(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 208 317**

(51) Int. Cl.[7]: **A61K 31/4985**
A61P 15/10

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Número de solicitud europea: **00926367 .4**
(86) Fecha de presentación: **26.04.2000**
(87) Número de publicación de la solicitud: **1173181**
(87) Fecha de publicación de la solicitud: **23.01.2002**

(54) Título: **Composiciones que contiene inhibidores de la fosfodiesterasa para el tratamiento de la disfunción sexual.**

(30) Prioridad: **30.04.1999 US 132036 P**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI: **16.06.2004**

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente: **16.06.2004**

(73) Titular/es: **Lilly Icos L.L.C.**
1209 Orange Street
Wilmington, Delaware 19801, US

(72) Inventor/es: **Pullman, William, Ernest y**
Whitaker, John, Steven

(74) Agente: **Cañadell Isern, Roberto**

ES 2 208 317 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición que contiene inhibidores de la fosfodiesterasa para el tratamiento de la disfunción sexual.

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional de patente número de serie 60/132,036 presentada el 30 de Abril de 1999.

Ámbito de la invención

La presente invención se refiere a un inhibidor de la enzima fosfodiesterasa (PDE) altamente selectivo y a su utilización en una forma farmacéutica. La presente invención se refiere en particular a un potente inhibidor de la fosfodiesterasa tipo 5 (PDE5) específica de guanosín-3',5'-monofosfato cíclico, que es útil para el tratamiento de la disfunción sexual cuando se encuentra como principio activo en un producto farmacéutico. La forma farmacéutica aquí descrita se caracteriza por la inhibición selectiva de la PDE5 y, en consecuencia, aporta un beneficio a los sectores terapéuticos, en los que es deseable una inhibición de la PDE5, reduciendo al mínimo o suprimiendo los efectos secundarios adversos resultantes de la inhibición de otras enzimas de fosfodiesterasa.

Antecedentes de la invención

Los efectos bioquímicos, fisiológicos y clínicos de los inhibidores de fosfodiesterasa específica de guanosín-3',5'-monofosfato cíclico (PDE cGMP-específica) sugieren su aplicación a una diversidad de trastornos, en los que se desea modular las funciones del músculo liso, renal, hemostática, inflamatoria y/o endocrina. La fosfodiesterasa (PDE5) tipo 5 cGMP-específica es la principal enzima hidrolítica del cGMP en el músculo vascular liso y su expresión en el cuerpo cavernoso del pene se ha descrito en Taher et al., J. Urol., 149, p. 285A (1993). Por tanto, la PDE5 es una meta atractiva en el tratamiento de la disfunción sexual (Murray, DN&P 6(3), pág.150-56 (1993)).

Actualmente se dispone en el mercado de un producto farmacéutico que contiene un inhibidor de la PDE5, que se comercializa con la marca registrada VIAGRA® . El principio activo de VIAGRA® es el sildenafilo. El producto se vende como una artículo manufacturado en forma de comprimidos de sildenafilo de 25, 50 y 100 mg, acompañados de un prospecto. El prospecto indica que sildenafilo es un inhibidor más potente de la PDE5, que de cualquier otra fosfodiesterasa conocida (inhibición 80 veces superior a la inhibición de la PDE1, 1.000 veces superior a la inhibición de las PDE2, PDE3 y PDE4). Según la bibliografía, la IC_{50} de sildenafilo para la inhibición de la PDE5 es de 3 nM (Drugs of the Future, 22(2), pág. 138-143 (1997)) y de 3,9 nM (Boolel et al., Int. J. of Impotence, 8, pp. 47-52 (1996)). Se ha descrito que sildenafilo es 4.000 veces más selectivo frente a la PDE5 que frente a la PDE3 y sólo 10 veces más selectivo frente a la PDE5 que frente a la PDE6. Se cree que su relativa falta de selectividad frente a la PDE6 es la causa de anomalías relacionadas con la percepción visual de los colores.

Aunque el sildenafilo ha tenido un éxito comercial significativo, no ha alcanzado el objetivo deseado debido a los considerables efectos secundarios adversos que presenta, entre los cuales están los sofocos (porcentaje de incidencia del 10%). Los efectos secundarios adversos limitan el uso de sildenafilo en pacientes afectados de anomalías de la visión, hipertensión y, sobre todo, en individuos que consumen nitratos orgánicos (Welds et al., Amer. J. of Cardiology, 83(5A), pág. 21(C)-28(C) (1999)).

El uso de sildenafilo en pacientes consumidores de nitratos orgánicos produce una caída de la tensión sanguínea clínicamente significativa, que podría hacer peligrar la vida del paciente. Por esta razón, el texto del prospecto del sildenafilo contiene contraindicaciones estrictas de uso del fármaco en combinación con nitratos orgánicos (vgr. Nitroglicerina, mononitrato de isosórbido, nitrato de isosórbido, tetranitrato de eritritilo) y otros donantes de óxido nítrico en cualquier forma, tanto regularmente como de forma intermitente, puesto que sildenafilo potencia los efectos hipotensores de los nitratos. Ver C.R. Conti el al., Amer. J. of Cardiology, 83(5A), pág. 29C-34C (1999). También se discuten diversos aspectos relacionados con la utilización del fármaco sildenafilo en Israel, M: "Viagra: The First Oral Treatment for Impotence", Pharmaceutical Journal, Pharmaceutical Society, London, GB, vol. 261, pág. 164-165 (1998). Por tanto, aunque se dispone de sildenafilo, sigue existiendo la necesidad de identificar productos farmacéuticos mejorados, útiles para el tratamiento de la disfunción sexual.

La patente USA 5,859,006 de Daugan describe ciertos derivados tetracíclicos, que son potentes inhibidores de la PDE cGMP-específica, o la PDE5. La IC_{50} de los compuestos descritos en la patente USA n° 5,859,006 está entre 1 nM y 10 μM. La dosificación oral para estos compuestos es de 0,58 mg diarios para un paciente adulto medio (70 kg). Así, las formas farmacéuticas (comprimidos o cápsulas) de dicha patente tienen entre 0,2 y 400 mg de principio activo. No se han descrito efectos secundarios significativos atribuibles a los compuestos descritos en la patente USA n° 5,859,006. El documento WO 97/03675 describe la utilización de derivados tetracíclicos de la patente USA n° 5,859,006 en el tratamiento de la impotencia.

Los solicitantes han descubierto que uno de dichos derivados tetracíclicos, (6R,12aR)-2, 3,6,7,12,12a-hexahidro2-metil-6-(3,4-metilendioxifenil)-pirazino [2',1':6,1]pirido [3,4-b]indol-1,4-diona, denominado también como (6R-trans)-6-(1,3-benzodioxol-5-il)-2,3,6,7,12, 12a-hexahidro-2-metil-pirazino-[1',2',:1,6]pirido[3,4-b]indol-1,4-diona, al que nos referiremos a partir de aquí como compuesto (I), puede administrarse en una dosis que ofrece un tratamiento eficaz libre de los efectos secundarios asociados al inhibidor de la PDE5 actualmente en el mercado, sildenafilo. Con

anterioridad a la presente invención dichos efectos secundarios se consideraban inherentes a la inhibición de la PDE5.

Es significativo el hecho, de que los estudios clínicos de los solicitantes revelan la posibilidad de ofrecer un producto eficaz con una tendencia reducida a provocar sofocos en individuos susceptibles. Lo más sorprendente es que cuando se administra el producto, los efectos secundarios asociados a la combinación de un inhibidor de la PDE5 y un nitrato orgánico también son clínicamente insignificantes. Así, pues, la contraindicación supuestamente inherente al uso de un producto que contiene un inhibidor de la PDE5 no se cumple cuando se administra el compuesto (I) en una dosis de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 20 mg, como se describe en el presente documento. Por tanto, la presente invención describe un tratamiento eficaz para la disfunción sexual en individuos, que no podían tratarse antes o padecían efectos secundarios inaceptables, incluyendo entre ellos los individuos con enfermedades cardiovasculares, vgr. los que precisaban tratamiento a base de nitratos, los que habían sufrido un infarto de miocardio más de tres meses antes de iniciar el tratamiento para la disfunción sexual y los que padecían insuficiencia cardiaca congestiva de clase 1, o los individuos que padecían anomalías de la visión.

La presente invención se refiere a un compuesto (I) en una forma farmacéutica. Es decir, la presente invención se refiere a una forma farmacéutica apropiada para administración oral que contiene entre aproximadamente 1 mg y aproximadamente 20 mg del compuesto (I).

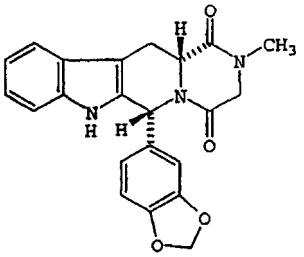
Resumen de la invención

La presente invención describe una forma farmacéutica para uso humano, que contiene aproximadamente de 1 a aproximadamente 20 mg de (6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-hexahidro-2-metil-6-(3,4-metilendioxifenil)-pirazino [2',1':6,1] pirido[3,4-b]indol-1,4-diona en una forma farmacéutica apropiada para administración oral.

La presente invención describe también un método de tratamiento de trastornos en los que se desea inhibir la PDE5, el cual comprende la administración a un paciente que lo necesite de una forma farmacéutica oral que contiene aproximadamente de 1 a aproximadamente 20 mg de un inhibidor selectivo de la PDE5, según necesidad, hasta una dosis total de 20 mg por día. La invención describe además la utilización de una forma farmacéutica oral que contiene un inhibidor selectivo de la PDE5 en una dosificación de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mg para el tratamiento de la disfunción sexual.

Los trastornos específicos que pueden tratarse mediante la presente invención incluyen, sin exclusión de otras posibles, la disfunción eréctil masculina y la disfunción sexual femenina, particularmente el trastorno de excitación femenino, también conocido como trastorno de excitación sexual femenina.

En particular, la presente invención facilita una composición farmacéutica que contiene de 1 a 20 mg de un compuesto con la fórmula desarrollada:



siendo dicha forma farmacéutica para administración oral, hasta una dosis total máxima de 20 mg por día.

De acuerdo con la presente invención, también se facilita la utilización de una dosis que contiene de 1 a 20 mg de un compuesto con la estructura anterior para la fabricación de un fármaco para la administración de hasta una dosis total máxima de 20 mg al día de dicho compuesto en un método de tratamiento de la disfunción sexual en un paciente necesitado del mismo.

Descripción detallada

A los efectos de la presente invención, tal como se presenta y describe en el presente documento, a continuación se definen los términos y abreviaturas siguientes.

El término "envase" se refiere a cualquier recipiente y su correspondiente sistema de cierre adecuado para almacenar, transportar, dispensar y/o manipular un producto farmacéutico.

El término "IC_{50}" expresa la medida de la potencia de un compuesto para inhibir una enzima PDE determinada (vgr. PDElc, la PDE5 o PDE6). La IC_{50} es la concentración de un compuesto que produce una inhibición del 50% de una enzima en un ensayo de respuesta a una dosis única. La determinación del valor de la IC_{50} para un compuesto se

lleva a cabo fácilmente mediante una metodología *in vitro* conocida, descrita en términos generales en Y. Cheng et al., Biochem. Pharmacol., 22, pág.3099-3108 (1973).

El término "prospecto" se refiere a la información que acompaña al producto, la cual facilita una descripción del modo de administrar el producto, junto con los datos de seguridad y eficacia requeridos para que el médico, el farmacéutico y el paciente puedan tomar una decisión informada en relación con la utilización del producto. El prospecto de un producto farmacéutico se considera generalmente como el "texto legal" de dicho producto.

El término "forma farmacéutica oral" se utiliza en sentido general para referirse a productos farmacéuticos de administración por vía oral. Las formas farmacéuticas orales son conocidas por el experto en el estado de la técnica e incluyen formulaciones líquidas, comprimidos, cápsulas y cápsulas de gelatina.

El término "anomalías de la visión" se refiere a visión anómala caracterizada por una visión azul-verde, causada al parecer por la inhibición de la PDE6.

El término "sofocos" se refiere a un enrojecimiento intermitente del rostro y el cuello atribuido a la vasodilatación causada por la ingestión de un fármaco, generalmente acompañado de una sensación de calor en el rostro y el cuello y, algunas veces, acompañado de transpiración.

El término "fármaco libre" se refiere a partículas sólidas de fármaco, que no están íntimamente embebidas en un coprecipitado polimérico.

La forma farmacéutica aquí reivindicada está acondicionada preferentemente en un artículo manufacturado para uso farmacéutico en el ser humano, estando constituido por un prospecto, un envase y una forma farmacéutica que contiene aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mg de compuesto (1).

El prospecto facilita una descripción de cómo administrar un producto farmacéutico, junto con los datos de seguridad y eficacia requeridos para que el médico, el farmacéutico y el paciente puedan tomar una decisión informada en relación con la utilización del producto. El prospecto se considera generalmente como el "texto legal" de un producto farmacéutico. El prospecto incorporado al artículo manufacturado indica que el compuesto (I) es útil en el tratamiento de aquellos trastornos en los que se desea inhibir la PDE5. El prospecto también facilita instrucciones sobre cómo administrar una o varias formas farmacéuticas de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mg según necesidad, hasta una dosis total máxima de 20 mg por día. Preferiblemente, la dosis administrada es de aproximadamente 5 a aproximadamente 20 mg/día, con mayor preferencia de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 mg/día. La forma farmacéutica de máxima preferencia es 10 mg una vez al día.

Los trastornos a tratar preferentemente son la disfunción sexual (como la disfunción eréctil masculina y la disfunción sexual femenina y con mayor preferencia el trastorno de excitación femenina (FAD). El trastorno preferiblemente tratado es la disfunción eréctil masculina.

Es significativo que el prospecto avala la utilización del producto en el tratamiento de la disfunción sexual en pacientes afectados de enfermedades de la retina, vgr. retinopatía diabética o retinitis pigmentosa, o en pacientes que están utilizando nitratos orgánicos. Así, preferentemente en el prospecto no consta ninguna contraindicación relativa a dichos trastornos y particularmente a la administración de la forma farmacéutica con un nitrato orgánico. Aún más preferentemente, en el prospecto no consta tampoco ninguna prevención o advertencia relacionada con las retinopatías, en particular con la retinitis pigmentosa y con individuos propensos a anomalías de la visión. Preferentemente, el prospecto incluye también información sobre una incidencia de sofocos inferior al 2%, más preferentemente inferior al 1% y, con preferencia máxima inferior al 0,5% de los pacientes, a los que se ha administrado la forma farmacéutica. El porcentaje de incidencia de sofocos indica una notable mejora respecto a las especialidades farmacéuticas anteriores que contienen un inhibidor de la PDE5.

El envase utilizado en el artículo manufacturado es de tipo convencional en el estado de la técnica farmacéutica. Por regla general, el envase es un paquete blister, un envase metalizado, un frasco de vidrio o plástico con su correspondiente tapón o sistema de cierre, u otro artículo semejante, apropiado para la utilización por parte del paciente o el farmacéutico. El tamaño preferente del envase permite contener de 1 a 1000 formas farmacéuticas sólidas, preferentemente de 1 a 500 y con mayor preferencia de 5 a 30.

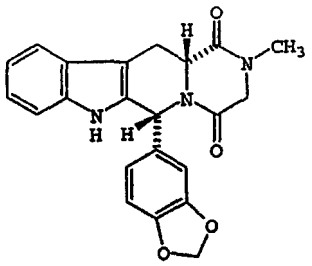
Las formas farmacéuticas son conocidas por el experto familiarizado con el estado de la técnica e incluyen, vgr. formulaciones líquidas, comprimidos, cápsulas y cápsulas de gelatina. Las formas farmacéuticas son preferentemente sólidas, particularmente comprimidos con aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mg de compuesto (I). Para la preparación de dichas formas farmacéuticas sirve cualquier excipiente farmacéuticamente aceptable para uso oral. Entre las formas farmacéuticas apropiadas se encuentran las formas coprecipitadas descritas, vgr., en la patente USA de Butler n°. 5,985,326, incluida aquí como referencia. En realizaciones preferidas, la forma farmacéutica de la presente invención es un sólido que contiene compuesto (I) como fármaco libre y está exento de la forma coprecipitada del compuesto(I).

Preferentemente, los comprimidos contienen excipientes farmacéuticos generalmente reconocidos como seguros, vgr. lactosa, celulosa microcristalina, almidón, carbonato cálcico, estearato de magnesio, ácido esteárico, talco y dio-

xido de sílice coloidal y se preparan mediante técnicas farmacéuticas de fabricación estándar como se describe en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18 th Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (1990). Dichas técnicas incluyen, vgr., la granulación en húmedo seguida de secado, molienda y compresión para formar comprimidos con recubrimiento pelicular o sin él; la granulación en seco seguida de molienda y compresión para formar comprimidos con recubrimiento pelicular o sin él; el mezclado en seco seguido de compresión para formar comprimidos con recubrimiento pelicular o sin él; los comprimidos moldeados; la granulación en húmedo, secado y llenado en cápsulas de gelatina; el mezclado en seco y llenado en cápsulas de gelatina; o la suspensión y solución y llenado en cápsulas de gelatina. Generalmente, las formas farmacéuticas sólidas presentan marcas identificativas troqueladas o estampadas en la superficie.

La presente invención se basa en experimentos detallados y ensayos clínicos y en las inesperadas observaciones de que los efectos secundarios supuestamente indicativos de la inhibición de la PDE5 pueden reducirse a niveles clínicamente insignificantes mediante la selección de un compuesto y una dosis. Esta inesperada observación ha permitido el desarrollo de una forma farmacéutica que incorpora el compuesto (I) en una cantidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mg por forma farmacéutica que, cuando se administra por vía oral, reduce al mínimo los efectos secundarios que se creían antes inevitables. Estos efectos secundarios incluyen sofocos faciales, anomalías de la visión y un descenso considerable de la tensión sanguínea cuando el compuesto (I) se administra solo o en combinación con un nitrato orgánico. El efecto mínimo del compuesto (I) sobre la PDE6, cuando se administra en formas farmacéuticas de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mg, también permite la administración de un inhibidor selectivo de la PDE5 a pacientes afectados de retinopatías como la retinopatía diabética o la retinitis pigmentosa.

El compuesto (I) tiene la fórmula desarrollada siguiente:



(I)

Se ha demostrado en ensayos clínicos en el ser humano que el compuesto de fórmula desarrollada (I) influye mínimamente en la tensión sistólica cuando se administra junto con nitratos orgánicos. Por el contrario, se ha comprobado que sildenafilo baja la tensión sistólica cuatro veces más que un placebo, lo cual conduce a las contraindicaciones indicadas en el prospecto de VIAGRA® y a las advertencias a ciertos pacientes.

A continuación se ilustran los valores IC_{50} de la PDE5 y la PDE6 para el compuesto de fórmula desarrollada (I), determinados mediante procedimientos descritos en el presente documento.

Compuesto	PDE5 IC_{50} (nM)	PDE6 IC_{50} (nM)	PDE6/PDE5
I	2,5	3400	1360

El compuesto de fórmula desarrollada (I) demuestra tener además una IC_{50} de la PDElc de 10.000 y un cociente PDElc/la PDE5 de 4.000.

Preparaciones

Preparación de la PDE5 humana

La producción recombinante de la PDE5 humana se llevó a cabo básicamente del modo descrito en el ejemplo 7 de la patente USA n°. 5,702,936, incluida aquí como referencia, excepto que el vector de transformación de levadura utilizado, derivado del plásmido básico ADH2 descrito en V. Price et al., Methods in Enzymology, 1985, pág. 308-318 (1990), incorporaba un promotor de levadura ADH2 y secuencias de terminación, en lugar de un promotor ADHl y secuencias de terminación y que el hospedador Saccharomyces cerevisiase era la cepa deficiente en proteasa BJ2-54 depositada el 31 de agosto de 1998 con la American Type Culture Collection, Manassas, Virginia, con el número de adquisición ATCC 74465. Se cultivaron células hospedadores transformadas en caldo de cultivo 2X SC-leu, pH 6,2, con metales traza y vitaminas. A las 24 horas se añadió caldo YEP con glicerol hasta una concentración final de 2X YEP/3% de glicerol. Después de aproximadamente 24 horas se cosecharon las células, se lavaron y se conservaron a -70°C.

Se descongeló sobre hielo el sedimento celular (29 g) con un volumen igual de tampón de lisis (25 mM de Tris-

Cl, pH 8, 5 mM de $MgCl_2$, 0,25 mM de ditiotreitol, 1 mM de benzamidina y 10 μM de $ZnSO_4$). Las células se lisaron en un microfluidizador con N2 a 20.000 psi. El lisado se centrifugó y se filtró a través de filtros de 0,45 μm de un solo uso. El filtrado se aplicó a una columna de 150 ml de Q Sepharose Fast Flow (Pharmacia). La columna se lavó con 1,5 volúmenes de tampón A (20 mM de Bis-Tris propano, pH 6,8, 1 mM de $MgCl_2$, 0,25 mM de ditiotreitol, 10 μM $ZnSO_4$) y se eluyó con un gradiente escalonado de 125 mM de NaCl en tampón A seguido de un gradiente lineal de 125-1000 mM de NaCl en tampón A.

Las fracciones activas procedentes del gradiente lineal se aplicaron en tampón B (20 mM de Bis-Tris propano (pH 6,8), 1 mM de $MgCl_2$, 0,25 mM de ditiotreitol, 10 μM de $ZnSO_4$ y 250 mM de KC1) a una columna cerámica de hidroxiapatito de 180 ml. Después de cargarse la columna, esta se lavó con 2 volúmenes de tampón B y se eluyó con un gradiente lineal de 0-125 mM de fosfato potásico en tampón B. Se reunieron las fracciones activas, se precipitaron con sulfato amónico al 60% y se volvió a hacer una suspensión en tampón C (20 mM de Bis-Tris propano, pH 6,8, 125 mM de NaCl, 0,5 mM de ditiotreitol, 10 μM de $ZnSO_4$). La mezcla se aplicó a una columna de 140 ml de Sephacryl S-300 HR y se eluyó con tampón C. Las fracciones activas se diluyeron en glicerol al 50% y se conservaron a -20°C. Las preparaciones resultantes tenían una pureza aproximada del 85% mediante SDS-PAGE.

Ensayo de actividad de PDE

La actividad de la PDE5 puede medirse mediante ensayos estándar en el estado de la técnica. Por ejemplo, la actividad específica de cualquier PDE puede determinarse del modo siguiente. Se realizaron ensayos utilizando una técnica de separación con carbón vegetal básicamente como se describe en Loughney et al., (1996). The Journal of Biological Chemistry, 271:796-806. En este ensayo la actividad de la PDE5 transforma el [^{32}P] cGMP en [^{32}P] 5'GMP en proporción a la cantidad de actividad de la PDE5 presente. A continuación se transforma el [^{32}P]5'GMP cuantitativamente en fosfato [^{32}P] libre y adenosina sin marcar por acción de la 5'-nucleotidasa de veneno de serpiente. Por tanto, la cantidad de fosfato [^{32}P] liberado es proporcional a la actividad de la enzima. El ensayo se realiza a 30°C en una mezcla de reacción de 100 μl que contiene (concentración final) 40 mM de Tris-Cl (pH 8,0), 1 μM de $ZnSO_4$, 5 mM de $MgCl_2$y 0,1 mg/ml de seroalbúmina bovina. La PDE5 está presente en cantidades que producen <30% de la hidrólisis total del substrato (condiciones de ensayo lineales). El ensayo se inicia con la adición del substrato (1 mM de [^{32}P] cGMP)y la mezcla se incuba durante 12 minutos. A continuación se añaden 75 μg de veneno de Crotalus atrox y se continúa la incubación durante otros 3 minutos (15 minutos en total). La reacción se detiene por adición de 200 ml de carbón vegetal activado (25 mg/ml de suspensión en NaH_2PO_4 0,1 M, pH 4). Después de centrifugar (750 x g durante 3 minutos) para sedimentar el carbón vegetal se toma una muestra del sobrenadante para la determinación de la radioactividad en un contador de centelleo y se calcula la actividad de la PDE5. Las preparaciones presentaron actividades específicas de aproximadamente 3 μmoles de cGMP hidrolizado por minuto y miligramo de proteína.

Preparación de la PDE6 bovina

La PDE6 bovina fue suministrada por el Dr. N. Viramaux, INSERM U338, Estrasburgo. Las retinas bovinas se prepararon siguiendo la descripción de Virmaux et al., FEBS Letters, 12(6), pág.325-328 (1971). Ver asimismo A. Sitaramayya et al., Exp. Eye Res., 25, pág.163-169 (1977). Salvo indicación contraria, todas las operaciones se hicieron en frío y con luz roja tenue. Los ojos se conservaron en frío y en la oscuridad durante un máximo de cuatro horas después del sacrificio.

La preparación de segmentos exteriores de retina (ROS) bovina se realizó básicamente siguiendo los procedimientos descritos por Schichi et al., J. Biol. Chem., 224:259 (1969). En un experimento característico se trituraron en mortero 35 retinas bovinas con 35 ml de tampón fosfato 0,066 M, pH 7,0, se completaron con sacarosa hasta el 40%, seguido de homogeneización en un homogeneizador Potter (20 agitaciones hacia arriba y abajo). Se centrifugó la suspensión a 25.000 g durante 20 minutos. Se homogeneizó el sedimento en 7,5 ml de tampón de fosfato 0,006 M (40% en sacarosa) y se colocó cuidadosamente en capas bajo 7,5 ml de tampón de fosfato (sin sacarosa). La centrifugación se realizó en un rotor de giro exterior a 45.000 g durante 20 minutos, dando como resultado un sedimento de base negra y también una banda roja en la interfase fosfato sacarosa al 40% 0,066 M/fosfato 0,066 M (ROS bruto). Se extrajo la sustancia roja situada en la interfase, se diluyó con tampón fosfato, se centrifugó hasta formar un sedimento y se redistribuyó en sacarosa con tampón al 40% como se ha descrito anteriormente. Se repitió este procedimiento 2 ó 3 veces hasta que no se formó ningún sedimento. El ROS purificado se lavó en tampón fosfato y finalmente se centrifugó a 25.000 g durante 20 minutos hasta formar un sedimento. Después se conservaron congelados todos los materiales hasta el momento de su utilización.

Se prepararon extractos hipotónicos por suspensión de ROS aislado en 10 mM de Tris-Cl pH 7,5, 1 mM de EDTA y 1 mM de ditioeritritol seguido de centrifugación a 100.000 g durante 30 minutos.

El preparado tenía una actividad específica de aproximadamente 35 nmoles de cGMP hidrolizado por minuto y miligramo de proteína.

Preparación de PDElc a partir de células de Spodoptera fugiperda (Sf9)

Se descongeló el sedimento celular (5 g) sobre hielo con 20 ml de tampón lisis (50 mM de MOPS de pH 7, 4, 10 μM de $ZnSO_4$, 0,1 mM de $CaCl_2$, 1 mM de DTT, 2 mM de benzamidina HCl, 5 μg/ml de pepstatina, leupeptina y aprotenina, respectivamente). Se lisaron las células pasándolas mediante una prensa de French (SLM-Aminco) man-

teniendo las temperaturas por debajo de 10°C. El homegeneizado de células resultante se centrifugó a 36.000 r.p.m. a 4°C durante 45 minutos en una ultracentrífuga Beckman con motor tipo TI45. Se desechó el sobrenadante y se volvió a hacer una suspensión del sedimento resultante en 40 ml de tampón de solubilización (tampón de lisis con 1M de NaCl, 0,1M de $MgCl_2$, 1 mM de $CaCl_2$, 20 μg/ml de calmodulina y 1% de sulfobetaína SB12 (Z3-12) por sonicación mediante un sintonizador VibraCell dotado de micropunta durante 3 veces 30 segundos. Esto se realizó en una mezcla refrigerada de hielo triturado/sal. Después de la sonicación, se mezcló poco a poco la mezcla durante 30 minutos a 4°C para terminar de solubilizar las proteínas unidas a la membrana. La mezcla se centrifugó en una ultracentrífuga Beckman utilizando un motor tipo TI45 a 36.000 r.p.m. durante 45 minutos. Se diluyó el sobrenadante con tampón de lisis con 10 μg/ml de inhibidor calpaína I y II. La proteína precipitada se centrifugó durante 20 minutos a 9.000 r.p.m. en un motor Beckman JA10. El sobrenadante recuperado se sometió a continuación a cromatografía en agarosa AP con azul mimético. Para preparar la columna AP de agarosa con azul mimético se protegió inicialmente la resina mediante la aplicación de 10 volúmenes de lecho de polivinilpirrolidona al 1% (es decir, peso molecular 40.000) para bloquear los puntos de unión no específicos. La PVP-40 débilmente unida se eliminó mediante lavado con 10 volúmenes de lecho de NaCl 2M y 10 mM de citrato sódico de pH 3,4. Justo antes de la adición de la muestra solubilizada de PDElc3 se niveló la columna con 5 volúmenes de lecho de columna de tampón A (50 mM de MOPS de pH 7, 4, 10 μM de $ZnSO_4$, 5 mM de $MgCl_2$i 0, l mM de $CaCl_2$, 1 mM de DTT, 2 mM de benzamidina HCl).

La muestra solubilizada se aplicó a la columna a un caudal de 2 ml/min. con reciclado, de modo que toda la muestra se aplicó de 4 a 5 veces en 12 horas. Después de terminar de cargarse, la columna se lavó con 10 volúmenes de columna de tampón A de columna, seguido de 5 volúmenes de columna de tampón B de columna (que contiene el tampón A de columna 20 mM de 5'- AMP)y seguido de 5 volúmenes de columna de tampón C de columna (50 mM de MOPS de pH 7,4, 10 μ de $ZnSO_4$, 0,1 mM de $CaCl_2$, 1 mM de ditiotreitol, 2 mM de benzamidina HCl). La enzima se eluyó en tres porciones sucesivas. La primera consistió en enzima procedente de un lavado con 5 volúmenes de lecho con tampón C de columna con 1 mM de cAMP. La segunda porción consistió en enzima procedente de un lavado con 10 volúmenes de lecho con tampón C de columna con 1 M de NaCl. La última porción consistió en enzima procedente de un lavado con 5 volúmenes de lecho con tampón C de columna con 1 M de NaCl y 20 mM de cAMP.

Se recogieron las fracciones activas de enzima y se eliminaron los nucleótidos cíclicos mediante cromatografía convencional de filtración en gel o cromatografía en resina de hidroxiapatito. Después de la eliminación de los nucleótidos cíclicos, se dializó la mezcla de enzimas frente a tampón de diálisis con 25 mM de MOPS de pH 7,4, 10 μM de $ZnSO_4$, 500 mM de NaCl, 1 mM de $CaCl_2$, 1 mM de ditiotreitol, 1 mM de benzamidina HCl, seguido de diálisis frente a tampón de diálisis que contiene 50% de glicerol. La enzima se congeló rápidamente con ayuda de hielo seco y se conservó a -70°C.

Las preparaciones obtenidas presentaron una pureza de aproximadamente >90% mediante SDS-PAGE. Estas preparaciones tenían actividades específicas de aproximadamente 0,1 a 1,0 μmol de cAMP hidrolizado por minuto y miligramo de proteína.

Determinaciones de la IC_{50}

El parámetro de interés en la evaluación de la potencia de un inhibidor enzimático competitivo de las enzimas PDE5 y/o PDElc y PDE6 es la constante de inhibición, es decir, K_i. Este parámetro puede calcularse aproximadamente determinando la IC_{50}r que es la concentración de inhibidor que inhibe un 50% de enzima en un ensayo de respuesta a una dosis única bajo las condiciones siguientes.

La concentración del inhibidor siempre es mucho mayor que la concentración de la enzima, de modo que la concentración de inhibidor libre (la cual se desconoce) se calcula aproximadamente mediante la concentración total de inhibidor (la cual es conocida).

Se elige un intervalo de concentraciones de inhibidor adecuado (es decir que en el ensayo hay concentraciones de inhibidor al menos varias veces mayores y varias veces menores que la constante K_i). Las concentraciones de inhibidor características oscilaron entre 10 nM y 10 μM.

Las concentraciones de enzima y substrato se eligen de modo que se consume menos del 20% del substrato en ausencia de inhibidor (produciendo, vgr., una hidrólisis máxima del substrato de entre el 10 y el 15%), de forma que la actividad de la enzima es aproximadamente constante a lo largo del ensayo.

La concentración del substrato es inferior a una décima parte de la constante de Michaelis (K_m). En estas condiciones la IC_{50} se aproximará mucho a la K_i. Esto se debe a la ecuación Cheng-Prusoff, que relaciona estos dos párametros: $IC_{50}=K_I\ (1+S/K_m)$, siendo $(1+S/K_m)$ aproximadamente 1 para valores bajos de S/K_m.

El valor IC_{50} se estima a partir del conjunto de datos ajustando los datos a un modelo apropiado de interacción del inhibidor de la enzima. Cuando se sabe que esta interacción afecta a la competencia simple del inhibidor con el substrato puede utilizarse un modelo de dos parámetros:

$$Y = A/(1+x/B)$$

en donde Y es la actividad de la enzima medida para una concentración de inhibidor x, A es la actividad en ausencia de inhibidor y B es IC_{50}. Ver Y. Cheng et al., Biochem. Pharmacol., 22:3099-3108 (1973).

Los efectos de los inhibidores de la presente invención sobre la actividad enzimática de las preparaciones de la PDE5 y la PDE6, como los descritos anteriormente se valoraron en uno de dos ensayos, que difieren entre si básicamente por la escala utilizada y que dieron prácticamente los mismos resultados en términos de la IC_{50}. Ambos ensayos implicaban la modificación del procedimiento de Wells et al., Biochem. Biophys. Acta, 384:430 (1975). El primero de los ensayos se realizó en un volumen total de 200 μl con 50 mM de Tris de pH 7,5, 3 mM de acetato de Mg, 1 mM de EDTA, 50 μg/ml de nucleotidasa de veneno de serpiente y 50 nM de [^{3}H]-cGMP (Amersham). Los compuestos de la invención se disolvieron en DMSO presente al 2% al final del ensayo. Los ensayos se incubaron durante 30 minutos a 30°C y se finalizaron por adición de 800 μl de 10 mM de Tris de pH 7, 5, 10 mM de EDTA, 10 mM de teofilina, 0,1 mM de adenosina y 0,1 mM de guanosina. Las mezclas se añadieron a columnas QAE Sephadex de 0,5 ml y se eluyeron con 2 ml de formiato 0,1 M (pH 7,4). La radiactividad eluida se midió en un contador de centelleo en Optiphase Hisafe 3.

Un segundo ensayo con la PDE, en microplaca, se llevó a cabo utilizando placas Multiscreen y un manguito de vacío. El ensayo (100 μl) contenía 50 nM de Tris de pH 7,5, 5 mM de acetato de Mg, 1 mM de EDTA y 250 μg/ml de nucleotidasa de veneno de serpiente. Los otros componentes de la mezcla de reacción eran los mismos que los descritos anteriormente. Al final de la incubación se cargó el volumen total de los ensayos mediante filtración en una placa de microcolumna QAE Sephadex. La radiactividad libre se eluyó con 200 μl de agua, de los cuales se analizaron partes alícuotas de 50 μl en un contador de centelleo como se ha descrito anteriormente.

Los siguientes ejemplos tienen por objeto ilustrar con mayor detalle la preparación de la invención reivindicada. El alcance de la presente invención no se limita únicamente a los ejemplos siguientes.

Ejemplo 1

El compuesto (I) se preparó del modo descrito en la patente USA 5,859,006 y se formuló en comprimidos utilizando la granulación en húmedo. Se disolvió povidona en agua para preparar una solución al 10%. Se añadió el principio activo, celulosa microcristalina, croscarmelosa sódica y laurilsulfato sódico a una mezcladora de alto cizallamiento y se mezcló durante 2 minutos. Los productos en polvo se granularon en húmedo con la solución de povidona y el agua adicional necesaria para completar la granulación. La mezcla resultante se secó en una secadora de lecho fluidizado con aire de entrada a 70°C ± 5°C hasta una pérdida por desecación inferior al 2,5%. Se pasaron los gránulos a través de un Cornil con una rejilla adecuada (o un tamiz) y se introdujeron en una mezcladora apropiada. Los productos externos a la granulación como croscarmelosa sádica y laurilsulfato sódico y el sílice anhidro coloidal se pasaron a través de un tamiz adecuado (vgr. de 500 micras), se añadieron a la mezcladora y se mezclaron durante 5 minutos. Se añadió estearato de magnesio y se mezcló durante 2 minutos. La mezcla se comprimió a una compresión/peso final de 250 mg utilizando un equipo cóncavo normal redondo de 9 mm.

Los núcleos de los comprimidos se revistieron con una suspensión acuosa de Opadry OY-S-7322 utilizando una Accelacota (o una caldera de revestimiento similar) con aire de entrada a 50-70°C hasta que el peso del comprimido se incrementó en aproximadamente 8 mg. Opadry OY-S-7322 contiene metilhidroxipropilcelulosa calidad Farm. Eur., dióxido de titanio calidad Farm. Eur., triacetina calidad USP. Opadry aumenta el peso de cada comprimido hasta aproximadamente 250 mg. La cantidad de recubrimiento pelicular aplicado por comprimido puede ser inferior a la indicada dependiendo del rendimiento del proceso.

Los comprimidos se envasan en blísters y se incluye el prospecto, en el cual se describe la seguridad y eficacia del compuesto.

(Tabla pasa a página siguiente)

Componente	Formulaciones (mg por comprimido)	
Inhibidor selectivo de la PDE5[1)]	1	5
Ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa	1	5
Celulosa microcristalina	221,87	213,87
Croscarmelosa sódica	5,00	5,00
Laurilsulfato sódico	2,50	2,50
Povidona K30	9,38	9,38
Agua purificada, USP (agua para irrigación)	c.s.	c.s.
Croscarmelosa sódica	5,00	5,00
Laurilsulfato sódico	2,50	2,50
Sílice coloidal anhidro	0,50	0,50
Estearato de magnesio	1,25	1,25
Subtotal del núcleo del comprimido	250,00	250,00
(Recubrimiento pelicular Opadry OY-S-7322)	aprox.8 mg	aprox.8 mg

[1)] compuesto (I)

Ejemplo 2

La siguiente fórmula se utiliza para preparar la forma farmacéutica terminada que contiene 10 mg de compuesto (I).

Ingrediente	Cantidad (mg)
Granulación	
Inhibidor selectivo de la PDE5[1)]	10,00
Lactosa monohidrato	153,80
Lactosa monohidrato (secada por pulverización)	25,00
Hidroxipropilcelulosa	4,00
Croscarmelosa sódica	9,00
Hidroxipropilcelulosa (FE)	1,75
Laurilsulfato sódico	0,70
	35,00
Productos en polvo externos	
Celulosa microcristalina (granular-102)	37,50
Croscarmelosa sódica	7,00
Estearato de magnesio (vegetal)	1,25
	Total 250 mg
Recubrimiento pelicular (aproximadamente) 11,25	

[1)]compuesto (I)

En la fabricación de los comprimidos se utiliza agua purificada USP. El agua se extrae durante el proceso y en el producto acabado quedan niveles mínimos.

Los comprimidos se fabrican utilizando un proceso de granulación en húmedo. A continuación se describe el mismo paso a paso. El fármaco y los excipientes a granular se someten a un tamizado de seguridad. El inhibidor selectivo de la PDE5 se mezcla en seco con lactosa monohidrato (secada por pulverización), hidroxipropilcelulosa, croscarmelosa sódica y lactosa monohidrato. La mezcla en polvo resultante se granula con una solución acuosa de hidroxipropilcelulosa y laurilsulfato sódico utilizando un Powrex u otro granulador apropiado de alto poder de cizallamiento. Se puede añadir agua para alcanzar el resultado final deseado. Puede utilizarse un molino para eliminar los grumos de la granulación en húmedo y facilitar el secado. El granulado húmedo se seca utilizando una secadora de lecho fluidizado o una estufa. Una vez seco el material se puede cribar para eliminar los aglomerados grandes. Se somete la celulosa microcristalina, la croscarmelosa sódica y el estearato de magnesio a un tamizado de seguridad y se añaden a los gránulos secos cribados. Estos excipientes y el granulado seco se mezclan hasta la homogeneidad utilizando un tambor giratorio, una mezcladora horizontal con cinta helicoidal u otro equipo de mezcla apropiado. El proceso de mezcla puede dividirse en dos fases. La celulosa microcristalina, la croscarmelosa sódica y el granulado seco se añaden a la mezcladora y se entremezclan durante la primera fase, seguida de la adición del estearato de magnesio a este granulado y de una segunda fase de mezcla.

El granulado mezclado se comprime a continuación para formar los comprimidos utilizando una prensa rotatoria. Los núcleos de los comprimidos se revisten con una película mediante una suspensión acuosa de la mezcla de color apropiada en una caldera de revestimiento (vgr. Accela Cota). Los comprimidos revestidos pueden espolvorearse ligeramente con talco para mejorar sus características de manipulación.

Los comprimidos se introducen en envases de plástico (30 comprimidos/envase) y se adjunta el prospecto en el cual se describe la seguridad y eficacia del compuesto.

Ejemplo 3

Se utiliza la siguiente fórmula en la preparación de una forma farmacéutica terminada que contiene 5 mg de compuesto (I).

Ingrediente	Cantidad (mg)
Granulación	
Inhibidor selectivo de la PDE5[1)]	2,50
Lactosa monohidrato	79,395
Lactosa monohidrato (secada por pulverización)	12,50
Hidroxipropilcelulosa	2,00
Croscarmelosa sódica	4,50
Hidroxipropilcelulosa (FE)	0,875
Laurilsulfato sódico	0,35
Productos en polvo externos	
Celulosa microcristalina (granular-102)	18,75
Croscarmelosa sódica	3,50
Estearato de magnesio (vegetal)	0,63
	Total 125 mg
Recubrimiento pelicular (aproximadamente) 6,875	

[1)] compuesto (I)

La forma farmacéutica del ejemplo 3 se preparó de modo idéntico a la forma farmacéutica del ejemplo 2.

Ejemplo 4

Cápsula de solución		
Ingrediente	mg/cápsula	Porcentaje (%)
Inhibidor selectivo de la PDE5[1)]	10	2
PEG 400 NF	490	98
Peso de llenado	500	100

[1)] compuesto (I)

Las cápsulas de gelatina se llenan con precisión bombeando un volumen exacto de formulación de fármaco, previamente disuelta, al interior de la cavidad parcialmente cerrada de la cápsula. Inmediatamente después del llenado por inyección de la formulación de la solución del fármaco se sella herméticamente la cápsula mediante calor.

Las cápsulas se introducen en envases de plástico y se incluye el prospecto.

Ejemplo 5

Se realizó un estudio farmacológico clínico cruzado de dos vías, aleatorio, doble ciego de interacción de fármaco con control de placebo para evaluar los efectos hemodinámicos de la administración concomitante de un inhibidor selectivo de la PDE5 (es decir el compuesto (I) y de los nitratos de actuación a corto plazo sobre voluntarios varones sanos. En este estudio se administró a los sujetos el compuesto (I) en una dosis de 10 mg o un placebo, una vez al día durante siete días. Al sexto o séptimo día se administró a los sujetos nitroglicerina (0,4 mg) por vía sublingual, estando estos en posición supina sobre una mesa basculante. La nitroglicerina se administró 3 horas después de la dosis de compuesto (I)y todos los sujetos mantuvieron el comprimido de nitroglicerina bajo la lengua hasta que se disolvió completamente. Se inclinó a los sujetos 70° hacia arriba cada 5 minutos durante un total de 30 minutos, midiendo la presión arterial y la frecuencia cardiaca. No hubo interrupciones del tratamiento entre los veintidós sujetos varones sanos (de edades comprendidas entre los 19 y los 60 años) que participaron en este estudio.

En un análisis preliminar de este estudio se observó que el compuesto (I) era bien tolerado y que no se presentaban efectos adversos graves. No hubo modificaciones del compuesto (I) en las valoraciones de seguridad de laboratorio ni en los ECG de 12 derivaciones. Los efectos adversos de mayor incidencia fueron cefalea, dispepsia y lumbalgia. El compuesto (I) mostró un efecto mínimo, si es que tuvo alguno, sobre la presión arterial sistólica media y sobre el descenso medio máximo de la presión arterial sistólica inducida por nitroglicerina.

Ejemplo 6

En dos estudios aleatorios, doble ciego controlados por placebo se administró compuesto (I) a pacientes necesitados del mismo en diversas dosis, tanto en dosis diarias como tratamiento según necesidad, para mantener relaciones sexuales y realizar el coito en sus domicilios. Las dosis de 5 a 20 mg de compuesto (I) dio buenos resultados y hubo menos del 1% de casos de sofoco y no se registró ninguna anomalía de la visión. Se encontró que una dosis de 10 mg del compuesto (I) era plenamente efectiva y mostraba efectos secundarios mínimos.

La mejora de la función eréctil se determinó mediante el International Index of Erectile Function (IIEF) (Rosen et al., Urology, 49, pág. 822-830 1997)), los registros diarios de intentos de coito y una encuesta sobre la satisfacción global. El compuesto (I) mejoró considerablemente el porcentaje de éxito en los intentos de coito, incluyendo la capacidad de lograr y mantener una erección, tanto en régimen "según necesidad" como en régimen de dosis diaria.

Ejemplo 7

Se realizó un tercer estudio clínico aleatorio, doble ciego con control mediante placebo del compuesto (I) administrado "según necesidad" a pacientes con disfunción eréctil masculina. El compuesto (I) se administró a lo largo de un periodo de ocho semanas en el tratamiento de la disfunción eréctil masculina (DE). La disfunción eréctil (DE) se define como la incapacidad permanente de lograr y/o mantener una erección apropiada para realizar satisfactoriamente el acto sexual. La dosificación "según necesidad" se define como la administración intermitente del compuesto (I) antes de la actividad sexual prevista.

La población de estudio consistió en 212 hombres, de al menos 18 años de edad, con disfunción eréctil entre ligera y grave. El compuesto (I) se administró por vía oral en forma de comprimidos de coprecipitado, fabricados de acuerdo con la patente USA n° 5,985,326 de Butler. El compuesto (I) se administró "según necesidad" en dosis de 2 mg, 5 mg, 10 mg y 25 mg y no más de una vez cada 24 horas. Durante el estudio no se permitió en ningún momento el tratamiento con ningún tipo de nitrato, fungicidas a base de azol (vgr. cetoconazol o itraconazol), warfarina, eritromicina o antiandrógenos. No se autorizó ningún otro fármaco registrado o experimental, tratamiento o dispositivo para el tratamiento de la DE. A cuarenta y un sujetos se les administró un placebo.

Las dos variables de eficacia primaria fueron la capacidad de un sujeto para penetrar a su pareja y su capacidad de mantener una erección durante el coito, medidas por el Índice Internacional de Función Eréctil (IIEF). El cuestionario IIEF comprende quince preguntas y proporciona una medida sucinta y fiable de la función eréctil. Ver R.C. Rosen et al., Urology, 49, pp. 822-830 (1997).

Las variables de eficacia secundaria fueron las puntuaciones del dominio de IIEF para la función eréctil, la función orgásmica, el deseo sexual, la satisfacción durante el coito y la satisfacción general; la capacidad del paciente para lograr una erección, la capacidad para introducir su pene en la vagina de su pareja, la culminación del coito con eyaculación, la satisfacción con la dureza de su erección y la satisfacción general, todo ello medido de acuerdo con el diario del Perfil de la Relación Sexual (SEP); y una encuesta sobre la valoración global al final del periodo de tratamiento. El SEP es un instrumento a modo de diario en el que el paciente documenta cada relación sexual a lo largo del estudio.

El aspecto de seguridad del estudio comprendía a todos los sujetos incluidos en el mismo y se valoró mediante evaluación de todos los efectos adversos notificados y los cambios en los valores clínicos de laboratorio, constantes vitales, resultados del reconocimiento físico y de los electrocardiogramas.

Al final del estudio, los pacientes que calificaron su capacidad de penetración (pregunta IIEF n° 3) como "casi siempre o siempre" fueron: 17,5% en el grupo de placebo, 38,1% en el grupo de 2 mg, 48,8% en el grupo de 5 mg, 51,2% en el grupo de 10 mg y 83,7% en el grupo de 25 mg. Las comparaciones revelaron diferencias estadísticamente significativas en el cambio en la capacidad de penetración entre el placebo y todos los niveles de dosificación del compuesto (I).

Al final del estudio, los pacientes que calificaron su capacidad de mantener una erección (pregunta IIEF n° 4) durante el coito como "casi siempre o siempre" fueron: 10,0% en el grupo de placebo, 19,5% en el grupo de 2 mg, 32,6% en el grupo de 5 mg, 39,0% en el grupo de 10 mg y 69,0% en el grupo de 25 mg. La comparación reveló diferencias estadísticamente significativas en el cambio en la capacidad de penetración entre el placebo y los tres niveles más altos de dosificación del compuesto (I).

Este estudio incluyó asimismo una evaluación de seguridad. Un efecto adverso debido al tratamiento se define como un trastorno inexistente al inicio del estudio, que apareció posteriormente, o un trastorno existente al inicio del estudio y que se agravó posteriormente. Los efectos adversos con mayor incidencia debidos al tratamiento, que se notificaron fueron cefalea, dispepsia y lumbalgia. La incidencia de los efectos adversos debidos al tratamiento estaba relacionada con la dosis.

En líneas generales, este estudio demostró que, en comparación con el placebo, las cuatro dosis del compuesto (I), es decir 2 mg, 5 mg, 10 mg y 25 mg, administradas "según necesidad" mejoraron considerablemente el rendimiento sexual de hombres con disfunción eréctil, valorado mediante el IIEF, los diarios de los pacientes en los que se evaluaba la frecuencia del coito satisfactorio y la satisfacción durante el coito y mediante una valoración global.

Los resultados combinados de los estudios clínicos han demostrado que la administración del compuesto (I) es eficaz en el tratamiento de la disfunción eréctil masculina, como se ilustra en la tabla siguiente.

DOMINIO IIEF DE FUNCIÓN ERÉCTIL (Cambio respecto a la línea de referencia)			
Dosis del compuesto (I)	n	Media ± SD	P
Placebo	131	0,8 ± 5,3	
2 mg	75	3,9 ± 6,1	<.001
5 mg	79	6,6 ± 7,1	<.001
10 mg	135	7,9 ± 6,7	<.001
25 mg	132	9,4 ± 7,0	<.001
50 mg	52	9,8 ± 5,5	<.001
100 mg	49	8,4 ± 6,1	<.001

n es el número de sujetos, DE es la desviación estándar.

Sin embargo, también se observó a partir de los estudios clínicos combinados que aumentó el porcentaje de efectos adversos debidos al tratamiento al aumentar la dosis del compuesto (I), como se ilustra en la tabla siguiente:

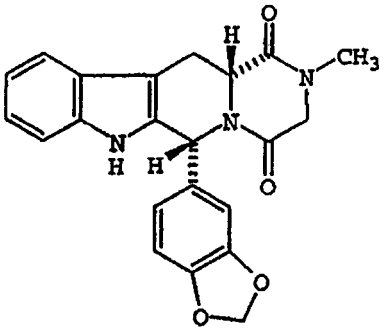
Efectos adversos debidos al tratamiento (%)							
Dosis del compuesto (I) (mg)							
Efecto	Placebo	2	5	10	25	50	100
Cefalea	10	12	10	23	29	34	46
Dispepsia	6	3	14	13	19	20	25
Lumbalgia	5	3	3	15	18	24	22
Mialgia	3	0	9	9	16	20	29
Rinitis	3	7	3	4	4	0	2
Conjuntivitis	1	0	1	1	0	2	5
Edema de párpado	0	0	0	1	1	2	3
Sofocos	0	0	0	<1	0	3	7
Anomalías de la visión	0	0	0	0	0	0	0

La tabla anterior muestra un aumento de los efectos adversos para dosis de 25 mg a 100 mg. De acuerdo con esto, aunque se observó eficacia en el tratamiento de la DE en la dosis de 25 mg a 100 mg, hay que considerar los efectos adversos observados en dicho intervalo de dosificación.

De acuerdo con la presente invención, una dosis de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mg, preferentemente de aproximadamente 2 a aproximadamente 20 mg, con mayor preferencia de aproximadamente 5 a aproximadamente 20 mg y con máxima preferencia de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 mg de compuesto (I), administrado hasta un máximo de 20 mg cada 24 horas, trata con eficacia la DE y reduce al mínimo o elimina la aparición de efectos secundarios adversos. Es importante destacar que no se ha informado de anomalías de la visión y que se han suprimido básicamente los sofocos. Sorprendentemente, además de tratar la DE con dosificaciones de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mg de compuesto (I), con un mínimo de efectos secundarios adversos, los individuos sometidos a tratamiento con nitratos también pueden ser tratados de DE mediante el método y la composición de la presente invención.

REIVINDICACIONES

1. Una composición de una forma farmacéutica que contiene de 1 a 20 mg de un compuesto de fórmula desarrollada:



siendo dicha forma farmacéutica para administración oral de una dosis total máxima de 20 mg por día.

2. La forma farmacéutica de la reivindicación 1, **caracterizada** por contener de 2 a 20 mg del compuesto en la forma farmacéutica.

3. La forma farmacéutica de la reivindicación 1, **caracterizada** por contener de 5 a 20 mg del compuesto en la forma farmacéutica.

4. La forma farmacéutica de la reivindicación 2, **caracterizada** por contener 2,5 mg del compuesto en la forma farmacéutica.

5. La forma farmacéutica de la reivindicación 3, **caracterizada** por contener 5 mg del compuesto en la forma farmacéutica.

6. La forma farmacéutica de la reivindicación 3, **caracterizada** por contener 10 mg del compuesto en la forma farmacéutica.

7. La forma farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizada** por estar la dosis en una forma seleccionada entre un líquido, un comprimido, una cápsula, o una cápsula de gelatina.

8. La forma farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizada** por estar la dosis en forma de comprimido.

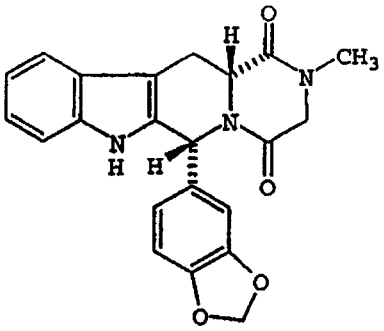
9. La forma farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizada** por su utilización en el tratamiento de un trastorno, en el cual se desea que haya una inhibición de la PDE5.

10. La forma farmacéutica de la reivindicación 9, **caracterizada** por ser el trastorno una disfunción sexual.

11. La forma farmacéutica de la reivindicación 10, **caracterizada** por ser la disfunción sexual una disfunción eréctil masculina.

12. La forma farmacéutica de la reivindicación 10, **caracterizada** por ser la afección un trastorno de excitación femenina.

13. Utilización de una dosis que contiene de 1 a 20 mg de un compuesto de estructura



para la producción de un fármaco para la administración de una dosis total máxima de 20 mg al día de dicho compuesto en un método de tratamiento de la disfunción sexual en un paciente que lo necesite.

14. Una utilización de acuerdo con la reivindicación 13, **caracterizada** por estar destinado el fármaco a la administración oral de una o varias dosis que contiene de 1 a 20 mg de dicho compuesto, hasta una dosis total máxima de 20 mg de dicho compuesto al día.

15. La utilización de las reivindicaciones 13 ó 14, **caracterizada** por contener la dosis de 2 a 20 mg del compuesto.

16. La utilización de las reivindicaciones 13 ó 14, **caracterizada** por contener la dosis de 5 a 20 mg del compuesto.

17. La utilización de las reivindicaciones 13 ó 14, **caracterizada** por contener la dosis de 2,5 mg del compuesto.

18. La utilización de las reivindicaciones 13 ó 14, **caracterizada** por contener la dosis 5 mg de compuesto.

19. La utilización de las reivindicaciones 13 ó 14, **caracterizada** por contener la dosis 10 mg de compuesto.

20. La utilización de la reivindicación 13, **caracterizada** por contener la dosis 10 mg de compuesto y ser la administración de una vez al día.

21. La utilización de cualquiera de las reivindicaciones 13 a 20, **caracterizada** por estar la dosis en una forma seleccionada entre un líquido, un comprimido, una cápsula o una cápsula de gelatina.

22. La utilización de cualquiera de las reivindicaciones 13 a 20, **caracterizada** por estar la dosis en forma de un comprimido.

23. Una utilización de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 13 a 22, **caracterizada** por ser la disfunción sexual la disfunción eréctil masculina.

24. Una utilización de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 13 a 22, **caracterizada** por ser la disfunción sexual un trastorno de excitación femenina.

NOTA INFORMATIVA: Conforme a la reserva del art. 167.2 del Convenio de Patentes Europeas (CPE) y a la Disposición Transitoria del RD 2424/1986, de 10 de octubre, relativo a la aplicación del Convenio de Patente Europea, las patentes europeas que designen a España y solicitadas antes del 7-10-1992, no producirán ningún efecto en España en la medida en que confieran protección a productos químicos y farmacéuticos como tales.

Esta información no prejuzga que la patente esté o no incluida en la mencionada reserva.