

(19)



(10) **LT 4758 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

- (11) Patento numeris: **4758** (51) Int. Cl. 7: **A61K 9/20**
A61K 47/38
- (21) Paraiškos numeris: **2000 035**
- (22) Paraiškos padavimo data: **2000 04 26**
- (41) Paraiškos paskelbimo data: **2000 11 27**
- (45) Patento paskelbimo data: **2001 02 26**
- (62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —
- (86) Tarptautinės paraiškos numeris: —
- (86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: —
- (85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: —
- (30) Prioritetas: **132036, 1999 04 30, US**
- (72) Išradėjas:
Jeffrey Thomas EMMICK, US
William Ernest PULLMAN, US
Kenneth Michael FERGUSON, US
John Steven WHITAKER, US
- (73) Patento savininkas:
Lilly ICOS LLC, 1209 Orange Street, Wilmington, Delaware 19801, US
- (74) Patentinis patikėtinis:
Rita LAURINAVIČIŪTĖ, UAB "Metida", Pilies g. 8/1-2, 2600 MTP Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Pramoniniai gaminiai

(57) Referatas:

Šis išradimas yra susijęs su labai selektyviais fosfodiesterazės (PDE) inhibitoriais ir jų panaudojimu farmacijos pramonės gaminiuose. Konkrečiau, šis išradimas yra susijęs su potencialiais cikliniam guanozin-3',5'-monofosfatui specifinės 5 tipo fosfodiesterazės (PDE5) inhibitoriais, kurie, jeigu jie yra įdėti į farmacinį produktą 1-20 mg dozėmis dozuotame vienete, yra tinkami lytinės funkcijos sutrikimui gydyti. Čia aprašytiems pramoniniams gaminiams yra būdinga selektyvi PDE5 inhibicija, ir todėl jie duoda naudą tose terapijos srityse, kuriose pageidautina inhibuoti PDE5, sumažinant arba eliminuojant kenksmingus šalutinius poveikius, atsirandančius dėl kitų fosfodiesterazių inhibavimo.

IŠRADIMO SRITIS

Šis išradimas yra susijęs su labai selektyviais fermento fosfodiesterazės (PDE) inhibitoriais ir jų panaudojimu farmacijos pramonės gaminiuose. Konkrečiau, šis išradimas yra susijęs su potencialiais cikliniam guanozin-3',5'-monofosfatui specifinės 5 tipo fosfodiesterazės (PDE5) inhibitoriais, kurie, jeigu jie yra farmaciniame produkte, yra tinkami lytinės funkcijos sutrikimui gydyti. Čia aprašytiems pramoniniams gaminiams yra būdinga selektyvi PDE5 inhibicija, ir todėl jie duoda naudą tose terapijos srityse, kuriose pageidautina inhibuoti PDE5, sumažinant arba eliminuojant kenksmingus šalutinius efektus, atsirandančius dėl kitų fosfodiesterazių inhibavimo.

IŠRADIMO KILMĖ

Biocheminis, fiziologinis ir klinikinis cikliniam guanozin-3',5'-monofosfatui specifinės fosfodiesterazės (cGMP-spezifinė PDE) inhibitorių efektas leidžia suprasti, kad juos galima panaudoti esant įvairioms ligų būklėms, kuriose pageidautina moduluoti lygiuosius raumenis, inkstų, hemostazinę, uždegiminę ir/arba endokrininę funkciją. Penktojo tipo cGMP-spezifinė fosfodiesterazė (PDE5) yra pagrindinis cGMP hidrolizuojantis fermentas gyslų lygiuosiuose raumenyse, ir buvo aprašyta jo ekspresija varpos akytkūnyje (Taher et al., *J. Urol.*, 149:285A (1993)). Taigi, PDE5 yra patrauklus taikinyss gydant lytinės funkcijos sutrikimą. (Murray, *DN&P* 6(3):150-56 (1993)).

Farmacinis produktas, kuriame pateikiamas PDE5 inhibitorius, dabartiniu metu yra prieinamas ir parduodamas su prekės ženklu VIAGRA®. Veiklusis VIAGRA® ingredientas yra sildenafilas. Produktas parduodamas kaip pramoninis gaminys, į kurį įeina 25, 50 ir 100 mg sildenafilo tabletės ir

įdėtinis lapelis prie įpakavimo. Šiame įdėtiname lapelyje konstatuojama, kad sildenafilas yra veiksmingesnis PDE5, nei kitų žinomų fosfodiesterazių, inhibitorius (daugiau nei 80 kartų lyginant su PDE1 inhibavimu, daugiau nei 1000 kartų lyginant su PDE2, PDE3 ir PDE4 inhibavimu). Buvo aprašyta, kad sildenafilo IC_{50} PDE5 atžvilgiu yra 3 nM (*Drugs of the Future*, 22(2), pp. 128-143 (1997)) ir 3,9 nM (Boolell et al., *Int. J. of Impotence Res.*, 8, p.47-52 (1996)). Aprašyta, kad sildenafilas turi 4000 kartų didesnį selektyvumą PDE5 lyginant su PDE3 ir tik 10 kartų didesnį selektyvumą PDE5 lyginant su PDE6. Samprotaujama, kad šis santykinis selektyvumo nebuvimas PDE6 atžvilgiu yra anomalijų, susijusių su spalvų matymu, pagrindas.

Nors sildenafilas turėjo nemažą komercinę sėkmę, jis nepasiekė tikslo dėl jo svarbių neigiamų šalutinių efektų, įskaitant veido paraudimą (10 % atvejų). Neigiami šalutiniai efektai riboja sildenafilo naudojimą pacientams, turintiems regėjimo anomalijas, hipertenziją, o ypač individams, kurie naudoja organinius nitratus (Welds et al., *Amer. J. of Cardiology*, 83(5A), pp. 21C-28C (1999)).

Manoma, kad pacientams, kurie priiminėja organinius nitratus, pavartojus sildenafilą, sukeliamas kliniškai reikšmingas kraujo spaudimo sumažėjimas, kuris pacientui gali būti pavojingas. Dėl to sildenafilo pakuotės etiketėje pateikiamos griežtos kontraindikacijos dėl jo vartojimo derinyje su organiniais nitratais (pvz., nitrogliceroliu, izosorbido mononitratu, izosorbido dinitratu, etitritilo tetranitratu) ir kitais bet kurios formos azoto oksido donoriais tiek reguliariai, tiek ir su pertraukomis, nes sildenafilas sustiprina nitratų hipotenzinius efektus. Žr. C.R. Conti et al., *Amer. J. of Cardiology*, 83(5A), pp.29C-34C (1999). Taigi, net ir esant prieinamam sildenafilui, išlieka poreikis surasti pagerintus farmacinius produktus, kurie būtų naudingi lytinės funkcijos sutrikimams gydyti.

Šiame išradime pateikiamas pramoninis gaminys žmonių farmaciniam naudojimui, kuris susideda iš įdėtinio lapelio prie įpakavimo, konteinerio ir peroralinės dozuotos formos vaisto, kuriame yra selektyvaus PDE5 inhibitoriaus vienetinės dozės tarp 1 ir 20 mg/dozuotoje formoje. Šio išradimo naudingi efektai buvo pastebėti klinikiniuose tyrimuose ir atradus,

kad selektyvus PDE5 inhibitorius, tenkinantis toliau duodamus kriterijus, leidžia efektyvų peroralinį vartojimą nuo 1 iki 20 mg/dozuotoje formoje be kontraindikacijų, paprastai nurodomų PDE5 inhibitorių produktams, tokių kaip įspėjimai dėl regėjimo anomalijų.

Šio išradimo selektyvus PDE5 inhibitorius turi:

1) mažiausiai 100 kartų IC_{50} reikšmių skirtumą PDE5 inhibavimui, lyginant su PDE6, kiekvienam konkrečiam PDE5 inhibitoriui (t.y. IC_{50} reikšmė PDE5 atžvilgiu yra mažiausiai 100 kartų mažesnė nei IC_{50} reikšmė PDE6 atžvilgiu);

2) mažiausiai 1000 kartų IC_{50} reikšmių skirtumą PDE5 inhibavimui, lyginant su PDE1c; ir

3) IC_{50} reikšmę mažesnę už 10 nM.

Svarbu pažymėti, kad klinikiniai tyrimai taip pat parodė, kad gali būti pateiktas efektyvus produktas, turintis sumažintą tendenciją sukelti išsraudimą jautriems pacientams. Kas labiausiai netikėta, šis produktas taip pat gali būti vartojamas, esant nežymiesiems šalutiniams efektams, susijusiems su PDE5 inhibitoriaus ir organinio nitrato derinio poveikiu. Taigi, kontraindikacijos, kurios buvo laikomos neišvengiamomis produktui, kuriame yra PDE5 inhibitoriaus, kaip čia parodyta, yra visai nebūtinės, jeigu yra naudojamas selektyvus PDE5 inhibitorius, kaip apibūdinta aukščiau. Taigi, šiame išradime pateikiama efektyvi lytinės funkcijos sutrikimo terapija individams, kurie anksčiau buvo negydytini arba kentėjo nuo nepriimtinių šalutinių poveikių, įskaitant individus, turinčius širdies ir kraujagyslių ligą, kaip antai individai, kuriems reikalingas gydymas nitratais, kurie turėjo miokardo infarktą daugiau nei prieš tris mėnesius nuo lytinės funkcijos sutrikimo gydymo pradžios, ir sergantiems 1 klasės kongestine širdies yda, ką nustatė Niujorko Širdies Asociacija (NYHA), arba individams, kenčiantiems nuo regėjimo anomalijų.

IŠRADIMO SANTRAUKA

Šiame išradime pateikiamas pramoninis gaminyje žmonių farmaciniam naudojimui, kuris susideda iš įdėtinio lapelio prie įpakavimo, konteinerio ir

peroralinės dozuotos vaisto formos, kurioje yra nuo 1 iki 20 mg selektyvaus PDE5 inhibitoriaus vienoje dozuotoje formoje.

Šiame išradime taip pat pateikiamas būklių, kuriose pageidautina inhibuoti PDE5, gydymo būdas, apimantis peroralinės dozuotos formos, turinčios nuo 1 iki 20 mg selektyvaus PDE5 inhibitoriaus, skyrimą to reikalingam pacientui iki 20 mg/per dieną suminės dozės. Išradime taip pat pateikiamas peroralinės dozuotos vaisto formos, kurioje yra nuo 1 iki 20 mg selektyvaus PDE5 inhibitoriaus dozė, panaudojimas lytinės funkcijos sutrikimo gydymui.

Specifinės būklės, kurias galima gydyti šio išradimo būdu ir gaminiu yra (bet jomis neapsiribojama) vyrų erekcinės funkcijos sutrikimas ir moterų lytinės funkcijos sutrikimas, ypač moterų sužadinimo sutrikimas, taip pat žinomas kaip moterų lytinio sužadinimo sutrikimas.

Konkrečiau kalbant, šiame išradime pateikiamas pramoninis gaminy žmonių farmaciniam vartojimui, susidedantis iš:

(a) peroralinės dozuotos vaisto formos, turinčios nuo 1 iki 20 mg selektyvaus PDE5 inhibitoriaus, kuris turi

(i) mažiausiai 100 kartų skirtumą tarp PDE5 ir PDE6 inhibavimo IC_{50} reikšmių

(ii) mažiausiai 1000 kartų skirtumą tarp PDE5 ir PDE1c inhibavimo IC_{50} reikšmių

(iii) IC_{50} mažesnę už 10 nM ir

(iv) pakankamą bioprieinamumą, kad būtų veiksmingas vartojant nuo 1 iki 20 mg vienetines peroralines dozes;

(b) įdėtinio lapelio prie įpakavimo, konstatuojančio, kad šis PDE5 inhibitorius tinka lytinės funkcijos sutrikimams gydyti pacientui, kuriam reikalingas toks gydymas, ir kad jis neturi kontraindikacijų, susijusių su organinių nitratų vartojimu; ir

(c) konteinerio.

Šiame išradime taip pat pateikiamas pramoninis gaminy žmonių farmaciniam vartojimui, susidedantis iš:

(a) peroralinės dozuotos vaisto formos, turinčios nuo 1 iki 20 mg selektyvaus PDE5 inhibitoriaus, kuris turi

(i) mažiausiai 100 kartų skirtumą tarp PDE5 ir PDE6 inhibavimo IC_{50} reikšmių

(ii) mažiausiai 1000 kartų skirtumą tarp PDE5 ir PDE1c inhibavimo IC_{50} reikšmių

(iii) IC_{50} mažesnę už 10 nM ir

(iv) pakankamą bioprieinamumą, kad būtų veiksmingas vartojant nuo 1 iki 20 mg vienetines peroralines dozes;

(b) įdėtinio lapelio prie įpakavimo, konstatuojančio, kad šis PDE5 inhibitorius tinka lytinės funkcijos sutrikimams gydyti pacientui, kuriam reikalingas toks gydymas, ir kuris vartoja organinius nitratus; ir

(c) konteinerio.

Šiame išradime taip pat pateikiamas pramoninis gaminys žmonių farmaciniam vartojimui, susidedantis iš:

(a) peroralinės dozuotos vaisto formos, turinčios nuo 1 iki 20 mg selektyvaus PDE5 inhibitoriaus, kuris turi

(i) mažiausiai 100 kartų skirtumą tarp PDE5 ir PDE6 inhibavimo IC_{50} reikšmių

(ii) mažiausiai 1000 kartų skirtumą tarp PDE5 ir PDE1c inhibavimo IC_{50} reikšmių

(iii) IC_{50} mažesnę už 10 nM ir

(iv) pakankamą bioprieinamumą, kad būtų veiksmingas vartojant nuo 1 iki 20 mg vienetines peroralines dozes;

(b) įdėtinio lapelio prie įpakavimo, teigiančio, kad šis PDE5 inhibitorius tinka lytinės funkcijos sutrikimams gydyti pacientui, kuriam reikalingas toks gydymas, ir kuris kenčia nuo būklių, pasirinktų iš grupės, susidedančios iš tinklainės ligos, polinkio į išsraidimą, polinkio į regėjimo anomalijas, 1 klasės kongestinės širdies ydos, miokardo infarkto, buvusio prieš 90 arba daugiau dienų prieš seksualinės funkcijos sutrikimo gydymo pradžią, ir jų derinių; ir

(c) konteinerio.

SMULKUS APRAŠYMAS

Šio išradimo tikslams atskleisti ir aprašyti vartojami terminai ir sutrumpinimai yra apibrėžiami taip:

Terminas "konteineris" reiškia bet kokį rezervuarą ir uždara ertmę, tinkančią farmaciniam produktui laikyti, transportuoti, paruošti ir/arba pardavinėti.

Terminas " IC_{50} " yra junginio gebos inhibuoti konkretų PDE fermentą (pvz. PDE1c, PDE5 arba PDE6) matas. IC_{50} yra junginio koncentracija, kuri duoda 50 % fermento inhibavimą viename dozės-atsako eksperimente. Junginio IC_{50} reikšmės nustatymas lengvai atliekamas pagal žinomą *in vitro* metodiką, aprašytą Y. Cheng et al., *Biochem. Pharmacol.*, 22, pp. 3099-3108 (1973).

Terminas "įdėtinis lapelis prie įpakavimo" reiškia produktą lydinčią informaciją, kur aprašoma kaip vartoti produktą kartu su saugumo ir efektyvumo duomenimis, reikalingais, kad terapeutas, vaistininkas ir pacientas galėtų padaryti sprendimą dėl produkto naudojimo. Šis įdėtinis lapelis prie įpakavimo paprastai yra laikomas farmacinio produkto "etikete".

Terminas "peroralinė dozuota forma" bendra prasme yra naudojamas peroraliniu būdu vartojamiems farmaciniams produktams pažymėti. Šios srities specialistai žino, kad peroralinės dozotos formos apima tokias formas, kaip skystos vaisto formos, tabletės, kapsulės ir želatininės kapsulės.

Terminas "selektyvus PDE5 inhibitorius" yra apibrėžiamas kaip PDE5 inhibitorius, kuris turi:

- 1) PDE5 inhibavimo IC_{50} reikšmę mažiausiai 100 kartų mažesnę nei PDE6 inhibavimo reikšmė;
- 2) PDE5 inhibavimo IC_{50} reikšmę mažiausiai 1000 kartų mažesnę nei PDE1c inhibavimo reikšmė; ir
- 3) PDE5 inhibavimo IC_{50} reikšmę mažesnę už 10 nM.

Selektyvūs PDE5 inhibitoriai yra labai įvairios cheminės struktūros, ir jų panaudojimas šiame išradime priklauso ne tiek nuo cheminės struktūros, kiek nuo čia aprašomų selektyvumo ir veiksmingumo parametrų.

Terminas "regėjimo anomalijos" reiškia nenormalų regėjimą, charakterizuojamą mėlynos-žalios spalvos matymu, kurį, kaip manoma, sukelia PDE6 inhibavimas.

Terminas "iššaudimas" reiškia trumpalaikį veido ir kalko paraudonavimą, priskiriamą vaisto priėmimo sukeltam kraujagyslių išsiplėtimui, kurį paprastai lydi karštis veido ir kaklo srityje, o kartais ir prakaitas.

Terminas "laisvas vaistas" reiškia kietas vaisto daleles, kurios nėra tamptariai surištos su polimero koprecipitatu.

Kaip jau minėta, šis išradimas yra skirtas pramoniniam gaminiui žmonių farmaciniam naudojimui, susidedančiam iš įdėtinio lapelio prie įpakavimo, konteinerio ir dozuotos vaisto formos, kurioje yra nuo 1 iki 20 mg selektyvaus PDE5 inhibitoriaus vienoje dozuotoje formoje. Selektivus PDE5 inhibitorius, tinkantis šiam išradimui, yra PDE5 inhibitorius, kuris turi:

1) mažiausiai 100 kartų skirtumą tarp PDE5 ir PDE6 inhibavimo IC_{50} reikšmių;

2) mažiausiai 1000 kartų skirtumą tarp PDE5 ir PDE1c inhibavimo IC_{50} reikšmių;

3) IC_{50} reikšmę mažesnę už 10 nM;

ir yra pakankamai bioprieinamas, kad būtų veiksmingas vartojant nuo 1 iki 20 mg vienetines dozes;

Skirtumas yra išreiškiamas kaip IC_{50} reikšmių PDE6/PDE5 santykis, t.y. PDE6 inhibavimo IC_{50} santykis su PDE5 inhibavimo IC_{50} reikšme (PDE6/PDE5); jis yra didesnis už 100, geriau kai yra didesnis už 300 ir geriausia kai yra didesnis už 500.

Panašiu būdu, IC_{50} reikšmės santykis PDE1c su IC_{50} reikšme PDE5 (PDE1c/PDE5) yra didesnis už 1000. Tinkamiausi PDE5 inhibitoriai turi didesnę nei 3000 kartų skirtumą tarp PDE5 ir PDE1c inhibavimo, ir dar geriau, jei skirtumas tarp PDE5 ir PDE1c inhibavimo IC_{50} reikšmių yra didesnis nei 5000 kartų. Inhibatoriaus veiksmingumas, kurį atspindi IC_{50} reikšmė PDE5 atžvilkiu, yra mažesnis nei 10 nM, geriau, kai yra mažesnis nei 2 nM, o dar geriau, kai yra mažiau nei 1 nM.

Įdėtiniame lapelyje prie įpakavimo pateikiamas aprašymas kaip vartoti farmacinį produktą kartu su saugumo ir efektyvumo duomenimis, reikalingais, kad terapeutas, vaistininkas ir pacientas galėtų padaryti informuotą sprendimą dėl produkto naudojimo. Įdėtinis lapelis prie įpakavimo paprastai yra laikomas farmacinio produkto etikete. Įdėtiniame lapelyje prie šio pramoninio gaminio įpakavimo nurodoma, kad selektyvus PDE5 inhibitorius yra tinkamas būklė, kuriose pageidautina inhibuoti PDE5, gydymui. Įdėtiniame lapelyje taip pat pateikiami nurodymai vartoti vieną arba daugiau nuo 1 iki 20 mg vienetinių dozuotų formų, jeigu yra reikalas, iki maksimalios 20 mg per dieną suminės dozės. Pageidautina vartoti nuo 5 iki 20 mg/per dieną, dar geriau - nuo 5 iki 15 mg/per dieną, ir visų geriausia - 5 mg arba 10 mg dozuotą formą, imant ją kartą per dieną, jeigu yra reikalas.

Tinkamiausios būklės, kurias galima gydyti, yra lytinės funkcijos sutrikimas (įskaitant vyrų erekcijos funkcijos sutrikimą; ir moterų lytinės funkcijos sutrikimą, labiausiai moterų sužadinimo sutrikimą (FAD)). Labiausiai pageidautina gydytina būklė yra vyrų erekcijos funkcijos sutrikimas.

Svarbu pažymėti, kad įdėtiniame lapelyje prie įpakavimo siūlomas produkto naudojimas lytinės funkcijos sutrikimams gydyti pacientams, kurie serga tinklainės liga, pavyzdžiui, diabetine retinopatija arba pigmentiniu retinitu, arba pacientams, kurie naudoja organinius nitratus. Taigi, svarbu, kad šiame įdėtiniame lapelyje nėra su šiomis būklėmis susijusių kontraindikacijų, ir ypač dėl šios dozuotos formos vartojimo su organiniu nitratu. Dar svarbiau, kad įdėtiniame lapelyje nėra jokių įspėjimų tiek dėl tinklainės ligų, ypač pigmentinio retinito, ir susijusių su individualiais, kurie turi polinkį į regėjimo anomalijas. Svarbu tai, kad įdėtiniame lapelyje prie įpakavimo nurodoma, kad išraudimo atvejų skaičius yra mažiau 2 %, geriau - mažiau 1 % ir visų geriausia, kai yra mažiau 0,5 % nuo pacientų, vartojusių šią dozuotą formą. Šis išraudimo atvejų skaičius rodo žymų pagerinimą, lyginant su ankstesniaisiais farmaciniais produktais, kuriuose yra PDE5 inhibitoriaus.

Šiame pramoniniame gaminyje naudojamas konteineris yra įprastas farmacinėje praktikoje. Paprastai konteineris yra ruplėtas paketas, folijos paketas, stiklinis arba plastikinis buteliukas su dangteliu arba užsukimu arba

kitoks panašus gaminys, patogus naudoti pacientui arba vaistininkui. Pageidautina, kad konteinerio dydis būtų toks, kad jame tilptų 1-1000 kietų dozuotų formų, geriausia - 1-500 kietų dozuotų formų ir geriausia, kad tilptų 5-30 kietų dozuotų formų.

Specialistai supras, kad peroralinės dozuotos formos apima, pavyzdžiui, tokias formas kaip skystos vaisto formos, tabletės, kapsulės ir želatininės kapsulės. Geriausia, kai dozuotos formos yra kietos dozuotos formos, ypačiai tabletės, kuriose yra nuo 1 iki 20 mg selektyvaus PDE5 inhibitoriaus. Tokių dozuotų formų gamybai yra tinkamos bet kokios peroralinio vartojimo farmaciškai priimtinos pagalbinės medžiagos. Į tinkamas farmacinės dozuotas formas įeina ir koprecipitato formos, aprašytos, pavyzdžiui, Butler U.S. patente Nr. 5.985.326, kuris čia duodamas kaip literatūros šaltinis. Tinkamiausiuose įgyvendinimo variantuose šio išradimo vienietinė dozuota forma yra kieta, neturinti koprecipitato PDE5 inhibitoriaus forma, kurioje yra kietas PDE5 inhibitorius laisvo vaisto pavidalu.

Pageidautina, kad tabletėse būtų visų pripažintos nekenksmingomis farmacinės pagalbinės medžiagos, tokios kaip laktozė, mikrokristalinė celiuliozė, krakmolai, kalcio karbonatas, magnio stearatas, stearino rūgštis, talkas ir koloidinis silicio dioksidas, o tabletes galima pagaminti įprastais farmacinės pramonės metodais, kaip aprašyta *Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed.*, Mack Publishing Co., Easton, PA (1990). Tokiais metodais yra, pavyzdžiui, šlapiasis granuliavimas, po to išdžiovinimas, sumalimas ir supresavimas tabletėmis, kurios padengiamos apvalkalu arba nepadengiamos; sausasis granuliavimas, po to sumalimas ir supresavimas tabletėmis, kurios padengiamos apvalkalu arba nepadengiamos; sausasis sumaišymas, po to supresavimas tabletėmis, kurios padengiamos apvalkalu arba nepadengiamos; tablečių suformavimas pagal šabloną; šlapiasis granuliavimas, išdžiovinimas ir supilstymas į želatinos kapsules; sausasis sumaišymas ir supilstymas į želatinos kapsules; arba želatinos kapsulių užpildymas suspensija arba tirpalu. Paprastai kietos dozuotos formos turi identifikavimo ženklus, kurie yra iškilaus rašto arba įspausti ant paviršiaus

Šis išradimas yra paremtas išsamiais eksperimentais ir klinikiniais bandymais ir nelauktais pastebėjimais, kad šalutiniai poveikiai, kurie anksčiau buvo laikomi būdingais PDE5 inhibavimui, gali būti sumažinti iki kliniškai nežymaus lygio pasirenkant selektyvų PDE5 inhibitorių, turintį čia nurodytas specifines charakteristikas, būtent:

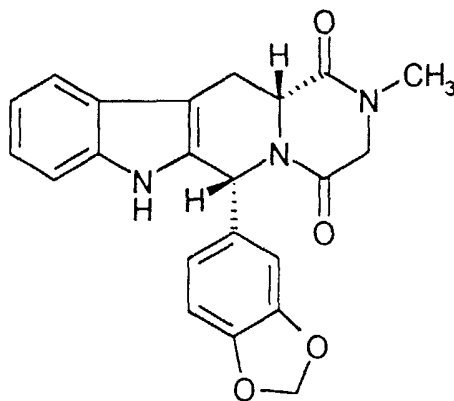
1) mažiausiai 100 kartų skirtumą tarp PDE5 ir PDE6 inhibavimo IC_{50} reikšmių;

2) mažiausiai 1000 kartų skirtumą tarp PDE5 ir PDE1c inhibavimo IC_{50} reikšmių;

3) PDE5 inhibavimo IC_{50} reikšmę mažesnę už 10 nM.

Šis netikėtas pastebėjimas įgalino sukurti pramoninius gaminius, į kuriuos įeina selektyvaus PDE5 inhibitoriaus nuo 1 mg iki 20 mg dozuotos formos vienetė, jeigu vartojama peroraliniu būdu, ir minimizuojami nepageidautini šalutiniai efektai, kurie anksčiau buvo laikomi neišvengiamais. Šie šalutiniai efektai yra veido išraudimas, regėjimo anomalijos ir didelis kraujo spaudimo sumažėjimas, kai PDE5 inhibitorius yra vartojamas vienas arba derinyje su organiniu nitratu. Minimalus šio PDE5 inhibitoriaus, vartojant jį nuo 1 iki 20 mg viename dozuotame vienete, poveikis į PDE6 taip pat leidžia skirti selektyvų PDE5 inhibitorių pacientams, sergantiems tinklainės liga, tokia kaip diabetinė retinopatija arba pigmentinis retinitas.

Vienas toks selektyvus PDE5 inhibitorius, t.y. (6R)-trans)-6-(1,3-benzodioksol-5-il)-2,3,6,7,12,12a-heksahidro-2-metilpirazino[1',2':1,6]pirido-[3,4-b]indol-1,4-dionas, kitaip dar vadinamas (6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-heksahidro-2-metil-6-(3,4-metilendioksofenil)pirazino[2',1':6,1]pirido[3,4-b]indol-1,4-dionu, yra aprašytas Daugan U.S. patente Nr. 5.859.006 ir yra atvaizduojamas struktūrine formule (I):

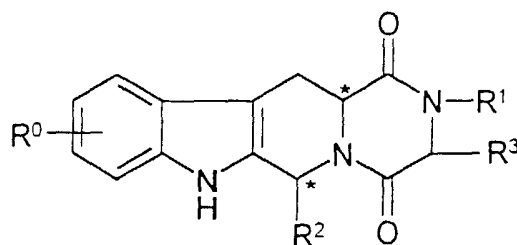


(I)

Buvo parodyta, kad (I) formulės junginys klinikiniuose bandymuose su žmonėmis turi minimalų įnašą į sistolinį kraujo spaudimą, kai jis vartojamas kartu su organiniais nitratais. Priešingai, sildenafilas, kai jis vartojamas su nitratais, rodo net keturis kartus didesnį sistolinio kraujo spaudimo sumažėjimą, lyginant su placebo, ir tai verčia pateikti kontraindikacijas įdėtiniame lapelyje ir perspėjimus tam tikriems pacientams.

Selektyvūs PDE5 inhibitoriai yra labai įvairios cheminės struktūros, ir jų panaudojimas šiame išradime priklauso ne tiek nuo cheminės struktūros, kiek nuo čia aprašomų kritinių parametrų. Tačiau tinkamiausius junginius, turinčius reikaujamą veiksmingumą ir selektyvumą, galima nesunkiai nustatyti panaudojant čia aprašytus testus, paimtus iš Daugan U.S. patento Nr. 5.859.006, Daugan et al. U.S. patento Nr. 5.981.527 ir Daugan et al. U.S. patento Nr. 6.001.847, kurie duodami kaip literatūros šaltiniai.

Daugan U.S. patento Nr. 5.859.006 ir Daugan et al. U.S. patento Nr. 5.981.527 tinkamiausi junginiai yra atvaizduojami struktūriniu formule (II):

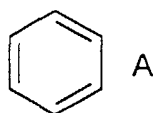


(II)

kurioje R^0 yra pasirinktas iš grupės, susidedančios iš vandenilio, halogeno ir C₁₋₆ alkilo;

R^1 yra pasirinktas iš grupės, susidedančios iš vandenilio, C_{1-6} alkilo, C_{2-6} alkenilo, C_{2-6} alkinilo, halogen- C_{1-6} alkilo, C_{3-8} cikloalkilo, C_{3-8} cikloalkil- C_{1-3} alkilo, aril- C_{1-3} alkilo, kuriuose arilas yra fenilas arba fenilas, turintis 1-3 pakaitus, pasirinktus iš grupės, susidedančios iš halogeno, C_{1-6} alkilo, C_{1-6} alkoksigrupės, metilendioksigrupės ir jų mišinių, ir heteroaril- C_{1-3} arilo, kuriame heteroarilas yra tienilas, furilas arba piridilas, ir kiekviename iš jų gali būti 1-3 pakaitai, pasirinkti iš grupės, susidedančios iš halogeno, C_{1-6} alkilo, C_{1-6} alkoksigrupės ir jų mišinių;

R^2 reiškia monociklinį aromatinį žiedą, kuriame gali būti pakaitų, pasirinktą iš benzeno, tiofeno, furano ir piridino, arba biciklinį žiedą, kuriame gali būti pakaitų,



prijungtą prie likusios molekulės dalies per vieną iš benzeno žiedo anglies atomų, ir kuriame kondensuotas žiedas A yra sotus, dalinai nesotus arba pilnai nesotus 5- arba 6-naris žiedas, susidedantis iš anglies atomų ir galimai 1-3 heteroatomų, pasirinktų iš deguonies, sieros ir azoto;

R^3 reiškia vandenilį arba C_{1-3} alkilą, arba R^1 ir R^3 kartu reiškia 3- arba 4-narę alkilo arba alkenilo grandinę;

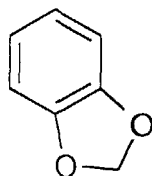
ir jų druskos bei solvatai.

Kiti tinkamiausi (II) formulės junginiai yra tokie, kuriuose:

R^0 yra vandenilis, halogenas arba C_{1-6} alkilas;

R^1 yra vandenilis arba C_{1-6} alkilas;

R^2 yra biciklinis žiedas



kuriame gali būti vienas arba daugiau pakaitų, pasirinktų iš halogeno ir C_{1-3} alkilo; ir

R^3 yra vandenilis arba C_{1-3} alkilas.

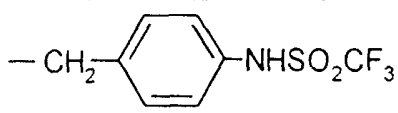
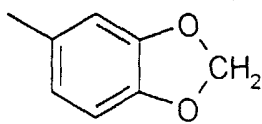
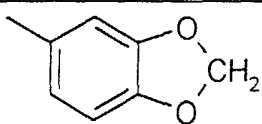
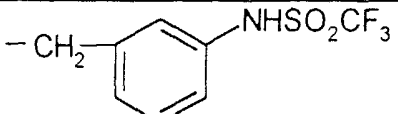
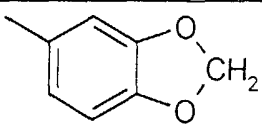
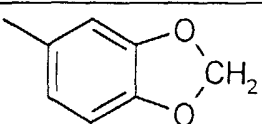
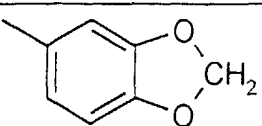
Toliau duodamoje lentelėje parodytos būdingų selektyvių PDE5 inhibitorių, aprašytų U.S. patente Nr. 5.859.006, PDE5 ir PDE6 IC₅₀ reikšmės, nustatytos pagal čia aprašytas metodikas.

1 lentelė

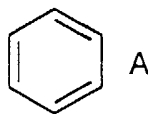
Junginys	PDE5 IC ₅₀ (nM)	PDE6 IC ₅₀ (nM)	PDE6/PDE5
1	5	663	133
2	2	937	469
3	2	420	210
4	5	729	146
5	2,5	3400	1360

1 lentelėje duotas 5 junginys turi struktūrinę formulę (I) ir, be to, jo IC₅₀ PDE1c atžvilgiu yra 10000, o PDE1c/PDE5 yra 4000.

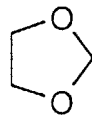
1 lentelėje duotų 1-5 junginių struktūros atitinka (II) struktūrinę formulę, kurioje R⁰, R¹, R² ir R³ yra tokie:

Junginys	R ⁰	R ¹	R ²	R ³
1	H			H
2	H	CH ₃		H
3	H			H
4	H	H		CH ₃
5	H	CH ₃		H

1 lentelėje pateikti duomenys rodo, kad (I) struktūrinės formulės junginys, kuriame R^1 yra vandenilis arba C_{1-6} alkilas, R^2 yra



o R^3 yra vandenilis, yra ypatingai tinkamas. Geriausia, kai A yra



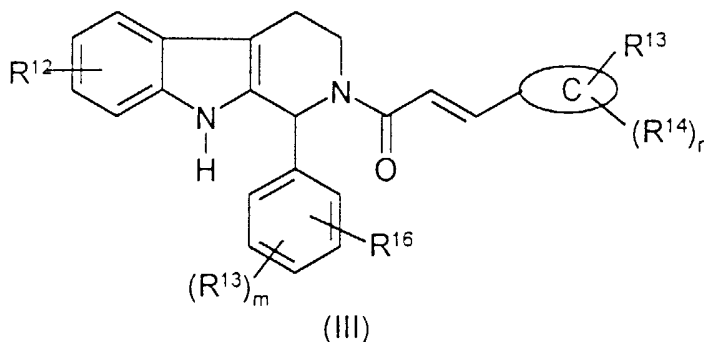
Tinkamiausi junginiai yra:

(6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-heksahidro-2-metil-6-(3,4-metilendioksifenil)-pirazino[2',1':6,1]pirido[3,4-b]indol-1,4-dionas; ir

(3S,6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-heksahidro-2,3-dimetil-6-(3,4-metilendioksifenil)-pirazino[2',1':6,1]pirido[3,4-b]indol-1,4-dionas; bei jų fiziologiškai priimtinos druskos ir solvatai (pvz. hidratai).

Kitų šiam išradimui tinkančių junginių pavyzdžiais yra junginiai, aprašyti Daugan et al. U.S. patente Nr. 6.001.847 ir WO 97/43287, kurie čia duodami kaip literatūros šaltiniai.

Dar kitų junginių, kuriuos galima naudoti šiame išradime, pavyzdžiais yra junginiai, aprašyti PCT paraiškoje PCT/EP98/06050, pažymėtoje U.S., pavadintoje "Cheminiai junginiai", išradėjai A. Bombrun ir F. Gellibert, kurios aprašymas specialiai pridedamas kaip literatūros šaltinis. Šios klasės junginiai turi struktūrinę formulę (III):



kurioje C reiškia 5- arba 6-narę heterociklinę grupę, turinčią bent vieną heteroatomą, pasirinktą iš grupės, susidedančios iš deguonies, azoto ir sieros;

R^{12} reiškia vandenilį arba halogeną;

R^{13} yra pasirinktas iš grupės, susidedančios iš

vandenilio,
 nitrogrupės (NO_2),
 trifluormetilo,
 trifluormetoksigrupės,
 halogeno,
 cianogrupės (CN),

5- arba 6-narės heterociklinės grupės, turinčios bent vieną heteroatomą, pasirinktą iš grupės, susidedančios iš deguonies, azoto ir sieros, kurioje kaip pakaitai gali būti $\text{C}(=\text{O})\text{OR}^a$ arba C_{1-4} alkilas,

C_{1-6} alkilo, kuriame kaip pakaitas gali būti OR^h ,
 C_{1-3} alkoksigrupės,
 $\text{C}(=\text{O})\text{R}^h$,
 $\text{OC}(=\text{O})\text{OR}^h$,
 $\text{C}(=\text{O})\text{OR}^h$,
 C_{1-4} alkilenHet,
 C_{1-4} alkilen $\text{C}(=\text{O})\text{OR}^a$,
 OC_{1-4} alkilen $\text{C}(=\text{O})\text{OR}^a$,
 C_{1-4} alkilen OC_{1-4} alkilen $\text{C}(=\text{O})\text{OR}^a$,
 $\text{C}(=\text{O})\text{NR}^i\text{SO}_2\text{R}^i$,
 $\text{C}(=\text{O})\text{C}_{1-4}$ alkilenHet,
 C_{1-4} alkilen NR^hR^i ,
 C_{2-4} alkenilen NR^hR^i ,
 $\text{C}(=\text{O})\text{NR}^h\text{R}^i$,
 $\text{C}(=\text{O})\text{NR}^h\text{R}^i$,
 $\text{C}(=\text{O})\text{NR}^h\text{C}_{1-4}$ alkilen OR^i ,
 $\text{C}(=\text{O})\text{NR}^h\text{C}_{1-4}$ alkilenHet,
 OR^i ,
 OC_{2-4} alkilen NR^hR^i ,
 OC_{1-4} alkilen $\text{CH}(\text{OR}^h)\text{CH}_2\text{NR}^h\text{R}^i$,
 OC_{1-4} alkilenHet,

$\text{OC}_{1-4}\text{alkilenOR}^h$,
 $\text{OC}_{2-4}\text{alkilenNR}^h\text{C(=O)OR}^h$,
 NR^hR^i ,
 $\text{NR}^h\text{C}_{1-4}\text{alkilenNR}^h\text{R}^i$,
 $\text{NR}^h\text{C(=O)R}^i$,
 $\text{NR}^h\text{C(=O)NR}^h\text{R}^i$,
 $\text{N(SO}_2\text{C}_{1-4}\text{alkilas})_2$,
 $\text{NR}^h(\text{SO}_2\text{C}_{1-4}\text{alkilas})$,
 $\text{SO}_2\text{NR}^h\text{R}^i$ ir
 $\text{OSO}_2\text{trifluormetilas}$;

R^{14} yra pasirinktas iš grupės, susidedančios iš vandenilio, halogeno, OR^h , $\text{C}_{1-6}\text{alkilo}$, NO_2 ir NR^hR^i ;

arba R^{13} ir R^{14} kartu paimti sudaro 5- arba 6-nario žiedo, kuriame gali būti mažiausiai vienas heteroatomas, 3- arba 4-narę alikleno arba alkenileno grandinės dalį;

R^{15} yra pasirinktas iš grupės, susidedančios iš vandenilio, halogeno, NO_2 , trifluormetoksigrupės, $\text{C}_{1-6}\text{alkilo}$, $\text{OC}_{1-6}\text{alkilo}$ ir C(=O)OR^h ;

R^{16} yra vandenilis,

arba R^{15} ir R^{16} kartu paimti sudaro 5- arba 6-nario žiedo, kuriame gali būti mažiausiai vienas heteroatomas, 3- arba 4-narę alikleno arba alkenileno grandinės dalį;

Het reiškia 5- arba 6-narę heterociklinę grupę, turinčią bent vieną heteroatomą, pasirinktą iš grupės, susidedančios iš deguonies, azoto ir sieros, kurioje kaip pakaitas gali būti $\text{C}_{1-4}\text{alkilas}$;

R^h ir R^i gali būti vienodi arba skirtingi ir yra nepriklausomai pasirinkti iš vandenilio ir $\text{C}_{1-6}\text{alkilo}$;

R^i reiškia fenilą arba $\text{C}_{4-6}\text{cikloalkilą}$, ir fenile arba $\text{C}_{4-6}\text{cikloalkile}$ kaip pakaitai gali būti vienas arba daugiau halogeno atomų, viena arba daugiau C(=O)OR^h arba viena arba daugiau OR^h ;

n yra sveikasis skaičius 1, 2 arba 3; ir

m yra sveikasis skaičius 1 arba 2

bei šių junginių druskos ir solvatai (pvz. hidratai).

PREPARATAIŽmogaus PDE5 gavimas

Žmogaus PDE5 rekombinantinis produkavimas buvo vykdomas iš esmės pagal U.S. patento Nr. 5.702.936, čia pridedamo kaip literatūros šaltinis, 7 pavyzdyje duotą aprašymą, išskyrus tai, kad buvo naudojamas mielių transformacijos vektorius, kuris buvo gautas iš pagrindinės ADH2 plazmidės, aprašytos V. Price et al., *Methods in Enzymology*, 1985, pages 308-318 (1990), įterpiant mielių ADH2 promotoriaus ir baigmės sekas, o ne ADH1 promotoriaus ir baigmės sekas, o *Saccharomyces cerevisiae* šeimininkas buvo turintis proteazės deficitą BJ2-54 kamienas, deponuotas 1998 m. rugpjūčio mėn. 31 d. American Type Culture Collection, Manassas, Virginia, su depozito numeriu ATCC 74465. Transformuotos šeimininko ląstelės buvo auginamos 2X SC-leu terpėje, pH 6,2, su mikroelementais ir vitaminais. Po 24 val. pridedama YEP terpės, turinčios glicerolio, iki 2X YEP/3 % glicerolio galutinės koncentracijos. Maždaug po 24 valandų ląstelės buvo surenkamos, plaunamos ir laikomos -70 °C temperatūroje.

Ląstelių suspaustos nuosėdos (29 g) buvo atitirpdomos ant ledo, pridėjus lygų tūrį lizavimo buferio (25 mM Tris-HCl, pH 8, 5 mM MgCl₂, 0,25 mM ditioneitolio, 1 mM benzamidino ir 10 μM ZnSO₄). Ląstelės buvo lizuojamos mikroskystintuve, N₂ atmosferoje, esant 138000 kPa slėgiui. Lizatas buvo centrifuguojamas ir nufiltruojamas per 0,45 μm uždedamus filtrus. Filtratas buvo supiltas į 150 ml Q Sepharose Fast Flow (Pharmacia) kolonėlę. Kolonėlė plaunama 1,5 tūrio A buferio (20 mM Bis-Tris propano, pH 6,8, 1 mM MgCl₂, 0,25 mM ditioneitolio, 10 μM ZnSO₄) ir eliuuojama 125 mM NaCl A buferyje laipsnišku gradientu, o po to 125-1000 mM NaCl A buferyje linijiniu gradientu.

Aktyviosios frakcijos iš linijinio gradiento buvo supilamos į 180 ml hidroksiapatito kolonėlę B buferyje (20 mM Bis-Tris propano, pH 6,8, 1 mM MgCl₂, 0,25 mM ditioneitolio, 10 μM ZnSO₄ ir 250 ml KCl). Supylus medžiagą, kolonėlė plaunama 2 tūriais B buferio ir eliuojama 0-125 mM kalio fosfato B buferyje linijiniu gradientu. Aktyviosios frakcijos sumaišomos, nusodinamos

60 % amonio sulfatu ir resuspenduojamos C buferyje (20 mM Bis-Tris propano, pH 6,8, 125 mM NaCl, 0,5 mM ditiotreitolio ir 10 μ M ZnSO₄). Suspensija supilama į 140 ml Sephacryl S-300 HR kolonėlę ir eliuuojama C buferiu. Aktyviosios frakcijos praskiedžiamos iki 50 % glicerolio ir laikomos -20 °C temperatūroje. Gautieji preparatai buvo maždaug 85 % grynumo (pagal SDS-PAGE).

PDE aktyvumo nustatymas

PDE5 aktyvumas gali būti išmatuojamas panaudojant žinomus standartinius testus. Pavyzdžiui, bet kurios PDE aktyvumas gali būti nustatomas taip. PDE testas, naudojant atskyrimo per medžio anglį metodiką, buvo atliktas iš esmės pagal Loughney et al., (1996) *The Journal of Biological Chemistry*, 271:796-806 aprašytą metodiką. Šiame teste aktyvioji PDE5 paverčia [³²P]cGMP į [³²P]5'GMP proporcingai esančiam aktyviosios PDE5 kiekiui. Tada [³²P]5'GMP kiekybiškai paverčiama į laisvą [³²P] fosfatą ir nežymėtą adenosiną veikiant gyvatės nuodų 5'-nukleotidaze. Taigi, išlaisvinto [³²P] fosfato kiekis yra proporcingas fermento aktyvumui. Bandymas atliktas 30 °C temperatūroje 100 μ l reakcijos mišinio, turinčio (galutinės koncentracijos) 40 mM Tris-Cl (pH 8,0), 1 μ M ZnSO₄, 5 mM MgCl₂ ir 0,1 mg/ml jaučio serumo albumino. PDE5 kiekis yra toks, kad būtų gaunama <30 % viso substrato hidrolizės (tiesinės testo sąlygos). Bandymas pradedamas pridedant substrato (1 mM [³²P]cGMP), ir mišinys inkubuojamas 12 min. Po to pridedama 75 μ g *Crotalus atrox* nuodų ir inkubuojama dar 3 minutes (iš viso 15 minučių). Reakcija stabdoma pridedant 200 ml aktyvuotos medžio anglies (25 mg/ml suspensija 0,1 M NaH₂PO₄, pH 4). Nucentrifugavus (750 x g 3 minutes), kad nusėstų medžio anglis, paimamas nuopilo mėginys radioaktyvumui matuoti scintiliaciniu skaitikliu ir išskaičiuojamas PDE5 aktyvumas. Preparatų aktyvumas buvo maždaug 3 μ molų cGMP hidrolizė per minutę miligramui baltymo.

Jaučio PDE6 gavimas

Jaučio PDE6 pateikė Dr. N. Virmaux, INSERM U338, Strasbourg. Jaučio tinklainės buvo paruošiamos pagal Virmaux et al., *FEBS Letters*, 12(6), pp. 325-328 (1971) aprašymą ir žr. taip pat A. Sitaramayya et al., *Exp. Eye Res.*, 25, pp. 163-169 (1977). Trumpat tariant, jeigu nenurodyta kitaip, visos operacijos buvo atliekamos šaltyje ir neryškioje raudonoje šviesoje. Po paskerdimo akys buvo laikomos šaltyje ir tamsoje iki keturių valandų.

Jaučio tinklainės išorinių segmentų (ROS) paruošimas pagrindinai buvo atliekamas pagal Schichi et al., *J. Biol. Chem.*, 224:529 (1969) aprašytas metodikas. Tipiškame eksperimente 35 jaučio tinklainės buvo sugrūstos grūstuve su 35 ml 0,066 M fosfatinio buferio, pH 7,0, pridėjama sacharozės iki 40 %, po to homogenizuojama Potter homogenizatoriuje (20 smūgių aukštyn ir žemyn). Suspensija centrifuguojama esant 25000 x g 20 minučių. Suspaustos nuosėdos buvo homogenizuojamos 7,5 ml 0,006 M fosfatinio buferio (40 % sacharozėje) ir atsargiai padedamos po 7,5 ml fosfatinio buferio (be sacharozės). Centrifuguojama pakabinamu rotoriumi esant 45000 x g 20 min. ir gaunamos suspaustos nuosėdos, kurių apačia yra juoda, ir taip pat yra raudona juosta 0,066 M fosfato – 40 % sacharozės/0,066 M fosfato fazių riboje (negryni ROS). Fazių riboje esanti raudonoji medžiaga išimama, praskiedžiama fosfatinio buferiu, sukama iki susidarant suspaustoms nuosėdoms ir vėl paskirstoma buferinėje 40 % sacharozėje kaip aprašyta aukščiau. Ši procedūra kartojama 2 arba 3 kartus, kol nebesusidaro suspaustų nuosėdų. Šie išgryninti ROS plaunami fosfatinio buferiu ir pagaliau nusodinami sukant 25000 x g 20 min. Tada visos medžiagos laikomos užšaldytos iki naudojimo.

Hipotoniniai ekstraktai buvo pagaminami suspenduojant išskirtus ROS 10 mM Tris-Cl, pH 7,5, 1 mM EDTA ir 1 mM ditioeritritolo, po to centrifuguojama esant 100000 x g 30 minučių.

Nustatyta, kad preparato specifinis aktyvumas yra apie 35 nmolių cGMP hidrolizė per minutę miligramui baltymo.

PDE1c gavimas iš *Spodoptera fugiperda* ląstelių (Sf9)

Ląstelių nuosėdos (5 g) buvo atitirpdomos ant ledo su lizavimo buferiu (50 mM MOPS, pH 7,4, 10 μ M ZnSO₄, 0,1 mM CaCl₂, 1 mM DTT, 2 mM benzamidino HCl, po 5 μ g/ml pepstatino, leupeptino ir aprotenino). Ląstelės buvo lizuojamos praleidžiant per French ląstelių presą (SLM-Aminco) palaikant žemesnės už 10 °C temperatūras. Gautas ląstelių homogenatas buvo centrifuguojamas esant 36000 aps./min. 4 °C temperatūroje 45 minutes Beckmano ultracentrifugoje, naudojant T145 tipo rotorį. Nuopilas buvo atskirtas ir likusios suspaustos nuosėdos vėl suspenduojamos 40 ml soliubilizavimo buferio (lizavimo buferis, turintis 1 M NaCl, 0,1 M MgCl₂, 1 mM CaCl₂, 20 μ g/ml kalmodulino ir 1 % sulfobetaino SB12 (Z3-12)) ultragarso pagalba, panaudojant VibraCell tiunerį su mikrogaliuku 3 x 30 sekundžių. Ši operacija buvo atliekama šaldant susmulkinto ledo/druskos mišiniu. Po poveikio ultragarsu mišinys buvo lėtai maišomas 30 minučių 4 °C temperatūroje kad būtų užbaigtas surišų su membrana baltymų soliubilizavimas. Šis mišinys buvo centrifuguojamas Beckmano ultracentrifuga, naudojant T145 tipo rotorį, esant 36000 aps./min., 45 minutes. Nuopilas praskiedžiamas lizavimo buferiu, turinčiu 10 μ g/ml kalpains inhibitoriaus I ir II. Nusodintas baltymas buvo centrifuguojamas 20 min., esant 9000 aps./min., Beckmano JA-10 rotoriuje. Po to gautas nuopilas buvo leidžiamas į Mimetic Blue AP agarozės chromatografiją.

Norint paleisti Mimetic Blue AP agarozės kolonėlę, derva iš pradžių buvo blokuojama, panaudojant 10 įkrovos tūrių 1 % polivinilpirolidino (kurio molekulinė masė 40000), kad būtų užblokuotos nespecifinio surišimo vietos. Netvirtai surištas PVP-40 buvo pašalinamas, plaunant 10 įkrovos tūrių 2M NaCl ir 10 mM natrio citrato, pH 3,4. Prieš pat supilant soliubilizuotą PDE1c mėginį, kolonėlė buvo pusiausvyrinama 5 įkrovos tūriais kolonėlės buferio A (50 mM MOPS, pH 7,4, 10 μ M ZnSO₄, 5 mM MgCl₂, 0,1 mM CaCl₂, 1 mM DTT, 2 mM benzamidino HCl).

Soliubilizuotas mėginys buvo suleidžiamas į kolonėlę, esant 2 ml/min srovės greičiui, su ciklo pakartojimu taip, kad visas mėginys buvo

perleidžiamas 4-5 kartus per 12 valandų. Pabaigus įkrovimą, kolonėlė buvo plaunama 10 kolonėlės tūrių kolonėlės buferio A, po to 5 kolonėlės tūriais kolonėlės buferio B (kolonėlės buferis A, turintis 20 mM 5'-AMP), ir po to 5 kolonėlės tūriais kolonėlės buferio C (50 mM MOPS, pH 7,4, 10 μ M ZnSO₄, 0,1 mM CaCl₂, 1 mM ditioneitolio ir 2 mM benzamidino HCl). Fermentas buvo eliuuotas į tris viena po kitos einančias frakcijas. Pirmąją frakciją sudarė fermentas iš plovimo 5 įkrovos tūriais kolonėlės buferio C, turinčio 1 mM cAMP. Antrąją frakciją sudarė fermentas iš plovimo 10 įkrovos tūrių kolonėlės buferio C, turinčio 1 M NaCl. Galutinę frakciją sudarė fermentas iš plovimo 5 įkrovos tūriais kolonėlės buferio C, turinčio 1 M NaCl ir 20 mM cAMP.

Buvo surinktos aktyvaus fermento frakcijos, ir ciklinis nukleotidas pašalintas įprastine gelfiltracine chromatografija arba chromatografija per hidroksiapatito dervas. Po ciklinių nukleotidų pašalinimo fermento frakcijos buvo dializuojamos į dializės buferį, turintį 25 mM MOPS, pH 7,4, 10 μ M ZnSO₄, 500 mM NaCl, 1 mM CaCl₂, 1 mM ditioneitolio, 1 mM benzamidino HCl, o po to dializuojamos į dializės buferį, turintį 50 % glicerolio. Fermentas buvo greitai užšaldomas sausu ledu ir laikomas -70 °C temperatūroje.

Gautų preparatų grynumas pagal SDS-PAGE buvo >90 %. Šių preparatų specifinis aktyvumas buvo apie 0,1-1,0 μ mol cAMP hidrolizės per minutę vienam miligramui baltymo.

IC₅₀ reikšmės nustatymas

Parametras, tinkantis PDE5 ir/arba PDE1c ir PDE6 konkurencinio fermento inhibitoriaus gebai įvertinti, yra inhibicijos konstanta, t.y. K_i. Šis parametras gali būti apytikriai įvertintas, nustatant IC₅₀, kuri yra inhibitoriaus koncentracija, duodanti 50 % fermento inhibavimą viename dozės-atsako eksperimente toliau nurodytomis sąlygomis.

Inhibitoriaus koncentracija visada yra daug didesnė nei fermento koncentracija, ir todėl laisvo inhibitoriaus koncentracija (kuri yra nežinoma) gali būti prilyginama bendrai inhibitoriaus koncentracijai (kuri yra žinoma).

Pasirenkamas tinkamas inhibitoriaus koncentracijų intervalas (t.y. eksperimente yra bent keletą kartų mažesnės ir keletą kartų didesnės koncentracijos nei K_i). Paprastai inhibitoriaus koncentracijos yra nuo 10 nM iki 10 μ M.

Fermento ir substrato koncentracijos yra pasirenkamos taip, kad mažiau nei 20 % substrato yra sunaudojama nesant inhibitoriaus (su sąlyga, jei, pvz., maksimali substrato hidrolizė yra nuo 10 iki 15 %), kad fermento aktyvumas būtų apytikriai pastovus viso bandymo metu.

Substrato koncentracija yra mažesnė nei viena dešimtoji Michaelio konstantos (K_m). Šiomis sąlygomis IC_{50} bus labai artima K_i . Taip yra dėl Cheng-Prusoff'o lygties, rišančios šiuos du parametrus: $IC_{50} = K_i(1+S/K_m)$, esant $(1+S/K_m)$ apytikriai lygiam vienetui, kai S/K_m reikšmė yra maža.

IC_{50} reikšmė yra įvertinama iš duomenų taškų, pritaikant duomenis tinkamam fermento ir inhibitoriaus sąveikos modeliui. Kai žinoma, kad tokia sąveika yra paprasta inhibitoriaus ir substrato konkurencija, gali būti naudojamas dviparametrinis modelis:

$$y = A/(1+x/B),$$

kur y yra fermento aktyvumas, išmatuotas esant inhibitoriaus koncentracijai x , A yra aktyvumas nesant inhibitoriaus, o B yra IC_{50} . Žr. Y. Cheng et al., *Biochem. Pharmacol.*, 22:3099-3108 (1973).

Šio išradimo inhibitorių poveikis į PDE5 ir PDE6 preparatų fermentinį aktyvumą, kaip aprašyta aukščiau, buvo įvertintas kiekviename iš dviejų bandymų, kurie skyrėsi vienas nuo kito pagrindiniais kiekiais ir davė iš esmės tokius pačius IC_{50} reikšmių rezultatus. Abiejuose bandymuose buvo modifikuota Wells et al., *Biochim. Biophys. Acta*, 384:430 (1975) metodika. Pirmasis bandymas buvo atliekamas bendrame 200 μ l tūryje, turinčiame 50 mM Tris, pH 7,5, 3 mM Mg acetato, 1 mM EDTA, 50 μ g/ml gyvatės nuodų nukleotidazės ir 50 nM [3 H]-cGMP (Amersham). Šio išradimo junginiai buvo ištirpinti DMSO, kurio kiekis galutiniame bandymo tirpale sudarė 2 %. Mėginiai buvo inkubuojami 30 minučių 30 °C temperatūroje ir reakcija stabdoma pridedant 800 μ l 10 mM Tris, pH 7,5, 10 mM EDTA, 10 mM teofilino, 0,1 mM adenoizino ir 0,1 mM guanoizino. Mišiniai buvo supilstomi į

0,5 ml QAE Sephadex kolonėles ir eliuuojama 2 ml 0,1 M formiato (pH 7,4). Išbėgusio tirpalo radioaktyvumas buvo matuojamas scintiliaciniu skaitikliu Optiphase Hisafe 3.

Antrasis, mikroplokštelinis PDE bandymas buvo atliekamas naudojant Multiscreen plokšteles ir vakuminį įtaisą. Mėginyje (100 µl) buvo 50 mM Tris pH 7,5, 5 mM Mg acetato, 1 mM EDTA ir 250 µg/ml gyvatės nuodų nukleotidazės. Kiti reakcijos mišinio komponentai buvo tokie kaip aprašyta aukščiau. Inkubavimo pabaigoje visas mėginio tūris buvo supilamas į QAE Sephadex mikrokolonėlių plokštelę filtruojant. Laisvasis radioaktyvumas buvo eliuuojamas 200 µl vandens; jo 50 µl alikvotos buvo analizuojamos scintiliacijų skaitikliu, kaip aprašyta aukščiau.

Toliau duodami pavyzdžiai yra skirti geresniam išradimo preparatų apibūdinimui. Šio išradimo apimtis neturi būti laikoma tik kaip susidedanti iš toliau duodamų pavyzdžių.

1 pavyzdys

(I) struktūrinės formulės junginys buvo pagamintas pagal U.S. patento 5.859.006 aprašymą, o jo turinčios tabletės pagamintos naudojant šlapia granuliavimą. Povidonas buvo ištirpintas vandenyje pagaminant 10 % tirpalą. Veiklusis junginys, mikrokristalinė celiuliozė, natrio kroskarmeliozė ir natrio laurilsulfatas buvo sudėti į didelio poslinkio maišyklę ir maišyta 2 minutes. Milteliai buvo šlapiai granuliuojami su povidono tirpalu ir papildomu vandens kiekiu, reikalingu visiškam sugranuliavimui. Gautas mišinys džiovinamas džiovykloje su verdančiu slukksniu, turinčioje oro įleidimą, 70 °C ± 5 °C temperatūroje, kol svorio sumažėjimas džiovinimo metu buvo mažesnis už 2,5 %. Granulės buvo perleidžiamos per Comil su tinkama uždanga (arba sietu) ir sudedamos į tinkamą maišyklę. Papildoma natrio kroskarmeliozė, natrio laurilsulfatas ir koloidinis bevandenis silicio dioksidas perleidžiami per tinkamą sieta (pvz., 500 mikronų), sudedami į maišyklę ir maišoma 5 minutes. Įdedamas magnio stearatas ir maišoma 2 minutes. Mišinys presuojamas į

tikslinius 250 mg kompresijos/svorio vienetus, naudojant 9 mm apvalų statmeną įgaubtą įtaisą.

Šios šerdinės tabletės buvo dengiamos vandenine Opadry OY-S-7322 suspensija, naudojant Accelacota (arba panašią dengimo vonią) su oro įleidimu nuo 50 °C iki 70 °C temperatūroje, kol tabletės svoris padidėjo apytikriai 8 mg. Opadry OY-S-7322 turi metilhidroksipropilceliuliozės Ph.Eur., titano dioksido Ph.Eur., triacetino USP. Opadry padidina kiekvienos tabletės svorį iki maždaug 258 mg. Ant kiekvienos tabletės uždėtos plėvelinės dangos kiekis gali būti mažesnis negu nurodyta priklausomai nuo proceso efektyvumo.

Tabletė buvo supakuotos į ruplėtus paketus ir į juos įdėtas įdėtinis lapelis, aprašantis junginio efektyvumą ir rizikos faktorius.

Komponentas	Receptūra (mg vienai tabletei)	
Selektyvus PDE5 inhibitorius ¹	1	5
Hidroksipropilmetilceliuliozės ftalatas	1	5
Mikrokristalinė celiuliozė	221,87	213,87
Natrio kroskarmeliozė	5,00	5,00
Natrio laurilsulfatas	2,50	2,50
Povidono sulfatas K30	9,38	9,38
Grynintas vanduo, USP (vanduo irigacijai)	q.s.	q.s.
Natrio kroskarmeliozė	5,00	5,00
Natrio laurilsulfatas	2,50	2,50
Koloidinis bevandenis silicio dioksidas	0,50	0,50
Magnio stearatas	1,25	1,25
Visa tabletės šerdis	250,00	250,00
(Plėvelinė danga Opadry OY-S-7322)	maždaug 8 mg	maždaug 8 mg

¹ (I) struktūrinės formulės junginys

2 pavyzdys

Gaminant padengtą dozuotą formą, turinčią 10 mg (I) formulės junginio, naudojama tokia kompozicija:

Ingredientas	Kiekis (mg)
<u>Granuliatas</u>	
Selektyvus PDE5 inhibitorius ¹	10,00
Laktozės monohidratas	153,80
Laktozės monohidratas (išdžiovintas išpurškimo būdu)	25,00

Hidroksipropilceliuliozė	4,00
Natrio kroskarmeliozė	9,00
Hidroksipropilceliuliozė (EF)	1,75
Natrio laurilsulfatas	0,70
	35,00
<u>Išoriniai milteliai</u>	
Mikrokristalinė celiuliozė (granular-102)	37,50
Natrio kroskarmeliozė	7,00
Magnio stearatas (augalinis)	1,25
	Viso 250 mg
Plėvelinė danga	(apytikriai) 11,25

Tablečių gamyboje yra naudojamas grynintas vanduo, USP. Šis vanduo yra pašalinamas gamybos metu ir galutiniame produkte lieka minimalūs jo kiekiai.

Tabletės yra gaminamos naudojant šlapio granuliavimo procesą. Toliau duodamas laipsniškas šio proceso aprašymas. Vaistas ir pagalbinės medžiagos, kurios bus granuliuojamos, yra kruopščiai išsijojamos. Sausas selektyvus PDE5 inhibitorius yra sumaišomas su sausu laktozės monohidratu (išdžiovintas išpurškimo būdu), hidroksipropilceliulioze, natrio kroskarmelioze ir laktozės monohidratu. Gautas miltelių mišinys granuliuojamas su vandeniniu hidroksipropilceliuliozės ir natrio laurilsulfato tirpalu, naudojant Powrex arba kitokį tinkamą didelio poslinkio granuliatorių. Norint gauti pageidaujamą galutinį rezultatą, galima pridėti vandens. Šlapio granulianto gabaliukų susmulkinimui ir išdžiovinimo palengvinimui gali būti naudojamas malimas. Šlapias granuliatas yra džiovinamas naudojant arba džiovyklą su verdančiu sluoksniu, arba džiovinimo krosnį. Išdžiovinus medžiagą, ji gali būti sijojama, norint atskirti didelius aglomeratus. Mikrokristalinė celiuliozė, natrio kroskarmeliozė ir magnio stearatas yra kruopščiai išsijojami ir supilami į šias sausas išsijotas granules. Šios pagalbinės medžiagos ir sausas granuliatas maišomi iki visiško išsimaišymo naudojant vartyklę, juostinę-sraigtinę maišyklę arba kitą tinkamą maišymo įrangą. Maišymo procesą galima išskirti į dvi fazes. Mikrokristalinė celiuliozė, natrio kroskarmeliozė ir išdžiovintas granuliatas sudedami į maišyklę ir maišomi pirmą kartą, po to į šį granuliata pridodama magnio stearato ir maišoma antrą kartą.

Po to sumaišytas granuliatas presuojamas tabletėmis, naudojant rotorinę presavimo mašiną. Šerdinės tabletės padengiamos plėvele, naudojant atitinkamo apdailos mišinio vandeningą suspensiją dengimo vonioje (pvz., Acceta Cota). Padengtos tabletės gali būti šiek tiek apdulkinamos talku norint pagerinti tolesnio darbo su jomis charakteristikas.

Tabletės supilstomos į plastikinius konteinerius (30 tablečių konteineryje) ir pridedamas įdėtinis lapelis, aprašantis junginio efektyvumą ir rizikos faktorius.

3 pavyzdys

Gaminant padengtą dozuotą formą, turinčią 5 mg (I) formulės junginio, naudojama tokia kompozicija.

Ingredientas	Kiekis (mg)
<u>Granuliatas</u>	
Selektyvus PDE5 inhibitorius ¹	2,50
Laktozės monohidratas	79,395
Laktozės monohidratas (išdžiovintas išpurškimo būdu)	12,50
Hidroksipropilceliuliozė	2,00
Natrio kroskarmeliozė	4,50
Hidroksipropilceliuliozė (EF)	0,875
Natrio laurilsulfatas	0,35
<u>Išoriniai milteliai</u>	
Mikrokristalinė celiuliozė (granular-102)	18,75
Natrio kroskarmeliozė	3,50
Magnio stearatas (augalinis)	0,63
	Viso 125 mg
Plėvelinė danga	(apytikriai) 6,875

3 pavyzdžio dozuota forma buvo pagaminta taip pat kaip ir 2 pavyzdžio dozuota forma.

4 pavyzdys

Kapsulė su tirpalu		
Ingredientas	mg/kapsulei	procentai (%)

Selektyvus PDE5 inhibitorius ¹	10	2
PEG400 NF	490	98
Užpildo masė	500	100

Želatininės kapsulės tiksliai užpildomos, įleidžiant tikslų prieš tai ištirpintos vaistinės kompozicijos tūrį į dalinai užlydytos kapsulės ertmę. Tuoj pat po vaistinės kompozicijos tirpalo suleidimo kapsulė užlydoma šildant.

Kapsulės sudedamos į plastikinius konteinerius ir pridedami įdėtiniai lapeliai.

5 pavyzdys

Šis tyrimas buvo atsitiktinio parinkimo, dvigubo aklumo, kontroliuotas pagal placebą, dvigubo sukeitimo klinikinės farmakologijos vaistų sąveikos tyrimas, kuriame įvertinami selektyvaus PDE5 inhibitoriaus - tiriamojo vaisto (t.y. (I) struktūrinės formulės junginio) - ir trumpalaikio veikimo nitratų vienalaikio vartojimo hemodinaminiai efektai bandyme su sveikais vyriškos lyties savanoriais. Šiame bandyme subjektai kasdien gavo arba 10 mg tiriamojo vaisto, arba placebo dozę septynias dienas. Šeštą arba septintą dieną subjektai gavo poliežuvinio nitroglicerino (0,4 mg), būdami aukštiekninkai ant nuožulnaus stalo. Nitroglicerinas buvo duodamas praėjus 3 valandoms po tiriamojo vaisto gavimo, ir visi subjektai laikė nitroglicerino tabletę po liežuviu tol, kol ji visiškai ištirpo. Subjektai buvo pakeliami iki 70° aukštyje galva kas 5 minutės iš viso 30 minučių, matuojant kraujo spaudimą ir širdies plakimų skaičių. Tarp 22 sveikų vyriškos lyties subjektų (nuo 19 iki 60 metų amžiaus) prašymų nutraukti bandymą nebuvo.

Pagal preliminarinę šio bandymo analizę, tiriamasis vaistas buvo gerai pernešamas ir rimtų nepalankių šalutinių įvykių nebuvo. Laboratoriniuose rizikos laipsnio arba 12 takelių EKG įvertinimuose su šiuo vaistu susijusių pokyčių nebuvo. Labiausiai paplitę pašaliniai poveikiai buvo galvos skausmas, dispepsija ir nugaros skausmas. Tyrimas parodė minimalų poveikį į vidurkinį maksimalų nitroglicerino sukeltą sistolinio kraujo spaudimo

sumažėjimą ir maksimalų nitroglicerino sukulto sistolinio kraujo spaudimo sumažėjimą visiems pacientams.

6 pavyzdys

Dviejuose atsitiktinio parinkimo, dvigubo aklumo, kontroliuotuose pagal placebo tyrimuose (I) struktūrinės formulės junginys buvo skiriamas jo reikalingiems pacientams tiek kasdieninio dozavimo dozių intervale, tiek ir pagal lytinės sueities ir lytinio santykiavimo poreikio terapiją namų aplinkoje. (II) struktūrinės formulės junginio 5-20 mg dozės buvo veiksmingos ir nedavė išraudimo ir jokių nusiskundimų dėl regėjimo anomalijų. Buvo rasta, kad (II) struktūrinės formulės junginio 10 mg dozė buvo pilnai veisminga ir turėjo minimalius pašalinius efektus (nebuvo išraudimo ir pranešimų apie mėlynos spalvos regėjimą).

Erekcijos funkcija buvo įvertinama pagal tarptautinį erekcijos funkcijos indeksą (IIEF) (Rosen et al., *Urology*, 49, pp. 822-830 (1997)), lytinių mėginimų dienoraščius ir apklausą dėl visiško pasitenkinimo. (I) struktūrinės formulės junginys žymiai pagerino erekcijos funkciją pagal visus vertinimo kriterijus. Ir "pagal poreikį", ir pagal kasdieninio dozavimo režimą (II) struktūrinės formulės junginys žymiai pagerino erekcijos funkciją 1-20 mg dozių intervale.

7 pavyzdys

Trečiasis klinikinis tyrimas buvo atsitiktinio parinkimo, dvigubo aklumo, kontroliuotas pagal placebo tyrimas, naudojant (I) struktūrinės formulės junginį (tiriamąjį vaistą), skiriamą "pagal poreikį" pacientams, turintiems vyro erekcijos funkcijos sutrikimą. Tiriamasis vaistas buvo skiriamas aštuonias savaites vyro erekcijos funkcijos sutrikimui (ED) gydyti. Erekcijos funkcijos sutrikimas (ED) yra apibūdinamas kaip pastovus negalėjimas pasiekti ir/arba išlaikyti erekciją, kurios pakaktų lytiniam aktui atlikti. Dozavimas "pagal

poreikį" yra apibrėžiamas kaip tiriamojo vaisto vartojimas laikas nuo laiko prieš numatomą lytinį aktyvumą.

Tiriamaisiais subjektais buvo 212 vyrų mažiausiai nuo 18 metų amžiaus, turinčių erekcijos funkcijos sutrikimą nuo silpnai išreikštos iki rimtos formos. Tiriamasis vaistas buvo duodamas peroraliniu būdu kaip koprecipitato tabletės, pagamintos pagal Butler U.S. patentą Nr. 5.985.326. Tiriamasis vaistas buvo vartojamas 2 mg, 5 mg, 10 mg ir 25 mg dozėmis "pagal poreikį" ir ne dažniau kaip vieną kartą per 24 valandas. Gydymas bet kokiais nitratais, azoliniais priešgrybeliniais vaistais (pvz. ketokonazolu arba itrakonazolu), varfarinu, eritromicinu arba priešandrogenais tyrimo metu nebuvo leidžiamas. Joks kitas gydymas patvirtintais arba eksperimentiniais vaistais, kitais būdais arba priemonėmis, naudojamomis ED gydymui, nebuvo leidžiamas. Keturiasdešimt vienas subjektas gavo placebo.

Du pirminiai veiksmingumo kintamieji buvo subjekto sugebėjimas įsiskverbti į jo partnerę ir jo sugebėjimas išlaikyti erekciją santykiavimo metu, kaip matuojama pagal tarptautinį erekcijos funkcijos indeksą (IIEF). IIEF klausimyne yra 15 klausimų, ir jis yra trumpas ir patikimas erekcijos funkcijos matas. Žr. R.C. Rosen et al., *Urology*, 49, pp. 822-830 (1997).

Antriniai veiksmingumo kintamieji buvo IIEF srities erekcijos funkcijos įvertinimo balai, orgazmo funkcija, lytinis potraukis, pasitenkinimas lytiniu aktu ir bendras pasitenkinimas; paciento sugebėjimas pasiekti erekciją, sugebėjimas įkišti varpą į partnerės makštį, lytinio akto užbaigimas ejakuliacija, pasitenkinimas erekcijos kietumu ir bendras pasitenkinimas; visus šiuos rodiklius atspindi seksualinės sveikties charakteristikos (SEP) dienoraštis ir bendro įvertinimo klausimas, klausiamas gydymo periodo pabaigoje. SEP yra paciento kasdieninis dokumentas, kuriame aprašomas kiekvienas lytinis aktas šio tyrimo eigoje.

Į šio tyrimo rizikos faktorių analizę buvo įtraukti visi tyrime dalyvaujantys subjektai ir buvo vertinami visi pranešami šalutiniai poveikiai ir klinikinių laboratorinių rodiklių pokyčiai, esminiai požymiai, fizinio tyrimo rezultatai ir elektrokardiogramos rezultatai.

Vienas rezultatas - pacientai įvertino savo sugebėjimą įsiskverbti (IIEF 3 klausimas) kaip "beveik visada arba visada" - buvo toks: 17,5 % placebo grupėje, 38,1 % - 2 mg grupėje, 48,8 % - 5 mg grupėje, 51,2 % - 10 mg grupėje ir 83,7 % - 25 mg grupėje. Palyginimas atskleidžia statistškai reikšmingus sugebėjimo įsiskverbti skirtumus tarp placebo ir visų tiriamojo vaisto dozių.

Kitas rezultatas - pacientai įvertino savo sugebėjimą išlaikyti erekciją (IIEF 4 klausimas) lytinių santykių metu kaip "beveik visada arba visada" - buvo toks: 10,0 % placebo grupėje, 19,5 % - 2 mg grupėje, 32,6 % - 5 mg grupėje, 39,0 % - 10 mg grupėje ir 69,0 % - 25 mg grupėje. Palyginimas atskleidžia statistškai reikšmingus sugebėjimo įsiskverbti skirtumus tarp placebo ir trijų aukštesnių tiriamojo vaisto dozių.

Bendrai imant, šis tyrimas parodė, kad visos keturios tiriamojo vaisto dozės, būtent 2 mg, 5 mg, 10 mg ir 25 mg, pavartotos "pagal poreikį", davė vyrų, sergančių erekcijos funkcijos sutrikimu, lytinio akto atlikimo pagerėjimą, lyginant su placebo, vertinant pagal IIEF, pagal pacientų dienoraščius, vertinančius sėkmingų lytinių santykių dažnį ir pasitenkinimą lytiniais santykiais, bei pagal bendrą įvertinimą. Šis pagerėjimas buvo parodytas dideliame skaičiui subjektų, tarp jų ir pacientai su rimtais erekcijos funkcijos sutrikimais. Dauguma kenksmingų šalutinių poveikių buvo nedideli arba vidutinio stiprumo. Svarbu pažymėti, kad nei vienam pacientui nebuvo pastebėti šalutiniai poveikiai, susiję su spalvų matymo sutrikimais.

Apibendrinti klinikinių tyrimų rezultatai parodė, kad (I) struktūrinės formulės junginio vartojimas efektyviai gydo vyrų erekcijos funkcijos sutrikimą, ką galima matyti iš šios lentelės:

IIEF EREKCIJOS FUNKCIJOS SRITIS (skirtumas nuo bazinės linijos)			
Vienetinė dozė	n	vidurkis±SN	p
placebas	131	0,8±5,3	
2 mg	75	3,9±6,1	< 0,001
5 mg	79	6,6±7,1	< 0,001
10 mg	135	7,0±0,7	< 0,001

25 mg	132	$9,4 \pm 7,0$	$< 0,001$
50 mg	52	$9,8 \pm 5,5$	$< 0,001$
100 mg	49	$8,4 \pm 6,1$	$< 0,001$

n yra subjektų skaičius; SN yra standartinis nukrypimas.

Tačiau taip pat buvo pastebėta iš jungtinių klinikinių tyrimų, kad gydymo nenumatytų nepalankių įvykių procentas didėja, didėjant (I) struktūrinės formulės junginio vienetinei dozei, ką iliustruoja ši lentelė:

Gydymo nenumatyti nepalankūs įvykiai (%)							
Vienetinė dozė (mg)							
Įvykis	Placebas	2	5	10	25	50	100
Galvos skausmas	10	12	10	23	29	34	46
Virškinimo sutrikimas	6	3	14	13	19	20	25
Nugaros skausmas	5	3	3	15	18	24	22
Mialgija	3	0	3	9	16	20	29
Sloga	3	7	3	4	4	0	2
Konjunktyvitas	1	0	1	1	0	2	5
Akies voko patinimas	0	0	0	1	1	2	3
Išraudimas	0	0	0	0	0	3	7
Regėjimo anomalijos	0	0	0	0	0	0	0

Ši lentelė rodo nepalankių įvykių padidėjimą vartojant 25-100 mg vienetines dozes. Taigi, nors ir buvo stebėtas ED gydymo 25-100 mg dozėmis efektyvumas, esant šioms dozėms turi būti atsižvelgiama į pastebėtus nepalankius įvykius.

Pagal šį išradimą, 1-20 mg, geriau 2-20 mg, dar geriau 5-20 mg ir visų geriausia 5-15 mg dozė, vartojama iki daugiausia 20 mg per 24 valandas, ir efektyviai gydo ED, ir sumažia arba eliminuoja nepalankių šalutinių efektų atsiradimą. Svarbu pažymėti, kad nebuvo pastebėta jokių regėjimo anomalijų, o išraudimas buvo iš esmės pašalintas. Kas yra labiausiai nelaukta, apart individų ED gydymo (I) struktūrinės formulės junginio 1-20 mg doze, esant minimaliems pašaliniams poveikiams, pagal šio išradimo

būdą ir šio išradimo kompozicija nuo ED gali būti gydomi ir individai, kurie yra gydomi nitratais.

Šiame aprašyme pateikti šio išradimo principai, tinkamiausi įgyvendinimo variantai ir atlikimo būdai. Tikimasi, kad išradimas tuo bus apsaugotas, tačiau neturi būti laikoma, kad jis yra apribotas konkrečiomis atskleistomis formomis, nes jos turi būti laikomos daugiau iliustracinėmis nei apribojančiomis. Patyrę šios srities specialistai gali padaryti pakeitimus, nenukrypdami nuo išradimo sferos.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Pramoninis gaminy s žmonių farmaciniam vartojimui, susidedantis iš:

(a) peroralinės dozuotos vaisto formos, turinčios nuo 1 iki 20 mg selektyvaus PDE5 inhibitoriaus, b e s i s k i r a n t i s tuo, kad turi

(i) mažiausiai 100 kartų skirtumą tarp PDE5 ir PDE6 inhibavimo IC_{50} reikšmių

(ii) mažiausiai 1000 kartų skirtumą tarp PDE5 ir PDE1c inhibavimo IC_{50} reikšmių

(iii) PDE5 inhibavimo IC_{50} mažesnę už 10 nM ir

(iv) pakankamą bioprieinamumą, kad būtų veiksmingas vartojant nuo 1 iki 20 mg vienetines peroralines dozes;

(b) įdėtinio lapelio prie įpakavimo, nurodančio, kad šis PDE5 inhibitorius tinka lytinės funkcijos sutrikimams gydyti pacientui, kuriam reikalingas toks gydymas, ir kad jis neturi kontraindikacijų, susijusių su organinių nitratų vartojimu; ir

(c) konteinerio.

2. Pramoninis gaminy s žmonių farmaciniam vartojimui, susidedantis iš:

(a) peroralinės dozuotos vaisto formos, turinčios nuo 1 iki 20 mg selektyvaus PDE5 inhibitoriaus, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad turi

(i) mažiausiai 100 kartų skirtumą tarp PDE5 ir PDE6 inhibavimo IC_{50} reikšmių,

(ii) mažiausiai 1000 kartų skirtumą tarp PDE5 ir PDE1c inhibavimo IC_{50} reikšmių

(iii) IC_{50} mažesnę už 10 nM ir

(iv) pakankamą bioprieinamumą, kad būtų veiksmingas vartojant nuo 1 iki 20 mg vienetines peroralines dozes;

(b) įdėtinio lapelio prie įpakavimo, nurodančio, kad šis PDE5 inhibitorius tinka lytinės funkcijos sutrikimams gydyti pacientui, kuriam reikalingas toks gydymas, ir kuris vartoja organinius nitratus; ir

(c) konteinerio.

3. Pramoninis gaminy s žmonių farmaciniam vartojimui, susidedantis iš:

(a) peroralinės dozuotos vaisto formos, turinčios nuo 1 iki 20 mg selektyvaus PDE5 inhibitoriaus, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad turi

(i) mažiausiai 100 kartų skirtumą tarp PDE5 ir PDE6 inhibavimo IC_{50} reikšmių

(ii) mažiausiai 1000 kartų skirtumą tarp PDE5 ir PDE1c inhibavimo IC_{50} reikšmių

(iii) IC_{50} mažesnę už 10 nM ir

(iv) pakankamą bioprieinamumą, kad būtų veiksmingas vartojant nuo 1 iki 20 mg vienetines peroralines dozes;

(b) įdėtinio lapelio prie įpakavimo, nurodančio, kad šis PDE5 inhibitorius tinka lytinės funkcijos sutrikimams gydyti pacientui, kuriam reikalingas toks gydymas, ir kuris kenčia nuo būklių, pasirinktų iš grupės, susidedančios iš tinklainės ligos, polinkio į išraudimą, polinkio į regėjimo anomalijas, 1 klasės kongestinės širdies ydos, miokardo infarkto, buvusio prieš 90 dienų arba daugiau prieš lytinės funkcijos sutrikimo gydymo pradžią, ir jų derinių; ir

(c) konteinerio.

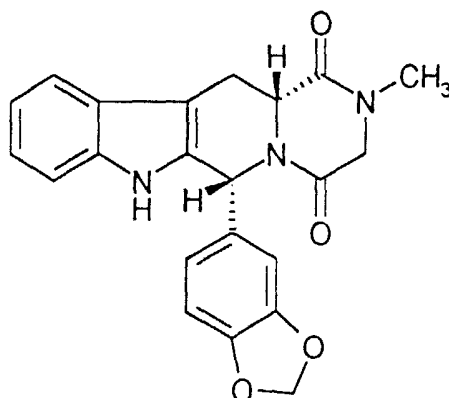
4. Gaminys pagal 3 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad tinklainės liga yra diabetinė retinopatija arba pigmentinis retinitas.

5. Gaminys pagal 3 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad įdėtiname lapelyje prie įpakavimo nurodoma, kad išraudimo atvejų skaičius yra mažiau 2 % nuo gydytų pacientų.

6. Gaminys pagal 1-5 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad peroralinėje dozuotoje formoje yra 5 mg, 10 mg arba 20 mg selektyvaus PDE5 inhibitoriaus.

7. Gaminys pagal 1-6 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad įdėtiname lapelyje prie įpakavimo nurodoma, kad maksimali selektyvaus PDE5 inhibitoriaus dozė yra 20 mg per 24 valandas.

8. Gaminys pagal 1-7 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad selektyvaus PDE5 inhibitoriaus struktūrinė formulė yra:



9. Selektivaus PDE5 inhibitoriaus panaudojimas vaisto, skirto paciento, gydomo organiniais nitratais, lytinės funkcijos sutrikimams gydyti, gamyboje.

10. Selektivaus PDE5 inhibitoriaus panaudojimas vaisto, skirto paciento, turinčio polinkį į regėjimo anomalijas, polinkį į išraudimą, kenčiančio nuo tinklainės ligos, nuo 1 klasės kongestinės širdies ydos arba patyrusio miokardo infarktą prieš 90 arba daugiau dienų prieš lytinės funkcijos sutrikimo gydymo pradžią, lytinės funkcijos sutrikimams gydyti, gamyboje.

11. Farmacinė kompozicija, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji yra pritaikyta gydyti paciento, gydomo organiniais nitratais, lytinės funkcijos sutrikimams, kurioje kaip veiklusis ingredientas yra aukščiau aprašytas selektyvus PDE5 inhibitorius.

12. Farmacinė kompozicija, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji yra pritaikyta gydyti paciento, linkusio į išraudimą, lytinės funkcijos sutrikimams, kurioje kaip veiklusis ingredientas yra aukščiau aprašytas selektyvus PDE5 inhibitorius.

13. Farmacinė kompozicija, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji yra pritaikyta gydyti paciento, kenčiančio nuo tinklainės ligos, lytinės funkcijos sutrikimams, kurioje kaip veiklusis ingredientas yra aukščiau aprašytas selektyvus PDE5 inhibitorius.

14. Farmacinė kompozicija, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji yra pritaikyta gydyti paciento, kenčiančio nuo 1 klasės kongestinės širdies ydos arba patyrusio miokardo infarktą prieš 90 arba daugiau dienų prieš lytinės funkcijos sutrikimo gydymo pradžią, lytinės funkcijos sutrikimams gydyti,

kurioje kaip veiklusis ingredientas yra aukščiau aprašytas selektyvus PDE5 inhibitorius.