且, 据报道具有 ET_A 受体拮抗作用的直链三肽化合物 FR139317 及非肽类 $ET_{A/B}$ 受体拮抗剂波生坦, 对 STZ 诱发糖尿病的大鼠的血浆葡萄糖浓度不引起变化(Progress in Medicine, 15(10), 2108, 1995, Kidney Int., 57(5), 1882, 2000), 非肽类 ET_A 受体拮抗剂达
15 卢生坦(darusentan)口服 100mg/kg 可使血中甘油三酯水平降低(但也不过是 STZ 诱发糖尿病的大鼠的甘油三酯水平不上升, 与对照组相比甘油三酯水平下降), 而血中葡萄糖浓度无变化(J. Pharm. Exp. Ther., 293(2),351,2000)。即, 尚未见 ET 受体拮抗剂具有改善糖尿病的血糖升高的作用的报告, 以及具有改善糖尿病并发早期肾病后血中脂质升高的作用的报告。

20 而且, 如下述试验例 1 所示, 化合物 A 或其盐对 STZ 诱发糖尿病的大鼠, 口服 1mg/kg/d 对 STZ 所引起的显著增加尿中的白蛋白的排泄有明显的改善作用, 对 STZ 所引起的肾小球过度滤过也显示改善的倾向, 即显现出肾功能障碍的改善作用。此外, 如下述试验例 2 所示, 口服 1mg/kg/d 的化合物 A 或其盐对慢性肾衰竭模型动物, 即肾切除 5/6 的大鼠的显著增加的尿蛋白排泄具有
25 显著的改善作用, 即显现出肾功能障碍的改善作用, 而对血压没有影响。

作为上述国际公开第 97/22595 号公报记载的寄予期望的许多疾病名称之一, 与并发上述的早期肾病或转为慢性肾衰竭的糖尿病的功能障碍的改善作用有关联的, 可列举“糖尿病性肾病”、“慢性肾衰竭”、“急性肾衰竭”, 但未揭示证据, 关于改善尿中白蛋白排泄增加的作用, 改善肾小球过度滤过
30 的作用、改善尿蛋白排泄增加的作用, 则完全没有记载。而且, 对于上述肽性 FR13917, 虽有在腹腔内持续注入对 STZ 诱发糖尿病的大鼠能减少微量白蛋白尿和抑制肾小球细胞外基质基因表达的报告(Diabetes 44, 895-899, 1995),

但关于可口服的非肽类 ET 受体拮抗剂，只有上述达卢生坦在与本发明的有效成分相比以极高的剂量 100mg/kg/d 服用 160 日才具有减少 STZ 诱发的糖尿病大鼠的微量白蛋白尿的倾向(J. Cardiovasc, Pharmacol., 31 (Suppl 1), S492-S495, 1998)的报道。而慢性肾衰竭，作为进行性慢性肾疾病之一的糖尿病性肾病的最终临床表现，从糖尿病性肾病转为慢性肾衰竭后直到透析疗法期(肾与透析, 41, 肾疾患治疗手册,191-193,1996 临增)，还没有口服 ET_A受体拮抗剂能改善慢性肾衰竭时的尿蛋白排泄增加的报告。

此外，如下述试验例 3 所示，化合物 A 或其盐口服 100mg/kg 的高剂量也不会使自发性高血压大鼠(SHR)的全身血压发生变化。

10 糖尿病性肾病目前的治疗采用 ACE 抑制剂和钙拮抗剂等降压疗法进行，但会影响全身血流动态的降压药在降低血压的同时可能使肾灌注压降低。特别对肾功能低下的患者，必须注意 ACE 抑制剂引起的急性肾衰竭(最新医学, 48(9), 84-90, 1993; 治疗学, 30(8), 27-32, 1996)。作为保存期慢性肾衰竭的药物治疗，ACE 抑制剂在动物实验中显示出有用性，但对肾功能低下的急性肾衰竭临床上认为要特别注意，因此对末期肾衰竭，ACE 抑制剂的处方受到限制。另外，下述试验例 2，即肾功能低下例给药时，服用 ACE 抑制剂依那普利组见 2 例死亡，而服用本发明的有效成分组则未见死亡例。

糖尿病患者和糖尿病模型动物的 ET-1 的产生出现亢进(Diabetologia, 33, 306-310, 1990; J. Lab. Clin. Med., 122, 149-156, 1993)，血中 ET-1 的浓度与肾病的严重程度相关(Jpn. J. Nephrol., 38(Suppl 1), 141, 1996)。而且据报道，ET-1 在包括肾血管的血管内皮细胞及肾小球、集合管等肾脏部位产生(Kidney Int., 45, 336-344, 1996)，会使肾脏小动脉(输入及输出小动脉)收缩，在引起肾小球膜细胞的收缩和增殖的同时，也使细胞外基质蓄积(血管和内皮, 2(3), 297-304, 1992; J. Clin. Invest., 83, 708-712, 1989)，对肾小管中钠和水的重吸收具有抑制作用(医学的发展, 170(5), 393-396, 1994)。肾小球膜细胞的增殖是膜区域扩大向肾小球硬化病变发展的前阶段，是引起最终肾功能低下的一个原因。如下述试验例 4 所示，化合物 A 或其盐对大鼠肾小球膜细胞的由 ET-1 引起的细胞增殖显现抑制作用，即对伴有 ET 诱发的基质变化的肾功能障碍，例如糖尿病性肾病、ET 诱发的早期肾病、伴有作为糖尿病并发症的最终临床表现的肾小球硬化病变的慢性肾衰竭等引起的肾功能障碍具有改善作用。

30 即，本发明提供了以化合物 A 或其药学上许可的盐为有效成分、能改善糖尿病患者的选自以下(1)~(7)的 1 个以上的特定症状的医药组合物。

- (1)血糖上升,
- (2)并发早期肾病后的血中脂质上升,
- (3)并发早期肾病后的肾功能障碍,
- (4)并发早期肾病后尿中白蛋白排泄的增加,
- 5 (5)并发早期肾病后肾小球过度滤过,
- (6)转为慢性肾衰竭后的肾功能障碍,
- (7)转为慢性肾衰竭后的尿蛋白排泄增加。

更具体说, 本发明提供了以化合物 A 或其药学上许可的盐为有效成分的改善糖尿病患者的血糖上升的医药组合物;

- 10 改善并发早期肾病后的糖尿病患者的血中脂质上升的医药组合物、改善肾功能障碍的医药组合物、作为改善尿中白蛋白排泄增加的医药组合物的改善肾功能障碍的医药组合物及/或作为改善肾小球过度滤过的医药组合物的改善肾功能障碍的医药组合物;

- 改善转为慢性肾衰竭后的糖尿病患者的肾功能障碍的医药组合物及/或作为
- 15 改善尿中蛋白质排泄增加的医药组合物的改善肾功能障碍的医药组合物;

改善糖尿病性肾病患者的肾功能障碍的医药组合物、作为改善尿中白蛋白排泄增加的医药组合物的改善肾功能障碍的医药组合物及/或作为改善肾小球过度滤过的医药组合物的改善肾功能障碍的医药组合物;

- 改善 ET 诱发的早期肾病患者的肾功能障碍的医药组合物、作为改善尿中
- 20 白蛋白排泄增加的医药组合物的改善肾功能障碍的医药组合物及/或作为改善肾小球过度滤过的医药组合物的改善肾功能障碍的医药组合物;

改善慢性肾衰竭患者的肾功能障碍的医药组合物及/或作为改善尿蛋白排泄增加的医药组合物的改善肾功能障碍的医药组合物。

- 本发明还涉及化合物 A 或其药学上许可的盐在制备糖尿病患者的选自上述
- 25 (1)~(7)的 1 个以上特定症状的改善剂中的应用。

具体来说, 本发明涉及化合物 A 或其药学上许可的盐在制备糖尿病患者的血糖上升的改善剂;

- 并发早期肾病后的糖尿病患者的血中脂质上升的改善剂、肾功能障碍改善剂、作为尿中白蛋白排泄增加的改善剂的肾功能障碍改善剂及/或作为肾小球
- 30 过度滤过改善剂的肾功能障碍改善剂;

转为慢性肾衰竭后的糖尿病患者的肾功能障碍改善剂及/或作为尿蛋白排泄增加的改善剂的肾功能障碍改善剂;

糖尿病性肾病患者的肾功能障碍改善剂，作为尿中白蛋白排泄增加的改善剂的肾功能障碍改善剂及/或作为肾小球过度滤过改善剂的肾功能障碍改善剂；

5 ET 诱发的早期肾病患者的肾功能障碍改善剂、作为尿中白蛋白排泄增加的改善剂的肾功能障碍改善剂及/或作为肾小球过度滤过的改善剂的肾功能障碍改善剂；

慢性肾衰竭患者的肾功能障碍改善剂及/或作为尿蛋白排泄增加的改善剂的肾功能障碍改善剂中的应用。

10 此外，本发明提供了包括给患者服用治疗有效量的化合物 A 或其药学上许可的盐在内的糖尿病患者的选自上述(1)~(7)的 1 个以上的特定症状的改善方法。

具体来说，本发明提供了包括给患者服用治疗有效量的化合物 A 或其药学上许可的盐在内的糖尿病患者的血糖上升的改善方法；

15 并发早期肾病后的糖尿病患者的血中脂质上升的改善方法、肾功能障碍改善方法、作为尿中白蛋白排泄增加的改善方法的肾功能障碍改善方法及/或作为肾小球过度滤过的改善方法的肾功能障碍的改善方法；

转为慢性肾衰竭后的糖尿病患者的肾功能障碍的改善方法及/或作为尿中蛋白质排泄增加的改善方法的肾功能障碍的改善方法；

20 糖尿病性肾病患者的肾功能障碍的改善方法、作为尿中白蛋白排泄增加的改善方法的肾功能障碍的改善方法及/或作为肾小球过度滤过的改善方法的肾功能障碍的改善方法；

ET 诱发的早期肾病患者的肾功能障碍的改善方法、作为尿中白蛋白排泄增加的改善方法的肾功能障碍的改善方法及/或作为肾小球过度滤过的改善方法的肾功能障碍的改善方法；

25 慢性肾衰竭患者的肾功能障碍的改善方法及/或作为尿蛋白排泄增加的改善方法的肾功能障碍的改善方法。

此外，对作为糖尿病性肾病的现行疗法而实施的降压疗法来说，要担心影响全身血流动态而发生血压低下和肾灌注压低下，而本发明的有效成分引起的全身血压变化的程度不必担心，故可成为有这类担心的患者能够服用的药物。而且，本发明的有效成分口服时的吸收特别好，可成为良好的口服治疗药。

下面对本发明作更详细的说明。

根据繁田等平成3年的厚生省糖尿病调查研究报告书，肾病随着病情的进展可分类为第1期(肾病前期)、第2期(早期肾病期)、第3期(显性肾病期)、第4期(肾衰竭期)、第5期(透析疗法期)。因此，本说明书中的“并发早期肾病后的糖尿病患者”是指糖尿病并发的肾病处于第2期以后的患者；“转为慢性肾衰竭后的糖尿病患者”是指糖尿病并发的肾病处于第4期以后的患者；“ET诱发的早期肾病患者”是指糖尿病等因ET亢进引发的肾病处于第2期以后的患者。

本说明书中的“全身血压不发生变化”是指对作为糖尿病性肾病的现行疗法而实施的降压疗法来说，全身的血压变化不必担心到影响全身血流动态而引发血压低下和肾灌注压低下的程度。因此，“不产生全身血压变化的肾功能障碍改善用医药组合物”是指对担心引起急性肾衰竭而禁忌或慎用ACE抑制剂等的肾功能低下病例等也能够服用的肾功能障碍改善用医药组合物。

本发明的医药的有效成分是化合物A或其药学上许可的盐。这种盐可列举上述国际公开第97/22595号公报记载的盐，具体可列举与盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、硝酸、磷酸等无机酸，甲酸、乙酸、丙酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、马来酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、甲磺酸、乙磺酸、天冬氨酸或谷氨酸等有机酸的酸加成盐，与钠、钾、镁、钙、铝等无机碱、甲胺、乙胺、乙醇胺、赖氨酸、鸟氨酸等有机碱的盐和铵盐等。特别好的是钾盐。

本发明的有效成分包括所有的各种异构体的混合物以及分离的异构体、水合物和溶剂合物。而且本发明的有效成分有时也存在多晶型，故包括所有这些晶型。

这些化合物根据上述国际公开第97/22595号公报记载的制法或参照这些制法容易得到。

本发明的药剂可用适于口服或非口服的有机或无机载体、赋形剂及其他添加剂，根据常规方法调制成为口服固体制剂、口服液体制剂或注射剂。本发明的医药的有效成分因具优良的口服吸收性，故本发明的药剂适于制成口服制剂。最好是患者自己容易服用，且保存、携带方便的口服固体制剂。

口服固体制剂可使用片剂、散剂、细粒剂、颗粒剂、胶囊剂、丸剂、缓释剂等。这类固体组合物中的1种以上的活性物质至少与1种惰性稀释剂，例如乳糖、甘露醇、葡萄糖、羟丙纤维素、微晶纤维素、淀粉、玉米淀粉、聚乙烯吡咯烷酮、铝硅酸镁等混合。组合物依常规方法可含有惰性稀释剂以外

的添加剂，例如羟丙纤维素、羟丙甲纤维素等粘合剂；硬脂酸镁、聚乙二醇、淀粉、滑石粉等润滑剂；纤维素乙醇酸钙、羟甲纤维素钙等崩解剂；乳糖等稳定剂；谷氨酸或天冬氨酸等助溶剂；聚乙二醇等增塑剂；二氧化钛、滑石粉、黄色氧化铁等着色剂。片剂或丸剂必要时可包以蔗糖、明胶、琼脂、果胶、羟丙纤维素、羟丙甲纤维素邻苯二甲酸酯等糖衣或胃溶性或肠溶性薄膜。

口服液体制剂包括药剂学上许可的乳剂、溶液剂、悬浮剂、糖浆剂、酞剂等，一般可含有常用的惰性稀释剂，例如精制水、乙醇。这种组合中可含有惰性稀释剂以外的湿润剂、悬浮剂等助剂、甜味剂、调味剂、芳香剂、防腐剂。

10 静脉注射、肌肉注射、皮下注射等注射剂中包含无菌的水性或非水性的溶液剂、悬浮剂、乳浊剂。作为水性的溶液剂、悬浮剂的稀释剂，例如有丙二醇、聚乙二醇、橄榄油等植物油、乙醇等醇类、吐温 80 等。这类组合物也可含有防腐剂、湿润剂、乳化剂、分散剂、乳糖等稳定剂、谷氨酸和天冬氨酸等助溶剂等助剂。它们可通过除菌过滤器过滤或配合杀菌剂或经照射而无菌化。

15 它们也可制成无菌的固体组合物，于临用前以无菌水或无菌的注射用溶剂溶解后再使用。

本发明的有效成分化合物的给药量考虑给药途径、疾病症状、给药对象的年龄和性别等依不同情况而适当决定，但通常口服时成人用量为 0.1~100 mg/d，较好为 1~20mg/d，分 1~2 次给药。

20 此外，本发明的药剂可与其他治疗糖尿病的药物同时或错开时间并用。可与本发明的药剂并用的药剂包括胰岛素、中性胰岛素、无定形胰岛素锌水性悬浮剂、双相低精蛋白胰岛素水性悬浮剂、低精蛋白胰岛素水性悬浮剂、胰岛素锌水性悬浮剂、鱼精蛋白胰岛素锌水性悬浮剂、结晶胰岛素锌水性悬浮剂等胰岛素制剂；甲苯磺丁脲、格列吡脲、醋酸己脲、妥拉磺脲、氯磺丙脲、格列本脲、格列齐特等磺酰脲类药物；格列丁唑(glybuzole)等磺酰胺类药物；

25 盐酸二甲双胍、盐酸丁福明等双胍类药物；依帕司他等醛糖还原酶抑制剂；伏格列波糖、阿卡波糖等 α -葡糖苷酶抑制剂；曲格列酮、吡格列酮等胰岛素抗性改善剂；美卡舍明等生长调节素 C 制剂；那格列胺(nateglinide)等其他降血糖药；贝前列素、前列地尔阿法环糊精包含物、lipoPGE₁、lipoprost 阿法环糊精包含物等前列腺素类似物；马来酸依那普利等 ACE 抑制剂；牛车肾气丸等

30 中药制剂；血管紧张素 II 受体拮抗剂；血栓烷合成酶抑制剂；维生素 B 制剂；钙拮抗剂；利尿剂等。

附图的简单说明

图 1 表示化合物 A 的钾盐(以下称为“化合物 1”)对自发性高血压大鼠(SHR)的平均血压和心率所起的作用。

- 5 图 2 表示 ET-1、ET-3、角蝰毒素(sarafotoxin)S6c (以下称为 “S6c”) 对大鼠培养的肾小球膜细胞的增殖促进作用。

图 3 表示 ET-1、ET-3、S6c 对大鼠培养的肾小球膜细胞的肥大促进作用。

实施发明的最佳方式

- 10 以下根据实施例和试验例对本发明作更详细的说明，但本发明并不限于这些实施例等。以下实施例和试验例中所用的化合物 1 指化合物 A 的钾盐。

实施例 1：胶囊剂

表 1

成分名	2mg 胶囊	5mg 胶囊	10mg 胶囊
化合物 1	2.0mg	5.0mg	10.0mg
乳糖	298.0mg	295.0mg	290.0mg
合计	300.0mg	300.0mg	300.0mg

15

将表 1 所示的成分混合，填入胶囊制得胶囊剂。

试验例 1 对链佐星(STZ)诱发糖尿病的大鼠的血中参数及尿中参数的作用(方法)

- 20 将 9 周龄的 Wistar(Crj)大鼠预先分成尿中无排泄白蛋白的倾向的 5 组，4 组静脉注射 STZ(50mg/kg)。自注射 STZ 的次日起的 6 周内，对照组(STZ-Cont.) 仅给予溶剂(0.5%甲基纤维素溶液(以下称 0.5%MC)，化合物 1 的低剂量组(STZ-低剂量(0.1))给予 0.1mg/kg 的化合物 1，高剂量组(STZ-高剂量(1))给予 1mg/kg 的化合物 1，ACE 抑制剂组(STZ-Ena.)给予马来酸依那普利 10mg/kg，均连续
- 25 口服，每日 1 次。另外剩下的 1 组静脉注射生理盐水，作为对照组(Sham)，连续口服溶剂(0.5% MC)。于开始给药 2、4、6 周后在代谢笼中实行 24 小时采尿，测定尿中参数。另于 2、4 周后经尾静脉、6 周后于麻醉下经腹部大动脉实行采血，测定血中参数。

测定结果以平均值±误差表示。Sham 组与 CTZ-Cont.组的比较采用不成对的 t 检验，在概率不满 5%时认为差异显著。而给予 STZ 的大鼠的各药物组间的比较于一元方差分析后分别进行不成对的多重比较(Dunnet 检验)，在概率不满 5%时认为差异显著。

5 (结果)

(1) 对 STZ 诱发糖尿病的大鼠的血中参数的作用

1) 血糖

表 2

血中葡萄糖浓度(mg/dl)			
	2 周	4 周	6 周
Sham(n=13)	94.4±2.3	98.0±3.6	120.2±2.2
STZ-Cont. (n=12)	357.4±10.5**	390.7±20.6**	460.7±18.9**
STZ-低剂量(0.1) (n=11~13)	357.1±14.5	396.0±19.4	417.8±14.6
STZ-高剂量(1) (n=11)	381.7±12.9	376.2±19.6	367.1±12.2##
STZ-Ena. (n=11)	403.0±13.0	393.2±17.6	394.3±9.6##

** ; p<0.01(与 Sham 组比较)、##; p<0.01(与 STZ-Cont.组比较)

10

如表 2 所示，观察到由于给予 STZ，自给药后 2 周起血中葡萄糖浓度显著上升。在给药 6 周后，见 STZ-高剂量(1)组以 1mg/kg 的极低剂量可使血中葡萄糖浓度与 STZ-Ena.组同等下降。

因此提示化合物 1 对糖尿病的血糖上升具有改善作用。

15

20

2) 血中脂质

表 3

	血中胆固醇浓度(mg/dl)(4周)
Sham(n=13)	59.2±2.4
STZ-Cont. (n=12)	235.7±23.00**
STZ-低剂量(0.1) (n=11)	247.5±29.8
STZ-高剂量(1) (n=10)	158.1±14.7 [#]
STZ-Ena. (n=11)	148.8±11.2 [#]

** ; p<0.01(与 Sham 组比较)、[#]; p<0.05(与 STZ-Cont.组比较)

5

表 4

	血中甘油三酯浓度(mg/dl)(4周)
Sham(n=13)	157.8±13.0
STZ-Cont. (n=12)	729.0±89.3**
STZ-低剂量(0.1) (n=11)	866.6±97.5
STZ-高剂量(1) (n=11)	494.0±55.8 [#]
STZ-Ena. (n=11)	407.0±35.7 [#]

** ; p<0.01(与 Sham 组比较)、[#]; p<0.05(与 STZ-Cont.组比较)

如表 3 及表 4 所示, 由于给予 STZ, 在给药第 4 周血中胆固醇浓度及血中甘油三酯浓度显著上升。STZ-高剂量(1)组以 1mg/kg 的极低剂量使血中胆固醇浓度及血中甘油三酯浓度与 STZ-Ena.组同等下降。

因此, 上述模型显示血中胆固醇浓度或血中甘油三酯浓度上升, 存在某些肾功能障碍, 可以说是并发早期肾病后的糖尿病的病症, 因而提示化合物 1 对并发早期肾病后的糖尿病的血中脂质上升具有改善作用。

15

(2) 对 STZ 诱发糖尿病的大鼠的尿中参数的作用

1) 尿中白蛋白

表 5

	尿中白蛋白排泄量(mg/d)			
	0 周	2 周	4 周	6 周
Sham (n=13)	0.52±0.05	0.65±0.04	0.42±0.04	0.43±0.04
STZ-Cont. (n=12~13)	0.43±0.04	0.96±0.08**	1.11±0.31*	1.43±0.48*
STZ-低剂量(0.1) (n=11~13)	0.45±0.03	1.03±0.07	0.74±0.13	1.37±0.19
STZ-高剂量(1) (n=10~13)	0.50±0.05	0.67±0.05#	0.46±0.05*	1.03±0.12
STZ-Ena. (n=9~13)	0.46±0.04	0.91±0.13	0.65±0.14	1.27±0.18

* ; p<0.05(与 Sham 组比较)、#; p<0.05(与 STZ-Cont.组比较)

5

如表 5 所示,观察到由于给予 STZ,自给药第 2 周起尿中白蛋白排泄量(UAE)有所增加。依赖于化合物 1 的剂量,给药开始 2、4、6 周后的 UAE 有所减少。另一方面,STZ-Ena.组未见 UAE 减少。

因此,提示化合物 1 对并发早期肾病后的糖尿病的尿中白蛋白排泄增加具有改善作用。

10

2)肌酐清除率

表 6

	肌酐清除率(L/d)
Sham(n=13)	1.8±0.2
STZ-Cont. (n=12)	2.6±0.2*
STZ-低剂量(0.1) (n=13)	2.9±0.5
STZ-高剂量(1) (n=11)	1.8±0.2
STZ-Ena. (n=11)	3.0±0.8

* ; p<0.05(与 Sham 组比较)

如表 6 所示, 由于给予 STZ, 给药第 2 周肌酐清除率(Ccr)显著升高, 出现因肾小球过度滤过现象。第 4 周以后 Ccr 未见显著上升。STZ-高剂量(1)组在给药 2 周后对 Ccr 的上升有抑制的倾向。另一方面, STZ-Ena.组对 Ccr 的上升未见有抑制的倾向。

- 5 因此, 提示化合物 1 对于并发早期肾病后的糖尿病的肾小球过度滤过具有改善作用。

试验例 2 对于肾脏切除 5/6 的慢性肾衰竭(5/6 Nx)大鼠的肾功能的作用 (方法)

- 10 实验使用 8 周龄的雄性 Wistar 大鼠。大鼠在戊巴比妥麻醉下切除左肾的 2/3, 于 1 周后将右肾完全摘除。切除 5/6 肾脏 2 周后用 tail-caff 法测定收缩期血压(SBP), 在代谢笼中采集 24 小时尿测定尿蛋白排泄量, 分成 3 组, 每组 n=9, 使各组没有差异。其后 8 周内, 给 5/6Nx-Cont.组口服溶剂(0.5%MC), 给药量为 5ml/kg。5/6Nx-化合物 1 组给予 1mg/kg/d 的化合物 1, 5/6Nx-Ena.组给予马来酸依那普利 10mg/kg/d, 各溶于溶剂(0.5% MC), 连续口服, 每日 1 次。
- 15 另一方面, 以只行开腹手术的大鼠作为对照组(Sham), 仅口服溶剂(0.5% MC)。每隔 2 周采集 24 小时尿, 测定尿蛋白排泄量。并每隔 4 周测定 SBP, 探讨对血压的影响。

- 20 测定结果以平均值±误差表示。Sham 组与 5/6Nx-Cont.组的比较进行不成对的 t 检验, 将概率不满 5%的情况看作有显著差异。而 5/6Nx 大鼠的给药组间的比较于一元方差分析后分别进行不成对的多重比较(Dunnet 检验), 把概率不满 5%的情况看作有显著差异。

(结果)

(1) 对尿蛋白排泄的作用

表 7

	尿蛋白排泄量(mg/d)		
	0 周	2 周	4 周
Sham(n=9)	26.1±1.1	26.1±1.3	22.8±0.9
5/6Nx-Cont.(n=9)	41.3±4.9**	90.3±9.0**	155.2±18.0**
5/6Nx-化合物 1 (n=9)	39.1±4.8	72.5±9.0	129.7±14.5
5/6Nx-Ena. (n=7-9)	36.9±4.7	45.5±10.5##	78.4±15.3##
	6 周	8 周	
Sham(n=9)	25.2±1.9	30.9±1.6	
5/6Nx-Cont. (n=9)	287.2±19.1**	429.4±22.6**	
5/6Nx-化合物 1 (n=9)	230.0±31.8	319.5±34.1#	
5/6Nx-Ena. (n=7-9)	165.1±28.1##	261.2±43.2##	

** ; p<0.01(与 Sham 组比较)、#; p<0.05,

5 ##; p<0.01 (与 STZ-Cont.组比较)

如表 7 所示, 与 Sham 组相比, 5/6 Nx-Cont.组的尿蛋白排泄量显著增加。5/6 Nx-Ena.组从第 2 周至第 8 周尿蛋白排泄量的增加受到显著抑制。化合物 1 给药组在给药第 8 周以 1mg/kg 的极低剂量显著抑制了尿蛋白排泄量的增加。

10 因此, 提示化合物 1 对转为慢性肾衰竭后的糖尿病的尿蛋白排泄增加具有改善作用。

(2)对血压上升的作用

表 8

	收缩期血压(mmHg)		
	0周	4周	8周
Sham(n=9)	126±2	124±3	117±5
5/6Nx-Cont.(n=9)	135±4	151±4**	154±5**
5/6Nx-化合物 1(n=9)	135±6	142±6	139±5
5/6Nx-Ena. (n=7~9)	136±4	129±8#	124±6##

** ; $p < 0.01$ (与 Sham 组比较)、# ; $p < 0.05$,

##; $p < 0.01$ (与 5/6Nx-Cont.组比较)

5

如表 8 所示, 与 Sham 组相比, 5/6 Nx-Cont.组的 SBP 显著升高。确认 5/6Nx-Ena.组有显著的降压作用。化合物 1 给药组未见对 SBP 的上升有显著抑制作用。

(3)对肾功能低下病例给药后对死亡率的作用

10 对各组 9 例进行研究, 试验期间 5/6 Nx-Ena.组见 2 例死亡例, 而化合物 1 给药组未见死亡例。

试验例 3 对自发性高血压大鼠(SHR)血压的影响的探讨试验 (方法)

15 使用 17~19 周龄(体重 276~350g)的雄性 SHR(星野试验动物, 八潮)。用戊巴比妥(60mg/kg i.p.)麻醉 SHR, 将聚乙烯插管(PE-50)自左颈总动脉插入, 并植入使其前端位于大动脉弓。插管另一端从背侧颈部向体外导出, 切开部位施以外科缝合。经过手术后的恢复期, 分别在每一笼中在无麻醉、无拘束下测定 SHR 的血压及心率。插管的另一端经活节(PLYMOUTH MEETING PA, 20 Instech laboratories)连接到压力换能器(AP-601G, 日本光电), 心率以血压脉波驱动心搏计(AT-601G, 日本光电)进行测定。经口以胃管口服药物或溶剂(0.5% MC), 服用 5ml/kg。此外, 采用收缩期血压为 160mmHg 以上的 SHR 进行实验。测定结果以平均值±误差表示。

(结果)

25 如图 1 所示, 给无麻醉、无拘束下的 SHR 口服 30mg/kg 或 100mg/kg 的化合物 1 后, 经过 24 小时发现对血压及心率没有影响。

作为糖尿病性肾病的现行疗法实施的降压疗法要担心对全身血流动态的影响引起的血压降低和肾灌注压下降，而化合物 1 引起的全身血压变化的程度不会引起这种担心，这就说明本发明能够在使用 ACE 抑制剂等有禁忌或应慎用的情况给药。

5

试验例 4 对大鼠肾小球膜细胞的 ET-1 引起的细胞增殖的抑制作用
(方法)

(1)大鼠肾小球膜细胞的培养

大鼠肾小球细胞的培养用已知的方法进行(Kidney Int., 42, 860-866, 1992)。

10 即，在麻醉下从 7~10 周龄的雄性 Wistar 大鼠摘出肾脏后，在无菌状态下以 sieving 法分离肾小球，然后在 95%空气，5%CO₂、37℃的条件下在 RPMI-1640 中含血清和营养因子等的培养液中培养，得到均一的肾小球膜细胞。其后约 1 周内继代培养 1 次，实验采用第 4~10 代的细胞。

(2)细胞增殖、肥大活性测定

15 细胞增殖活性测定是将大鼠培养的肾小球膜细胞在 48 孔测定平板上培养，在铺满 50%时，除去培养液中的营养因子(ITS)，以胎牛血清(FCS)从 20%降至 0.5%的培养液中培养 2 天，使细胞同步进入静止期。然后，在 0.5%的 FCS 及 ITS 存在下添加 ET-1、ET-3 及 S6c,培养 69 小时。接着，在培养液中加入 Alamar Blue 试剂(IWAKI)(50ml/孔)，温育 3 小时，测定 570/ 600nm 的吸光度，按标准曲线求得细胞数，作为细胞增殖活性。

25 肥大活性的测定是将以 Alamar Blue 试剂测定细胞增殖活性之后的细胞以磷酸缓冲液洗涤 3 次，然后在细胞内加入蛋白质直接测定试剂(BioRad)，测定 595nm 的吸光度，由标准曲线求得蛋白质含量。再由增殖活性测定得到的细胞数求得单位细胞的蛋白质含量作为肥大活性。为探讨对 ET-1 的增殖促进作用的抑制作用，在使 ET-1 起作用前的 30 分钟在培养液中加入化合物 1。

(3)统计学分析

结果以平均值±误差表示。增殖、肥大活性的差异显著性的检验是在一元方差分析后以肽浓度值为 0 作为对照组分别进行不成对的多重比较(Dunnet 检验)，将概率不到 5%的情况看作差异显著。

30 (结果)

(1)ET 对大鼠培养的肾小球膜细胞增殖、肥大的作用

如图 2 及图 3 所示，ET-1 及 ET-3 在 10⁻¹²~10⁻⁷M 浓度时均对大鼠培养的

肾小球膜细胞的增殖及肥大具有浓度依赖性的促进作用。两者在 10^{-8}M 都可得到几乎最大的反应，但细胞增殖及肥大促进活性是 ET-1 比 ET-3 强，可以认为 ET-1 及 ET-3 的细胞增殖及肥大促进作用未发现浓度反应存在差异，两者的反应平行地发生。

5 (2)对 ET-1 诱导的大鼠培养的肾小球膜细胞的增殖作用的效果

表 9

ET-1	化合物 1	细胞增殖(%)
—	—	100.0
10^{-8}M	0	173.3 ± 5.8
	10^{-11}M	180.0 ± 11.1
	10^{-10}M	119.3 ± 8.1
	10^{-9}M	105.0 ± 10.1
	10^{-8}M	95.3 ± 12.4

(n=5~8)

10 如表 9 所示，化合物 1 在浓度为 $10^{-11}\sim 10^{-8}\text{M}$ 时能以浓度依赖性抑制 10^{-8}M 的 ET-1 引起的大鼠培养的肾小球膜细胞的增殖。

因此，提示化合物 1 能有效地改善 ET 诱发的基质变化所伴随的肾功能障碍，例如糖尿病性肾病、ET 诱发的早期肾病、作为糖尿病并发症的最终临床表现表现的肾小球硬化病变伴发的慢性肾衰竭等引起的肾功能有障碍。

15 产业上利用的可能性

20 本发明能提供用于改善糖尿病患者的特定症状的医药组合物。即能提供改善糖尿病患者的血糖上升的医药组合物；改善糖尿病患者并发早期肾病后的血中脂质上升的医药组合物；改善糖尿病患者并发早期肾病后的肾功能障碍的医药组合物；改善糖尿病患者转为慢性肾衰竭后的肾功能障碍的医药组合物；改善糖尿病性肾病患者的肾功能障碍的医药组合物；改善 ET 诱发的早期肾病患者的肾功能障碍的医药组合物；改善慢性肾衰竭患者的肾功能障碍的医药组合物。

25 特别是上述肾功能障碍的改善通过抑制糖尿病并发早期肾病后、糖尿病性肾病及/或 ET 诱发的早期肾病所伴的尿中白蛋白排泄及/或肾小球过度滤过、或者抑制转为慢性肾衰竭后的糖尿病及/或慢性肾衰竭所伴的尿蛋白排泄而实

现。

此外，作为糖尿病性肾病的现行疗法实施的降压疗法对全身血流动态具有影响，要担心血压降低和肾灌注压下降，而本发明能提供全身血压变化程度不必有上述担心的上述医药组合物及/或口服吸收性优良的上述医药组合物。

5

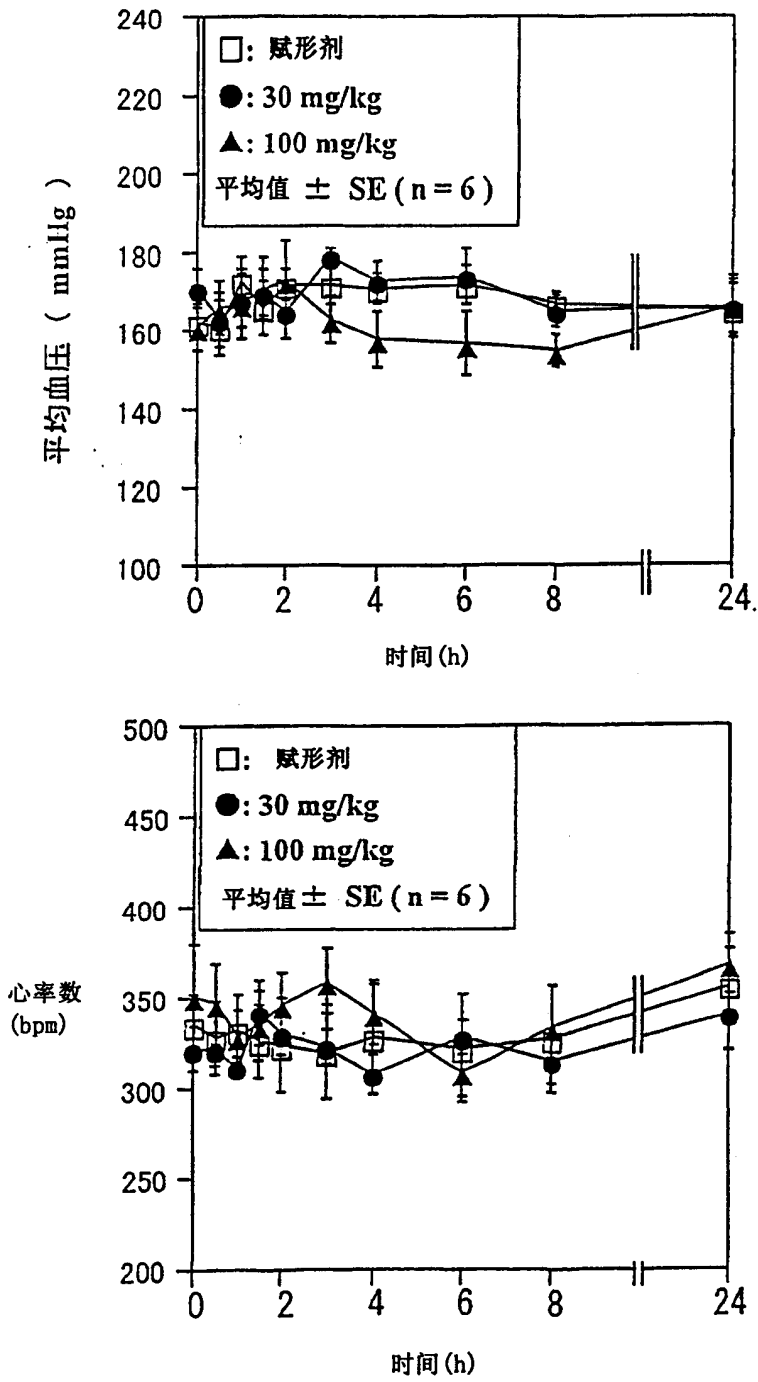


图 1

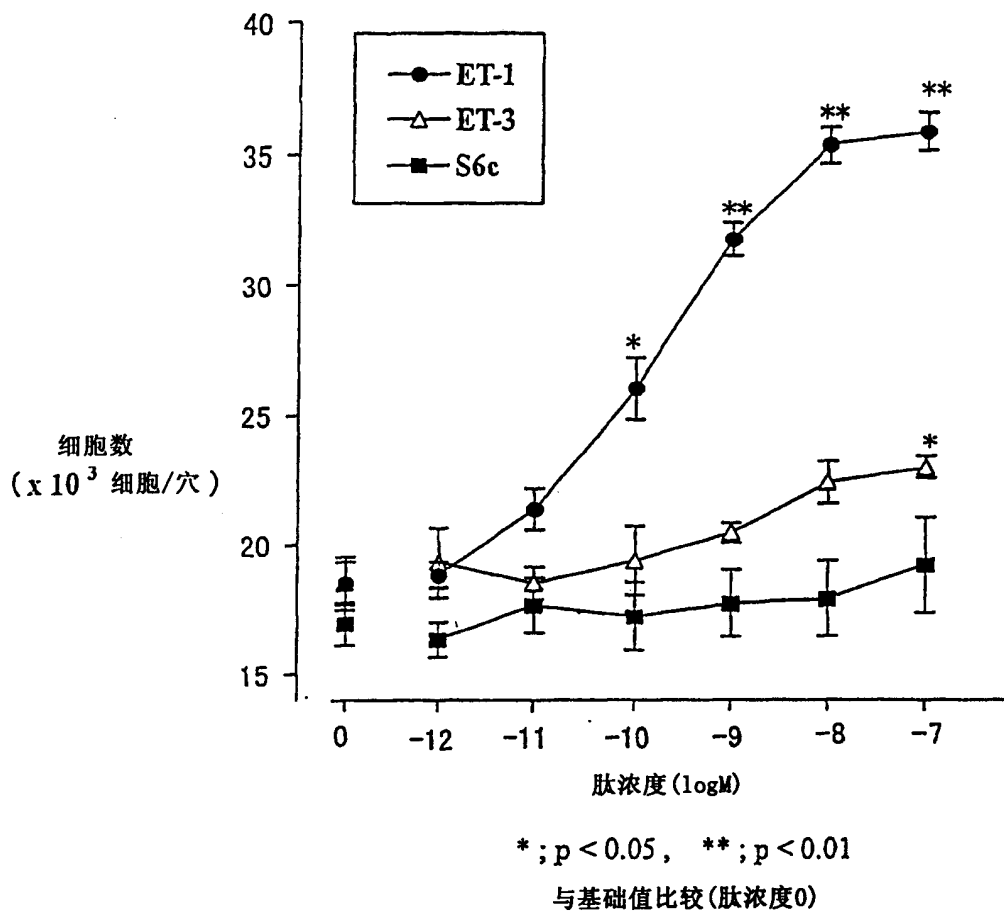


图 2

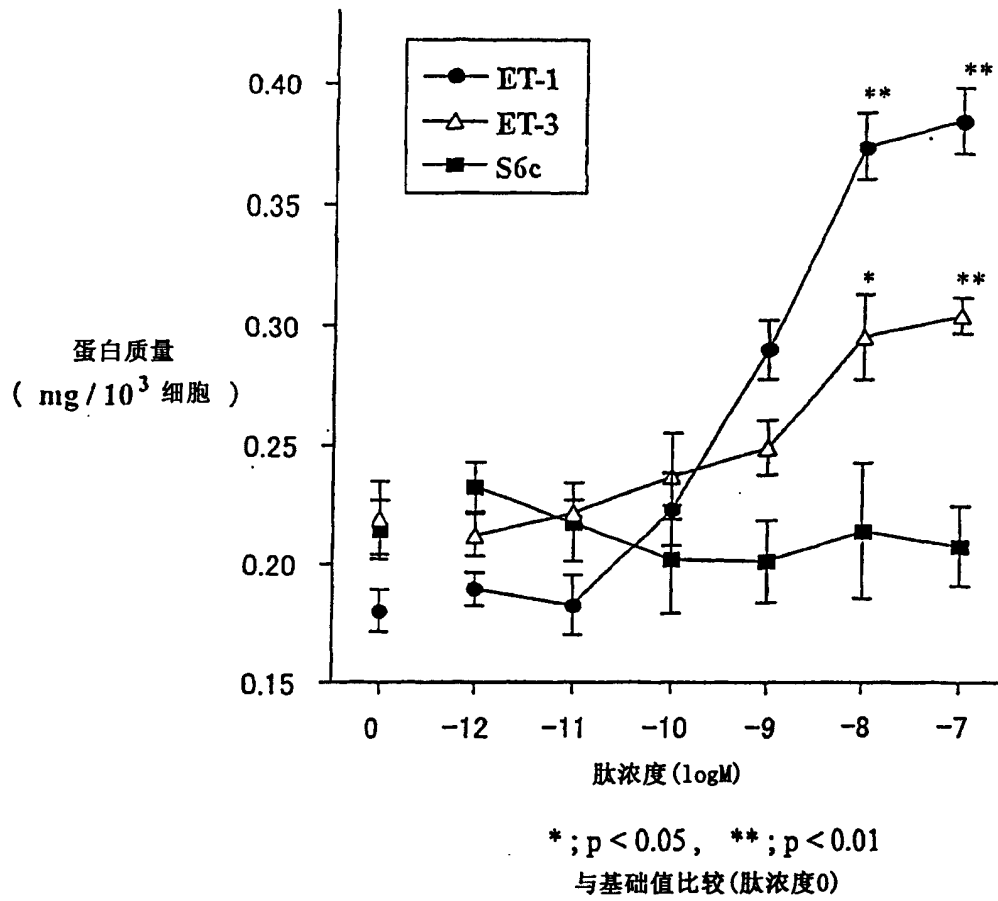


图 3