

P04 1614

PDE4 inhibitor és antikolinerg hatóanyagot tartalmazó
gyógyszerkészítmények és alkalmazásuk KIVONAT KÖZZÉTÉTELI PÉLDANY

A találmány pulmonalis betegségeknek, például krónikus obstruktív tüdőbetegségnek (COPD) vagy asztmának egy antikolinerg hatóanyaggal kombinált foszfodiészteráz-4 (PDE4) inhibitor beadásával történő kezelésére vonatkozik. A találmány kiterjed a hatóanyagokat tartalmazó készítményre is.

TR



S. B. G. & K.
Szabadalmi Ügyvivői Iroda
H-1062 Budapest, Andrásy út 113.
Telefon: 461-1000, Fax: 461-1099

PDE4 inhibitor és antikolinerg hatóanyagot tartalmazó
P04 1614 gyógyszerkészítmények és alkalmazások
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

A találmány pulmonalis betegségek tünetei rohamának a megelőzésére vagy csökkentésére, illetve tüdőbetegségek kezelésére vagy tüdőbetegségek súlyosságának a mérséklésére alkalmas kompozíciókra és eljárásokra vonatkozik. Közelebbről a találmány tüdőbetegségeknek egy PDE4 inhibitor és egy antikolinerg hatóanyag, különösen egy M_1 , M_2 , M_1/M_2 vagy M_3 receptor antagonist beadásával történő kezelésére szolgáló kompozíciókra és eljárásokra vonatkozik.

A pulmonalis betegségek kezelésére alkalmas új gyógyszerek azonosítását megnehezíti, hogy a betegség kialakulásáért számos mediátor felelős. Így valószínűtlennek tűnik, hogy egy egyedi mediátor hatásainak a kiküszöbölése lényegi hatást gyakorolna a krónikus asztma valamennyi többi komponensére. A "mediátor megközelítés" egyik alternatíváját a betegség patofiziológiájáért felelős sejtek aktivitásának a szabályozása jelenti. Ennek a megközelítésnek a jelen találmány szerinti megoldása értelmében két regulátort, mégpedig egy PDE4-specifikus inhibitor és egy antikolinerg hatóanyagot alkalmazunk.

A cAMP (ciklikus adenosin-3',5'-monofoszfát) koncentrációk növelése révén a PDE4-specifikus inhibitorok új megoldást kínálnak a sejtregulációhoz. A korábbiakban már kimutatták, hogy a ciklikus AMP egy, a hormonok, neurotranszmitterek és hatóanyagok széles körére adott biológiai válaszokat mediáló második messenger [Krebs Endocrinology Proceedings of the 4th International Congress Excerpta Medica, 17-29 (1973)]. Amikor

a megfelelő agonista hozzákötődik a specifikus sejtfelületi receptorokhoz, adenilát-cikláz aktiválódik, ami fokozott sebességgel alakítja át a Mg^{2+} -ATP-t cAMP-vé.

A ciklikus AMP modulálja a legtöbb, ha nem az összes olyan sejtet, amely hozzájárul az extrinszik (allergiás) asztma patofiziológiájához. Ily módon a cAMP növelése olyan előnyös hatásokat gyakorolhatna, amilyenek — egyebek mellett — például a következők: 1) légúti simaizom relaxáció, 2) mast-sejt mediátor felszabadulás gátlása, 3) neutrofil degranuláció szuppresszálása, 4) bazofil degranuláció gátlása, és 5) monocita és makrofág aktiváció gátlása. Ebből következően azok a vegyületek, amelyek aktiválják az adenilát-ciklázt vagy gátolják a foszfodiészterázt, hatásosan szuppresszálhatnák a légúti simaizom sejtek és különféle gyulladásos sejtek helytelen aktivációját. A cAMP inaktivációja esetén az alapvető sejtmechanizmust a 3'-foszfodiészter kötésnek az a hidrolízise képezi, amelyet a ciklikus nukleotid foszfodiészterázoknak (PDE-k) nevezett izozim család egy vagy több tagja vált ki.

A korábbiakban már kimutatták, hogy a légúti simaizomsejtekben és a gyulladásos sejtekben a cAMP lebontásáért egy megkülönböztetett ciklikus nukleotid foszfodiészteráz (PDE) izozim, nevezetesen a PDE4 felelős [Torphy, "*Phosphodiesterase Isozymes: Potential Targets for Novel Anti-asthmatic Agents*" in *New Drugs for Asthma*, Barnes, ed. IBC Technical Services Ltd. (1989)]. A kutatások azt jelzik, hogy ennek az enzimnek a gátlása nemcsak légúti simaizom relaxációt eredményez, hanem a monociták és neutrofilek gátlása mellett a mast-sejtek, bazo-

filek és neutrofilek degranulációját is szuppresszálja. Ezenkívül a PDE4 inhibitorok előnyös hatásai jelentős mértékben fokozhatók, ha a target sejtek adenilát-cikláz aktivitását megfelelő hormonok vagy autokoidok fokozzák, annak megfelelően, ahogyan az *in vivo* történik. Így a PDE4 inhibitorok, és különösen a PDE4-specifikus inhibitorok hatásosak lehetnének a légzőszervekben (légutakban), ahol a prosztaglandin-E₂ és a prosztaciklin (adenilát-cikláz aktivátorok) szintje fokozott.

Az előbbieken kívül az ilyen vegyületeket kombinált terápiákban is fel lehetne használni, különös tekintettel arra tényre, hogy számos pulmonalis betegség etiológiája sokféle mediátort foglal magában. A jelen találmány pulmonalis betegségek, különösen krónikus obstruktív tüdőbetegség (COPD), asztma vagy hasonló betegségek, például krónikus bronchitis vagy allergiás rhinitis kezelésére szolgáló, egy PDE4 inhibitorból és egy antikolinerg hatóanyagból álló kombinációra vonatkozik.

A találmány első tárgya eljárás pulmonalis betegségekkel kapcsolatos rohamok (exacerbations) megelőzésére, kezelésére vagy mérséklésére, amelynek során egy ilyen kezelést igénylő betegnek egy PDE4 inhibitor és egy antikolinerg hatóanyag hatásos mennyiségét egyetlen kombinált formában, szeparáltan vagy szeparáltan és egymást követően adjuk be, ahol az egymást követő beadások időben közel vagy távol történnek.

A találmány második tárgya kompozíció pulmonalis betegségekkel kapcsolatos rohamok megelőzésére, kezelésére vagy mérséklésére, amely kompozíció hatásos mennyiségben egy PDE4 in-

hibitort, hatásos mennyiségben egy antikolinerg hatóanyagot és egy gyógyászatilag elfogadható vivőanyagot tartalmaz.

A találmány harmadik tárgya eljárás pulmonalis betegségekkel kapcsolatos rohamok megelőzésére, kezelésére vagy mérséklésére alkalmas kompozíciók előállítására, amelynek során egy PDE4 inhibitor és egy antikolinerg hatóanyag hatásos mennyiségét összekeverjük egy gyógyászatilag elfogadható vivőanyaggal.

A találmány negyedik tárgya egy PDE4 inhibitor és egy antikolinerg hatóanyag alkalmazása pulmonalis betegségekkel kapcsolatos rohamok megelőzésére, kezelésére vagy mérséklésére alkalmas olyan gyógyszerek vagy gyógyszer-csomagok előállítására, amelyekkel a hatóanyagokat egyetlen kombinált formában, szeparáltan vagy szeparáltan és egymást követően adjuk be, ahol az egymást követő beadások időben közel vagy távol történnek.

A találmány ötödik tárgya egy PDE4 inhibitor hatásos mennyiségét, egy antikolinerg hatóanyag hatásos mennyiségét és gyógyászatilag elfogadható vivőanyagot tartalmazó kompozíció alkalmazása pulmonalis betegségekkel kapcsolatos rohamok megelőzésére, kezelésére vagy mérséklésére alkalmas gyógyszerkészítmények előállítására.

A találmány szerinti kombinációs terápia során egy PDE4 inhibitort egy antikolinerg hatóanyaggal kombinálva adunk be annak érdekében, hogy krónikus légzőszervi betegségekben szenvedő betegekben megelőzzük egy pulmonalis betegséggel kapcsolatos esemény rohamát, kezeljük egy már meglévő állapotot vagy mérsékeljük az ilyen betegekben előforduló rohamok gya-

koriságát vagy súlyosságát. A vegyületeket beadhatjuk együtt, egyetlen dózisformában. Vagy a vegyületeket beadhatjuk különböző dózisformákban. A vegyületeket beadhatjuk egyidejűleg. Vagy a vegyületeket beadhatjuk egymáshoz közeli vagy egymástól távoli időpontokban, például ahol az egyik hatóanyagot reggel adjuk be, és a második hatóanyagot este adjuk be. A kombinációt felhasználhatjuk profilaktikusan vagy azt követően, hogy a szimptómák rohama már lezajlott. Bizonyos esetekben a kombináció(ka)t felhasználhatjuk egy betegség progressziójának a megakadályozására, vagy egy funkció, például a tüdőfunkció csökkenésének a feltartóztatására. Ezenkívül a kombináció felhasználható arra is, hogy bizonyos pulmonalis betegségek, például a krónikus obstruktív tüdőbetegség (COPD) esetén csökkentsük a rohamok gyakoriságát és/vagy súlyosságát. A kombinációknak a COPD betegekben előforduló rohamok gyakoriságára és súlyosságára kifejtett hatásainak a meghatározási és értékelési eljárásait lásd a 2000. július 27-én benyújtott, 60/221,275 ideiglenes bejelentési számú amerikai egyesült államokbeli függő szabadalmi bejelentésben.

A találmány szerinti megoldásban felhasználható PDE4 inhibitor bármely olyan vegyület lehet, amelyről ismert, hogy gátolja a PDE4 enzimet, vagy amelyről kiderült, hogy PDE4 inhibitorként fejt ki hatást, valamint amely csak vagy lényegében csak PDE4 inhibitor, de nem lehet olyan vegyület, amely a PDE4 mellett a PDE család más tagjait is gátolja. Általában előnyös az olyan PDE4 antagonisták alkalmazása, amelyek körülbelül 0,1 vagy nagyobb IC_{50} aránnyal rendelkeznek, ahol az arány (a

rolipramot nagy affinitással kötő PDE4 katalitikus forma IC_{50} értéke)/(a rolipramot kis affinitással kötő forma IC_{50} értéke) hányadosnak felel meg.

A gyulladás kezelésében és bronchodilatatorokként, teofilinhez és pentoxifillinhez hasonló hatóanyagokként alkalmazott PDE inhibitorok megkülönböztetés nélkül minden szövetben gátolják a PDE izozimeket. Ezeknek a vegyületeknek mellékhatásaik vannak, feltehetően azért, mert az ilyen vegyületek valamennyi szövetben válogatás nélkül gátolják mind az öt PDE izozim osztályt. A megcélzott betegállapot hatásosan kezelhető az ilyen vegyületekkel, de a vegyületek nem várt másodlagos hatásokat mutathatnak, amelyek ha elkerülhetők vagy minimalizálhatók, a vegyületek bizonyos betegségek kezelése esetén növelhetnék a találmány szerinti megoldás teljes terápiás hatását. Például az antidepresszánsként kifejlesztett szelektív PDE4 inhibitor roliprammal végzett klinikai vizsgálatok azt mutatják, hogy a vegyület pszichotrop hatással rendelkezik, ami mellett olyan gastrointestinalis hatásokat is mutat, amilyen például a pyrosis, a nausea és az emesis.

Ismert, hogy a humán monocita rekombináns PDE4-en (hPDE4) legalább két olyan kötőforma van, amelyen az inhibitorok megkötődnek. Ezeknek a megfigyeléseknek az egyik magyarázata az, hogy a hPDE4 két eltérő formában létezik. Az egyik nagy affinitással köti meg a rolipram- és a denbufylline-szerű anyagokat, míg a másik ezeket a vegyületeket kis affinitással köti meg. A találmány szerinti megoldásban történő felhasználás szempontjából előnyösek azok a PDE4 inhibitorok, amelyek hasz-

nos terápiás aránnyal rendelkeznek, azaz az olyan vegyületek, amelyek elsődlegesen a cAMP katalitikus aktivitást gátolják, ahol az enzim abban a formában van, amely a rolipramot kis affinitással köti, miáltal csökkennek azok a mellékhatások, amelyek megjelenése annak a formának a gátlásához kapcsolódik, amely nagy affinitással köti a rolipramot. Másképpen kifejezve, előnyösek azok a vegyületek, amelyek a PDE4 katalitikus formája esetén körülbelül 0,1 vagy nagyobb IC_{50} aránnyal rendelkeznek, ahol az arány (a rolipramot nagy affinitással kötő PDE4 katalitikus forma IC_{50} értéke)/(a rolipramot kis affinitással kötő forma IC_{50} értéke) hányadosnak felel meg.

Ezeket az eljárásokat, illetve módszereket részletesen az 5 998 428. számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás ismerteti.

Legelőnyösebbek azok a PDE4 inhibitorok, amelyek 0,5-nél nagyobb IC_{50} aránnyal rendelkeznek, különösen azok a vegyületek, amelyekben ez az arány 1,0-nél nagyobb.

Előnyös vegyület például a *cisz*-4-ciano-4-[3-(ciklopentil-oxi)-4-metoxi-fenil]-1-ciklohexánkarbonsav vagy más néven cilomilast vagy Ariflo[®], a 2-(metoxi-karbonil)-4-ciano-4-[3-(ciklopropil-metoxi)-4-(difluor-metoxi)-fenil]-1-ciklohexanon és a *cisz*-{4-ciano-4-[3-(ciklopropil-metoxi)-4-(difluor-metoxi)-fenil]-1-ciklohexanol}. Ezek a vegyületek az 5 449 686. és az 5 552 438. számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban ismertetetett eljárásokkal állíthatók elő. A találmány szerinti megoldásban felhasználható további PDE4 inhibitorok, illetve PDE4-specifikus inhibitorok körébe tartoznak — egyebek

mellett — a következők: *N*-(3,5-diklór-4-piridil)-2-[1-(4-fluor-benzil)-5-hidroxi-3-indolil]-2-oxo-acetamid vagy más néven AWD-12-281 (Astra) [Hofgen, N. et al., 15th EFMC Int. Symp. Med. Chem. (Sept. 6-10, Edinburg, 1998), Abst. P.98]; az NCS-613 jelzéssel ellátott 9-benzil-adenin-származék (INSERM); D-4418 (Chiroscience és Schering-Plough); a CI-1018 jelzéssel ellátott benzodiazepin PDE4 inhibitor (PD-168787; Parke-Davis/Warner-Lambert); egy, a WO 99/16766. számon közzétett nemzetközi szabadalmi bejelentésben ismertetett benzodioxol-származék (Kyowa Hakko); V-11294A (Napp) [Landells, L. J. et al., EUR. RESP. J. [Annu. Cong. Eur. Resp. Soc. (Sept. 19-23, Geneva, 1998), 1998, 12 (Suppl. 28); Abst P2393]; roflumilast (Byk-Gulden; CAS hivatkozási szám: 162401-32-3) és pthalazinone (Byk-Gulden; WO 99/47505. számon közzétett nemzetközi szabadalmi bejelentés); valamint a T-440 jelzéssel ellátott vegyület (Tanabe Seiyaku) [Fujii, K. et al., J. PHARMACOL. EXP. THER., 284 (1), 162 (1998)].

A találmány szerinti megoldásban felhazsnálható antikolinerg hatóanyagok olyan vegyületek, amelyek a muszkarin receptornál antagonistá hatást fejtenek ki. Ezek a receptorok elsősorban a postganglionaris parasymphicus idegekkel innervált autonóm effektor sejteken találhatók. Az említett receptorok jelen vannak ezenkívül az agyban, a gangliában és néhány vérsejten, például véredényeken is. A receptor ezen típusával végzett korai vizsgálatok során annak alapján azonosítottak altípusokat, hogy azok a perifériás vagy a központi idegrendszeri sejtekben és szövetekben voltak-e jelen. A két altípust

két agonista, az McN-A-343 és a bethanecol alapján különböztették meg, és "M₁" (ganglinos), illetve "M₂" (effektor sejtek) jelöléssel látták el. Goyal 1988-ban közölt egy összefoglaló áttekintést az említett két receptorral kapcsolatban szerzett addigi ismeretekről [Goyal, R. K., *"Identification, Localization and classification of muscarinic receptor subtypes in the gut"*, LIFE SCI., 43, 2009-2220 (1988)]. A cDNS klónozási technikával végzett későbbi vizsgálatok napjainkig öt eltérő altípust azonosítottak [Bonner et al., SCIENCE, 237, 527-531 (1987)]. A jelen találmány szerinti kezelési metodológia szempontjából elsődleges jelentőségűek az M₁ és M₂ receptorok, valamint ezeknek a receptoroknak az antagonistái. Az ilyen vegyületek példái közé tartoznak a belladonna (nadragulya) alkaloidjai, amilyen például az atropin, a szkopolamin, a homatropin és a hioszciamin (hyoscyamine); ezek a vegyületek szokásosan tercier amin sók formájában kerülnek alkalmazásra. Az említett hatóanyagok, különösen a só formáik számos kereskedelmi forrásból könnyen beszerezhetők, illetve szakirodalmi eljárásokkal egyszerűen előállíthatók:

atropin - CAS-51-55-8 vagy CAS-51-48-1 (vízmentes forma), atropin-szulfát - CAS-5908-99-6, atropin-oxid - CAS-4438-22-6 vagy hidrokloridsója - CAS-4574-60-1, és metil-atropin-nitrát - CAS-52-88-0;

homatropin - CAS-87-00-3, hidrobromidsó - CAS-51-56-9, metil-bromid-só - CAS-80-49-9;

hioszciamin (D,L) - CAS-101-31-5, hidrobromidsó - CAS-306-03-6, és szulfátsó - CAS-6835-16-1;

szkopolamin - CAS-51-34-3, hidrobromidsó - CAS-6533-68-2, metil-bromid-só - CAS-155-41-9.

A belladonna-alkaloidok kvaterner ammóniumszármazékai is felhasználhatók a találmány szerinti kombinációban. Ilyen például az Atrovent néven árusított ipratropium-bromid, ami az atropinnak egy olyan kvaterner ammóniumszármazéka, amelyet úgy állítanak elő, hogy az atropin nitrogénatomjára bevezetnek egy izopropilcsoportot. Az atropinnak egy másik származéka, az oxitropium-bromid egy etilcsoportot hordoz az azabicyclo-[3.2.1]oktil-gyűrű nitrogénjén. Hasonló vegyület a tiotropium (CAS-139404-48-1) és ennek a bromidsója (Spiriva®). Jelentősek továbbá a következő vegyületek is: metántelin (CAS-53-46-3), propántelin-bromid (CAS-50-34-9), anizotropin-metil-bromid vagy Valpin 50 (CAS-80-50-2), klidinium-bromid (Quarzan, CAS-3485-62-9), kopirrolát (Robinul), izopropamid-jodid (CAS-71-81-8), mepenzolát-bromid (2 918 408. számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás), tridihexetil-klorid (Pathilone, CAS-4310-35-4), valamint hexociklium-metil-szulfát (Tral, CAS-115-63-9). Lásd még: ciklopentolát-hidroklorid (CAS-5870-29-1), tropikamid (CAS-1508-75-4), trihexifenidil-hidroklorid (CAS-144-11-6), pirenzepin (CAS-29868-97-1), telenzepin (CAS-80880-90-9), AF-DX 116 vagy metoktramin.

Ezek a vegyületek kereskedelmi forrásokból beszerezhető termékek. Ezenkívül a vegyületeket bizonyos részletek ismertetésével leírják a következő helyen: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Ninth Ed., 1996, McGraw-Hill, pp. 586-591. A vegyületek még részletesebb leírása a kö-

vetkező helyen olvasható: *The Physicians Desk Reference*, Vol. 54, 2000, Medical Economic Co., Montvale, NJ, USA. Mindkét hivatkozott szakirodalom megfelelő tájékoztatást nyújt az egyes vegyületekről, adagolásukról és beadási módjukról, formálási példáikról, valamint a CAS (Chemical Abstracts System) számozásukról, illetve a mepenzolát-bromid esetén a vonatkozó amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásról.

Az említett antikolinerg hatóanyagok közül egyet vagy többet egy vagy több PDE4 inhibitorral együtt alkalmazhatunk a megelőzéshez vagy a kezeléshez.

Kívánt, illetve megfelelő esetben az előbbieken említett valamennyi vegyületet alternatív, gyógyászatilag elfogadható származékai, például sói és észterei formájában is alkalmazhatjuk.

A hatóanyagokat általában orális készítmények, vagy nasalis sprayk vagy aeroszolok, illetve inhalált porok formájában adjuk be. A találmány magában foglalja a két hatóanyag együttes beadását is egyetlen adagolási formából, például inhalátorból, amely esetben a két hatóanyagot ugyanabban az inhalátorban helyezzzük el. Alternatív módon eljárhatunk úgy is, hogy a PDE4 inhibitort pirulákká formáljuk, és a pirulákat egy, az antikolinerg hatóanyagot tartalmazó inhalátorral együtt csomagoljuk.

Az orális beadáskor aktív találmány szerinti vegyületeket és gyógyászatilag elfogadható sókat szirupokká, tablettákká, kapszulákká, szabályozott hatóanyag-leadású készítményekké, gyógycukorkákká vagy inhalálható készítményekké formálhatjuk.

A szirupkészítmények általában a vegyületnek vagy sójának egy folyékony hordozóval, például etanollal, mogyoróolajjal, glicerinnel vagy vízzel készített szuszpenziójából vagy oldatából, valamint ízesítő- vagy színezőszerekből állnak. Ahol a kompozíció tablettáformában van, a szilárd készítmények előállítására szokásosan alkalmazott bármilyen gyógyszerészeti hordozót felhasználhatunk. Az ilyen hordozók körébe — egyebek mellett — például a következők tartoznak: magnézium-sztearát, gipsz, talkum, zselatin, akácmézga, sztearinsav, keményítő, laktóz és szacharóz. Ahol a kompozíció kapszulaformában van, bármely szokásos kapszulázási módszert felhasználhatjuk, például az előbbi hordozók alkalmazásával előállított kompozíciót kemény zselatin kapszulahéjba tölthetjük. Ahol a kompozíció lágy zselatin kapszula formájában van, a diszperziók vagy szuszpenziók előállítására szokásosan alkalmazott gyógyszerészeti hordozókat használhatunk, amilyenek — egyebek mellett — például a vizes gumik, cellulózok, szilikátok vagy olajok, majd az így előállított kompozíciókat lágy zselatin kapszulákba építjük be.

A jellegzetes inhalációs kompozíciók száraz porok, oldatok, szuszpenziók vagy emulziók formájában vannak. A beadás például szárazpor-inhalátorral (például az 5 590 645. számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban ismertetett egységdózis-inhalátorokkal vagy többdózisú inhalátorokkal), vagy porlasztással, illetve túlnyomásos aeroszolokkal végezhető el. A száraz por kompozíciók általában tartalmaznak egy vivőanyagot, például laktózt, trehalózt vagy keményítőt. A

porlasztásra alkalmas kompozíciók vivőanyagként általában vizet tartalmaznak. A túlnyomásos aeroszolok jellemzően egy olyan propellánst (hajtógázt) tartalmaznak, amilyen például a difluor-diklór-metán, a fluor-triklór-metán vagy még előnyösebben az 1,1,1,2-tetrafluor-etán, az 1,1,1,2,3,3,3-heptafluor-n-propán, illetve az előbbiek keverékei. A túlnyomásos aeroszol készítmények például (esetenként szolubilizálószer, például etanolt tartalmazó) oldatok vagy szuszpenziók formájában lehetnek, amelyek például vivőanyagmentesek lehetnek vagy vivőanyagokat, köztük felületaktív anyagokat és/vagy társoldószereket (például etanolt) tartalmazhatnak. A száraz por kompozíciókban és a szuszpenziós aeroszol kompozíciókban a hatóanyag előnyösen inhalálásra alkalmas méretű [jellemzően $20\text{ }\mu\text{m}$ -nél kisebb, például $1\text{--}10\text{ }\mu\text{m}$, különösen $1\text{--}5\text{ }\mu\text{m}$ közepes tömegátmérőjű (MMD)]. A szükséges méretcsökkentés például mikronizációval végezhető el.

A túlnyomásos aeroszol kompozíciókat általában szeleppel, különösen adagoló szeleppel ellátott fémtartályokba töltjük. A fémtartályokat adott esetben bevonhatjuk műanyagokkal, például a WO 96/32150. számon közzétett nemzetközi szabadalmi bejelentésben ismertetett fluor-karbon polimerekkel. A fémtartályokat egy buccalis bejuttatásra adaptált működtető szerkezetbe illesztjük.

A nasalis bejuttatásra alkalmas jellegzetes kompozíciók körébe tartoznak az előbbieken említett inhalációs készítmények, valamint az olyan, nasalis pumpákkal beadható, nem túlnyomásos kompozíciók, amelyek inert vivőanyaggal, például víz-

zel készített és adott esetben hagyományos vivőanyagokat, például puffereket, mikrobaellenes hatóanyagokat, tónusmódosító anyagokat és viszkozitásmódosító anyagokat tartalmazó oldatok vagy szuszpenziók formájában vannak.

A jellegzetes dermalis és transdermalis készítmények hagyományos vizes vagy nemvizes vivőanyagból, például krémekből, kenőcsökből, lóciókból vagy pasztákból állnak, vagy hatóanyagot tartalmazó flastrom, tapasz vagy membrán formájában vannak.

A kompozíció előnyösen egységdózisformában, például tablettá, kapszula vagy adagolt aeroszol formájában van, így a beteg be tud adni magának egyetlen dózist.

Minden egyes orális beadásra szolgáló dózisegység alkalmasan 0,3-60 mg/kg és előnyösen 1-30 mg/kg mennyiségben tartalmaz egy vegyületet vagy tartalmazza egy vegyület gyógyászatiilag elfogadható sóját. COPD kezelése esetén a dózis előnyösen 10-15 mg/kg. Minden egyes parenteralis beadásra szolgáló dózisegység alkalmasan 0,1-100 mg/kg mennyiségben tartalmaz egy vegyületet vagy tartalmazza egy vegyület gyógyászatiilag elfogadható sóját. Minden egyes intranasalis beadásra szolgáló dózisegység aktiválásonként alkalmasan 1-400 µg és előnyösen 10-200 µg hatóanyagot tartalmaz. Egy topikális készítmény alkalmasan 0,001-5,0 tömeg% koncentrációban tartalmaz egy találmány szerinti vegyületet. A hatóanyagot a kívánt aktivitás eléréséhez elegendő gyakorisággal, például naponta 1-6 alkalommal adhatjuk be. A hatóanyagot előnyösen naponta 1-2 alkalommal adjuk be.

A találmány szerinti megoldás értelmében beadhatjuk mindkét hatóanyagot egyidejűleg vagy egymáshoz nagyon közeli időpontokban. Egy alternatív megoldás értelmében az egyik hatóanyagot reggel adjuk be, a másikat pedig a nap folyamán később. Egy további lehetőség szerint az egyik hatóanyagot naponta kétszer, a másikat pedig naponta egyszer, vagy a naponta kétszer beadott hatóanyaggal egyidejűleg, vagy szeparáltan adjuk be. Előnyösen mindkét hatóanyagot együtt, ugyanazon időpontban, még előnyösebben egy keverék formájában adjuk be.

Az alábbi példák a találmány illusztrálására szolgálnak. A példák a találmány oltalmi körét, illetve terjedelmét nem korlátozzák. A találmány oltalmi körét, illetve terjedelmét a szabadalmi igénypontok határozzák meg.

Példák

A következő nyolc vizsgálatban öt speciést alkalmaztunk a körülbelül legalább 0,1 IC₅₀ arányú vegyületek kiválasztását elősegítő adatok megszerzéséhez. A vizsgálatok a következők voltak: az izolált nyúl parietalis mirigyből történő savtermelés stimulálása; az FMLP-indukált degranuláció (mieloperoxi-dáz-felszabadulás) gátlása humán neutrofilekben; az FMLP-indukált O₂⁻ képződés gátlása tengerimalac eozinofilekben; az LPS-indukált TNF_α képződés gátlása humán monocitákban; hányás (emesis) kiváltása kutya-kban; az antigén-indukált bronchoconstrictio gátlása tengerimalacokban; a rezerpin-indukált hypothermia visszafordítása egerekben; és az az LPS-indukált TNF_α képződés gátlása egerekbe adoptívan transzferált humán mono-

citákban. A vizsgálatokat és az adatokat az alábbiakban ismertetjük.

Statisztikai analízis

Annak a hipotézisnek a vizsgálatához, amely szerint a kis affinitású helyű PDE4 gátlása ezen vegyületosztály gyulladásellenes hatásaival áll kapcsolatban, míg a nagy affinitású hely gátlása bizonyos mellékhatások kialakulásával kapcsolatos, különböző PDE4 inhibitorok esetén meghatároztuk, hogy az inhibitorok milyen mértékben képesek blokkolni a sejtműködést *in vitro* és *in vivo*, valamint *in vitro* és *in vivo* modellekben meghatároztuk azt is, hogy az említett vegyületek milyen mértékben hoznak létre mellékhatásokat. Annak érdekében, hogy összehasonlíthassuk a PDE4 inhibitoroknak egy adott terápiás hatást vagy mellékhatást kifejtő képességét a vegyületek azon képességével, amellyel a PDE4 kis affinitású helyét, illetve a PDE4 nagy affinitású helyét gátolják, az *in vitro* és *in vivo* vizsgálatokban az (r^2) lineáris korrelációval vagy a sorrendi (Spearman-féle Ró) korrelációval összehasonlítottuk a vegyületek hatásereőségét az izolált enzim katalitikus aktivitással, illetve a nagy affinitású hellyel szembeni hatásereőségével. A lineáris korrelációval azt határozhatjuk meg, hogy egy vegyületnek a kis affinitású helyet vagy a nagy affinitású helyet gátló hatásereősége felhasználható-e annak az előzetes valószínűsítésére, hogy a vegyület képes-e kifejtteni egy adott gyulladásellenes vagy mellékhatást. A sorrendi korrelációval azt teszteljük, hogy egy adott gyulladásellenes hatás vagy mellékhatás létrehozásának a sorrendi potenciája hasonlít-e a

kis affinitású hely vagy a nagy affinitású hely gátlásának a sorrendi potenciájához. Az r^2 és a Spearman-féle R_0 értékeket egyaránt a Macintosh STAT View II számítógépes programmal számítottuk ki.

PDE4 versus rolipram nagy affinitású kötés

1. példa

Foszfodiészteráz és rolipram kötési vizsgálatok

1A. példa

Meghatároztuk, hogy az izolált humán monocita PDE4 és a hrPDE (humán rekombináns PDE4) elsődlegesen a kis affinitású formában van. Így a szubsztrátként $1 \mu\text{M}$ [^3H]cAMP alkalmazásával végzett standard PDE4 katalitikus aktivitás vizsgálatok alkalmazásával értékelhetjük a tesztvegyületeknek a PDE4 kis affinitású formájával szembeni aktivitását [Torphy et al., J. OF BIOL. CHEM., 267 (3), 1798-1804 (1992)].

Proteinforrásként patkányagy nagy sebességű felülúszókat használtunk. $25,6 \text{ Ci/mmol}$ fajlagos aktivitású [^3H]-rolipram enantiomereket állítottunk elő. Az ismert eljárás [Torphy et al., J. OF BIOL. CHEM., 267 (3), 1798-1804 (1992)] standard vizsgálati körülményeit úgy módosítottuk, hogy azonosak legyenek a PDE vizsgálati körülményeivel, kivéve a cAMP utolsó esetében: 50 mM Tris HCl (pH 7,5), 5 mM MgCl_2 , és 1 nM [^3H]-rolipram. A vizsgálatot egy órán át 30°C -on végeztük. A reakciót leállítottuk, majd egy Brandel sejtleválasztó alkalmazásával elválasztottuk a kötött ligandot a szabad ligandtól. A nagy affinitású kötőhely esetén a versengést ugyanolyan körülmények között értékeltük, mint amilyeneket a kis affinitású PDE akti-

vitás mérésére alkalmaztunk, kivéve, hogy [^3H]-cAMP és 5'-AMP nem volt jelen.

1B. példa

A foszfordiészteráz aktivitás mérése

A PDE aktivitást [^3H]cAMP szcintillációs közelségi vizsgálattal (scintillation proximity assay, SPA) vagy [^3H]cGMP SPA enzim vizsgálattal, a gyártó (Amersham Life Sciences) használati utasításának megfelelően vizsgáltuk. A reakciókat 96-vájatú lemezekben, szobahőmérsékleten, 0,1 ml reakciópufferben hajtottuk végre, ahol a puffer összetétele a következő volt (végkoncentrációk): 50 mM Tris-HCl, pH 7,5, 8,3 mM MgCl_2 , 1,7 mM EGTA, [^3H]cAMP vagy [^3H]cGMP (hozzávetőleg 2000 dpm/pmol), enzim és az inhibitorok változó koncentrációi. A vizsgálatot egy órán keresztül folytattuk, majd 50 μl SPA ittrium-szilikátgyöngy cink-szulfát jelenlétében végzett hozzáadásával leállítottuk a reakciót. A lemezeket összeráztuk, majd 20 percen keresztül szobahőmérsékleten állni hagytuk. A radioizotóppal jelzett termék képződését szcintillációs spektrometriával értékeltük. A PDE3 és a PDE7 aktivitását 0,05 μM [^3H]cAMP alkalmazásával értékeltük, míg a PDE4-et szubsztrátként [^3H]cAMP-vel mértük. A PDE1B, a PDE1C, a PDE2 és a PDE5 aktivitását szubsztrátként 1 μM [^3H]cGMP alkalmazásával határoztuk meg.

[^3H]R-rolipram kötési vizsgálat

A [^3H]R-rolipram kötési vizsgálatot a Schneider és munkatársai által kidolgozott vizsgálatnak egy módosított változa-

tával [lásd: Nicholson et al., TRENDS PHARMACOL. SCI., 12, 19-27 (1991); és McHale et al., MOL. PHARMACOL., 39, 109-113 (1991)] hajtottuk végre. Az R-rolipram hozzákötődik a PDE4 katalitikus helyéhez [lásd: Torphy et al., MOL. PHARMACOL., 39, 376-384 (1991)]. Ebből következően a [³H]R-rolipram kötésért történő versengés a jelzetlen versenytársak PDE4 inhibitor erősségének egy független megerősítését biztosítja. A vizsgálatot 30 °C-on egy órán át, 0,5 µl pufferben hajtottuk végre, ahol a puffer összetétele a következő volt (végkoncentrációk): 50 mM Tris-HCl, pH 7,5, 5 mM MgCl₂, 0,05 % bovin-szérumalbumin, 2 nM [³H]R-rolipram (5,7 × 10⁴ dpm/pmol), és a radioizotóppal nem jelzett inhibitorok változó koncentrációi. A reakciót 2,5 ml jéghideg {[³H]R-rolipramot nem tartalmazó} reakciópuffer hozzáadásával állítottuk le, majd előzetesen 0,3 % poli(etilénimin)-be mártott Whatman GF/B filtereken gyors vákuumszűrést végeztünk (Brandel Cell Harvester). A filtereket további 7,5 ml hideg pufferrel mostuk, szárítottuk, majd folyadékszintillációs spektrometriával számlálást végeztünk.

Formálási példák

A. Adagolt dózisú inhalátorok

1. táblázat

	Működtetésenként
Cilomilaszt	18 µg
Tiotropium-bromid	18 µg
1,1,1,2-tetrafluor-etán	75,0 mg-ra

A mikronizált hatóanyagok megfelelő (például 120 működéshez elegendő) mennyiségét bemérjük egy alumíniumtartályba, egy vákuumlombikból hozzáadjuk az 1,1,1,2-tetrafluor-etánt, majd a helyére illesztjük az adagolószelepet.

B. Száraz por inhalátorok

2. táblázat

	Patrononként vagy hólyagonként (blister)
Cilomilaszt	150 µg
Tiotropium-bromid	0,4 µg
Laktóz Ph. Eur.	12,5 mg-ra

A hatóanyagokat mikronizáljuk, majd a fentiekben megadott részarányoknak megfelelően összekeverjük a laktózzal. A keveréket olyan kemény zselatin kapszulákba vagy patronokba töltjük, illetve speciálisan kialakított dupla fóliájú hólyagcsomagokba töltjük, amelyek megfelelő inhalátorokban, például Rotahaler, Diskhaler vagy Diskus inhalátorban (valamennyi a Glaxo Group Limited védjegye) alkalmazhatók.

C. Nasalis beadásra alkalmas készítmények

3. táblázat

Cilomilaszt	150 mg
Tiotropium-bromid	100 µg
Fenil-etil-alkohol	0,25 ml

mikrokristályos cellulóz és	1,5 mg
(karboxi-metil)-cellulóz-	
-nátrium (Avicel RC591)	
Benzalkónium-klorid	0,02 mg
sósav	pH 5,5-ig
tisztított víz	100 ml-re

Valois VP7 pre-kompressziós pumpával adagolt 100 µl térfogatban hozzávetőleg 15 µg cilomilasztot és 10 µg tiopropiumot juttatunk ki.

D. Orális tabletta

Az alábbi 5. táblázatban egy PDE4 inhibitor és egy antiko-
linerg hatóanyag kombinációjának a beadására felhasználható
tabletta készítményt ismertetünk.

5. táblázat

	Készítmény egység
Cilomilaszt	15,0 mg
Tiotropium	36 µg
Laktóz-monohidrát	99,64 mg
Mikrokristályos cellulóz	70,0 mg
Nátrium-keményítő-glikolát	10,0 mg
Magnézium-sztearát	<u>2,0 mg</u>
Össztömeg	200,0 mg

A tablettákat standard száraz por keverési és tablettapré-
selő eszközök alkalmazásával végzett hagyományos eljárásokkal
állítjuk elő.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

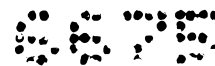
1. Eljárás pulmonalis betegségekkel kapcsolatos rohamok megelőzésére, kezelésére vagy mérséklésére, **azzal jellemezve**, hogy egy ilyen kezelést igénylő betegnek egy PDE4 inhibitor és egy antikolinerg hatóanyag hatásos mennyiségét egyetlen kombinált formában, szeparáltan vagy szeparáltan és egymást követően adjuk be, ahol az egymást követő beadások időben közel vagy távol történnek.

2. Kompozíció pulmonalis betegségekkel kapcsolatos rohamok megelőzésére, kezelésére vagy mérséklésére, amely kompozíció hatásos mennyiségben egy PDE4 inhibitort, hatásos mennyiségben egy antikolinerg hatóanyagot és egy gyógyászatilag elfogadható vivőanyagot tartalmaz.

3. Eljárás pulmonalis betegségekkel kapcsolatos rohamok megelőzésére, kezelésére vagy mérséklésére alkalmas kompozíciók előállítására, **azzal jellemezve**, hogy egy PDE4 inhibitor és egy antikolinerg hatóanyag hatásos mennyiségét összekeverjük egy gyógyászatilag elfogadható vivőanyaggal.

4. Egy PDE4 inhibitor hatásos mennyiségét, egy antikolinerg hatóanyag hatásos mennyiségét és gyógyászatilag elfogadható vivőanyagot tartalmazó kompozíció alkalmazása pulmonalis betegségekkel kapcsolatos rohamok megelőzésére, kezelésére vagy mérséklésére alkalmas gyógyszerkészítmények előállítására.

5. Az 1-4. igénypontok bármelyike szerinti találmány, amelyben a PDE4 inhibitor cilomilaszt.



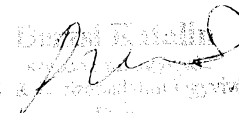
6. Az 1-5. igénypontok bármelyike szerinti találmány, amelyben az antikolinerg hatóanyag tiotropium vagy a tiotropiumnak egy sója.

7. Az 1-6. igénypontok bármelyike szerinti találmány, amelyben a PDE4 inhibitor cilomilaszt, és az antikolinerg hatóanyag tiotropium vagy a tiotropiumnak egy sója.

8. Az 1-7. igénypontok bármelyike szerinti találmány, amelyben a pulmonalis betegség krónikus obstruktív tüdőbetegség (COPD).

9. Az 1-7. igénypontok bármelyike szerinti találmány, amelyben a pulmonalis betegség asztma.

A meghatalmazott:


Dr. Katalin
székhelyi igazgató
HVGK Általános Igazgató Helyettes
HVGK
HVGK Budapest, Árkád utca 113.
Telefon: +36 1 94 461-1033

íráz nélkül

2004. 09. 21. PK