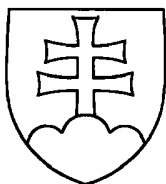


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) **SK**



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA VYNÁLEZU

- (22) Dátum podania prihlášky: **18. 5. 1999**
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **09/081 108**
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **18. 5. 1998**
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **US**
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **6. 8. 2001**
Vestník ÚPV SR č.: **08/2001**
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **PCT/US99/10933**
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO99/59575**

(11), (21) Číslo dokumentu:

1745-2000

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁷:

A61K 31/21

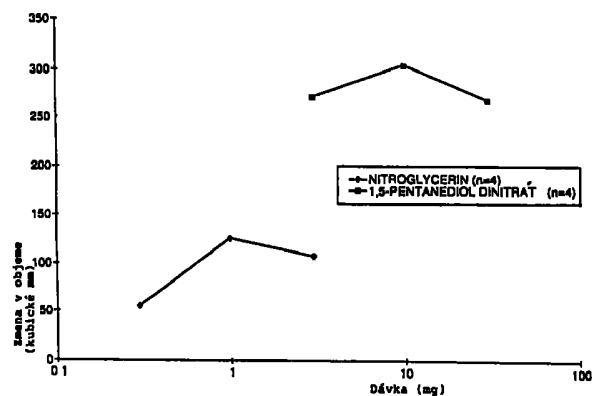
(71) Prihlasovateľ: **BAKER NORTON PHARMACEUTICALS, INC., Miami, FL, US;**

(72) Pôvodca: **Selim Sami, Irving, CA, US;**
Testman Robert, Corona, CA, US;
Fung Ho-Leung, Getzville, NY, US;
Bauer John A., Westerville, OH, US;

(74) Zástupca: **Žovicová Viera, Mgr., Bratislava, SK;**

(54) Názov: **Kompozície obsahujúce organické mono- alebo dinitráty na liečenie impotencie**

(57) Anotácia:
Sú opísané farmaceutické kompozície v topickej alebo parenterálnej forme obsahujúce špecifické organické mono- alebo dinitráty, pričom niektoré z nich sú novými zlúčeninami, ktoré sú účinné pri liečení mužskej impotencie a erektilnej dysfunkcie prostredníctvom topického alebo intrakavernózneho podávania do penisu. Taktiež sú opísané spôsoby liečebného využitia kompozícií obsahujúcich mono- alebo dinitráty.



SK 1745-2000 A3

Kompozície obsahujúce organické mono- alebo dinitráty na liečenie impotencie

Oblasť techniky

Tento vynález sa týka spôsobov a kompozícií na liečenie mužskej impotencie a erektilnej dysfunkcie.

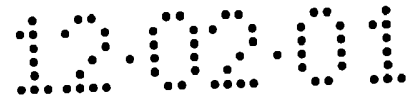
Doterajší stav techniky

Proces erekcie je vo všeobecnosti selektívnou vazodilatáciou špongiovitého tkaniva penisu a kavernózneho telesa a znížením prietoku, čo vedie k zvýšeniu nahromadenia krvi, zvýšeniu intra-kavernózneho tlaku a teda k erekcii.

Konvenčné farmaceutické terapie impotencie alebo erektilnej dysfunkcie primárne zahrňujú lokálne podávanie látok na uvoľnenie vaskulárneho hladkého svalstva, napríklad papaverínu alebo prostaglandínu E1, alebo antagonistov α -adrenoreceptora, ako je fentolamín, čo má za následok erekciu penisu, z dôvodu zvýšenia arteriálneho prietoku krvi, distenzie dutín a možnej reštrikcie venózneho výstupu. Teda, intrakavernózna injekcia vazoaktívnych liečiv poskytuje impotentným pacientom spôsob terapeutického managementu a poskytuje jeden z testov na rozlíšenie diagnózy medzi vaskulogénnymi a ďalšími etiologickými formami impotencie. Papaverín a prostaglandín E1 sa používajú tiež pri zhodnotení farmakologickej odozvy erektilných tkanív penisu pri experimentálnych podmienkach (pozri Chen a kol., J. Urol., 147, 1124 - 1128, 1992).

V doterajšom stave techniky boli uplatňované ďalšie farmaceutické spôsoby liečby impotencie. Tieto zahrňujú systémové podávanie mužských hormonálnych prípravkov, ako sú metyltestosterón a estery testosterónu, ako aj podávanie rozličných extraktov z rastlín rastúcich v prírode, o ktorých sa predpokladá, že majú afrodiziatické vlastnosti, ako je johimbín, žeň-šeň, strychnín a podobne. Nefarmakologické terapeutické postupy liečby impotencie zahrňujú chirurgickú implantáciu protézy penisu a použitie zariadenia podobného turniketu, ktoré sa pevne prispôsobí okolo osi penisu a zamedzí toku krvi cez povrchové žily a hlbšie dorzálne žily, aby sa takto predĺžila erekcia.

Všetky spôsoby liečby podľa uvedeného doterajšieho stavu techniky vykazujú zjavné a závažné nevýhody. Injekcia papaverínu a ďalších vazoaktívnych

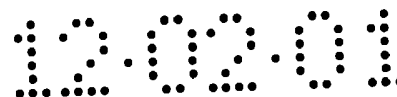


liečiv sa križuje s premenlivým úspechom a premenlivou dobou trvania odozvy a opakované injekcie do penisu môžu byť bolestivé a traumatizujúce. U niektorých pacientov tieto činidlá spôsobujú priapizmus (nežiadúca pretrvávajúca erekcia), ktorý môže viesť ku štruktúrnemu poškodeniu orgánu. Podávanie metyltestosterónu alebo esterov testosterónu môže spôsobiť toxické účinky alebo inhibovať endogénnu tvorbu testosterónu a spermatogenézu. Orálne podávané afrodiziatických látok je okrajové a ich účinnosť je nestála a niektoré z nich vykazujú signifikantné nepriaznivé vedľajšie účinky. Použitie chirurgických implantátov alebo zariadení podobných tumiketu môže viesť k závažným problémom alebo k infekcii a traume a spôsobovať diskomfort ako pre partnera mužského tak i pre partnera ženského pohlavia.

Niekoľko pred nedávnym zverejnených štúdií ukázalo obligačnú rolu oxidu dusičného pri procesoch erekcie (pozri napríklad Rajfer a kol., N. Eng. J. Med.; 326, 90-94, 1992). Rajfer usúdil, že stimulácia lokálneho nervu vedie k produkcii NO, ktorý zvyšuje prietok krvi v artériách penisu a uvoľňuje kavernózne medzery. Ak sa tieto kavernózne medzery naplnia, stláčajú výstup žily z kavernózneho telesa, čo vedie k erektilej odozve. Podávanie exogénnych donorov NO môže byť užitočným pri podpore erekcie. Bolo publikovaných niekoľko patentov, ktoré sa týkali použitia nitroglycerínu (NTG) a linsidomínu podávaných topicky alebo pomocou intrakavernózneho injekcie, na liečenie impotencie a erektilej dysfunkcie.

Potvrdilo sa, že NTG spôsobuje relaxáciu hladkého svalstva a vaskulárneho tkaniva penisu, vrátane kavernózneho tkaniva. Štúdie s používaním masťových prípravkov preukázali vazodilatáciu a následné prekrvenie. Je tu však menej presvedčivý dôkaz, že NTG, podávaný ako 2 až 10 % masť alebo náplasť, aplikované topicky, by mohli mať za následok erekciu postačujúcu na vaginálnu penetráciu. Pri použití 2 % NTG masti, 18/26 pacientov vykazovalo zvýšenie obvodu a 7/20 pacientov vykazovalo 50 % zvýšenú tumescenciu (Owen a kol. J. Urol. 141, 546, 1989).

Štúdie Cavalliniho (J. Urol. 146, 50, 1991) ukázali, že pri použití jednoduchého maskovaného pokusu, sa u 51 pacientov prejavilo zväčšenie obvodu penisu a rigidity pri použití 10 %-nej NTG masti. V ďalších nemaskovaných



štúdiách NTG náplaste aplikované lokálne počas niekoľkých hodín, mali za následok relatívne slabé odozvy u 90 % pacientov v laboratórnych podmienkach a 60 % pacientov v domácych podmienkach (Meyoff a kol. Br. J. Urol. 69, 88, 1992). V ďalšej štúdii 30 % pacientov dosiahlo erekcie postačujúce na vaginálnu penetráciu v domácych podmienkach, pričom 71 % pacientov vykazovalo určitú odozvu (Sonksen, Biering-Sorensen, Paraplegia 30, 554, 1992). Pri použití NTG náplastí v dvojmaskovanej štúdii, odozva na účinné liečivo predstavovala približne 81 %, zatiaľ čo pre placebo táto odozva predstavovala 19 % (Claes a Baert, Urol. Int. 44, 309; 1989). Toto bolo založené na poštovom testovacím interview a nie na denníkoch alebo dotazníkoch pacientov, ktoré by boli bývali presnejšie.

Sexuálna odozva sa testovala iba v 3 z 5 štúdií z publikovaných štúdií, ktoré hodnotili erektilnú odozvu na nitráty. Štatistické metódy neboli vo väčšine zo štúdií vyhodnocované a iba jeden pokus uvádzal, že NTG vykazoval odozvu, ktorá bola lepšia ako odozva na papaverín, ďalší vazodilatátor, alebo placebo. V mnohých z týchto pokusov sa zvyčajne vyskytovali bolesti hlavy a nie je jasné, aká dávka NTG je potrebná, alebo trvanie jej účinku. Okrem toho sa ukázalo, že u mnohých pacientov sa nebude prejavovať vhodná odozva na NTG. Toto môže nastať z dôvodu ultraštruktúrneho poranenia hladkého svalstva, zlyhania venooklúzie alebo priamej venodilatácie na subtunikálnych žilách. Ďalšie faktory, ktoré obmedzujú terapeutický potenciál NTG zahŕňujú zníženie systémového krvného tlaku a rozvoj bolesti hlavy.

V PCT publikovanej patentovej prihláške WO 96/34583 sa uvádza, že určité organické nitrity, predovšetkým dinitrity, ako je 1,5-pentándinitrit, sú účinné pri vyvolaní erekcie, dokonca ak sa aplikujú topicky na penis, a v podstate takmer nevykazujú nežiadúce vedľajšie účinky spôsobené systémovou vazodilatáciou. Zistilo sa však, že tieto nitrity dráždia kožné tkanivá a nemôžu byť teda vhodné na rozsiahle terapeutické použitie.

Sú potrebné zlepšené farmaceutické prípravky a spôsoby liečenia impotencie, pri vylúčení nepriaznivých účinkov, ktoré sú známe zo skúseností s postupmi podľa doterajšieho stavu techniky.

Podstata vynálezu

Predložený vynález sa týka lokálneho (topického alebo intrakavernózneho) podávania určitých organických mono- a dinitrátov do penisu na vyvolanie a udržiavanie erekcie so selektívnou lokálnou (kavernóznou) vazodilatáciou a malými alebo žiadnymi "dolnými" systémovými vazodilatačnými účinkami. Vynález sa týka tiež topických a parenterálnych farmaceutických kompozícií obsahujúcich mono- a dinitráty na liečenie impotencie.

Prehľad obrázkov na výkresoch

Obr. 1 predstavuje graf znázorňujúci zmeny objemu penisu v závislosti od dávky dlhodobu spôsobené topickým podávaním 1,5-pentándinitrátu (1,5-PDN) do penisu morčiat.

Obr. 2 predstavuje graf znázorňujúci zmeny objemu penisu v závislosti od dávky dlhodobu spôsobené topickým podávaním 10 % roztoku nitroglycerínu (NTG) do penisu morčiat.

Obr. 3 predstavuje graf znázorňujúci vrcholnú hodnotu zvýšenia objemu penisu spôsobeného topickým podávaním NTG a 1,5-PDN do penisu morčiat.

Obr. 4 predstavuje graf znázorňujúci zmeny objemu penisu morčiat dlhodobu po podaní 5 % 1,5-PDN (približne 2,5 mg v 50 mg topického prípravku) upraveného v rozličných prípravkoch 1) izopropylalkohol, 2) propylénglykol, 3) KY želé a 4) vazelína.

Obr. 5 predstavuje graf znázorňujúci zmeny objemu penisu v závislosti od dávky dlhodobu spôsobené topickým podávaním 1,5-pentándinitritu do penisu morčiat.

Obr. 6 predstavuje stĺpcový diagram znázorňujúci maximálne zmeny priemerného arteriálneho krvného tlaku a kavernózneho tlaku u anestetizovaných potkanov, ktorým sa podávali rozličné dávkové množstvá 1,5-PDN pomocou intrakavernóznej injekcie.

Obr. 7 predstavuje stĺpcový diagram znázorňujúci maximálne zmeny priemerného arteriálneho krvného tlaku a kavernózneho tlaku u anestetizovaných potkanov, ktorým sa podávali rozličné dávkové množstvá NTG pomocou intrakavernózneho iniektora.

Obr. 8 predstavuje stĺpcový diagram znázorňujúci maximálne zmeny priemerného arteriálneho krvného tlaku a kavernózneho tlaku u anestetizovaných potkanov, ktorým sa podávali rozličné dávkové množstvá nitroprusidu sodného (SNP) pomocou intrakavernózneho iniektora.

Obr. 9 predstavuje stĺpcový diagram znázorňujúci maximálne zmeny priemerného arteriálneho krvného tlaku u potkanov pri vedomí, ktorým sa intravenózne podával NTG (30 µg) a 1,5-PDN (30 až 2000 µg). Etanol (EtOH) sa použil na rozpustenie nitrátových zlúčenín a je znázornený jeho účinok na krvný tlak.

Obr. 10 predstavuje graf porovnávajúci vaskulárne relaxačné účinky 1,5-PDN a 1,5-pentándinitritu pri rozličných molárnych koncentráciách, ako sa stanovilo pomocou zníženia tonusu v krúžkoch aorty potkanov prekontrahovaných s fenyfetrínom.

Obr. 11 predstavuje graf porovnávajúci vaskulárne relaxačné účinky 1,5-PDN a NTG pri rozličných molárnych koncentráciách, ako sa stanovilo pomocou zníženia tonusu v krúžkoch aorty potkanov prekontrahovaných s fenyfetrínom.

Obr. 12 predstavuje graf porovnávajúci krvné hladiny celkovej rádioaktivity a 1-5 PDN po jednoduchej orálnej dávke (5,2 mg/kg) ^{14}C -1,5 PDN.

Obr. 13 predstavuje graf porovnávajúci krvné hladiny celkovej rádioaktivity a 1-5 PDN po jednoduchej orálnej dávke (5,0 mg/kg) ^{14}C -1,5 PDN.

Podrobný opis výsledku

Predložený výskum sa týka lokálneho podávania určitých vazodilatačných organických mono- a dinitrátov do penisu, buď použitím topických farmaceutických kompozícií obsahujúcich nitráty (napríklad masť, krém, gél, lotion, kvapaliny,



spreje a podobne) alebo intrakavemóznou injekciou patentérálnych kompozícií obsahujúcich nitráty, na účinnú liečbu mužskej impotencie a erektilnej dysfunkcie u človeka.

Zistilo sa, že použitie určitých organických mono- a dinitrátov sa doteraz nikdy nevyužilo v doterajšom stave techniky na liečenie impotencie a príbuzných stavov a niektoré z nich sú nové zlúčeniny, poskytujúce neočakávané terapeutické výhody v porovnaní s vazodilatačnými činidlami, ktoré sa používali na ten istý účel v doterajšom stave techniky, vrátane veľmi príbuzných vazodilatačných činidiel, ako je nitroglycerín (NTG). Najvýznamnejšou spomedzi týchto neočakávaných výhod je zvýšenie dosiahnutého stupňa tumescencie a podstatné zníženie systémových vazodilatačných účinkov, čo má za následok oveľa menší pokles systémového krvného tlaku, než aký sa vyskytuje pri podávaní NTG a ďalších vazodilatačných činidiel podľa doterajšieho stavu techniky. Kombinácia týchto účinkov spôsobuje, že tieto organické mono- a dinitráty sú účinnejšie a bezpečnejšie ako iné vazodilatačné činidlá, ktoré sa doteraz používali na vyvolanie alebo udržiavanie erekcie. Predmetné organické nitráty môžu byť tiež menej náchylné na to, aby spôsobovali nepriaznivé vedľajšie účinky, ako sú závažné bolesti hlavy, ktoré môže spôsobovať nitroglycerín z dôvodu zníženého systémového účinku.

Nie je známe, prečo topické podávanie organických mono- a dinitrátov podľa vynálezu spôsobuje väčšie zvýšenie objemu penisu než NTG. Uvažuje sa o tom, že rozdiely v aktivite môžu byť vo vzťahu k účinnejšej generácii NO vplyvom dinitrátov v kavernóznom telese alebo vo vzťahu k odlišnej kinetike penetrácie dvoch činidiel, čo neumožňuje významnú periférnu vazodilatáciu, ktorá by mala za následok detumescenciu.

Taktiež sa zistilo, že mono- a dinitrátové zlúčeniny používané podľa predloženého vynálezu sú menej prchavé, chemicky stabilnejšie a menej dráždiace pri topickej aplikácii na kožu ako organické nitrity opísané napríklad v PCT prihláške WO 96/34583.

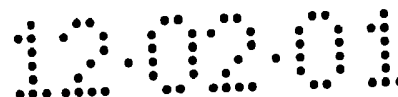
Topické farmaceutické kompozície obsahujúce jednu alebo zmes organických mono- a dinitrátov na použitie podľa predloženého vynálezu, výhodne obsahujú najmenej jednu účinnú nitrátovú zložku v koncentrácii postačujúcej na dodanie od približne 0,1 do 40 mg účinnej nitrátovej zložky na dávku (napríklad na aplikáciu približne 50 až 800 mg topickej kompozície), vo farmaceuticky prijateľnom topickom nosiči alebo vehikule. Takéto vehikulum môže byť vo forme masti, gélu, krému, lotion, kvapaliny, spreju alebo akejkoľvek inej formy známej pre odborníkov vo farmaceutickej oblasti a v oblasti úpravy prípravkov. Vehikulá používané v topických kompozíciách môžu obsahovať akékoľvek konvenčné rozpúšťadlá, zmäkčovadlá, zmäčadlá, povrchovo aktívne látky, kaliace činidlá a farbiace činidlá, činidlá na zvýšenie penetrácie a ďalšie prísady, ktoré sa bežne používajú v topických pomocných látkach. Neaktívne zložky v topických kompozíciách by mali byť chemicky kompatibilné s účinnými nitrátovými zložkami a mali by vykazovať nízky potenciál podráždenia tak, aby sa kompozície mohli bezpečne aplikovať na citlivé oblasti penisu.

Topické nosiče využiteľné pre prípravky kompozícií obsahujúcich mono- alebo dinitráty zahŕňujú napríklad masťové, gélové a krémové bázy obsahujúce bielu vazelinu, parafrínový vosk, diglycerylsukcinát kyseliny kaprylovej/kaprínovej, diizopropyl-adipát a/alebo etoxydiglykol.

Príklady topických nosičov vhodných na použitie s organickými nitrátmi podľa predloženého vynálezu sú uvedené v americkom patente U.S. 5,059,603, ktorý je tu týmto začlenený vo forme odkazu.

Predmetné organické nitráty sa môžu tiež začleniť do pásikov a náplastí, ktoré sa budú aplikovať na penis. Tieto pásiky a náplaste uvoľňujúce liečivo sa môžu pripraviť s použitím technológie, ktorá sa v širokej miere využíva na transdermálne pomocné látky so spomaleným uvoľňovaním obsahujúce kardiovaskulárne (napríklad anti-angínové) liečivá.

Veľký počet rozličných transdermálnych prípravkov, v ktorých sa môžu používať organické nitráty v súlade s predloženým vynálezom opísali Curtis Black, "Transdermal Drug Delivery", U.S. Pharmacist, Nov. 1982, str. 49 - 75, pričom



tento dokument je tu týmto začlenený vo forme odkazu. Okrem toho, exemplárne patenty týkajúce sa dodávacích systémov zahrňujú americké patenty U.S.4,191,015; U.S. 3,742,951; U.S. 4,191,015; U.S. 3,742,951 a U.S. 4,262003, ktoré opisujú použitie činidiel na zvýšenie penetrácie, na regulovanie rýchlosti podávania, pričom tieto dokumenty sú tu zahrnuté vo forme odkazov.

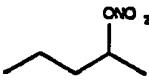
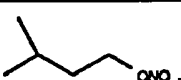
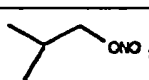
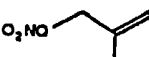
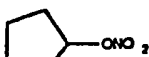
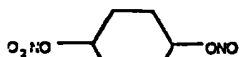
Navyše, topické kompozície obsahujúce nitráty, predovšetkým vo forme mastí alebo gélov, sa môžu naniesť na vnútorný povrch kondómu, napríklad latexového kondómu, ktorý sa môže aplikovať na penis konvenčným spôsobom. Takýto spôsob podávania slúži dvojakému účelu, pričom jednak podporuje erekciu a jednak poskytuje antikoncepčnú ochranu ako aj ochranu pred prenosom chorôb počas pohlavného styku. Alternatívne, pomôcky, ako sú kondómy a penisové krúžky, sa môžu impregnovvať s kompozíciou obsahujúcou nitráty, na dosiahnutie porovnateľného účinku.

Parenterálne vehikulum pre kompozície obsahujúce nitráty podľa predloženého vynálezu zahrňujú roztoky alebo disperzie jednej alebo zmesi organických mono- alebo dinitrátov vo farmaceuticky prijateľnom parenterálnom nosiči. Takéto nosiče môžu zahrňovať nevodné rozpúšťadlá alebo riedidlá, napríklad etanol, benzylalkohol alebo propylénglykol, a môžu tiež zahrňovať rozpúšťadlá, riedidlá alebo stabilizátory, glycerín, povidon, lecitín, sorbitan-monooleát alebo trioleát, polysorbát 80, podzemnicový olej, ricínový olej a ďalšie triglyceridy. Môžu sa tiež použiť lipidové emulzné nosiče. Parenterálne kompozície by mali mať postačujúcu koncentráciu účinnej nitrátovej zložky, aby poskytli približne 0,01 až 1,0 mg mono- alebo dinitrátu na injektovateľnú dávku, pričom uvedená dávka predstavuje približne 0,1 až 0,5 ml parenterálnej kompozície.

Príklady organických nitrátov, o ktorých sa zistilo, že sú využiteľné pri spôsobe podľa vynálezu, sú znázornené v tabuľke 1. Pre každú uvedenú látku je taktiež uvedená analytická čistota, stanovená pomocou plynovej chromatografickej hmotnostnej spektroskopie. Mnohé z týchto organických nitrátov sú nové zlúčeniny, ktoré doteraz neboli syntetizované, ako sa zistilo rozsiahlou rešeršou v literatúre a v počítačových databázach.

Tabuľka 1

Súhrn analógov 1,5-pentándinitrátu

Zlúčenina	Štruktúra	Čistota (%)
2-pentánnitrát		96,7
1,5-pentándinitrát		99,5
1,4-butándinitrát		99,6
1,6-hexándinitrát		98,3
1,7-heptándinitrát		96,2
izoamylitrát		100,0
izobutylitrát		99,8
neopentylitrát		100,0
2-metyl-1-propén-3-nitrát		100,0
2-metyl-2-butén-4-nitrát		100,0
1-pentén-5-nitrát		93,3
Cyklopentylitrát		100,0
1,4-cyklohexyldinitrát		97,6
1-pentánnitrát		99,5

Nasledujúce príklady sú uvedené na ďalšiu ilustráciu kompozícií a spôsobov podľa predloženého vynálezu a organickým mono- a dinitrátovým zlúčeninám,

ktoré sa môžu účinne použiť, okrem iného, pri uskutočňovaní nového spôsobu. Na tieto príklady by sa však nemalo nazerať tak, že poskytujú zlúčeniny, kompozície, prípravky alebo spôsoby podávania, ktoré sa musia výlučne používať pri rozsahu podľa predloženého vynálezu.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

Príprava 1,5-pentándinitrátu

90 % HNO_3 (30 ml) sa po kvapkách za miešania pridalo k roztoku 1,5-pentándiolu (10 g) v H_2O (25 ml). Reakčná zmes sa ochladila (0°C), po kvapkách sa pridala koncentrovaná H_2SO_4 (20 ml) a roztok sa pomaly za konštantného miešania (3 hodiny) nechal zahriať na laboratórnu teplotu. Horná vrstva sa dekantovala, rozpustila v CH_2Cl_2 (70 ml), premyla sa s H_2O (75 ml) a s nasýteným NaHCO_3 (3 x 75 ml), vysušila (bezvodý Na_2SO_4) a zahustila vo vákuu. Zvyšok sa potom predestiloval pri zníženom tlaku, čím sa získal produkt (1,5-PDN) vo forme bezfarebnej kvapaliny.

Zostávajúce dinitráty a určité mononitráty využiteľné pri praktickom uplatňovaní vynálezu, sa môžu pripraviť s použitím syntéz, analogických so syntézou uvedenou vyššie pre 1,5-PDN. Teda napríklad 1,4-butándinitrit sa môže pripraviť s použitím vodného roztoku 1,4-butándiolu, a podobne. Mononitráty, ktoré sa nedajú syntetizovať s použitím spôsobu z príkladu 1, sa syntetizovali ako je uvedené v príklade 2.

Príklad 2

Príprava 2-metyl-1-propén-3-nitrátu

7,41 gramov dusičnanu strieborného sa navážilo do 100 ml baničky s guľatým dnom. Pridalo sa 8 ml acetonitrilu a roztok sa miešal až pokým sa dusičnan strieborný nerozpustil. Ku roztoku dusičnanu strieborného sa pridali 4 ml 3-bróm-2-metylpropénu v 21 ml acetonitrilu. Bezprostredne po pridaní sa vytvorila žltá zrazenina. Reakčná zmes sa miešala ešte počas 30 minút po pridaní, potom

sa prefiltrovala. Ku filtrátu sa pridalo 30 ml vody a zmes sa potom extrahovala s tromi 30 ml podielmi hexánu. Hexánové vrstvy sa spojili a vysušili sa nad síranom sodným. Rozpúšťadlo sa odstránilo pri zníženom tlaku a surový reakčný produkt sa prečistil pomocou frakčnej destilácie, pričom sa získalo 0,9 ml finálneho produktu, 2-metyl-1-propén-3-nitrátu.

Príklad 3

Topická aplikácia nitrátov u morčiat

Skúšobný postup

Šestnásť (16) samcov outbred Hartley morčiat sa odvážilo a zaradilo do pokusných skupín nasledovne:

N	Liečebné činidlo	Dávka
4	1,5-pentándinitrát	3 μ l
4	1,5-pentándinitrát	10 μ l
4	1,5-pentándinitrát	50 μ l
4	Normálny fyziologický roztok	30 μ l

Zvieratá sa umiestnili v polohe na chrbte a udržiavali sa v tejto polohe. Penís sa vytlačil z predkožky. Dbalo sa na to, aby sa s penisom nemanipulovalo. Meranie dĺžky a priemeru sa uskutočnilo s použitím digitálnych posuvných meradiel. Dĺžka sa merala od predkožky po konček žaluďa, pri vytlačení penisu. Priemer sa určil ako 0,5 cm približne od končeka žaluďa.

Vhodné množstvo testovaného materiálu sa aplikovalo s použitím pipety Wiretrol™ na spodnú časť vytlačeného penisu. Keď sa aplikácia ukončila, nastavili sa spínacie hodiny. Meranie sa uskutočňovalo pri 0, 1, 2, 5, 10 a 15 minútach po aplikácii alebo pokým sa pozorovala detumescencia.

Výsledky

Údaje zhromaždené počas tejto štúdie sú graficky znázornené na obr. 1. Kontrola údajov naznačuje, že 1,5-pentándinitrát bol signifikantne účinnejší ako regulácia s fyziologickým roztokom pri zvýšení objemu penisu a že pri použití 1,5-PDN sa pozorovala odozva v závislosti od dávky.



Rovnaký postup sa uskutočnil s topicky aplikovanou sériou rozličných ďalších nitrátových a dinitrátových zlúčenín (v čistej forme) na penis morčiat. Súhrn účinku tejto série nitrátových zlúčenín je znázornený v tabuľke 2, pričom AUC a vrcholné hodnoty účinku pre každú zlúčeninu sa porovnávali s 1,5-PDN.

Tabuľka 2

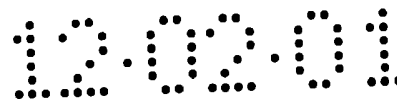
Zlúčenina	AUC	% z 1,5-PDN	Max.účinkok (% zmeny)	% z 1,5-PDN	Doba max. účinku
1,5-pentándinitrát	442	100	38,7	100	5
1,4-butándinitrát	403	91	35,5	92	2
1,6-hexándinitrát	349	79	31,8	82	5
1,7-heptándinitrát	460	104	39,3	102	5
izoamyl-nitrát	309	70	40,3	104	2
neopentyl-nitrát	376	85	45,2	117	2
izobutyl	367	83	38,1	98	2
cyklopentyl-nitrát	380	86	31,8	82	10
2-pentánnitrát	323	73	36,0	93	5
1-pentén-5-dinitrát	309	70	35,4	91	2
2-metyl-2-butén-4-nitrát	305	69	32,6	84	5
1,4-cyklohexyldinitrát	225	51	27,9	72	2
1-pentánnitrát	234	53	25,9	67	2
1-metyl-1-propén-3-nitrát	265	60	28,6	74	5

Všetky z vyššie uvedených zlúčenín mali AUC hodnoty nie menej ako 50 % z AUC hodnoty pre 1,5-PDN. Organické nitrátové zlúčeniny, ktoré mali AUG hodnoty pre topickú účinnosť v tomto živočíšnom modeli rovnú najmenej približne 50 % z AUC hodnoty pre 1,5-PDN bolo možné považovať sa účinné stimulatory erekcie a môžu sa podľa predloženého vynálezu použiť.

Príklad 4

Topická aplikácia nitroglycerínu u morčiat

Skúšobný postup



Postupovalo sa s použitím rovnakého skúšobného postupu ako v príklade 3, avšak pri aplikovaní 10 % roztoku NTG na penis pri rozličných dávkových množstvách.

Dvanásť(12) samcov Hartley morčiat sa zaradilo do ošetrovanej skupiny nasledovne:

N	Liečebné činidlo	Dávka
4	10 % roztok nitroglycerínu	3 μ l
4	10 % roztok nitroglycerínu	10 μ l
4	10 % roztok nitroglycerínu	30 μ l

Výsledky

Údaje zhromaždené počas tejto štúdie sú graficky znázornené na obr. 2. Údaje naznačujú, že NTG mal minimálny účinok na objem penisu v porovnaní s 1,5-PDN. Tento rozdiel je zobrazený na obr. 3, ktorý ukazuje väčší účinok 1,5-PDN pri vytváraní erekcie, ako sa odzrkadľuje prostredníctvom maximálnych zmien objemu penisu.

Príklad 5

Intrakavernózna injekcia dinitrátov u potkanov

Opis modelu potkanov

Potkany sa anestetizovali s barbiturátom s dlhodobým účinkom (Inactin) a do ľavej femorálnej artérie sa zaviedol katéter na meranie systémového krvného tlaku. Oblasť penisu sa vytlačila a do oblasti kavernózneho telesa (pravá holeň) sa vložila ihla na meranie intrakavernózneho tlaku a na intrakavernózne injekčné podávanie liečiva.

Stanovenie "erekcie" potkanov sa uskutočňovalo meraním kavernózneho tlaku. U ľudí a zvierat je tlak spočiatku veľmi nízky (približne 5 až 10 mm Hg), a počas erekcie sa zvyšuje na 60 až 90 % systémového krvného tlaku (v závislosti od druhu a umiestnenia ihly).

Skúšobný postup

Tri skupiny laboratórnych potkanov ($n = 4$ až 7 v každej skupine) sa katetrizovali ako je opísané vyššie, a stanovili sa hodnoty základného vstupného kavernózneho a arteriálneho krvného tlaku. Testované zvieratá dostávali intrakavernózne injekcie NTG alebo ďalších organických NO donorov v roztoku etanolu v rozličných molárnych koncentráciách. Trom skupinám sa podávalo: NTG (skupina 1); 1,5-pentándinitrát alebo etanol placebo (skupina 2); a nitroprusid sodný alebo etanol placebo (skupina 3).

Pre každé zviera sa stanovili maximálne zmeny kavernózneho a arteriálneho krvného tlaku.

Výsledky

Priemerné zmeny kavernózneho a arteriálneho krvného tlaku štyroch testovaných skupín sú znázornené na obrázkoch 6 až 8. Ako je zrejmé z obr. 7, injekcia nitroglycerínu spôsobovala relatívne malé, od dávky závislé zvýšenie intrakavernózneho tlaku a súčasne spôsobovala takmer ekvivalentné systémové ("dolné") zníženie arteriálneho krvného tlaku (t.j. viac ako 30 mm Hg pri najvyššej použitej dávke).

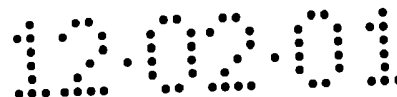
Naopak, ako je znázornené na obrázkoch 6 až 8, injekcia buď organického dinitrátu alebo nitroprusidu sodného spôsobovala väčšie zmeny priemerného intrakavernózneho tlaku u testovaných zvierat, pričom mala malé alebo žiadne účinky na systémový krvný tlak. Avšak nitroprusid sodný nepenetruje cez kožu rýchle a môže vytvárať toxické metabolity kyanidu. Teda nitroprusid sodný sa nemôže použiť ako transkutánne liečivo na liečbu dysfunkcie penisu.

Príklad 6

Intravenózna injekcia NTG *versus* 1.5-pentándinitrátu u potkanov

Skúšobný postup

Potkanom ($n = 3$) s trvalo zavedeným katétrom vo femorálnej artérii na meranie krvného tlaku a žile na podávanie liečiva sa podávala 1 dávka NTG (30 μg) a 6 dávok 1,5-PDN (30 μg až 2000 μg) alebo pomocnej látky (etanol) v stave pri vedomí. Zmeny priemerného arteriálneho krvného tlaku (diastolický krvný tlak +



1/3 (systolicko-diastolický krvný tlak)) sa vyhodnotili po každej dávke podaného nitrátu. Približne 0,5 hodiny až 1 hodina oddeľovalo podávanie každého liečiva a dávky.

Výsledky

Priemerné zmeny v priemernom arteriálnom tlaku NTG a 1,5-PDN sú zobrazené na obr. 9. NTG malo za následok približne 25 % zníženie arteriálneho tlaku zatiaľ čo rovnaká dávka 1,5-PDN spôsobovala iba približne 8 % zníženie krvného tlaku. Vyššie dávky 1,5-PDN poskytli priemerné zníženie krvného tlaku o 12 až 14 %. Tieto zistenia prekvapujúco poskytujú rovnakú vaskulárnu relaxáciu medzi obidvomi liečivami.

Príklad 7

Vaskulárna reaktivita

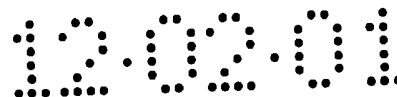
Kružky aorty (2 až 3 mm široké) potkanov Sprague-Dawley sa izolovali a umiestnili sa do tkanivového kúpeľa. Cievy sa prekontrahovali s malými množstvami fenylefrínu. Na zaznamenávanie zmeny tonusu sa použil transduktor pripojený ku zapisovaciemu prístroju. Ako je znázornené na obr. 10, nepozorovali sa žiadne rozdiely vo vaskulárnej relaxácii, či už v intenzite alebo účinnosti, medzi 1,5-PDN a 1,5-pentándinitritom.

V podobnom pokuse sa nezistil žiadny významný rozdiel vo vaskulárnej relaxácii vyvolanej účinkom NTG a 1,5-PDN (obr. 11).

Príklad 8

Priebeh u človeka

Dva 5 % prípravky 1,5-PDN vo vazelíne a KY-JELLY® sa testovali jeden týždeň oddelene na jednom mužskom ľudskom subjekte. V súkromí jeho domova zaznamenal, že vazelínový prípravok poskytoval plnú erekciu v rozsahu niekoľkých minút po topickom podaní približne 10 až 20 mg liečiva do penisu. Prípravok s KY-JELLY® mal za následok menej dramatickú erekciu s približne rovnakou dobou



trvania. S aplikáciou žiadne z liekov neboli spojené bolesti hlavy, čo naznačuje, že sa prejavovala malá dolná systémová vazodilatácia.

Nasledujúce štúdie sa uskutočnili s cieľom stanovenia farmakokinetických parametrov s 1,5-PDN a jeho metabolitov u potkanov, vrátane hladín v krvi po podaní dávky rozličnými cestami a ich metabolizovania.

Príklad 9

Skúšobný postup

Desať samcov potkanov sa nechalo hladovať počas 16 až 18 hodín a potom sa im podala dávka s obsahom 5 mg/kg ^{14}C -1,5-PDN orálne (v kukuričnom oleji) alebo subkutánne (v PEG 400). Krvné vzorky sa odoberali cez chvostovú žilu a zhromažďovali sa vo vopred stanovených časoch až do 24 hodín po podaní dávky. Alikvótna časť každej zhromaždenej vzorky sa odobrala a analyzovala sa na celkovú rádioaktivitu, zostávajúca časť sa extrahovala s acetonitrilom a analyzovala sa pomocou HPLC na kvantitatívne stanovenie 1,5-PDN a .metabolitov.

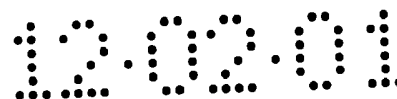
Výsledky

Krvné kinetické údaje pre celkovú rádioaktivitu a 1,5-PDN sú zobrazené na obrázkoch 12 a 13 pre orálne a subkutánne podávané dávky. Údaje ukazujú, že hladiny 1,5-PDN v krvi sú nižšie ako 0,1 % z hladín celkovej rádioaktivity po orálnej dávke a 3,4 % z hladín celkovej rádioaktivity po subkutánnej dávke. Tieto údaje naznačujú, že 1,5-PDN sa veľmi rýchlo metabolizuje *in vivo* a že systémová expozícia zlúčenine je minimálna. Nedostatok signifikantnej systémovej expozície naznačuje, že účinky 1,5-PDN sú pravdepodobne skôr lokálne ako systémové.

Príklad 10

Skúšobný postup

Desať potkanov (päť samcov a päť samíc) sa nechalo hladovať počas 16 až 17 hodín pred intravenóznym, orálnym alebo dermálnym podávaním 5 mg/kg ^{14}C -1,5-PDN. Potkany sa umiestnili do Rothových metabolizačných klietok, aby sa



zabezpečilo oddelené zhromažďovanie moču, výkalov a ^{14}C prchavých podielov zachytávaných do zmesi etanolamín/2-etoxyetanol vo vopred stanovených intervaloch až do 168 hodín po podaní dávky. Po 168 hodinách po podaní dávky sa zvieratá usmrtili vykrvácaním po punkcii srdca a vybrané tkanivá sa odstránili. Krv, plazma, odobrané tkanivá a zvyšné kadavery sa analyzovali na celkovú rádioaktivitu.

Výsledky

Základnou cestou eliminácie intravenózne, orálne alebo dermálne podávanej rádioaktivity ako pre samce tak i pre samice bolo prostredníctvom vydychovania vzduchom vo forme $^{14}\text{CO}_2$ (stanovené pomocou vyzrážania s bárionom). Zvieratá vylučovali približne 60 % z podávanej rádioaktivity vo forme $^{14}\text{CO}_2$, 30 % v moči a 5 % vo výkaloch. Hladiny rádioaktivity v tkanivách sa pohybovali v rozsahu od 0,1 do 1 ppm a predstavovali približne 5 % z dávky. Ošetrená koža pre skupinu s dermálnou dávkou obsahovala iba 1 až 2 % dávky. Tieto údaje naznačujú, že zlúčenina sa veľmi odbore absorbuje ako orálnou tak i dermálnou cestou podávania, a rýchlo a v rozsiahlej miere sa metabolizuje *in vivo*, prevažne na CO_2 . Eliminácia rádioaktivity sa v zásade uskutočňuje prostredníctvom vydychovania vo forme $^{14}\text{CO}_2$. Javí sa, že zlúčenina sa spracováva podobným spôsobom ako u samcov tak i u samíc.

Bolo teda preukázané, že sa tu poskytujú kompozície a spôsoby, ktorými sa dosiahli rozličné zámery vynálezu a ktoré sa môžu vhodne prispôsobiť tak, aby splnili podmienky praktického využitia.

Pretože sa môžu jestvovať rozličné možné uskutočnenia predloženého vynálezu, a pretože v uskutočneniach sa môžu urobiť rozličné zmeny, ako je uvedené vyššie, je potrebné si uvedomiť, že všetky tu opísané skutočnosti je potrebné chápať iba ako ilustratívne a nie v zmysle obmedzenia predloženého vynálezu.

Predmet predloženého vynálezu, ktorý je nový a bude chránený patentovou listinou, je uvedený v nasledujúcich patentových nárokoch.

PATENTOVÉ NÁROKY

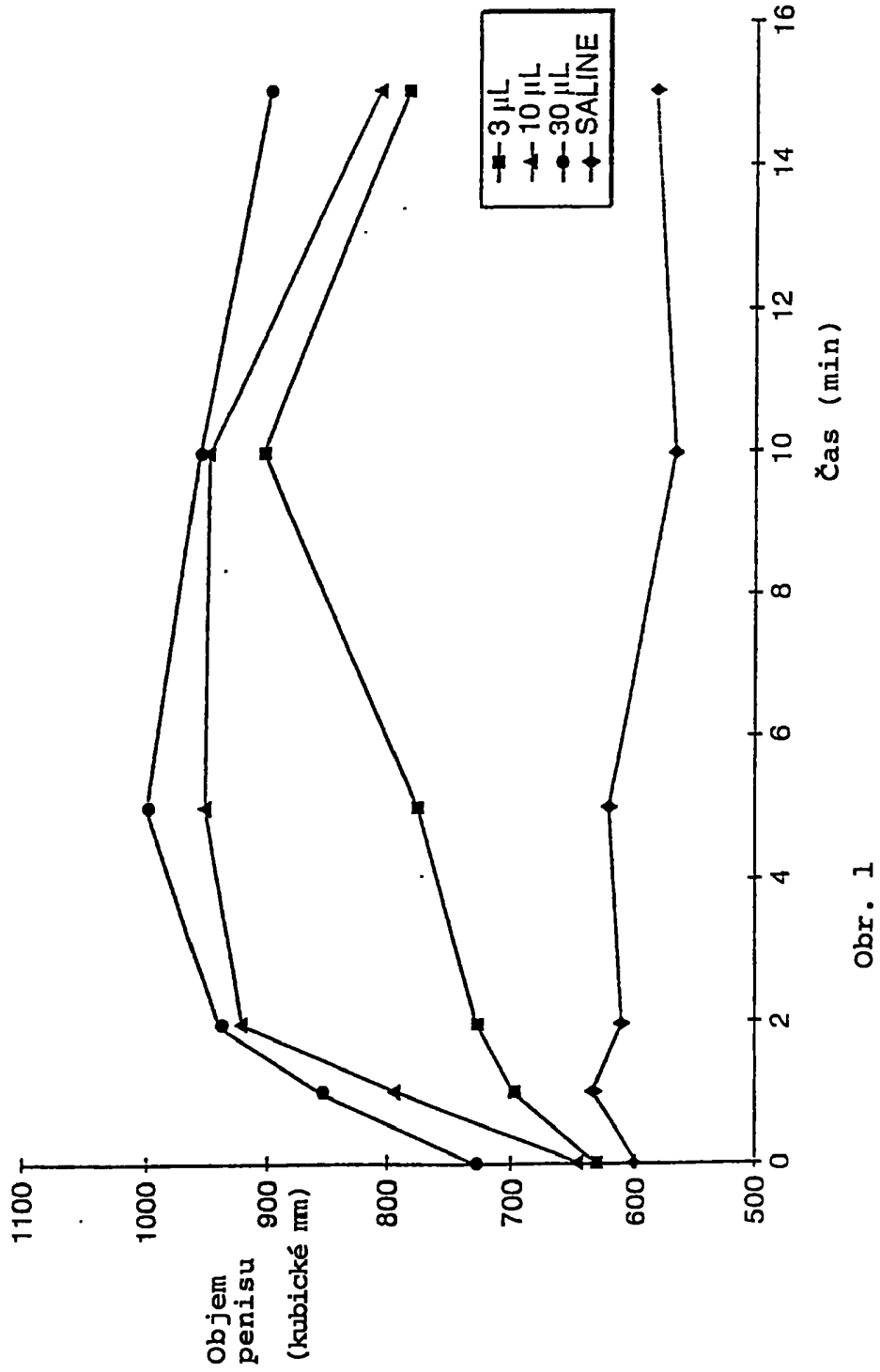
1. Topická farmaceutická kompozícia na liečenie mužskej impotencie alebo erektilnej dysfunkcie, vyznačujúca sa tým, že obsahuje

organický mono- alebo dinitrát, pričom uvedený mono- alebo dinitrát je zvolený zo skupiny zahrňujúcej 1,5-pentándinitrát, 1,4-butándinitrát, 1,6-hexándinitrát, 1,7-heptándinitrát, izoamylitrát, izobutylitrát, neopentylitrát, cyklopentylitrát, 2-pentánnitrát, 1-pentén-5-nitrát a 2-metyl-2-butén-4-nitrát, a

topický nosič vhodný na topické podávanie do penisu.
2. Kompozícia podľa nároku 1, vyznačujúca sa tým, že obsahuje vhodný organický mono- alebo dinitrát na dodanie približne 0,1 mg až 40 mg nitrátu na dávku aplikovanú do penisu.
3. Kompozícia podľa nároku 2, vyznačujúca sa tým, že obsahuje približne 15 mg mono- alebo dinitráta na dávku.
4. Kompozícia podľa nároku 2, vyznačujúca sa tým, že uvedená dávka obsahuje približne 50 až 800 mg topickej kompozície.
5. Kompozícia podľa nároku 1, vyznačujúca sa tým, že obsahuje 1,5-pentándinitrát.
6. Spôsob liečenia mužskej impotencie alebo erektilnej dysfunkcie u človeka, vyznačujúci sa tým, že sa lokálne podáva do penisu farmaceutická kompozícia obsahujúca organický mono- alebo dinitrát vo farmaceuticky prijateľnom topickom alebo parenterálnom nosiči, pričom uvedený mono- alebo dinitrát je zvolený zo skupiny zahrňujúcej 1,5-pentándinitrát, 1,4-butándinitrát, 1,6-hexándinitrát, 1,7-heptándinitrát, izoamylitrát, izobutylitrát, neopentylitrát, cyklopentylitrát, 2-pentánnitrát, 1-pentén-5-nitrát a 2-metyl-2-butén-4-nitrát.
7. Spôsob podľa nároku 6, vyznačujúci sa tým, že uvedená kompozícia sa podáva topickým podávaním alebo intrakavernóznou injekciou.



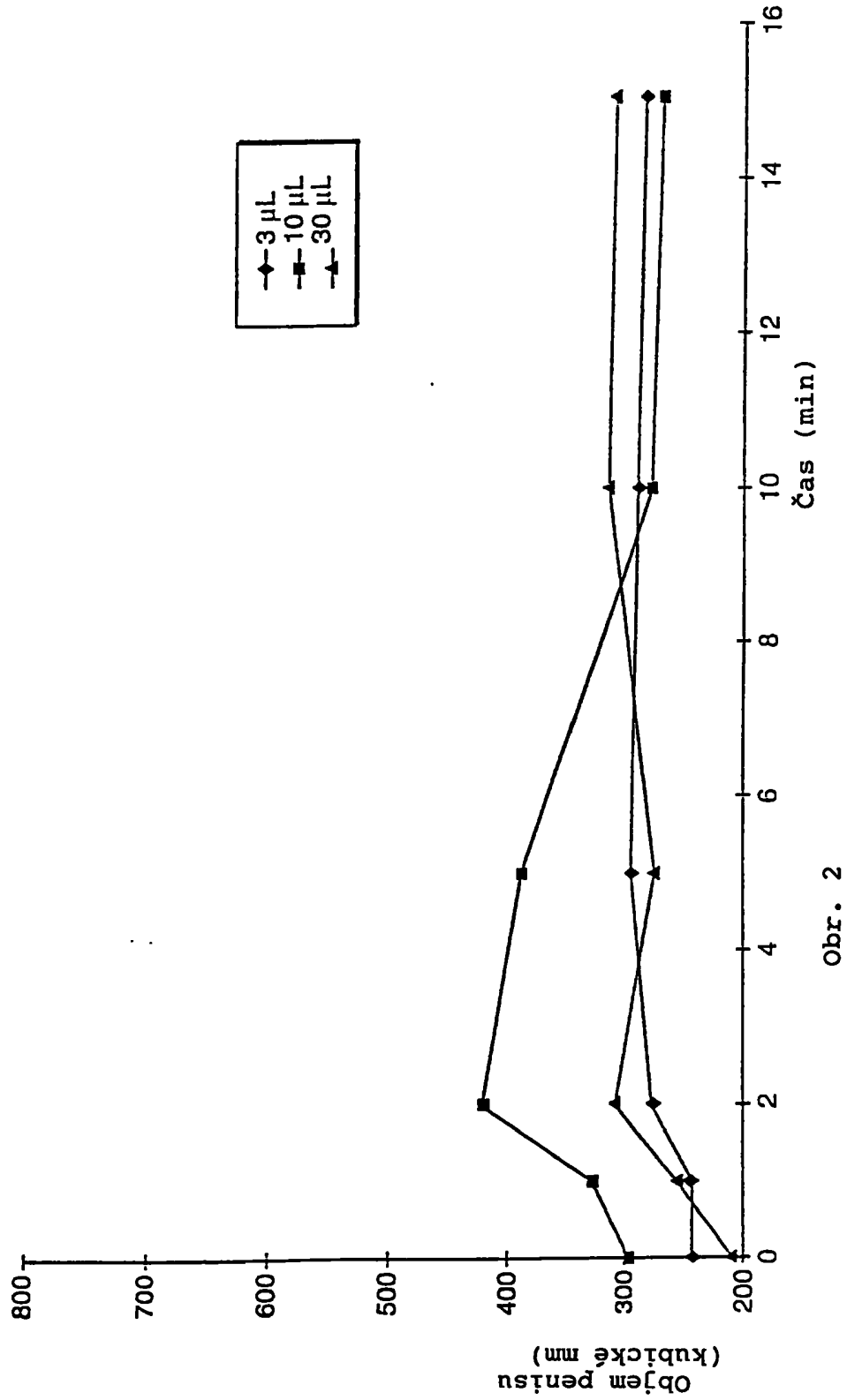
8. Spôsob podľa nároku 6, vyznačujúci sa tým, že uvedená kompozícia sa podáva topicky do penisu.
9. Spôsob podľa nároku 8, vyznačujúci sa tým, že uvedeným nosičom je topický nosič.
10. Spôsob podľa nároku 8, vyznačujúci sa tým, že uvedená kompozícia obsahuje vhodný mono- alebo dinitrát na dodanie približne 0,1 mg až 40 mg nitrátu na dávku aplikovanú do penisu.
11. Spôsob podľa nároku 10, vyznačujúci sa tým, že uvedená kompozícia obsahuje približne 15 mg mono- alebo dinitráta na dávku.
12. Spôsob podľa nároku 9, vyznačujúci sa tým, že uvedená dávka obsahuje približne 15 mg mono- alebo dinitráta na dávku.
13. Spôsob podľa nároku 6, vyznačujúci sa tým, že uvedená kompozícia sa injektuje intrakavernózne.
14. Spôsob podľa nároku 13, vyznačujúci sa tým, že uvedeným nosičom je parenterálny nosič.
15. Spôsob podľa nároku 14, vyznačujúci sa tým, že uvedeným nosičom je nevodné rozpúšťadlo alebo riedidlo.
16. Spôsob podľa nároku 15, vyznačujúci sa tým, že uvedeným rozpúšťadlom alebo riedidlom je etanol alebo propylénglykol.
17. Spôsob podľa nároku 13, vyznačujúci sa tým, že uvedená kompozícia obsahuje vhodný organický mono- alebo dinitrát na dodanie približne 0,1 až 1,0 mg nitrátu na injektovateľnú dávku.
18. Spôsob podľa nároku 17, vyznačujúci sa tým, že uvedená kompozícia obsahuje približne 0,1 až 0,5 ml parenterálnej kompozície.
19. Spôsob podľa nároku 6, vyznačujúci sa tým, že uvedená kompozícia obsahuje 1,5-pentán-dinitrát.



Obr. 1

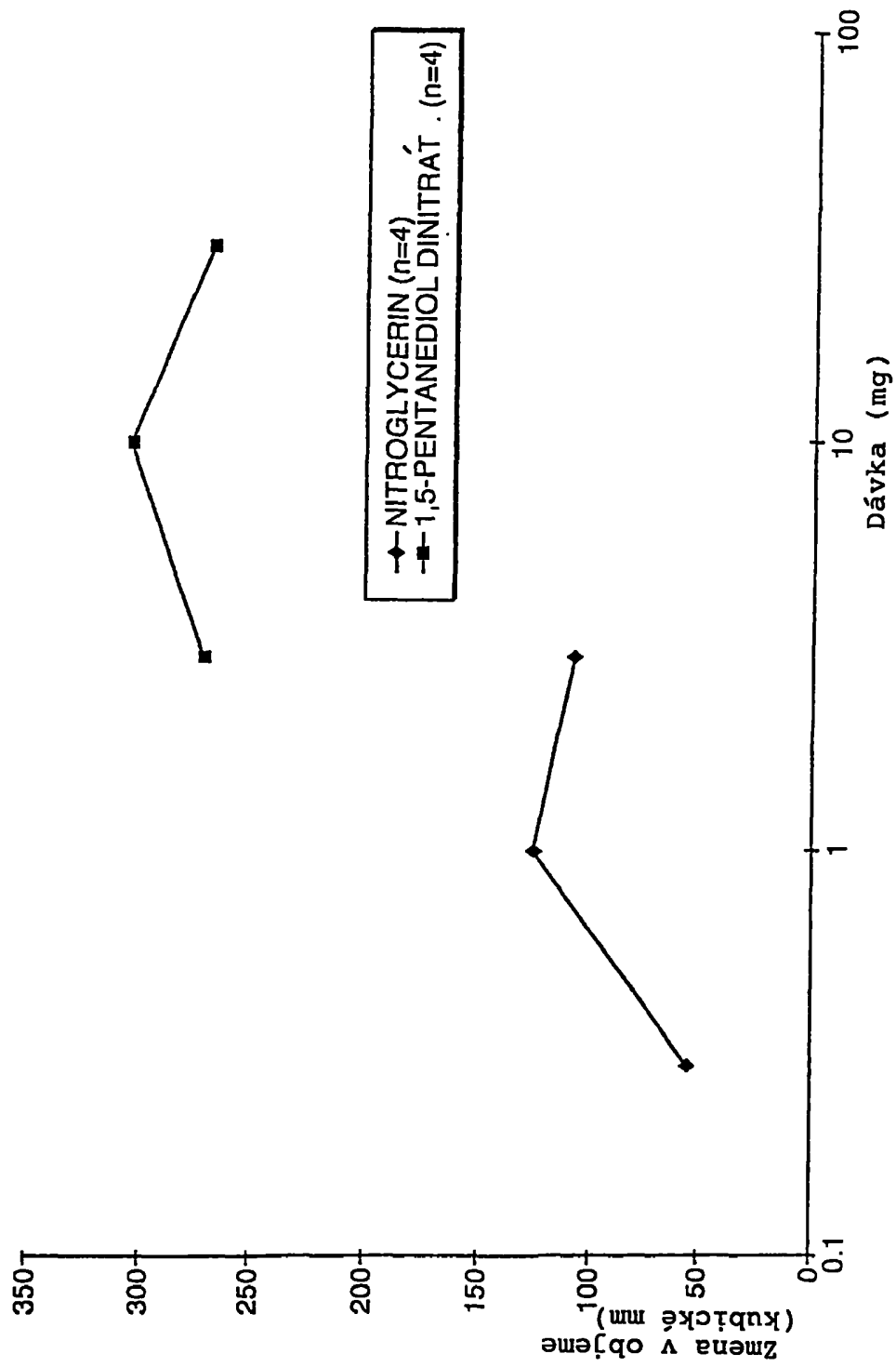
12.02.01

2/13



Obr. 2

3/13

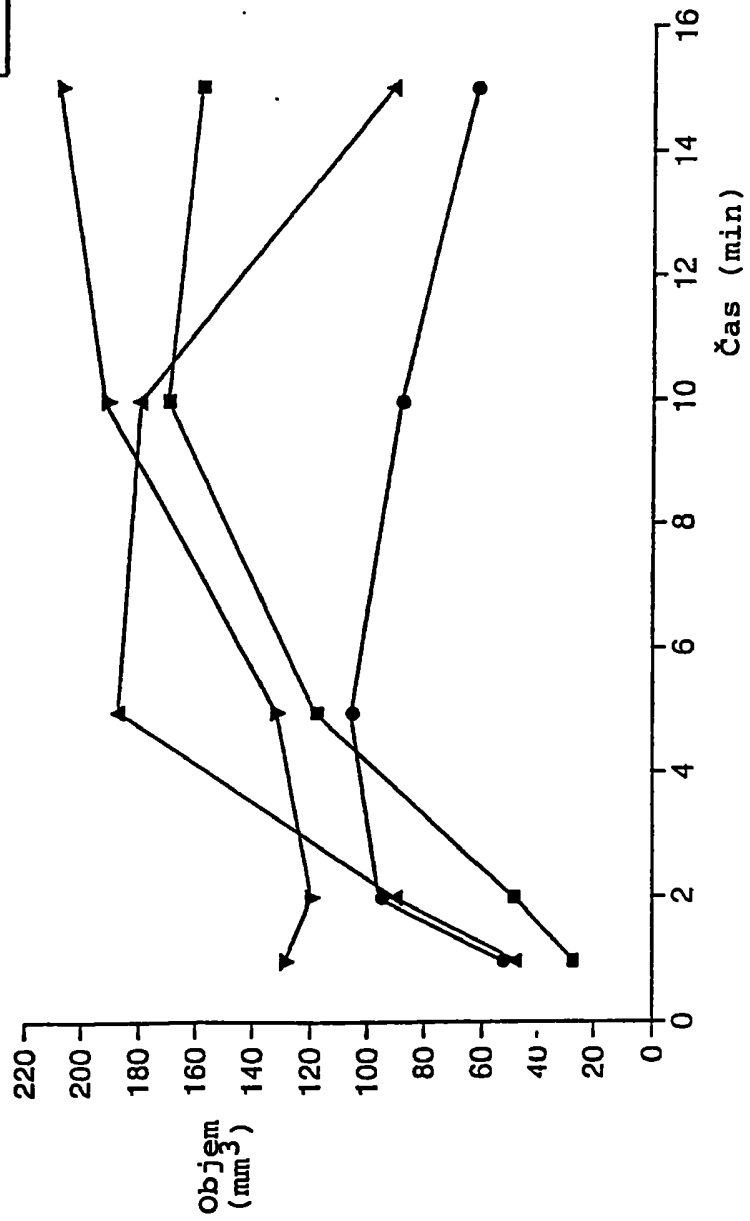


Obr. 3

12.02.01

4/13

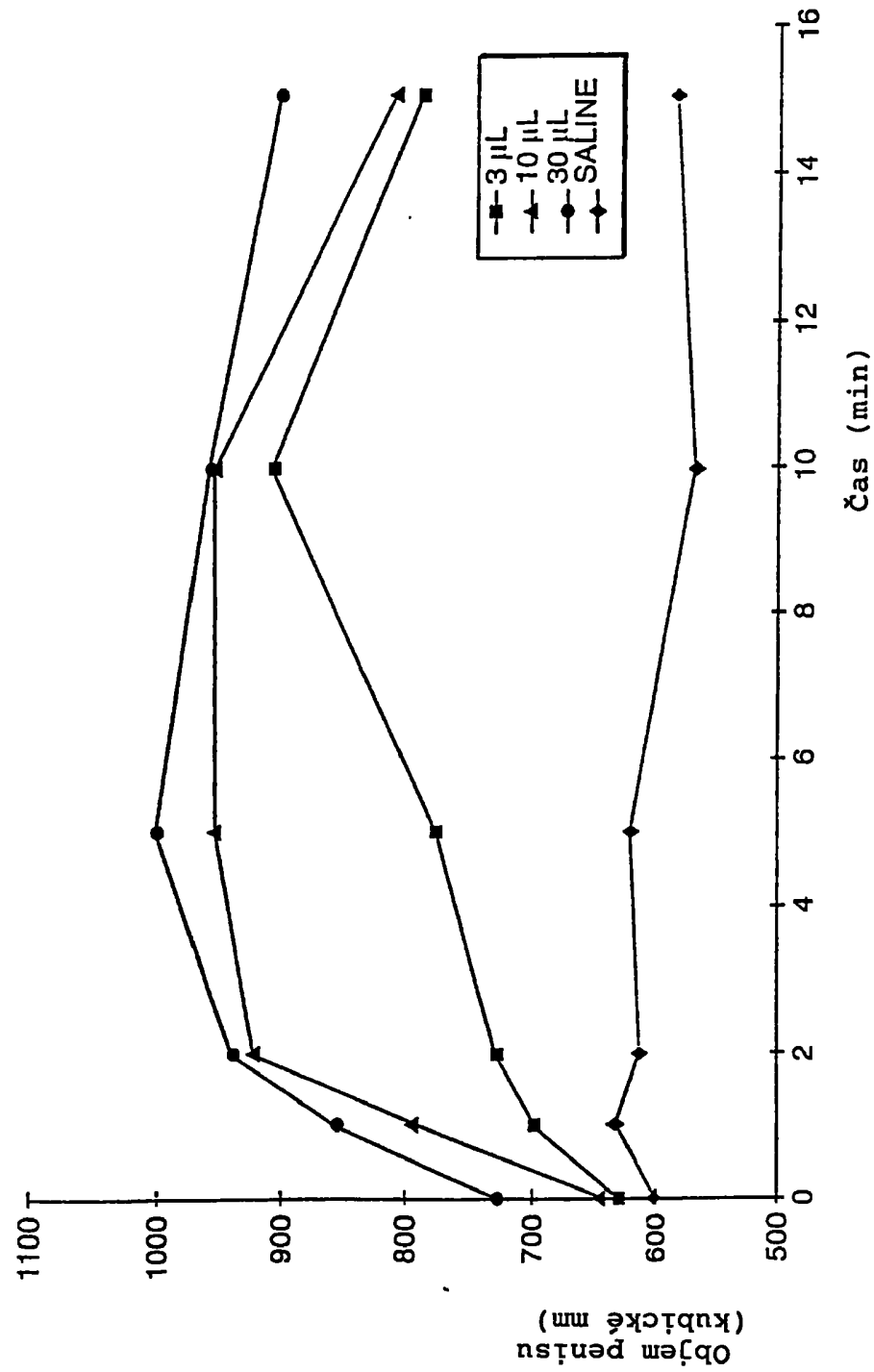
- 50 mg (IPA) (n=4)
- 50 mg (PEG) (n=4)
- ▲ 50 mg (KY) (n=2)
- ▼ 50 mg (PET) (n=1)



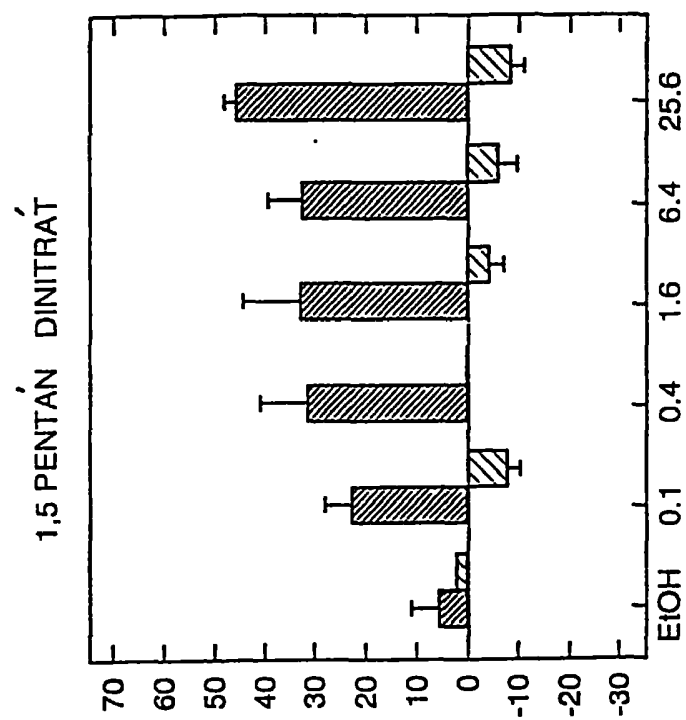
Obr. 4

PI 1445-10
12.02.01

5/13



Obr. 5



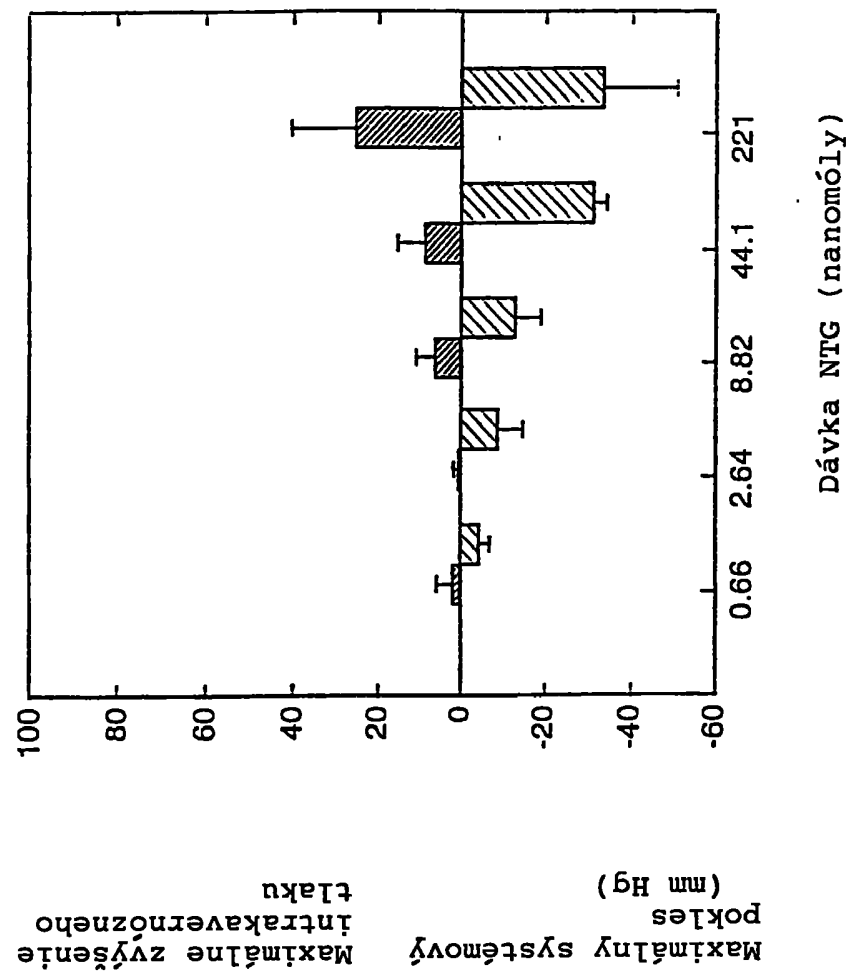
Dávka 1,5-PDN (nanomóly)

Obr. 6

Priemerný arteriálny tlak

Maximálna zmena tlaku

Intrakavernózný tlak

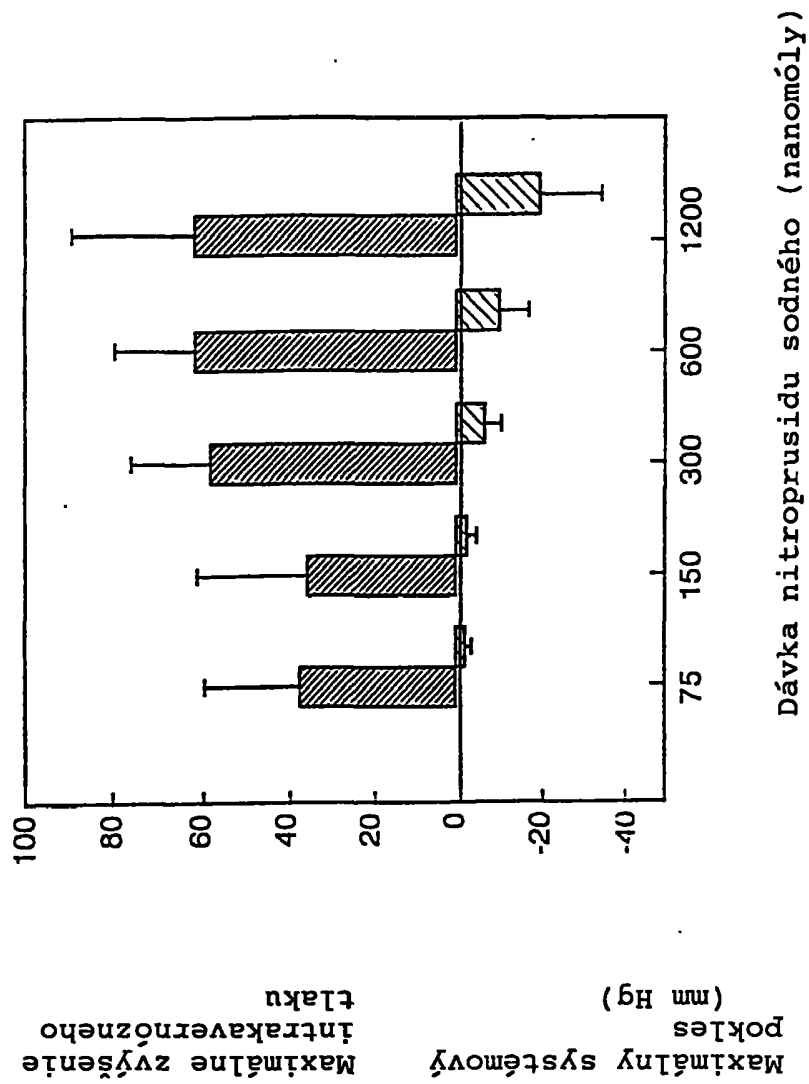


Obr. 7

7/ 14500
12.02.01

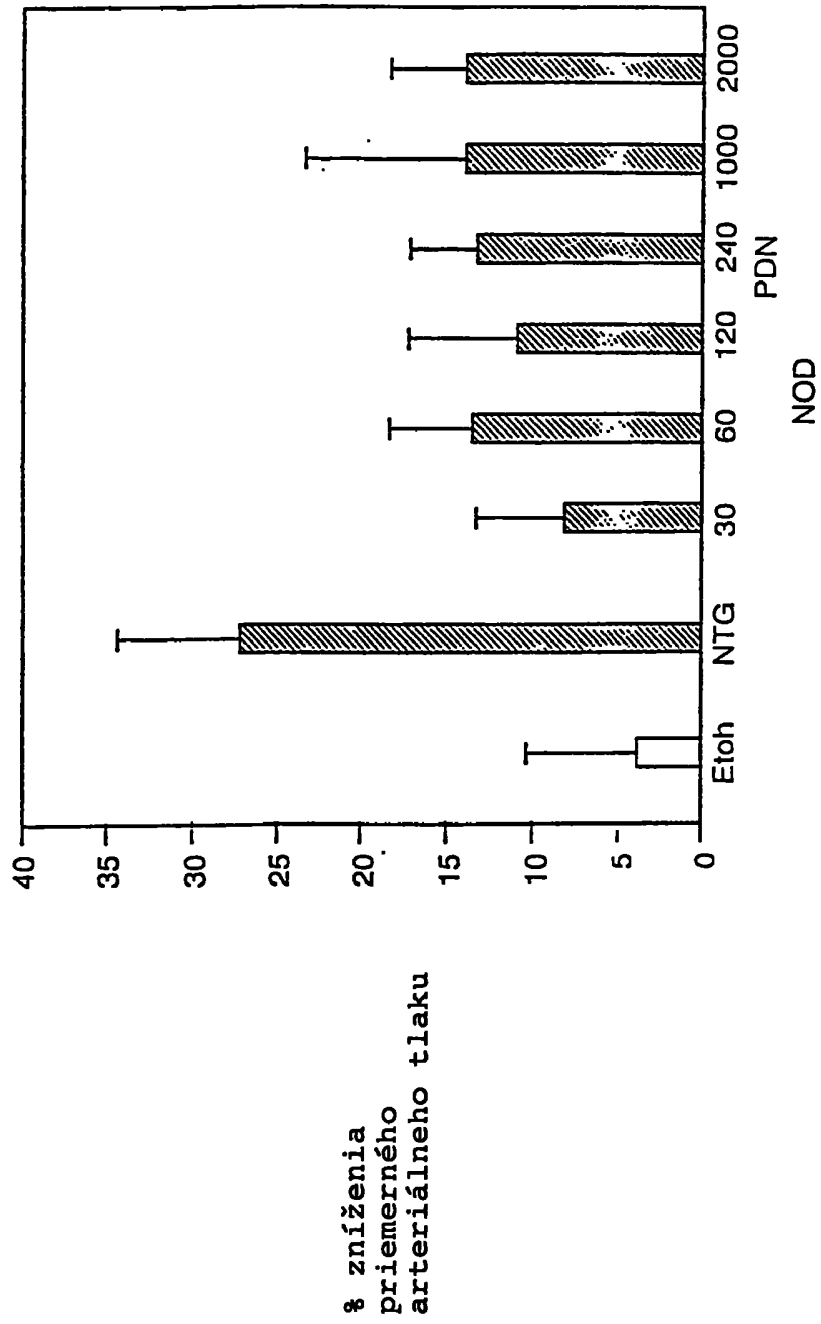
8/13

Obr. 8



Pr 1745-01
100001

9/13



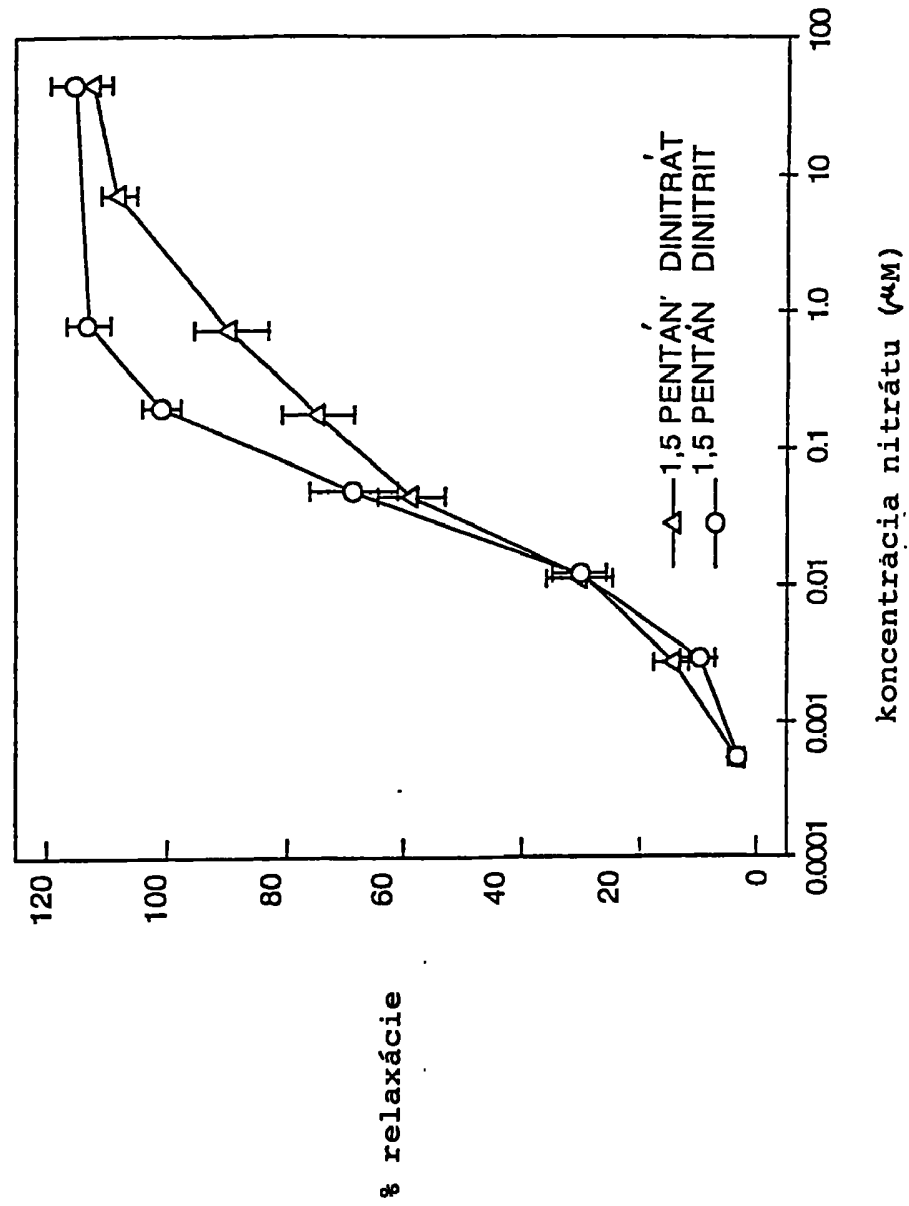
Obr. 9

12.00.01

17.11.50

10/13

Údaje vaskulárnej relaxácie torakálnej aorty
u potkanov

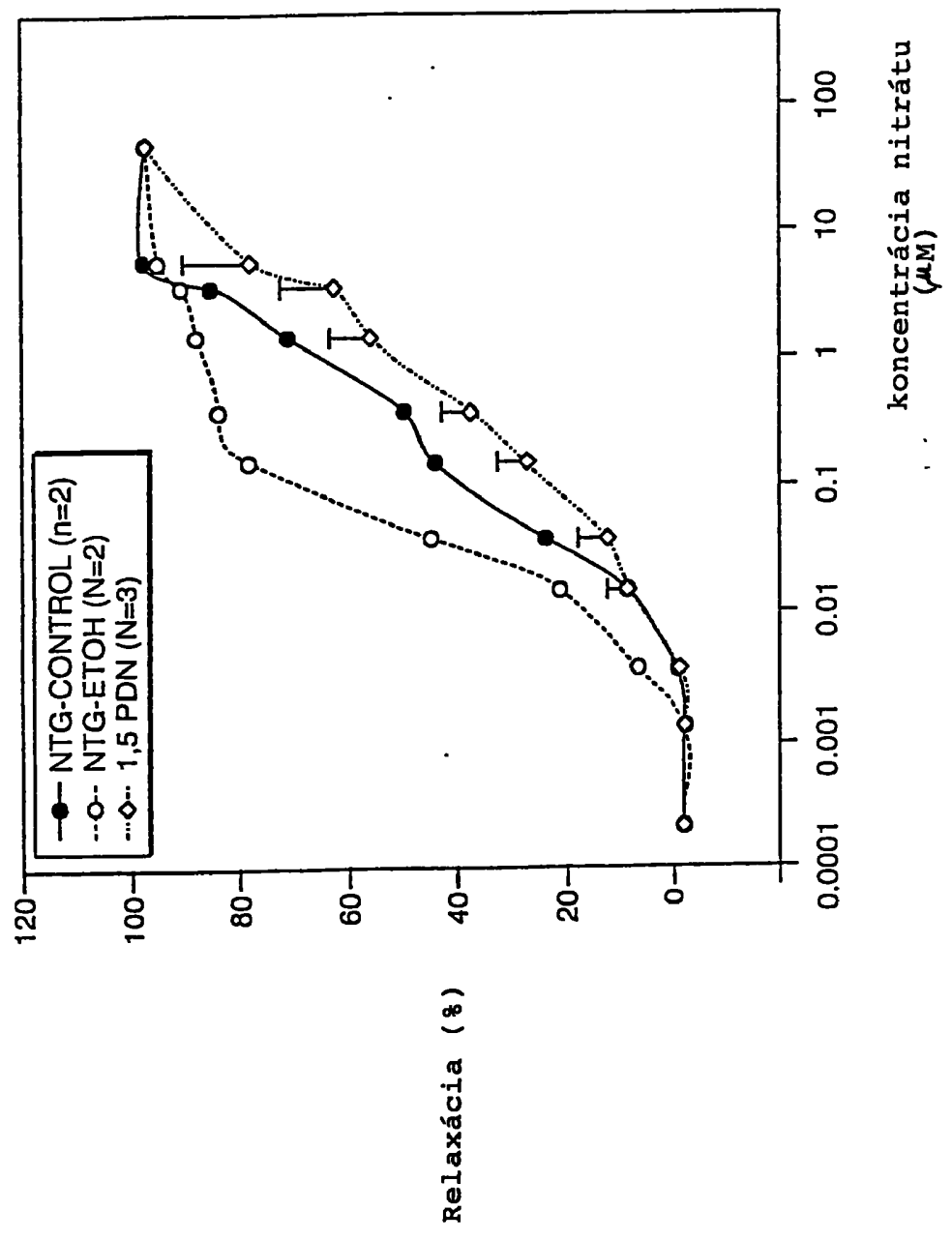


Obr. 10

12.00.01

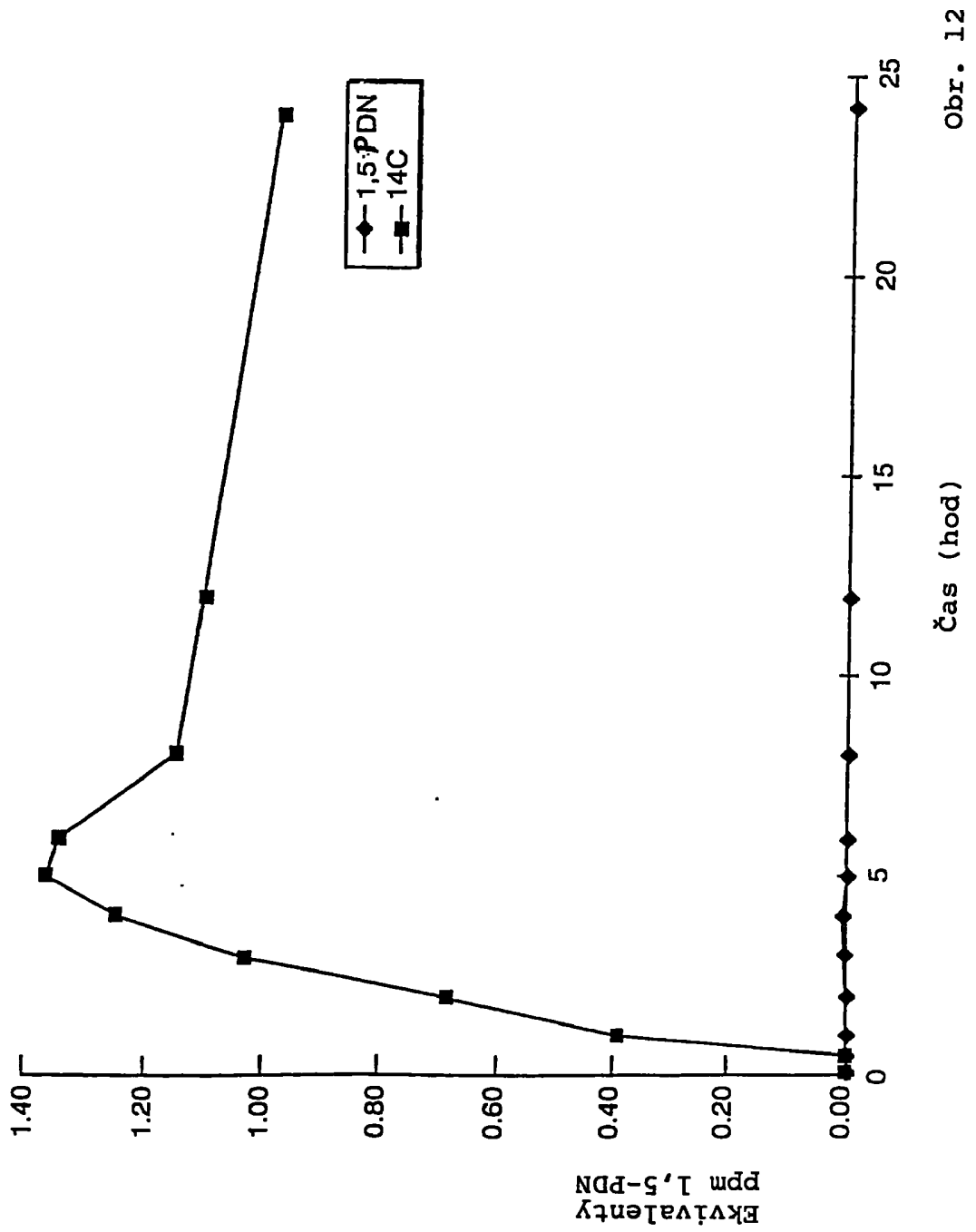
11/13

Obr. 11



7/14-00
12.02.01

12/13



Obr. 12

71 145-11
12.00.01

13/13

