

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

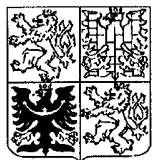
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2836-96

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **28. 03. 95**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **30.03.94**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **94/4410997**

(33) Země priority: **DE**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **18. 03. 98**
(Věstník č. 3/98)

(86) PCT číslo: **PCT/DE95/00421**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 95/26725**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

A 61 K 31/44
A 61 K 31/21
A 61 K 31/195
A 61 K 31/34
A 61 K 31/22
A 61 K 33/08
A 61 K 33/26
A 61 K 38/55
A 61 K 31/535

(71) Přihlášovatel:

ISIS PHARMA GMBH, Zwickau, DE;

(72) Původce:

Noack Eike Albrecht, Neuss, DE;

Kojda Georg, Köln, DE;

(74) Zástupce:

Hořejš Milan Dr. Ing., Národní 32, Praha 1,
10100;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Farmaceutické prostředky a léčivo pro
prevenci a léčení endotheliálních
dysfunkcí**

(57) Anotace:

Použití sloučenin uvolňujících nebo přenášejících monoxid dusný, stimulátorů endogenní tvorby monoxidu dusného, stejně tak jako stimulátoru guanylátcyklázy pro výrobu farmaceutických přípravků pro prevenci, léčení a odstranění endotheliálních dysfunkcí a s těmito dysfunkcemi pokračující onemocnění nebo onemocnění, která jsou jimi vyvolána.

CZ 2836-96 A3

č.j.	081433
DOŠLO	07.XI.96
URAD PRŮMYŠLOVÉHO VLASTNICTVÍ	
PŘÍL.	1

Farmaceutické prostředky a léčivo pro prevenci a
léčení endotheliálních dysfunkcí

Oblast techniky

Předložený vynález se týká použití slouče -
nin uvolňujících a/nebo přenášejících monoxid dus-
ný , stimulátorů endogenní tvorby monoxidu dusné-
ho jakož i stimulátorů guanylatcyklázy pro preven-
ci , léčení a odstranění endotheliálních dysfunkcí
jakož i onemocnění, která jsou vyvolána endotheliál-
ní dysfunkcí nebo s ní pokračují. Podle vynálezu
se současně umožňuje příprava farmaceutických pří-
pravků pro uvedené indikace.

Dosavadní stav techniky

Organické estery kyseliny dusičné jako napří-
klad glyceroltrinitrát /GTN/ / Murrel, Lancet: 80,
113, 15/ / 1879//, pentaerytryltetranitrát /PETN/
/Risemann et al., Circulation , Vol. XVII, 22
/1958/, US-PS 2 370 437/, isosorbid-5-mononitrát
/ISMN/ /DE-OS 31 02 947, DE-OS 31 24 410 , EP-PS
45 076, EP-PS 57 847, EP-PS 59 664, EP-PS 64 194,
EP-PS 67 964 , EP-PS 143 507 , US-PS 3 886 186 ,
US-PS 4 065 488, US-PS 4 417 065, US-PS 4 431 829/,
isosorbiddinitrát /ISDN/ /L. Goldberg , Acta Phy-
siolog. Scand. 15, 173 /1948//, propatylnitrát /Mé-
dard, Mem. Poudres 35 : 113 /1953//, trolnitrát
/FR-PS 984 523 / nebo nicorandil /US-PS 4 200 640/
a podobné sloučeniny jsou vasodilatátory, které
se zčásti používají celá desetiletí jako nejrozší-

nější terapeutika důležitá zejména při indikacích anginy pectoris popřípadě ischemického onemocnění srdce /LHK/ / Nitrangin[®], Pentalog[®], Monolong[®], Isoket[®], Elantan[®] a jiné /. Srovnatelnou a zlepšenou farmakologickou účinnost při použití u výše uvedených oblastí indikací mají organické nitráty novějšího typu, jako například SPM 3672 / ethylester N- β -nitratopivaloyl-L-cysteinu /US-PS 5 284 872/ stejně tak jako jejich deriváty. Rovněž použití organických nitritů, jako například isoamylnitritu jako koronárních dilatátorů je již dlouho známo /Brunton, Lancet : 97 /1867//. Jinými sloučeninami uvolňujícími popřípadě přenášejícími monoxid dusný, jako například thionitrity, thionitráty, S-nitroso-thioly nebo nitrosoproteiny / Harrison et. al., Circulation 87 : 1461-1467 / 1993//, stejně tak jako substituované furoxany / 1,2,5-oxadiazol-2-oxidy, furazan-N-oxidy/ / Feelisch et al., Biochem. Pharmacol. 44, 1149-1157//1992/ nebo substituované sydnoniminy, zejména molsidomin /DE-AS 16 95 897, DE-AS 25 32 124, DD-PS 244 980/ jsou rovněž popsány jako potentní koronární dilatátory. Všechny tyto látky mohou samy nebo ve formě svých farmakologicky aktivních metabolitů, například molsidominové metabolity "SIN 1" a "SIN-1A" / Noack, Nitroglycerin VII, Walter de Gruyter a. Co., Berlin, 1991, 23-28 / jakož i jejich deriváty a strukturální analogy /Noack und Feelisch, Molecular mechanism of nitrovascular bioactivation; v " Endothelial Mechanisms of Vasomotor Control " / Hrsgb. Drexler et al./, pp. 37-50, Steinkopff Verlag, Darm-

stadt, F.R.G /1991/, in vivo uvolnovat nebo přenášet monoxid dusný.

Galenické zpracování organických nitrátů ,popřípadě nitritů, stejně tak jako jiných sloučenin uvolňujících nebo přenášejících monoxid dusný na farmaceutické přípravky pro léčení anginy pectoris popřípadě ischemických onemocnění srdce jsou obecně známa. Provádějí se pracovními postupy a pravidly, které jsou obecně běžné pro odborníka v oblasti farmacie, přičemž se výběr používaných technologií a použitých galenických pomocných látek řídí v první řadě podle zpracovávané účinné látky. Při tom mají otázky jejich chemicky fyzikálních vlastností, zvolené formy aplikace, požadované doby trvání účinku stejně tak jako vyhnutí se inkompabilitám léčiv a pomocných látek ,obzvláštní význam. U léčiv s indikací pro anginu pectoris popřípadě ischemická onemocnění srdce je popsána především perorální, parenterální, sublinguální nebo transdermální aplikace ve formě tablet, dražé, kapslí, roztoků, sprayí nebo náplastí /DD-PS 293 492, DE-AS 26 23 800, DE-OS 33 25 652 , DE-OS 33 28 094, DE-PS 40 07 705 , DE-OS 40 38 203 , jap. přihláška 59/10513 / 1982/.

Vedle použití nitrozačně působících látek, známých po dlouhá léta, je popsáno jejich použití pro léčení a prevenci onemocnění, jejichž příčina tkví v patologicky zvýšených koncentracích aminokyselin obsahujících síru v tělesných tekutinách. Tyto stavy onemocnění, vyvolané vrozenými nebo získanými defekty metabolismu těchto aminokyselin, a které jsou charakterizovány zvýšenou koncentra-

cí uvedených aminokyselin v krvi a v moči, se zahrnují pod pojem homocysteinemie / WO 92/18002/.

Antiischemický účinek organických nitrátů a jiných výše uvedených látek se vysvětluje pomocí hemodynamických jevů, zejména jevem usnadňujícím činnost srdce, který vede k ušetření spotřeby kyslíku nezbytné pro činnost srdce, popřípadě u IHK koriguje nepoměr mezi nabídkou O_2 a jeho potřebou. Příčinou je vynikající rozšíření venózní kapacity cév / venózní pooling / popřípadě snížení zátěže a přímý koronární dilatační účinek, zejména v oblasti aortálních stenóz. Tím se možná příznivě ovlivňuje přímo poststenózní snížená perfúze / pozitivní Stal-Effekt/, neboť organické nitráty působí zřejmě v atherosklerózních oblastech cév s větší potencí než ve zdravých úsecích cév / Kojda et al., Endothelium 1 /Suppl. /; Abstr. 299, p. s76 / 1993/, zejména v oblasti koronárních stenóz. Tento čistě hemodynamický jev je zprostředkován radikálem monoxidu dusného, $NO^\bullet$, který se uvolňuje jednotně ze všech nitrovazodilatátorů na vzdory velmi různé chemické struktury sloučenin. Cesty bioaktivace, které konec konců vedou k tomu, že $NO^\bullet$ je dán k dispozici před místem, tedy v buňce endothelu a v buňce hladkého svalstva, jsou sice velmi rozdílné /Noack a. Feelisch, Molecular mechanism of nitrovascular bioactivation; v "Endothelial Mechanisms of Vasomotor Control" Hrsgb. Drexler et al. /, pp. 37-50, Steinkopff

Verlag, Darmstadt , F.R.G./ 1991//. To se mohlo v posledních létech bez jakýchkoliv pochybností vysvětlit přímým měřením pomocí různých technik / Methode Noack et al., Neuroprotocols 1 : 133 - 139 /1992/. NO působí tím vasodilatačně, že aktivuje rozpustné guanylatcyklázy. Tím se stimuluje tvorba cGMP z GTP . cGMP vede ze své strany k diverzním fosforylačním reakcím / například u protein-kináz /, které podporují vnitrobuněčné zásobování Ca /Karczewski et al., Z. Kardiol. 79 /Suppl.1 /: 212 /1990//. Snížením vnitrobuněčné hladiny volného Ca^{2+} dochází potom k relaxaci. Od roku 1987 se ví, že endothelium derivend relaxing factor /EDRF/ je identické s NO nebo se sloučeninou obsahující NO / Palmer et al., Nature, 327 : 524-526 /1987/ ; Ignarro et al. Proc. Natl. Acad. Sci. 84: 9265 - 9269 / 1987/ a má důležitý význam pro místní prokrvení .

Bunky endothelu tvoří v oblasti vnitřní stěny cév souvislé monovrstvy / monolayer/. Z toho vyplývá pro dospělého člověka celkový povrch asi 800 m^2 s vlastní hmotností ,která odpovídá s 1,5 až 2 kg hmotnosti lidských jater. Funkce vykonávané buňkami endothelu se z dnešního hlediska týkají dvojích : mechanické a funkční. Za první působí jako druh funkce bariéry, pomocí níž se má zabránit vnikání krevních složek, jako například Low-density- lipoproteinů /LDL/ /tlusté vrstvy lipoproteinů/ do do vnitřní stěny céve ,blízké lumen- nu / intimy = vnitřní vrstva cévní stěny/. Za dru-

hé má endokrinní funkci . Pomocí různých stimu-
lů dochází k násobné syntéze bioaktivních látek
jako například EDRF/NO a prostaglandinu- I_2 /PGI $_2$ /,
jimiž se ovlivní funkce proudících buněk / Pohl
et Busse, Eur. Heart J_11 / Suppl. B/ 35-42 /1990/,
okrsková hemodynamika /Furchgott ,Circ. Res. 53 :
557 -573 / 1983 / a strukturní výstavba stěny cé-
vy / Di Corleto , Exp. Cell. Res. 153 : 167-172
/1984/ zcela zásadně. Tím se současně nepochybně
vysvětluje , že : při poškození endothelu, at již
z jakékoliv příčiny / poškození endothelu hyper -
cholesterolemií /T.J. Verbeuren et al.,Circ.Res.
58 : 552-564 / 1986/ , poškození endothelu ve fá-
zi po infarktu / M.R. Sigreid et al., Circ. 86
/Suppl. 1/: 21 /1992 / dojde k pathologickému
ovlivnění endotheliální funkce,která může mít růz-
né následky. K tomu se počítají okrskové vasokon-
strikce / zúžení cév/ popřípadě cévní křeč a
přestavba popřípadě procesy růstu v cévní stěně,
které se pokládají za počáteční procesy atheroge-
neze.

Endotheliální dysfunkce je obecně charakte-
rizována jako omezení nebo ztráta fyziologické
dilatace cév ,která je zprostředkovávána endothe-
lem.Současně lze pozorovat snížení nebo zvýšení
relaxace cév ,zprostředkovávané NO, ochrany cév,
zprostředkovávané NO a růstových pochodů potla-
čovaných NO v intimě /vnitřní stěně cévy a v
mediu / ve středu /. Endotheliální dysfunkce je
dále charakterizována proliferací procesy ve

stěně cévy v důsledku zvýšené mitogenézy, zvýše - nou endotheliální adhezí a migrací leukocytů a makrofágů, stejně tak jako zmoženou oxidací Low-density lipoproteinů /LDL/, které poškozují endothel. Tato se pozoruje zpravidla při patologických stavech v rámci aterosklerózy, hypertonie, hypercholesteriemie, diabetes mellitus a srdeční nedostatečnosti / Creager et al., J.Clin. Invest, 86: 228 - 234 /1990/, Linder et al., Circulation 81: 1762 - 1769 / 1990/ ; Zeiher et al., Circulation 83 : 391-401 / 1991//. Rovněž hypoxie a malé střížní síly jsou podněty pro endotheliální dysfunkci. Tato vede mimo jiné k tomu, že látky ovlivňující cévy, jako acetylcholin nebo serotonin, které vyvolávají normálně ochablost cév , v důsledku svých přímých vasokonstričních jevů na hladké svalstvo cév vyvolávají vasokonstrikci , a ovlivňují negativně obraz nemoci / Golino et al., N. Engl. J. Med. 324 : 641 -648 /1991//. Fyziologická vasomotorická regulace je tedy u endotheliální dysfunkce nejen rušivá nýbrž je tomu naopak. Ještě výraznější jsou tyto změny při aterosklerotické přestavbě vnitřní stěny céce /Ludmer et al., N. Engl. J. Med. 315 : 1046-1051 / 1986/.

Endothel přispívá svou autokrinní a parakrinní aktivitou nejen k udržení zdraví stěny cévy, nýbrž ovlivňuje i účinek exogenních NO-liberátorů jako například PETN nebo GTN tím, že sám tvoří EDRF/NO- Jestliže se například mechanicky odstraní endothel od stěny cévy / při invazivní diagnostice katetrem nebo extrakorporálně na izolovaných úsecích cévy/

nebo se suprimuje endotheliální tvorba NO pomocí specifických inhibitorů, tak se zesiluje vasodilatační účinek nitrovasodilatátorů jako GTN nebo FETN /Busse et al., Cardiovasc. Pharmacol. 14 /Suppl. 11/ S81-S85 / 1985/; Kojda et al., J. Vasc. Res. 29: 151 /1992A// Farmakologická inhibice endotheliální NO-syntézou vede ke stejnému účinku na koronárních cévách / Kojda et al., Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmacol 346 : R 35 /1992B//. Je známo, že účinek antagonistů vápníku, zejména těch, které jsou odvozeny od typu 1,4-dihydropyridinu /DHP's/ je po odstranění endothelu oslaben / Kojda et al., Bas. Res. Cardiol. 86: 254-256 /1991//. Další pokusy ukázaly, že tyto látky jsou pravděpodobně stimulatory endotheliální tvorby NO a uvolňování NO /Günther et al., Basic Res. Cardiol. 87: 452-460 /1992//. Rovněž kininy a bradykinin rozvíjejí svou biologickou účinnost pomocí zvýšené endotheliální tvorby a uvolňování EDRF/NO /V.A. Eriner et al., Am. J. Physiol. 264: F322 -F327 / 1993/; Kelm et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 154: 236-244 /1988//.

Podstata vynálezu

Na endotheliální dysfunkce se dnes pohlíží jako na iniciátory častých a patologicky významných srdečních onemocnění a onemocnění oběhového systému jako například atherosklerosy, prevence a léčení a odstranování těchto dysfunkcí a s tím spojených nebo tím vyvolaných onemocnění představují proto důležité terapeutické nutnosti.

Nyní bylo zjištěno, že použití sloučenin, uvol-

nujících a/nebo přenášejících monoxid dusný, jako například stimulatorů endogenní tvorby monoxidu dusného stejně tak jako stimulatorů guanylatcyklázy, zejména pak stimulatorů rozpustné guanylatcyklázy, je vhodné pro prevenci, léčení a odstranování endotheliálních dysfunkcí, stejně tak jako postupujících a/nebo jimi vyvolaných onemocnění. Tyto endotheliální dysfunkce a onemocnění jsou především poškození endotelu hypercholesterinemií, poškozením endotelu hypoxií, poškození endotelu mechanickými a chemickými poruchami, zejména při a po medikamentózním a mechanickém opětném otevření stenozních cév, například po perkutánní transluminální angiografii /PTA/ a perkutánní transluminální cévní angiografii /PTCA/, poškození endotelu u postfázového infarktu / endotheliální dysfunkce při reperfuzi/, endotheliálně zprostředkované reoklusi a po operaci se zavedením bypassu, poruchách prokrvení periferních cév jakož i srdečních onemocněních a onemocněních krevního oběhu, jako při ateroskleroze, hypertonii, inkluzivní pulmonální a portální hypertonii, hypertonním onemocnění srdce, diabetické mikroangiopathii a makroangiopathii, koronární nemoci srdce, srdeční nedostatečnosti nebo jiných onemocněních, jejichž příčinou je endotheliální dysfunkce.

Sloučeniny uvolňující a/nebo přenášející monoxid dusný, stimulatory endogenní tvorby monoxidu dusného, stejně tak jako stimulatory guanylatcyklázy jsou ve smyslu tohoto vynálezu mimo jiné přímo nebo nepřímo na guanylatcyklázu působící

sloučeniny, přičemž se jako nepřímé stimulatory guanylátacyklázy používají sloučeniny, které jsou schopny uvolňovat stimulatory guanylátacyklázy nebo jinak zvýšit jejich enzymaticky působící koncentraci a/nebo působit vůči inhibitorům guanylátacyklázy jako antagonisté nebo jinak snížit jejich enzymaticky působící koncentraci. Jako nepřímé stimulatory guanylátacyklázy se mimo jiné používají sloučeniny, které jsou vhodné k tomu, aby zvyšovaly jako antagonisté vápníku tvorbu nebo uvolňování NO, zejména ty, které jsou typu 1,4-dihydropyridinu, například nifedipin, felodipin, nimodipin, amlodipin a jiné. Pro použití jsou rovněž vhodné sloučeniny, které jsou schopné zvýšit obsah endotheliálního kininu. Především jsou to stimulatory receptorů kininu, jako kininy nebo analogicky působící látky, stimulatory endotheliální tvorby kininu, stejně tak jako inhibitory odbourávání kininu, zejména inhibitory angiotensin-Convertující enzymu /inhibitory ACE/ jako například captopril, enalapril, moexipril, ramipril a příbuzné účinné látky. Použití sloučenin, které rozvíjejí svůj účinek obecně uvolňováním a/nebo přenosem endogenních nebo exogenních monoxidů dusných, patří k obzvláště vhodné formě provedení předloženého vynálezu. Třídy látek a sloučeniny, které přichází zejména v úvahu jsou při tom organické nitráty, zejména glycerolnitrát, pentaerythrityltetranitrát, isosorbid-5-mononitrát, isosorbiddinitrát, mannitolhexanitrát, inositolhexanitrát, propatyl nitrát, trolnitrát, nicorandil, novější nitráty jako SPM 3672, stejně

tak jako jejich farmakologicky snesitelné deriváty, organické nitrity , jako například isoamylnitrit, thionitrity, thionitráty, S-nitrosothioly jako S-nitroso-N-acetyl-D,L-penicilamin, nitrosoproteiny, deriváty furoxanu uvolňující monoxid dusný, deriváty sydnoniminu uvolňující monoxid dusný, zejména molsidomin, mesocarb stejně tak jako jejich analogy, sloučeniny nitrosylových komplexů, zejména sloučeniny nitrosylu se železem jako například natriumnitroprusid stejně tak jako samotný monoxid dusný. Vzhledem k tomu , že uvolňování a/nebo přenos monoxidu dusného při tom často probíhá in vivo přes farmakologicky aktivní metabolity, jsou tyto v zásadě pro použití ve smyslu vynálezu rovněž vhodné. Současně je možné používat farmakologicky snesitelné deriváty všech výše uvedených sloučenin . Především běžné adiční sloučeniny, soli nebo enzymaticky popřípadě hydrolyticky štěpitelné sloučeniny, jako například estery, amidy a podobné představují možné varianty.

Výběr účinných látek se řídí obecnými farmakologickými zásadami a terapeutickými požadavky, které jsou odborníkovi běžné. Dále jsou vedle požadovaného farmakologického účinku zohledněny také zdravotní stav pacienta, stádium nemoci, fyzická kondice, známé účinky a vedlejší účinky, kontraindikace, četnost léčení, doba používání, interakce léčiv , stejně tak jako paralelní užívání léčiv.

Dávkování se provádí v terapeutických dávkách, které se orientují podle toho v jakých dávkách se používají stávající účinné látky již pro známé indikace. Denní celková dávka může být v závislosti na účinné látce až 500 mg. Obecně jsou postačující denní dávky až do 350 mg. Dávkování a intervaly mezi dávkováním je třeba volit tak, aby se vytvořila co nejkonstatnější terapeutická hladina v plasmě. Sloučeniny, použité podle vynálezu se mohou používat samotné nebo jako část galenické preparace, jako jednotlivá účinná látka nebo v kombinaci společně se známými terapeutiky pro léčení srdečních onemocnění a onemocnění krevního oběhu, například s inhibitory ACE, antiaterosklerotiky, antihypertenzivy, beta-blokátory, léčivými pro snižování množství cholesterolu, diuretiky, antagonisty vápníku, koronárními dilatátory, léčivými pro snižování lipidů, periferními vasodilatátory, inhibitory agregace trombocytů nebo jinými, rovněž jako terapeutiky pro srdeční onemocnění a onemocnění krevního oběhu používanými látkami v kombinaci.

Příprava galenických přípravků se při tom provádí pomocí pracovních postupů a pravidel, které jsou odborníkovi ve farmácii běžně známé, přičemž se výběr použitých technologií a použitých galenických pomocných látek řídí v první řadě podle zpracovávané účinné látky. Při tom mají otázky její chemicko-fyzikálních vlastností, zvolené aplikační formy, požadované doby účinku, místa účinku stejně tak jako

zabránění inkompabilitám léčiva a pomocné látky zvláštní význam ! Je tedy povinností odborníka, aby pomocí parametrů známých látek a způsobu vybral o sobě triviálním způsobem formu léčiva, pomocných látek a technologii výroby léčiva. Dotyčná forma léčiva má být při tom upravena tak, aby pro dosažení konstatní terapeutické hladiny v plasmě, obsahovala tu kterou účinnou látku v množství, které umožňuje rozdělit denní dávku u systémů s řízeným uvolňováním na 1 až 2 a u jiných léčiv až na 10 jednotlivých dávek. Rovněž je vhodná dlouhodobá aplikace pomocí dlouhodobé infúze.

Známé sloučeniny se mohou podle vynálezu aplikovat především orálně, intravenózně, parenterálně, sublinguálně nebo transdermálně. Dotyčný přípravek léčiva se s výhodou připravuje v kapalně nebo v pevné formě. Pro to se hodí roztoky, zejména pro přípravu kapek, injekcí nebo aerosolových sprayí, dále suspenzí, emulzí, sirupů, tablet, tablet potažených filmem, dražé, kapslí, pelet, prášků, pastilek, implantátů, čípků, krémů, želé, mastí, náplastí nebo jiných transdermálních systémů.

Farmaceutické přípravky obsahují běžné galenicky použitelné, organické nosiče a pomocné látky, které jsou samy vůči stávajícím účinným látkám chemicky indiferentní. Vhodné pro tento účel jsou, aniž by to znamenalo omezení, voda, roztoky solí, alkoholy, rostlinné oleje, polyethylenglykoly, želatina, laktóza, amyloza, stearát hořečnatý, talek, vysoce disperzní dioxid křemičitý, parafin, monoglyceridy a

diglyceridy vyšších karboxylových kyselin, deriváty celulózy, polyvinylpyrrolidon a podobně. Přípravek se může sterilizovat, a jestliže je to nezbytné, doplnit pomocnými látkami, jako například plnivy, pojivy, kluznými prostředky pro oddělování z formy, mazivy, prostředky napomáhajícími rozpadu, adsorpčními prostředky nebo prostředky zabránujícími rozpadání, konzervačními látkami, stabilizátory, emulgátory, látkami napomáhajícími rozpouštění, solemi pro ovlivnění osmotického tlaku, roztoky pufrů, barvivy, vonícími přísadami, aromaty nebo sladidly. Odborník ve farmaci provede pomocí známých parametrů látek vhodnou volbu, aby se zabránilo inkompabilitám léčiv a pomocných látek.

Pomocí předloženého vynálezu je otevřena nová terapeutická možnost bojovat proti patologickým situacím, které jako hypoxie, vysoká hladina cholesterolu v séru, zvýšený krevní tlak, diabetes, podporujícím poststenózní reperfuzi, například při infarktu myokardu a mechanickým a chemickým poškozeních, a. j. podporují endotheliální dysfunkci, popřípadě úplně zabránit vzniku endotheliální dysfunkce. Therapeutické použití vhodných sloučenin, lhostejno při které galenické preparaci, dovoluje proto jak je uvedeno poprvé provádět prevenci a aktuální terapii onemocnění srdce a cév této etiologie / nauky o příčinách vzniku nemoci /, jako například aterosklerozy a z ní resultujících následných onemocnění. K tomu se počítá koronární onemocnění srdce /onemocnění věnitých tepen /, zúžení tepen, a poruchy prokrvování

periferních arterií, mikroangiopathie , makroangiopathie v rámci diabetes mellitus atd. S překvapením ukazují výše charakterizované sloučeniny samostatný účinek, chránící endotel, který je nezávislý na až dosud známých , zejména čistě hemodynamických a antiischemických vlastnostech, například organických nitrátů nebo jejich účinnosti při homocysteinemii. Jejich použití je proto schopné zastavit patologické děje nebo je ještě zvrátit , dokud jsou ještě reversibilní. Jedná se při tom tedy o neočekávané, nové složky účinku, které ještě nebyly popsány a nebylo možné je v této formě očekávat.

Příklady provedení vynálezu

Následující příklady mají vysvětlit blíže vynález co se týká jeho podstaty a jeho provedení, aniž by se vynález omezoval pouze na ně.

Příklad 1

Pokusy na farmakologickém modelu in vivo /novozelandských králíků /

Krmivo s cholesterolem je vhodné při pokusu se zvířaty k tomu, aby vytvořilo během týdnů až měsíců endotheliální dysfunkci, která dovolí, zkoušet a kvantifikovat vlivy farmak / Jayakody et al., Can. J. Physiol. Pharmacol. 63: 1206-1209 /1985/; Verbeuren et al. , Circ. Res. 58: 552-564 /1986/; Freiman et al. , Circ. Res. 58: 783-789 / 1986//.

Skupiny 9 samic novozelandských králíků byly

krmeny standardním krmivem nebo krmivem /40g/kg/den/ obohaceným cholesterinem / 0,75 %/ po dobu 15 týdnů. Krmivo s cholesterinem vedlo ke zvýšení jeho hladiny v plazmě ze $69,8 \pm 10,4$ na $907,1 \pm 85,5$ mg/dl a vyvolala atherosklerotické leze v oblasti aorty, které byly kvantifikovány po obarvení Sudanem IV pomocí Laser-Scanning-technickou s počítačem. Aortální změny zahrnovaly na obloucích aorty plochu $73,3 \pm 1,9$ % , thorakální / hrudní / aortě plochu $46,3 \pm 2,5$ % a v oblasti abdominální /břišní / aorty $49,6 \pm 3,5$ % / obr. 2 kontrola/.

Příklad 2

Atheroskleroticky poškozené cévy ukazovaly po fenylephrinu nezměněnou schopnost kontrakce, vasorelaxace zprostředkovaná endothelem byla po dávce $1 \mu\text{M}$ acetylcholinu ve srovnání s kontrolami / standardní dieta / ale co se týká její funkce změněna, tato změna se může nejlépe popsat jako endotheliální dysfunkce. Segmenty thorakální aorty zvířat +/- krmených cholesterolem ukazovaly významně menší citlivost vůči acetylcholinu než úseky aorty kontrolních zvířat / obr. 1 /. Stupeň měřené endotheliální dysfunkce se koreloval přímo se stávající závažností atherosklerotických lezí / $r = 0,67$, $p < 0,0001$ / / obr. 3 /. Tato data dokládají ,že se po krmivu s cholesterolem vyvinula endotheliální dysfunkce.

Příklad 3

Dva další kolektivy devíti bílých novozeland-

ských králíků dostaly dodatečně pentaerythryl-tetranitrát /PETN/ /6mg/kg/den /, přičemž lék byl zapracován do slisovaného krmiva. U zvířat, líčených současně PETN došlo k významné redukci atherosklerotických lezí. Rozměr lezí se stanovil analogicky jako v příkladu 1. Zjistil se významně snížený podíl atherosklerotických poškození ve všech částech aorty / oblouk aorty : $58,6 \pm 2,1 \%$, thorakální aorta $34,7 \pm 2,0 \%$ a abdominální aorta $39,3 \pm 3,1 \%$ / obr. 2 /.

Příklad 4

Současně se nepozoroval po krmení s krmivem s PETN žádný významný rozdíl u maximálních /1 μ M acetylcholinu / relaxace zprostředkované endothel-lem ve srovnání se zvířaty nekrmenými cholesterolem / endotheliální dysfunkce /, takže tyto výsledky ukazují jednoznačný ochranný účinek nitrovasodilatátoru PETN, neboť tento zabránil endotheliální dysfunkci ve smyslu zde předloženého vynálezu. /obr. 3 a 4 , tabulka 1 /

Srovnání obr. 3 s obr. 4 ukazuje, že PETN zmenšuje rozměr atherosklerotických lezí a může zlepšit funkci endothelu. Horší korelační koeficient u skupiny s PETN poukazuje na to, že PETN vede k disociaci úzkého vztahu mezi atherosklerotickými lezemi a funkcí endothelu.

Tabulka 1 ukazuje vliv PETN / 6 mg/kg/den/ na vývoj endotheliální dysfunkce v thorakální aortě bílých novozelandských králíků, která byla

indukována krmním dietou , obsahující cholesterol / 0,75 % ; 15 týdnů /. Velikost účinku vasodilátoru acetylcholinu , závislá na endothelu , je vyjádřena jako koncentrace / v logM; pD_2 hodnota / , která působí při kumulativní dávce polovinou opačného účinku vasokonstriktoru fenylephrinu / čím vyšší je tato hodnota, tím je silnější účinek acetylcholinu /. Maximální dilatační účinek je vyjádřen jako procento účinku vasokonstriktoru fenylephrinu, který při maximálně účinné koncentraci acetylcholinu / 1 μ M / mělo opačný účinek. Endotheliální dysfunkce indukovaná samotným krmivem s cholesterolem / kontrola/ je zjištěitelná na významně redukované mohutnosti účinku a maximálním účinku acetylcholinu / $\#$, $p < 0,05$ /. Při současném krmení PETN se již nedají dokázat žádné rozdíly. Kromě toho zlepšuje PETN významně / $\#$, $p < 0,05$ / sílu účinku acetylcholinu a tím funkci endothelu po krmení cholesterolem, zatím co po standardním krmivu dojde k význačnému zhoršení funkce endothelu. Vesměs se ukazuje , že dochází k ochrannému účinku působením PETN na funkci endothelu při pokusně indukované atheroskleróze. Resorpce a nahromadění PETN v plazmě se dá demonstrovat i za 24 h po posledním krmení zvířat pomocí změření koncentrace metabolitů pentaerythritmononitrátu /PEMN / v plazmě / obr. 5/.

Tabulka 1 :

	kontrola		PETN	
	standard	cholesterol	standard	cholesterol
mohutnost účinku acetylcholinu /hodnoty pD_2 /	$6,91 \pm 0,02$	$6,12 \pm 0,05^{\#}$	$6,62 \pm 0,06^{\#}$	$6,47 \pm 0,13^{\#}$
max. dilatační účinek acetylcho- linu /%/	$84,8 \pm 1,2$	$60,7 \pm 8,5^{\#}$	$74,7 \pm 4,9^{\#}$	$65,0 \pm 4,7$

Příklad 5

Typická tableta má složení :

pentaerythrityltetrinitrát	ISIS PHARMA	20 mg
laktóza	DAB 10	137 mg
bramborový škrob	DAB 10	80 mg
želatina	DAB 10	3 mg
talek	DAB 10	22 mg
stearát hořečnatý	DAB 10	5 mg
dioxid křemičitý, vysoce disperzní	DAB 10	6 mg
		273 mg

Příklad 6

Tableta s obsahem 20 mg pentaerythryltrinitrátu
/PETriN/ má následující složení :

laktóza	DAB 10	137 mg
bramborový škrob	DAB 10	80 mg

želatina	DAB 10	3 mg
talek	DAB 10	22 mg
stearát hořečnatý	DAB 10	5 mg
dioxid křemičitý, vysoce disperzní	DAB 10	6 mg
		273 mg

Příklad 7

Tableta s obsahem 20 mg pentyerythrityldinitrátu /PEDN/ má složení :

PEDN		20 mg
laktóza	DAB 10	137 mg
bramborový škrob	DAB 10	80 mg
želatina	DAB 10	3 mg
talek	DAB 10	22 mg
stearát hořečnatý	DAB 10	5 mg
dioxid křemičitý, vysoce disperzní	DAB 10	6 mg
		273 mg

Příklad 8

Tableta s obsahem 20 mg erythrityltetranitrátu /ETN/ má složení :

ETN		20 mg
laktóza	DAB 10	137 mg
bramborový škrob	DAB 10	80 mg
želatina	DAB 10	3 mg
talek	DAB 10	22 mg
stearát hořečnatý	DAB 10	5 mg
dioxid křemičitý, vysoce disperzní	DAB 10	6 mg
		273 mg

Příklad 9

Tableta s obsahem 20 mg isosorbidmononitrátu /ISMN/ má složení :

ISMN		20 mg
laktóza	DAB 10	137 mg
bramborový škrob	DAB 10	80 mg
želatina	DAB 10	3 mg
talek	DAB 10	22 mg
stearát hořečnatý	DAB 10	5 mg
dioxid křemičitý, vysoce disperzní	DAB 10	6 mg
		273 mg

Příklad 10

tableta s obsahem 20 mg isosorbiddinitrátu /ISDN/ má složení

ISDN		20 mg
laktóza	DAB 10	137 mg
bramborový škrob	DAB 10	80 mg
želatina	DAB 10	3 mg
talek	DAB 10	22 mg
stearát hořečnatý	DAB 10	5 mg
dioxid křemičitý, vysoce disperzní	DAB 10	6 mg
		273 mg

Příklad 11

Tableta s obsahem 40 mg pentaerythrityltetrani-
trátu /PETN/ a 40 mg propranololhydrochloridu má slo-
žení :

PETN	40 mg
propanololhydrochlorid	40 mg
laktóza	224 mg
bramborový škrob	80 mg
želatina	3 mg
talek	22 mg
stearát hořečnatý	5 mg
dioxid křemičitý, vysoce disperzní	6 mg
	420 mg

Obrázek 1

Vývoj endotheliální dysfunkce po krmení bílých novozelandských králíků s dietou s cholesterolem /0,75 %, 15 týdnů /. Je znázorněn vasorelaxační účinek vasodilatátoru acetylcholinu, závislý na endotelu, a tím funkční schopnost endotelu, vyjádřenou v procentech antikontrakce, zbývající ještě při každé koncentraci, která byla vyvolána vasokonstriktorem fenylephrinem.

Obrázek 2

Rozsah atherosklerotických lezí na luminální ploše úseků aorty po krmení cholesterolovou dietou / 0,75 %, 15 týdnů / / bez kontroly / a současné dávce PETN /6mg/kg/den/. Atherosklerotická poškození /leze / se barvila Sudanem IV a zjišťovalo se procento obarvené plochy / vztaženo na celkovou plochu/ pomocí způsobu Laser-Scanning s počítačem. PETN působí významné snížení tvorby atherosklerotických lezí / $p < 0,05$ /

Obrázek 3

Vztah mezi rozměrem atherosklerotických poškození /lezí / na luminální ploše úseků thorakální aorty po krmení cholesterolovou dietou / 0,75 % ; 15 týdnů/ a maximální relaxací, stanovenou předem na stejném úseku, indukovanou 1 μ M acetylcholinu / funkce endotelu/. Čím větší je plocha lezí , tím horší je relaxace, popřípadě funkce endotelu.

Obrázek 4

Stejné znázornění jako na obr. 3 po současném krmení cholesterolem a PETN.

Obrázek 5

Hladina pentaerythrylmononitrátu bílých novozelandských králíků po 24 hodinách po posledním krmení před odběrem krve, který předcházel akutnímu pokusu. Standardní krmivo obsahovalo v obou případech pentaerythryltetranitrát /150 mg/kg/ a u skupiny s cholesterolem ještě 0,75 % cholesterolu. Koncentrace pentaerythrylmononitrátu byla určována kvantitativně po zpracování vzorků plazmy pomocí plynové chromatografie/hmotnostní spektroskopie.



č.j.	0 4 9 0 5 9
DOŠLO	
30. VI. 97	
URAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ	
Příl.	

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Použití sloučenin uvolňujících a/nebo přenášejících monoxid dusný pro výrobu farmaceutických přípravků pro prevenci, léčení a odstranění endotheliálních dysfunkcí, stejně tak jako onemocnění pokračujících a/nebo vyvolaných těmito dysfunkcemi, vybrané z

- a/ poškození endothalu hypercholesterinemií,
- b/ poškození endothalu hypoxií,
- c/ poškození endothelu mechanickými a chemickými poškozeními, zejména při a po medikamentózním a mechanickém opětovném otevření zúžených cév, například po perkutánní transluminární angiografii /PTA/ a perkutánní transluminární koronární angiografii /PTCA/ /,
- d/ poškození endothelu v postfázi po infarktu / endotheliální dysfunkce při reperfúzi,
- e/ endotheliálně zprostředkované reokluze po operativním zavedením bypassu,
- f/ poruchy prokrvení periferních arterií v důsledku atherosklerotických změn cév, jakož i obecně atherosklerozou,
- g/ hypertonie, inkluzivní pulmonální a protální hypertonie,
- h/ hypertonické onemocnění srdce,
- i/ diabetická mikroangiopathie a makroangio-

pathie a

j/ nedostatečnost srdce,

přičemž jsou vyjmuty v důsledku genetického defektu vyvolané nebo získané homocysteinemie, stejně tak jako jí vyvolané onemocnění.

2. Použití sloučenin uvolňujících a/nebo přenášejících monoxid dusný podle nároku 1, vyznačující se tím, že sloučeniny uvolňující a/nebo přenášející monoxid dusný jsou

a/ organické nitráty, zejména

glyceroltrinitrát /GTN/, pentaerythryltetranitrát /PETN/, isosorbid-5-mononitrát /ISMN/, isosorbiddinitrát /ISDN, manitolhexanitrát, inositolhexanitrát, propatyl-nitrát, trol-nitrát, nicorandil nebo SPM 3672 stejně tak jako jejich farmakologicky snesitelné deriváty.

b/ organické nitrity jako například isoamyl-nitrit,

c/ thionitrity,

d/ thionitráty,

e/ S-nitrosothioly jako například S-nitroso-N-acetyl-D,L-penicilamin /SNAP/

f/ nitrosoproteiny,

g/ deriváty furoxanu uvolňující monoxid dusný,

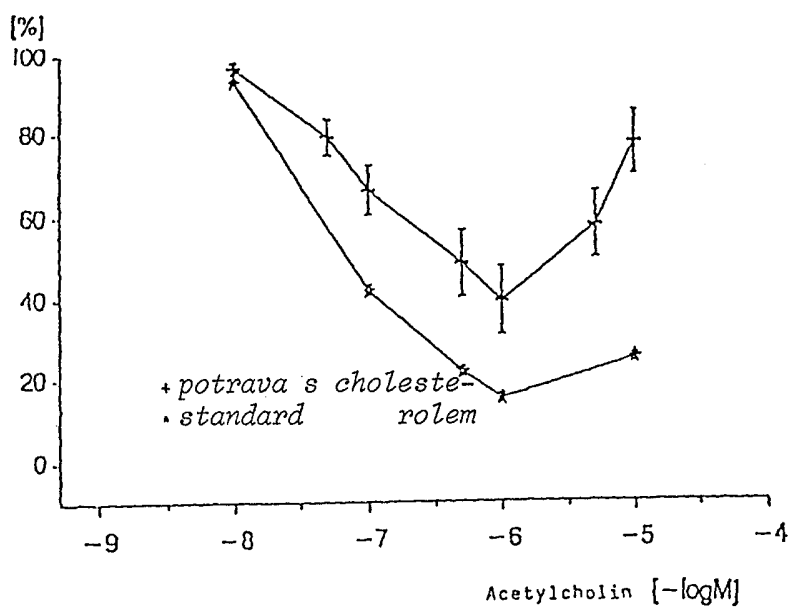
h/ deriváty sydnoiminu uvolňující monoxid dusný, zejména mesocarb, molsidomin nebo jejich farmakologicky účinné metabolity,

i/ sloučeniny komplexu nitrosylu, jako napří-

klad sloučeniny nitrosylu se železem, zejména nitroprusid sodný a
j/ samotný monoxid dusný /NO/.

3. Použití sloučenin uvolňujících a/nebo přenášejících monoxid sodný podle nároku 2 nebo 3 ,
v y z n a ě u j í c í s e t í m , že se
sloučeniny kombinují s jinými účinnými látkami .
používanými pro léčení srdečních onemocnění a nemocí oběhového systému, zejména s látkami vybranými z indikačních skupin inhibitorů ACE, anti -
atherosklerotik, antihypertenziv, beta-blokátorů, látek snižujících cholesterolin, diuretik, antagonistů vápníku, koronárních dilatátorů, látek snižujících obsah lipidů, periferních vasodilatátorů nebo inhibitorů agregace trombocytů.

PCT/DE95/00421

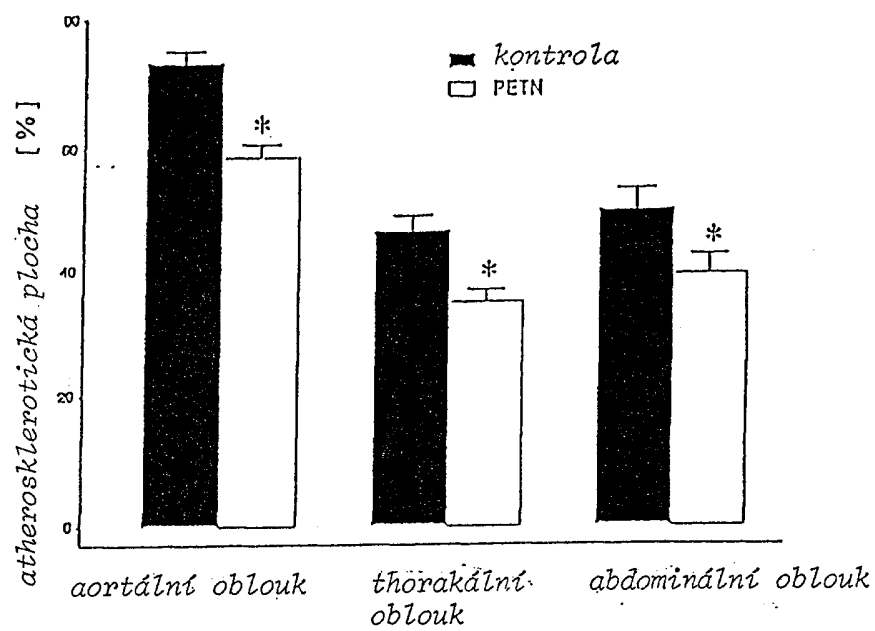


OBR. 1

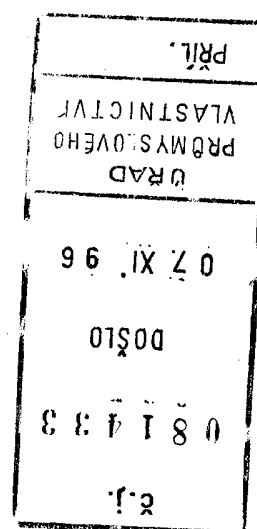
PRIL.
VLASTNOSTI
PRŮMYSLOVÉHO
VRAD
0 7 XI 96
DOŠLO
0 8 I 8 3
2. J.

Ch

PCT/DE95/00421

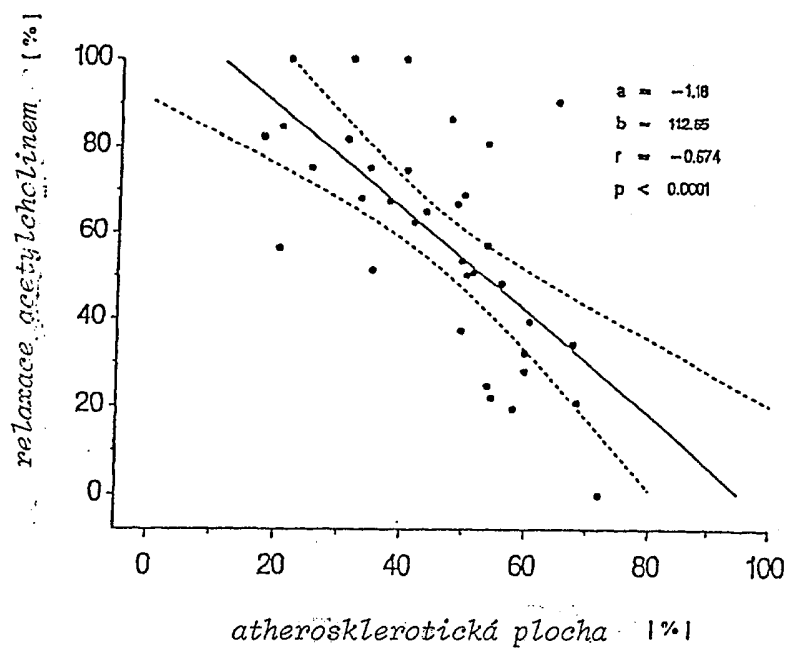


OBR. 2



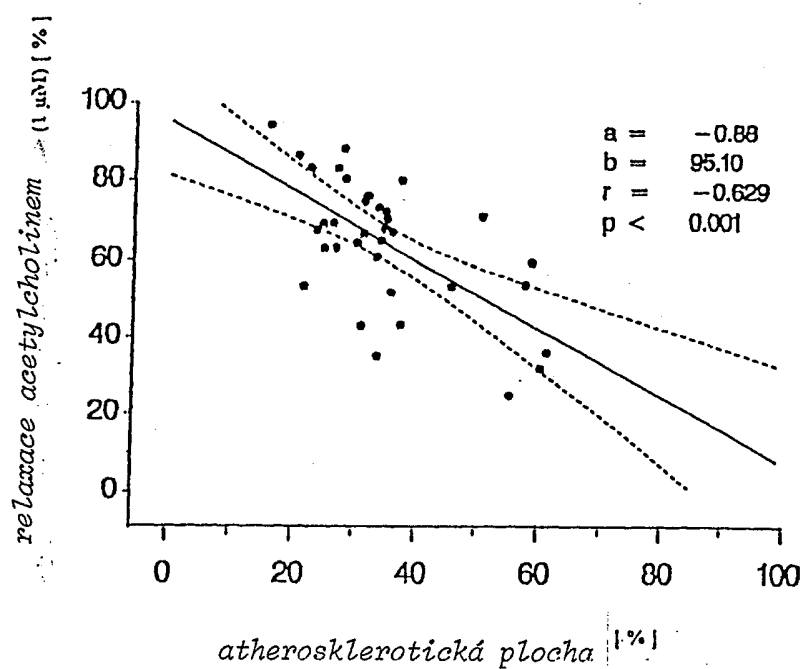
h

PCT/DE95/00421



OBR. 3:

PRIL.
PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ
U RAD
0 7 XI 96
DOŠLO
0 8 I 4 3 3
R.J.

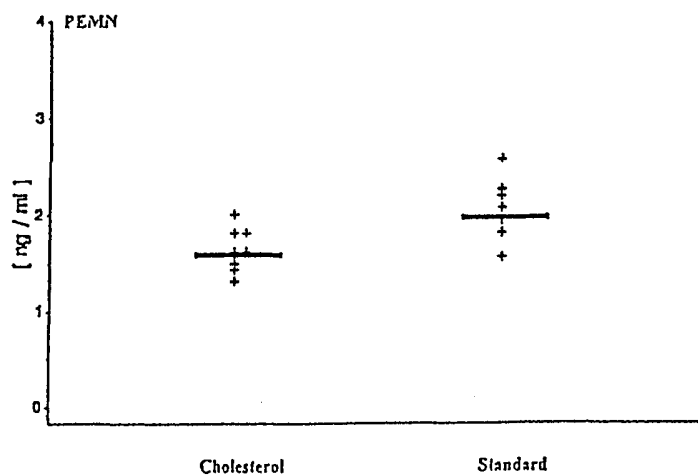


OBR. 4:

PRIL.
PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ
0 RAD
0 7 XI 96
00510
0 8 1 4 3 3
2.1.

h

11 0896-46



OBR. 5

PRIL.
PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ
U RAD
0 7 XI 96
00510
6 8 1 4 3 3
2.1.

6