

(19)



(10) **LT 5475 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

- (11) Patento numeris: **5475** (51) Int. Cl. (2006): **A61K 31/185**
A61P 3/00
(21) Paraiškos numeris: **2006 026** **A61P 7/00**
A61P 9/00
(22) Paraiškos padavimo data: **2006 04 12** **A61P 13/00**
A61P 15/00
(41) Paraiškos paskelbimo data: **2007 10 25** **A61P 27/00**
(45) Patento paskelbimo data: **2008 02 25**
(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: —
(72) Išradėjas:
Jose ESTEVE-SOLER, ES
Inigo SAENZ DE TEJADA-GORMAN, ES
Javier ANGULO-FRUTOS, ES
(73) Patento savininkas:
LABORATORIOS DEL DR. ESTEVE, S. A., Av. Mare de Déu de Montserrat 221,
08041 Barcelona, ES
(74) Patentinis patikėtinis/atstovas:
Reda ŽABOLIENĖ, Advokatės Redos Žabalienės kontora METIDA, Verslo
centras VERTAS, Gynėjų g. 16, LT-01109 Vilnius, LT

- (54) Pavadinimas:
2,5-dihidroksibenzensulfoninių junginių panaudojimas sutrikimų, paremtų NO
produkcijos susilpnėjimu, gydymui ir/arba EDHF funkcijos reguliavimo
pablogėjimui

- (57) Referatas:

Šis išradimas yra susijęs su 2,5-dihidroksibenzensulfoninių junginių panaudojimu gamyboje vaisto, skirto reguliuoti azoto oksido (NO) sintezę ir/arba EDHF (endotelio kilmės hiperpolarizuojančiam faktoriui) reguliuoti diabetu sergančių pacientų endotelio, kur šis vaistas yra skiriamas vartoti I formulės 2,5-dihidroksibenzensulfoninių junginių dienos doze, mažesne negu 500 mg.

Šis išradimas yra susijęs su 2,5-dihidroksibenzensulfoninių junginių panaudojimu gamyboje vaisto, skirto reguliuoti azoto oksido (NO) sintezę ir (arba) EDHF (endotelio kilmės hiperpoliarizuojančiam faktoriui) reguliuoti diabetinių pacientų endotelyje, kur šis vaistas yra skiriamas vartoti <500 mg 2,5-dihidroksibenzensulfoninių junginių, kurių bendroji formulė I, dienos doze.

Azoto oksidas (NO) turi ypatingai svarbias ir įvairias funkcijas širdies kraujagyslių sistemoje. NO gaminimosi ir (arba) funkcijos susilpnėjimas vaidina pagrindinį vaidmenį daugelyje širdies ir kraujagyslių sutrikimų ir su diabetu arba impotencija susijusių sutrikimų ("Nitric Oxide: A New Paradigm for Second Messengers", James F. Kenwin Jr. et al., Journal of Medicinal Chemistry, 1995, Volume 38, Number 22, 4343-4362; "Consequences of reduced production of NO on vascular reactivity of porcine coronary arteries after angioplasty: importance of EDHF", Thollon et al., British Journal of Pharmacology, 2002, 136, 1153-1161).

WO97/37647 aprašomas 2,5-dihidroksibenzensulfoninių junginių panaudojimas vaistų, skirtų endotelio funkcijai normalizuoti, lytinės funkcijos sutrikimui gydyti, diabeto sukeltų kraujagyslių komplikacijoms ir endotelinės kilmės kraujagyslių sutrikimams gydyti. Tačiau pagal ankstesnius pasiekimus, norint gauti norimą naudingą poveikį, tokio gydymo reikalingam pacientui 2,5-dihidroksibenzensulfoninių junginių reikia skirti palyginus dideles dienos dozes, t.y. iki 2000 mg per dieną.

Vaisto, turinčio 2,5-dihidroksibenzensulfoninių junginių vartojimas didelėmis dozėmis yra pavojingas dėl daugelio priežasčių. Nors ir retais atvejais, yra žinomi šių junginių šalutiniai poveikiai, tokie kaip žarnyno deformacijos, odos reakcijos, karščiavimas, sąnarių skausmai arba kraujo vaizdo pokyčiai.

Be to, daugumai pacientų poreikis gerti didelį vaisto kiekį yra rimta psichologinė problema. Taigi, bendra tokio vaisto dozė yra paprastai suskaidoma į keletą mažesnių dozių, kurios sugirdomos pacientui per keletą

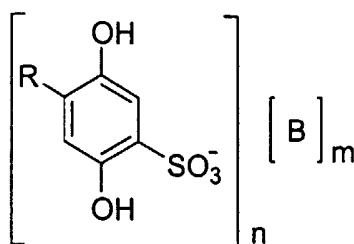
kartų per dieną. Tačiau tai reikalauja, kad pacientas laikytųsi tikslios vaisto priėmimo schemos, dažnai lydimos paciento nepasitenkinimo.

Todėl šio išradimo tikslas yra pateikti vaistą azoto oksido (NO) sintezės reguliavimui diabetinių pacientų endotelyje, kuris leistų išvengti žinomų šioje srityje vaistų trūkumų. Pageidautina, kad vaistas taip pat galėtų būti naudojamas EDHF (endotelio kilmės hiperpolarizuojančio faktoriaus) – svarbiausio faktoriaus nuo endotelio priklausančios kraujagyslių relaksacijos - reguliavimui, kas aprašyta, pvz., "Human coronary arteriolar dilation to arachidonic acid depends on cytochrome P-450 monooxygenase and Ca^{2+} -activated K^+ channels ", H. Miura, DD. Guterman, *Cir. Res.*, 83, 501-507, 1998; "Endothelium-derived hyperpolarizing factor. Identification and mechanisms of action in human subcutaneous resistance arteries", Coats et al., *Circulation*, 103, 1702-1708, 2001; "Characterization of endothelium-derived hyperpolarizing factor in the human forearm microcirculation", Halcox et al., *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 280, H2470-H2477, 2001; "Endothelium-dependent hyperpolarization as a remote anti-atherogenic mechanism", S. Salemidis, Thomas M. Cocks, *Trends in Pharmacological Science Vol.23, NO.5*, 213. 2002). Minėti literatūros šaltiniai yra pridedami kaip nuorodos ir yra šio aprašymo dalis.

Dabar netikėtai buvo rasta, kad mažesnė nei 500 mg vieno arba daugiau 2,5-dihidroksibenzensulfoninių junginių, kurių žemiau duota bendroji formulė I, dienos dozė yra pakankama azoto oksido (NO) sintezei reguliuoti diabetinių pacientų endotelyje.

Be to, buvo rasta, kad žemiau duotos I bendrosios formulės 2,5-dihidroksibenzensulfoniniai junginiai taip pat tinka EDHF (endotelinės kilmės hiperpolarizuojančiam faktoriui) reguliuoti, kai jie yra vartojami mažesne nei 500 mg dienos doze

Taigi, vienas šio išradimo aspektas yra bent vieno iš 2,5-dihidroksibenzensulfoninių junginių, kurių bendroji formulė I,



I,

kurioje

R reiškia H arba SO_3^- ,

B reiškia bent vieną katijoną,

n reiškia 1 arba 2,

m reiškia 1 arba 2,

kuris gali būti farmaciniu požiūriu priimtino solvato formos,

panaudojimas gamyboje vaisto, skirto diabetinių pacientų azoto oksido (NO) sintezės reguliavimui ir (arba) EDHF (endotelio kilmės hiperpolarizuojančio faktoriaus) reguliavimui diabetinių pacientų endotelyje, kur šis vaistas yra skiriamas vartoti kasdien, įvedant <500 mg 2,5-dihidroksibenzensulfoninių junginių, kurių bendroji formulė I, dozę.

Katijonas B I bendrosios formulės 2,5-dihidroksibenzensulfoniniuose junginiuose gali būti bet koks fiziologiniu požiūriu priimtinas kationas, žinomas šios srities specialistams, pvz. iš P. Heinrich Stahl, Camille G. Wermuth (Editors), "Handbook of Pharmaceutical Salts – Properties, Selections and Use", Verlag Helvetica Chimica Acta, Zürich, Switzerland, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002, kuris pridamas kaip nuoroda ir yra šio aprašymo dalis. Specialistai supras, kad katijonas B turi būti pasirinktas tokiu būdu, kad bendras I formulės 2,5-dihidroksibenzensulfoninių junginių krūvis turi būti neutralus.

Šis išradimas apima mažiausiai dviejų aukščiau minėtų I bendrosios formulės 2,5-dihidroksibenzensulfoninių junginių mišinio panaudojimą, o taip pat šių junginių mišriųjų druskų, t.y. junginius su skirtingais katijonais B ir (arba) skirtingomis 2,5-dihidroksibenzensulfoninėmis liekanomis.

Geriau, kai I bendrosios formulės 2,5-dihidroksibenzensulfoninių junginių katijonas(-ai) yra parinkti iš grupės, susidedančios iš Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ ir $[\text{NH}_4-x\text{R}_x]^+$, kur x yra 0, 1, 2, 3 arba 4, o R reiškia šakotąjį arba nešakotąjį C_{1-4} -

alkilo radikala. Jeigu x yra didesnis už 1, t.y. jeigu du arba daugiau alkilo radikalų yra $[\text{NH}_4-x\text{R}_x]^+$ katijone, jie gali būti vienodi arba skirtingi, bet tinkamesni yra vienodi alkilo radikalai.

Pageidautina, kad vaiste būtų vienas arba daugiau junginių, pasirinktų iš grupės, susidedančios iš kalcio 2,5-dihidroksibenzensulfonato (kalcio dobesilato), dietilamino 2,5-dihidroksibenzensulfonato (etamsilato) ir bis(dietilamino)-2,5-dihidroksibenzen-1,4-disulfonato (persilato). Pagal šį išradimą vaisto gamyboje ypatingai tinka naudoti kalcio 2,5-dihidroksibenzensulfonata (kalcio dobesilata).

Išradime naudojami I bendrosios formulės 2,5-dihidroksibenzensulfonatiniai junginiai taip pat gali būti solvatų, ypatingai hidratų formos. I bendrosios formulės 2,5-dihidroksibenzensulfonatinis junginys bei jų solvatus galima pagaminti naudojant šios srities specialistams žinomus reagentus ir metodus.

Kalcio 2,5-dihidroksibenzensulfonato (kalcio dobesilato) ir dietilamino 2,5-dihidroksibenzensulfonato (etamsilato) gamyba yra žinoma, pavyzdžiui, iš "The Merck Index"-13th edition, Merck & Co., R. Rahway, N.J., USA. 2001. Minėtas literatūros aprašymas yra čia pridėtas kaip literatūros šaltinis ir yra išradimo aprašymo dalis. Bis(dietilamino)-2,5-dihidroksibenzen-1,4-disulfonato (persilato) gamyba yra žinoma, pavyzdžiui, iš Prancūzijos patento FR 73/17709 (Publication No.2,201,888). Atitinkamas aprašymas čia pridėtas kaip literatūros šaltinis ir yra išradimo aprašymo dalis.

Buvo rasta, kad I bendrosios formulės 2,5-dihidroksibenzensulfonatiniai junginiai reguliuoja azoto oksido (NO) sintezę, o taip pat EDHF (endotelinės kilmės hiperpoliarizuojančio faktoriaus) funkciją diabetinių pacientų endotelyje, naudojant bendrą <500 mg dienos dozę.

Šie I bendrosios formulės 2,5-dihidroksibenzensulfonatiniai junginiai taip pat gali būti skiriami pacientams mažesnėmis dienos dozėmis, pvz., nuo 100 iki <500 mg, geriau nuo 150 iki 450 mg, geriausia nuo 200 iki 400 mg.

Vartojant šiuos I bendrosios formulės 2,5-dihidroksibenzensulfonatinis junginys bendra <500 mg dienos doze nepageidaujamų šalutinių poveikių dažnis ir laipsnis taip pat gali būti sumažintas. Vaisto priėmimo dažnis gali būti

sumažintas iki dviejų kartų per dieną, geriau vieną kartą per dieną, tuo pačiu sumažinant paciento nepasitenkinimą.

Kadangi I bendrosios formulės 2,5-dihidroksibenzensulfoniniai junginiai reguliuoja azoto oksido (NO) sintezę, o taip pat EDHF funkciją diabetinių pacientų endotelyje, jie tinka gaminti vaistui, skirtam sutrikimų, susijusių su azoto oksido (NO) gaminimosi pablogėjimu ir (arba) EDHF funkcijos susilpnėjimu, profilaktikai ir (arba) gydymui ("Calcium Dobesilate: Pharmacology and Future Approaches", T. Tejerina, E. Ruiz, Gen. Pharmac. Vol.31, No.3, 357-360, 1988).

Geriausiai aukščiau minėti I bendrosios formulės 2,5-dihidroksibenzensulfoniniai junginiai gali būti naudojami gamyboje vaisto, skirto mikrocirkuliacinių sutrikimų, labiausiai diabetinės retinopatijos, lytinės funkcijos sutrikimo, ypatingai erekcijos sutrikimo "Pharmacological Aspects of Erectile Dysfunction", John A. Thomas, Jpn. J. Pharmacol. 89, 101-112, 2002), inkstų sutrikimų, vainikinių mikrocirkuliacinių sutrikimų ir (arba) periferinių arterijų mikrocirkuliacijos sutrikimų profilaktikai ir (arba) gydymui.

Priklausomai nuo konkretaus įgyvendinimo varianto, šio išradimo vaistas, kaip papildomas sudedamąsias dalis, taip pat gali turėti įprastų šios srities specialistams žinomų papildomų medžiagų.

Vaistai pagal šį išradimą gali būti gaminami panaudojant standartines šios srities specialistams žinomas metodikas, pvz. iš "Pharmaceutics: the Science of Dosage Forms", Second Edition, Aulton, M.E. (Ed.) Churchill Livingstone, Edinburgh (2002) turinyje esančių lentelių; "Encyclopedia of Pharmaceutical Technology", Second Edition, Swarbrick, J. and Boylan J.C. (Eds.), Marcel Dekker, Inc. New York (2002); "Modern Pharmaceutics", Fourth Edition, Banker G.S. and Rhodes C.T. (Eds.) Marcel Dekker, Inc. New York 2002 ir "The Theory and Practice of Industrial Pharmacy", Lachman L., Lieberman H. and Kanig J. (Eds.), Lea & Febiger, Philadelphia (1986). Atitinkami aprašymai čia pridėti kaip literatūros šaltiniai ir yra išradimo aprašymo dalis.

Geriausiam šio išradimo įgyvendinimo variante vaistas yra tinkamas peroraliniam vartojimui.

Jeigu vaistas yra tinkamas peroraliniam vartojimui, geriausia, kai jis yra tabletės, kapsulės arba suspensijos formos.

Šio išradimo vaistas taip pat gali būti multidalelių formos, ypatingai plokštelių arba granulių, esant reikalui supresuotų į tabletę, supiltų į kapsulę arba suspenduotų tinkamame skystyje. Tinkami skysčiai yra žinomi šios srities specialistams.

Tinkamiausiame šio išradimo įgyvendinimo variante vaistas turi bent vieno I bendrosios formulės 2,5-dihidroksibenzensulfoninio junginio, kuris gali būti solvato formos ir bent dalinai yra prolanguoto išsiskyrimo formos.

[dėjus vieną arba daugiau I bendrosios formulės 2,5-dihidroksibenzensulfoninių junginių, kurie gali būti solvato formos, bent dalinai arba pilnai į prolanguoto išsiskyrimo formą, galima pratęsti jo poveikio trukmę, leidžiant pasireikšti tokios prolanguotos formos naudingiems efektams, pvz., palaikant optimalią terapinę koncentraciją plazmoje arba audinyje.

Tinkamos prolanguoto išsiskyrimo formos bei medžiagos ir jų pagaminimo būdai yra žinomi šios srities specialistams, pvz. iš "Modified-Release Drug Delivery Technology", Rathbone, M.J., Hadgraft, J. and Roberts, M.S. (Eds.), Marcel Dekker, Inc., New York (2002) turinyje esančių lentelių; "Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology", Wise, D.L. (Ed.), Marcel Dekker, Inc. New York (2002); "Controlled Drug Delivery", Vol.1, Basic Concepts, Bruck, S.D. (Ed.) CRC Press Inc., Boca Raton (1983) ir iš Taakada, K. and Yoshikawa, H., "Oral Drug Delivery", Encyclopedia of Controlled Drug Delivery, Mathiowitz, E. (Ed.), John Wiley & Sons, Inc., New York (1999), Vol.2, 728-742; Fix, J., "Oral drug delivery, small intestine and colon", Encyclopedia of Controlled Drug Delivery, Mathiowitz, E. (Ed.), John Wiley & Sons, Inc., New York (1999), Vol.2, 698-728. Atitinkami aprašymai čia pridėti kaip literatūros šaltiniai ir yra išradimo aprašymo dalis.

Jeigu šio išradimo vaiste yra bent vienas I bendrosios formulės 2,5-dihidroksibenzensulfoninis junginys, bent dalinai esantis prolanguoto išsiskyrimo formoje, geriausia šį prolanguotą išsiskyrimą pasiekti naudojant bent vieną dangą arba paruošiant matricą, turinčią bent vieną uždelsto išsiskyrimo medžiagą. Atitinkami aprašymai čia pridėti kaip literatūros šaltiniai ir yra išradimo aprašymo dalis.

Geriau, kai uždelsto išskyrimo medžiaga yra galimai modifikuotas, natūralus, pusiau sintetinis polimeras arba gamtinis, pusiau sintetinis arba sintetinis vaškas arba riebalų alkoholis arba riebalų rūgštis, arba bent jau dviejų aukščiau minėtų komponentų mišinys.

Geriausiu vandeninyje netirpūs polimerai, naudojami prolanguoto išskyrimo medžiagai gauti, yra polimerai akrilo dervos pagrindu, kurią geriausia parinkti iš poli(met)akrilatų; ypatingai geri yra poli(C₁₋₄)alkil(met)akrilatai, poli(C₁₋₄)dialkilamino(C₁₋₄)alkil(met)akrilatai ir (arba) kopolimerai arba jų mišiniai, o ypatingai pageidautini etilakrilato ir metilakrilato kopolimerai, kuriuose monomerų santykis 2:1 (Eudragit NE30D®), etilakrilato, metilmetakrilato ir trimetilamonio etilmetakrilato chlorido kopolimerai, kurio monomerų santykis yra 1:2:0,1 (Eudragit RS®), etilakrilato, metilmetakrilato ir trimetilamonio etilmetakrilato chlorido kopolimerai, kurių monomerų santykis 1:2:0,2 (Eudragit RL®) arba mišinys bent dviejų iš aukščiau minėtų kopolimerų. Šios padengimo medžiagos yra gaunamos iš prekybininkų kaip 30 masės % vandeninio latekso dispersijos, t.y. kaip Eudragit RS30D®, Eudragit NE30D® arba Eudragit RL30D® ir taip pat gali būti naudojamos kaip medžiagos padengimo tikslams.

Kitame įgyvendinimo variante prolanguoto išskyrimo medžiaga yra paremta vandeninyje netirpiaisiais celiuliozės dariniais, geriausia alkilceliuliozėmis, ypatingai gerai tinka etilceliuliozė, arba celiuliozės esteriai, pvz. celiuliozės acetatas. Vandeninės etilceliuliozės dispersijos yra prekyboje, pavyzdžiui, jos turi Aquacoat® arba Surelease® prekių ženklus.

Kaip gamtiniai, pusiau sintetiniai arba sintetiniai vašakai, riebalai arba riebalų alkoholiai, prolanguoto išskyrimo medžiagos gali būti paremtos karnaubo vašku, bičių vašku, glicerolio monostearatu, glicerolio monobehenatu, glicerolio ditripalmitostearatu, mikrokristaliniu vašku, cetilo alkoholiu, cetilstearylalkoholiu arba mažiausiai dviejų šių komponentų mišiniu.

Iš aukščiau minėtų prolanguoto išskyrimo polimerų mišinius taip pat gali įeiti įprasti, fiziologiniu požiūriu priimtini plastifikatoriai šios srities specialistams žinomais kiekiais.

Tinkamų plastifikatorių pavyzdžiais yra C₆-C₄₀ alifatinių arba aromatinių dikarboksirūgščių ir C₁-C₄ alifatinių alkoholių diesteriai, pvz., dibutilftalatas,

dietilftalatas, dibutylsebacatas arba dietilsebacatas, hidrofiliniai arba lipofiliniai citrinų rūgšties esteriai, pvz., trietilcitratas, tributylcitratas, acetiltributylcitratas arba acetiltriethylcitratas, polietilenglikoliai, propilenglikoliai, glicerolio esteriai, pvz., triacetinas, Myvacet® (acetilinti mono- ir digliceridai, nuo $C_{23}H_{44}O_5$ iki $C_{25}H_{47}O_7$), vidutinio grandinės ilgio trigliceridai (Migiol®), oleino rūgštis arba bent jau dviejų minėtų plastifikatorių mišiniai. Geriau, kai vandeninėse Eudragit RS® arba esant reikalui Eudragit RL® dispersijose yra triethylcitrato. Prolonguoto išskyrimo medžiaga gali turėti vieną arba daugiau plastifikatorių, kurių kiekiai yra, pavyzdžiui, 5-50 %, skaičiuojant nuo naudojamo polimero(u) kiekio.

Prolonguoto išskyrimo medžiaga taip pat gali turėti šios srities specialistams žinomų kitų įprastų pagalbinių medžiagų, pvz. tepalų, spalvotų pigmentų arba paviršinio aktyvumo medžiagų.

Šio išradimo vaistas taip pat gali turėti bent vieną enterinę dangą, kuri ištirpsta priklausomai nuo pH. Dėl šios dangos vaistas gali pereiti per skrandį neištirpęs ir į bendrosios formulės junginiai išsiskiria tik virškinimo trakte. Pageidautina, kad enterinė danga ištirptų esant pH tarp 5 ir 7,5.

Enterinė danga gali būti bet kokios specialistams žinomos medžiagos pagrindu, pvz., metakrilo rūgšties/metilmetakrilato kopolimerai, kurių monomerų molekulių santykis yra 1:1 (Eudragit L®), metakrilo rūgšties/metilmetakrilato kopolimerai, kurių monomerų molekulių santykis yra 1:2 (Eudragit S®), metakrilo rūgšties/etilakrilato kopolimerai, kurių monomerų molekulių santykis yra 1:1 (Eudragit L30D-55®), metakrilo rūgšties/metilakrilato/metilmetakrilato kopolimerai, kurių monomerų molekulių santykis yra 7:3:1 (Eudragit FS®), šelakas, hidroksipropilmetilceliuliozės acetato sukcinatai, celiuliozės acetato ftalatai arba bent jau dviejų iš šių komponentų mišiniai, kurie, esant reikalui, gali būti naudojami derinyje su aukščiau minetais vandenyje netirpiaisi poli(met)akrilatais, geriausia derinyje su Eudragit NE30D® ir (arba) Eudragit RL®, ir (arba) Eudragit RS®.

Šio išradimo vaisto dangos gali būti uždedamos panaudojant įprastus specialistams žinomus būdus, pvz., iš Johnson, J.L., "Pharmaceutical tablet coating", Coatings Technology Handbook (Second Edition), Satas, D. and Tracton, A.A. (Eds), Marcel Dekker, Inc. New York, (2001), 863-866; Carstensen, T., "Coating Tablets in Advanced Pharmaceutical Solids",

Swarbrick, J. (Ed.), Marcel Dekker, Inc. New York, (2001), 455-468; Leopold, C.S., "Coated dosage forms for colon-specific drug delivery", *Pharmaceutical Science & Technology Today*, 2(5), 197-204 (1999), Rhodes, C.T. and Porter, S.C., Coatings, in *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*. Mathiowitz, E. (Ed.), John Wiley & Sons, Inc., New York (1999), Vol.1, 299-311. Atitinkami aprašymai yra pridedami kaip literatūros šaltiniai ir yra šio aprašymo dalis.

Kitame įgyvendinimo variante šio išradimo vaistas turi vieną arba daugiau I bendrosios formulės 2,5-dihidroksibenzensulfoninių junginių ne tik prailginto išsiskyrimo formoje, bet taip pat ir neuždelsioje formoje. Derinant su betarpiško išsiskyrimo forma, gali būti pasiekta didelė pradinė dozė, kad būtų pasiektas greitas naudingas poveikis. Tada lėtas išsiskyrimas iš uždelsto išsiskyrimo formos apsaugos nuo naudingo poveikio mažėjimo.

Tai gali būti pasiekama, pavyzdžiui, panaudojant vaistą, turintį bent vieną betarpiško išsiskyrimo dangą, kurioje yra bent vienas iš I bendrosios formulės 2,5-dihidroksibenzensulfoninių junginių, kad būtų galima gauti greitą naudingo poveikio pasireiškimą, kai tik jis įvedamas pacientui.

Farmakologiniai metodai:

NO sintezės reguliavimas 2,5-dihidroksibenzensulfoniniais junginiais gali būti įvertintas specialistams žinomais būdais, pvz., iš "Effects of calcium dobesilate on the synthesis of endothelium-dependent relaxing factors in rabbit isolated aorta", T. Tejerina et al., *British Journal of Pharmacology* (1997), 121, 711-716, "*In vitro* Effects of Calcium Dobesilate on the Responsiveness of Spontaneously Diabetic Rat Aorta", T. Tejerina et al., *Jpn. J. Pharmacol.*, 78, 391-394 (1998) ir "Dobesilate enhances endothelial nitric oxide synthase-activity in macro- and microvascular endothelial cells", Christoph Suschek et al., *British Journal of Pharmacology* (1997), 122, 1502-1508. Atitinkami aprašymai čia pridėti kaip literatūros šaltiniai ir yra išradimo aprašymo dalis.

Toliau duodamuose methoduose EDHF (endotelinės kilmės hiperpoliarizuojančio faktoriaus) įnašui į žmogaus varpos lygiojo raumens sugebėjimo susitraukti reguliavimą, I bendrosios formulės 2,5-

dihidrosibenzensulfoninių junginių poveikiui į nuo endotelio priklausomai varpos lygiojo raumens relaksacijai nustatyti, o taip pat šių junginių poveikiui į erekcijos atsakus, yra aprašomas modelis *in vivo* bandyme su žiurkėmis.

Rezistentiškų varpos arterijų vaskuliarinis reaktyvumas

Kruopščiai pašalinus įsiskverbusius trabekulės audinius, buvo atskirtos varpos mažosios arterijos, spiralinės arterijos (kraujagyslės spindis 150-400 μm), kurios yra giliųjų varpos arterijų galinės šakos, ir po to arterijų žiedinės atkarpos (2 mm ilgio) buvo įtaisytos ant dviejų 40 μm vielų prie mikrovaskuliarių dvigubų Halpern-Mulvany miografų (J.P. Trading, Aarhus, Denmark) izometrinio tempimo registravimams. Kraujagyslių segmentai buvo laikomi 30 min., kad pasiektų pusiausvyrą, fiziologiniame druskos tirpale (PSS), kurio sudėtis (kiekvienas komponentas nurodytas mM): 119 NaCl, 4,6 KCl, 1,5 CaCl_2 , 1,2 MgCl_2 , 24,9 NaHCO_3 , 11 gliukozės, 1,2 KH_2PO_4 , 0,027 EDTA 37 °C temperatūros vandenyje, per kurį nepertraukiamai burbuliukais leidžiamas 95 % O_2 ir 5 % CO_2 mišinys, palaikant pH 7,4. Buvo nustatytas kraujagyslių segmentų pasyvus įtempimas ir vidinis perimetras, kai atpalaiduojama *in situ*, esant 100 mm Hg (L_{100}) slėgiui per sienelę. Po to buvo nureguliuoti kraujagyslių segmentų vidiniai perimetrai, atitinkamai 90 % L_{100} , kai jėgos išaugimas yra artimas maksimaliam, kaip aprašyta Mulvany MJ, Halpern W., "Contractile properties of small resistance arteries in spontaneously hypertensive and normotensive rats", *Circ. Res.*, 41, 19-26, 1977. Atitinkamas aprašymas yra pridedamas kaip literatūros šaltinis ir yra išradimo aprašymo dalis.

Tada šie preparatai buvo sudėti į 125 mM K^+ (KPSS, ekvimolinis NaCl pakeitimui kiekis KCl PSS buferyje) ir matuojamas susitraukiamumo atsakas. Arterijos buvo sutraukiamos 1 μM norepinefrinu (apytikriai 80 % KPSS sukkelto susitraukimo), o relaksaciniai atsakai buvo įvertinti panaudojant junginių kaupiamąjį pridėjimą į kameras. Arteriniai segmentai, laikomi kaip neturintys funkcinio endotelio, neatsipalaiduoja iki 10 μM acetilcholino.

Tyrimai organų kameroje

Siauros akytkūnio audinio juostelės (3 x 3 x 7 mm) buvo įmerktos į 8 ml organų kameroje esančio PSS, laikoma 37 °C temperatūroje ir aeruojama 95 % O₂ ir 5 % CO₂ mišiniu, palaikant pH 7,4. Kiekviena audinio juostelė buvo tempiama palaipsniui didinant tempimą iki optimalaus izometrinio įtempimo, kaip nustatyta pagal maksimalų susitraukiamumo atsaką iki 1 μM fenilefrino, kaip aprašyta Sàenz de Tejada et al., "A Nitric Oxide-like factor mediates nonadrenergic-noncholinergic neurogenic relaxation of penile corpus cavernosum smooth muscle", J. Clin. Invest. 88, 112-118. Atitinkamas aprašymas yra pridėdamas kaip literatūros šaltinis ir yra išradimo aprašymo dalis.

Audiniai buvo sutraukti panaudojant 0,5-3 μm fenilefrino (80 % KPSS sukelti susitraukimo ir atsipalaidavimo atsakai buvo įvertinti panaudojant kaupiamąjį junginių pridėjimą į kameras.

Erekcijos atsakai į akytkūnio nervo stimuliaciją bandyme su anestezuotomis žiurkėmis

Genetiškai diabetinių žiurkių patinėliai (BB/wor žiurkės, Mølegaard Breeding and Research, Swensved, Denmark) buvo anestezuoti ketaminu (60 mg/kg). Chirurginė procedūra susidėjo iš atskyrimo ir dešiniojo akytkūnio nervo izoliavimo, padarius pjūvį per pilvo vidurinę liniją ir išėmus į paviršių varpos kojytę per skersinį tarpvietės įpjovimą. Intraakytkūninis slėgis (ICP) buvo matuojamas įvedant į dešiniąją kojytę 23 dydžio adatą, sujungtą su vienkartinio slėgio perdavikliu (Abbott, Sligo, Ireland) ir duomenų surinkimo sistema (AD/Instruments, castle Hill, Australia). Į kairiąją miego arteriją ir dešiniąją išorinę jungo veną buvo įstatyti kateteriai atitinkamai pastoviam kraujospūdžio matavimui ir fiziologinio tirpalo arba vaisto infuzijai. Elektrinis stimuliavimas buvo daromas mažyčiu platinos bipoliniu kabliuko pavidalo elektrodu, sujungtu su stimulatoriumi ir srovės stiprintuvu (Cibertec, Madrid, Spain). Elektrinio stimuliavimo parametrai susidėjo iš 1 ms trukmės ir 1,5 mA srovės stiprumo impulsų 1 min. Dažnio-atsako kreivės buvo gautos naudojant 1, 3 ir 10 Hz stimuliavimą 3 min. intervalais.

Norint įvertinti ūmius I bendrosios formulės 2,5-dihidroksibenzensulfoninių junginių poveikius į erekcijos atsakus, buvo atliktas kontrolinis stimuliavimas, esant 1, 3 ir 10 Hz, ir po stabilizacijos laikotarpio buvo suleista į veną atitinkamo junginio (10 mg/kg), ištirpinto 20 % hidroksipropil-β-ciklodekstrine (HPβCD), arba vien tik tirpiklis. Stimuliavimas buvo pakartotas praėjus 60 min. po atitinkamo junginio arba tirpiklio suleidimo.

Toliau šis išradimas yra iliustruojamas pavyzdžiais. Šios iliustracijos yra duotos vien tik kaip pavyzdžiai ir neriboja šio išradimo pagrindinės prasmės.

1 pavyzdys

Kieta želatinos kapsulė, turinti kalcio dobesilato

Kalcio dobesilatas	0,400 g
Celiuliozė	0,023 g
Magnio stearatas	0,007 g
Koloidinis silicio dioksidas	0,005 g
Bendra masė	0,435 g

Aukščiau minėti kiekiai kalcio dobesilato, celiuliozės, magnio stearato ir koloidinio silicio dioksido kruopščiai sumaišomi įprastu maišikliu ir po to supilstomi į įprastas kietas želatinos kapsules.

2 pavyzdys

Tabletė, turinti kalcio dobesilato

Kalcio dobesilatas	0,2000 g
Kukurūzų krakmolas	0,0650 g
Laktozė	0,0520 g
Povidonas K-30	0,0175 g
Citrinų rūgšties monohidratas	0,0125 g
Magnio stearatas	0,0020 g
Natrio rūgštusis sulfitas	0,0010 g
Bendra masė	0,3500 g

Aukščiau minėti kiekiai kalcio dobesilato, kukurūzų krakmolo, laktozės, povidono K-30, citrinų rūgšties monohidrato, magnio stearato ir natrio rūgščiojo sulfito kruopščiai sumaišomi įprastu maišikliu ir po to presuojami tabletėmis įprastu tabletavimo presu.

Farmakologiniai metodai:**Vaistai ir medžiagos:**

Fenilefrinas, norepinefrinas (arterenolis), acetilcholinas, indometacinas, N^G-nitro-L-argininas (L-NNA), apaminas, charybdotoksinas ir hidroksipropil- β -ciklodekstrinas (HP β CD) buvo gauti iš Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Mikonazolis buvo gautas iš RBI (Natic, MA, USA). Kalcio dobesilatas (kalcio dihidroksi-2,5-benzensulfonatas, Doxium[®]) buvo gautas iš Dr. Esteve Laboratories (Barcelona, Spain).

Duomenų analizė:

Relaksacijos atsakai yra išreikšti procentais nuo bendros relaksacijos (tonuso praradimo), sukeltos, pridėjus 0,1 M papaverino HCl į kamerą eksperimento gale. Visi duomenys išreikšti kaip vidurkis $\pm$ standartinė paklaida. Buvo gautos pilnos koncentracija-atsakas arba dažnis-atsakas kreivės ir palygintos panaudojant dvifaktorišės variacinės analizės (ANOVA) statistinį testą, naudojant StatView programą Apple kompiuteriui. Erekcijos atsakai buvo nustatyti matuojant intraaktykūninio slėgio ploto po kreive (AUC) padidėjimus į žiurkių aktykūnio nervo stimuliavimą, normalizuotą pagal vidurkinės arterinio slėgio reikšmes. Pilnos dažnio-atsako kreivės buvo lyginamos pagal dvifaktorišį ANOVA testą.

EDHF vaidmuo nuo endotelio priklausančioje žmogaus aktykūnio trabekulinių juostelių relaksacijoje ir žmogaus varpos rezistentinėms arterijoms (HPRA):

Trabekulinio audinio juostelėse acetilcholinas (ACh; nuo 1 nM iki 10 μ M) davė nuo koncentracijos priklausančią relaksaciją, kuri buvo beveik panaikinta, paveikiant NO sintetazės (NOS) inhibitoriaus – N^G-nitro-L-arginino (L-NNA; 100 μ M) - ir ciklooksigenazės (COX) inhibitoriaus – indometacino (5 μ M) – deriniu. Atvirkščiai, varpos arterijų atveju, nors veikimas L-NNA (100 μ M) ir indometacinu (5 μ M) žymiai sumažino ACh sukeltą relaksaciją, svarbus

šių arterijų relaksacijos komponentas išliko. Šios ACh sukeltos relaksacijos, esant NOS ir COX inhibicijai, buvo panaikintos, sutraukiant HPRA didele ekstraląstelinio K^+ koncentracija (35 mM) arba veikiant šias arterijas nuo Ca^{2+} priklausančiais K^+ -kanalų blokatoriais, apamino (APA; 100 nM) ir charibdotoksino (CTX; 100 nM) deriniu.

Kalcio dobesilato poveikiai į nuo endotelio priklausančią žmogaus varpos lygiųjų raumenų relaksaciją:

Kalcio dobesilatas (10 μ M) labai stiprina ACh sukeltą HPRA relaksaciją. Šio stiprinimo kalcio dobesilatu (10 μ M) žymiai neveikia NOS ir COX suderintas inhibavimas, bet jis yra panaikinamas, jeigu arterijos yra pamerkotos į didelę kalio koncentraciją (35 mM).

HPRA buvimas APA (100 nM) ir CTX (100 nM) derinyje, kuris blokuoja ACh sukeltą relaksaciją, rezistentišką NOS ir COX inhibicijai, panaikina stiprinančius kalcio dobesilato poveikius. Pagaliau, mikonazolas (0,3 mM) žymiai sumažina kalcio dobesilato rezistentiškos NOS ir COX inhibicijai HPRA ACh sukeltos relaksacijos stiprinančius efektus.

Kalcio dobesilato poveikiai į anestezuotų diabetinių žiurkių erekcinius atsakus:

Akytkūnio nervo elektrinis stimuliavimas anestezuotoms žiurkėms davė nuo dažnio priklausomą intraaktykūninio slėgio (ICP) padidėjimus, kurie nebuvo pakeisti veikiant tirpikliu (20 % HP_{β} CD). Suleidus į veną kalcio dobesilato (10 mg/kg), žymiai padidėjo erektilūs atsakai į akytkūnio nervo stimuliaciją.

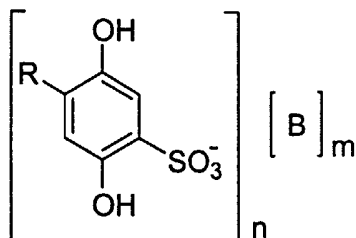
Aukščiau minėti rezultatai rodo, kad EDHF dalyvauja nuo endotelio priklausančioje žmogaus varpos rezistentiškų arterijų relaksacijoje. Parodytas EDHF reguliavimas kalcio dobesilatu.

Šiuose aukščiau aprašytuose *in vitro* eksperimentuose kalcio dobesilato koncentracija yra koncentracijos plazmoje ribose, pasiekiamose vartojant

<500 mg peroralinę dozę. Net ir ši maža kalcio dobėsilato dozė duoda padidintus erekcijos atsakus.

Išradimo apibrėžtis

1. Bent vieno iš 2,5-dihidroksibenzensulfoninių junginių, kurių bendroji formulė I,



1. I,

kurioje

R reiškia H arba SO_3^- ,

B reiškia bent vieną katijoną,

n reiškia 1 arba 2,

m reiškia 1 arba 2,

kuris gali būti farmaciniu požiūriu priimtino solvato formos,

panaudojimas gamyboje vaisto, skirto azoto oksido (NO) sintezės reguliavimui ir (arba) EDHF (endotelio kilmės hiperpoliarizuojančio faktoriaus) reguliavimui diabetinių pacientų endotelioje, kur šis vaistas yra skiriamas vartoti, imant aukščiau minėtų I formulės junginių <500 mg dienos dozę.

2. Panaudojimas pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad katijonas(ai) B yra pasirinktas(i) iš grupės, susidedančios iš Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ ir $[\text{NH}_4-x\text{R}_x]^+$, kur x yra 0, 1, 2, 3 arba 4, o R reiškia šakotąjį arba nešakotąjį C_{1-4} -alkilo radikalą, kuris gali būti toks pats arba skirtingas, jei $x > 1$.
3. Panaudojimas pagal 1 arba 2 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad I bendrosios formulės junginys yra kalcio 2,5-dihidroksibenzensulfonatas (kalcio dobessilatas).

4. Panaudojimas pagal 1 arba 2 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad I bendrosios formulės junginys yra dietilamino 2,5-dihidrosibenzensulfonatas (etamsilatas).
5. Panaudojimas pagal 1 arba 2 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad I bendrosios formulės junginys yra bis(dietilamino)-2,5-dihidrosibenzen-1,4-disulfonatas (persilatas).
6. Panaudojimas pagal bet kurį iš 1-5 punktų, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad skiriamo vaisto dienos dozėje yra I bendrosios formulės junginių nuo 100 iki <500 mg, geriau nuo 150 iki 450 mg, ir ypatingai gerai nuo 200 iki 400 mg.
7. Panaudojimas pagal bet kurį iš 1-6 punktų sutrikimų, paremtų azoto oksido (NO) gaminimosi susilpnėjimu ir (arba) EDHF funkcijos reguliavimo susilpnėjimu, profilaktikai ir/arba gydymui.
8. Panaudojimas pagal bet kurį iš 1-7 punktų mikrocirkuliacijos sutrikimų profilaktikai ir/arba gydymui.
9. Panaudojimas pagal bet kurį iš 1-8 punktų retinopatijos sutrikimų profilaktikai ir/arba gydymui.
10. Panaudojimas pagal bet kurį iš 1-8 punktų lytinės disfunkcijos, ypatingai erekcijos disfunkcijos, sutrikimų profilaktikai ir/arba gydymui.
11. Panaudojimas pagal bet kurį iš 1-8 punktų inkstų sutrikimų profilaktikai ir/arba gydymui.
12. Panaudojimas pagal bet kurį iš 1-8 punktų vainikinės mikrocirkuliacijos sutrikimų profilaktikai ir/arba gydymui.

13. Panaudojimas pagal bet kurį iš 1-8 punktų periferinių arterijų mikrocirkuliacijos sutrikimų profilaktikai ir/arba gydymui.
14. Panaudojimas pagal bet kurį iš 1-13 punktų, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad šis vaistas yra tinkamas peroraliniam vartojimui.
15. Panaudojimas pagal 14 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad šis vaistas yra tabletės, kapsulės arba suspensijos formos.
16. Panaudojimas pagal 14 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad šis vaistas yra multidailelių, geriausia plokštelių arba granulių, esant reikalui, supresuotų į tabletes, supiltų į kapsulę arba suspenduotų tinkamame skystyje, formos.
17. Panaudojimas pagal bet kurį iš 1-16 punktų, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad šis vaistas turi bent vieno I bendrosios formulės junginio bent dalinai prailginto išsiskyrimo formoje.
18. Panaudojimas pagal 17 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad šis vaistas turi bent vieną dangą arba matricą, kurioje yra bent vienos prailginto išsiskyrimo medžiagos.
19. Panaudojimas pagal 18 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad ši prailginto išsiskyrimo medžiaga yra paremta, esant reikalui, modifikuotu, vandenyje netirpiu, gamtiniu, pusiau sintetiniu arba sintetiniu polimeru arba gamtiniu, pusiau sintetiniu arba sintetiniu vašku, arba riebalu, arba riebaliniu alkoholiu, arba riebalų rūgštimi, arba bent jau dviejų iš šių aukščiau minėtų komponentų mišiniu.
20. Panaudojimas pagal 19 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad šis vandenyje netirpus polimeras yra paremtas akrilo derva, kurią pageidautina pasirinkti iš poli(met)akrilatų, poli(C₁₋₄)dialkilamino(C₁₋₄)alkil(met)akrilatų ir (arba) jų kopolimerų grupės, arba bent jau dviejų iš aukščiau minėtų polimerų mišinio.

21. Panaudojimas pagal 19 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad šie vandenyje netirpūs polimerai yra celiuliozės dariniai, geriau alkilceliuliozė ir ypatingai gerai etilceliuliozė arba celiuliozės esteriai.
22. Panaudojimas pagal 19 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad šis vaškas yra karnaubo vaškas, bičių vaškas, glicerolio monostearatas, glicerolio monobehenatas, glicerolio ditripalmitostearatas, mikrokristalinis vaškas arba bent jau dviejų šių komponentų mišinys.
23. Panaudojimas pagal 19-22 punktus, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad polimerai yra naudojami derinyje su vienu arba daugiau plastifikatorių.
24. Panaudojimas pagal bet kurį iš 14-23 punktų, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad šis vaistas turi enterinę dangą.
25. Panaudojimas pagal bet kurį iš 1-24 punktų, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad šis vaistas turi bent vieną staigaus išsiskyrimo dangų, kurioje yra bent vieno iš I bendrosios formulės junginių.