



УКРАЇНА

(19) UA (11) 95085 (13) C2

(51) МПК (2011.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 31/53 (2006.01)
A61P 13/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ЗАСТОСУВАННЯ ВАРДЕНАФІЛУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ УРОЛОГІЧНИХ РОЗЛАДІВ

1

2

(21) a200805470
(22) 16.09.2006
(24) 11.07.2011
(86) PCT/EP2006/009040, 16.09.2006
(31) 05021261.2
(32) 29.09.2005
(33) EP
(31) 06007776.5
(32) 13.04.2006
(33) EP
(46) 11.07.2011, Бюл.№ 13, 2011 р.
(72) УЛЬБРИХ ЕРНСТ, DE, ЗАНДНЕР ПЕТЕР, DE, ТІНЕЛЬ ХАННА, DE, ХЮТТЕР ЙОАХІМ, DE
(73) БАЕР ШЕРІНГ ФАРМА АКЦІЕНГЕЗЕЛЬШАФТ, DE
(56) WO 01/17480 A2, 15.03.2001
DE 19540642 A1, 07.05.1997
UCKERT ET AL: "CHARACTERIZATION AND FUNCTIONAL RELEVANCE OF CYCLIC NUCLEOTIDE PHOSPHODIESTERASE ISOENZYMES OF THE HUMAN PROSTATE" JOURNAL OF UROLOGY, BALTIMORE, MD, US, vol. 166, no. 6, December 2001 (2001-12), pages 2484-2490
MONTORSI F ET AL: "REVIEW OF PHOSPHODIESTERASES IN THE UROGENITAL SYSTEM: NEW DIRECTIONS FOR THERAPEUTIC INTERVENTION" JOURNAL OF SEXUAL MEDICINE, BLACKWELL PUBLISHING LTD., OXFORD, GB, vol. 1, no. 3, 2004, pages 322-336
LIN C-S ET AL: "PHOSPHODIESTERASES AS THERAPEUTIC TARGETS" UROLOGY, BELLE MEAD, NJ, US, vol. 61, no. 4, April 2003 (2003-04), pages 685-691
WO 2006/104870 A2, 05.10.2006
PORST H: "Therapy of erectile dysfunction in 2005" DER UROLOGE [A], vol. 42, no. 10, October 2003, pages 1330-1336
SAIRAM K ET AL.: "Sildenafil influences lower urinary tract symptoms" BJU INTERNATIONAL, vol. 90, no. 9, December 2002, pages 836-839
(57) 1. Фармацевтична композиція для лікування захворювання, що входить в групу захворювань, що складається з обструкції вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ), сечостатеви розладів,

що включають синдром нейрогенного міхура, синдром надактивного міхура (CHAM) та інтерстиціальний цистит (ІЦ), нетримання сечі (НС), подібно до змішаного, позивного, стресового або переповненого нетримання (ЗНС, ПНС, СНС, ПНС), тазового болю, доброякісних і злоякісних розладів органів, що складають сечостатеву систему жінки і чоловіка, захворювання нирок, подібно до гострої або хронічної ниркової недостатності, імунологічно опосередкованих ниркових захворювань, подібно до відторгнення ниркового трансплантату, вовчакового нефриту, імунокомплексних ниркових захворювань, гломерулопатій, нефриту, токсичної нефропатії, обструктивних уропатій і еректильної дисфункції у ссавця, що містить Варденафіл або його сіль, гідрат або гідрат солі.

2. Застосування Варденафілу або його солі, гідрату або гідрату солі для одержання фармацевтичної композиції для лікування захворювання, що входить в групу захворювань, яку складають обструкція вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ), сечостатеві розлади, що включають синдром нейрогенного міхура, синдром надактивного міхура (CHAM) та інтерстиціальний цистит (ІЦ), нетримання сечі (НС), таке як змішане, позивне, стресове або переповнене нетримання (ЗНС, ПНС, СНС, ПНС), тазовий біль, доброякісні і злоякісні розлади органів, що складають сечостатеву систему жінки і чоловіка, захворювання нирок, подібно до гострої або хронічної ниркової недостатності, імунологічно опосередковані ниркові захворювання, такі як відторгнення ниркового трансплантату, вовчаковий нефрит, імунокомплексні ниркові захворювання, гломерулопатії, нефрит, токсична нефропатія, обструктивні уропатії і еректильна дисфункція у ссавця.

3. Фармацевтична композиція для лікування синдрому нейрогенного міхура, синдрому надактивного міхура та інтерстиціального циститу, що містить Варденафіл або його сіль, гідрат або гідрат солі.

4. Застосування Варденафілу або його солі, гідрату або гідрату солі для одержання фармацевтичної композиції для лікування синдрому нейрогенного міхура, синдрому надактивного міхура та інтерстиціального циститу.

(13) C2

(11) 95085

(19) UA

Технічна галузь винаходу

Представлений винахід відноситься до фосфодієстераз (ФДЕ) і фармакології інгібіторів ФДЕ. Більш конкретно, винахід відноситься до інгібіторів ФДЕ-5 і ФДЕ-4 і їх використання для одержання медикаментів для лікування урологічних розладів.

Передумови створення винаходу

Доброякісна гіперплазія простати (ДГП), що приводить до обструкції вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) - звичайне новоутворення (неоплазма) у чоловіків. Підраховано, що приблизно 80% чоловіків віком від 50 років мають симптоми від помірних до серйозних, включаючи збільшену частоту сечовипускання, ноктурію і позиви на сечовипускання, що супроводжується повільним сечовипусканням і затримкою сечі. Тому ДГП все більше і більше визнається як головна проблема охорони здоров'я в західних країнах (Guess 1995). Окрім хірургічного втручання на простаті (20% з усіх пацієнтів ДГП), звичайне лікування захворювання включає інгібітори 5-альфа редуктази (фінастерид) і альфа-блокатори (тамзулозин, доксазозин, теразозин, альфузозин) (Truss 2001). Інгібітори 5-альфа редуктази впливають на механічний компонент ДГП і інгібують проліферацію тканини простати. Альфа-блокатори впливають на динамічний компонент і зменшують подразнювальні симптоми ДГП через релаксацію гладкої мускулатури простати, що зменшує уретральну резистентність. Окрім того, альфа-блокатори можуть безпосередньо розслаблювати клітини гладкої мускулатури міхура, не зменшуючи контракцію міхура. Проте, весь цей вибір лікування має обмежену ефективність та/або несприятливий профіль побічних ефектів (Carbone 2003). Тому, різноманітні спроби сфокусувалися на новому терапевтичному виборі, щоб інгібувати проліферацію стромі простати або зменшувати тонус гладкої мускулатури простати і міхура. Це включає інгібітори ароматази (Sciarra 2000), антагоністи фактору росту (Desgrandchamps 1997), активатори (відкривачі) калієвих каналів (Gopalakrishnan 2004) та антагоністи ендотеліну (Andersson 2002).

Також цілком встановлено, що циклічні нуклеозиди цАМФ і цГМФ можуть зменшувати тонус гладкої мускулатури (Drescher 1994). цАМФ і цГМФ синтезуються від їх відповідних нуклеозидтрифосфатів за допомогою аденілат- і гуанілат-циклаз відповідно. Вони розкладаються фосфодієстеразами циклічних нуклеотидів (ФДЕ), які дуже ефективно регулюють внутрішньоклітинний рівень цАМФ і цГМФ. До цих пір було ідентифіковано 11 різних членів сімейства ФДЕ, які відрізняються за структурою, регуляцією і специфічністю щодо їх субстрату (Soderling 2000). Роль ФДЕ для лікування урологічних розладів недостатньо зрозуміла, характеризування ізоформ ФДЕ відстає від інших систем і багато літератури було видано раніше ідентифікації недавно ідентифікованих ФДЕ. Хоча ФДЕ експресуються в нижньому сечовому тракті, тобто в міхурі, уретрі і простаті, дані мРНК експресії і прямого порівняння усіх ФДЕ ізогенів все ще

відсутні або суперечливі. Є деякі дані, що неспецифічне інгібування ФДЕ може розслаблювати тканину простати (Drescher 1994). Дані про ефект інгібування ФДЕ-5 дуже обмежені. Показано, що Zaprinast - інгібітор ФДЕ-5, який також інгібуює ФДЕ-6, -9 і -11 може розслаблювати тканину простати, попередньо скороченої (пре-контракція) *in vitro* (Uckert 2001), тоді як роль інших сімейств ФДЕ в межах цієї тканини потрібно визначити. В межах міхура, неспецифічна блокада різних ФДЕ шляхом IBMX (інгібування ФДЕ-1, -2, -3, -4, -5, -6, -10, і -11) могла розслаблювати міхур самок Guinea Pigs, тоді як Zaprinast був неефективний (Gillespie 2004). Не зважаючи на ці суперечливі отримані дані, роль ФДЕ-5 в релаксації кавернозного тіла і лікуванні еректильної дисфункції - добре відома і є вже потужні і селективні інгібітори ФДЕ-5 на ринку. Потужні і селективні інгібітори ФДЕ-4 переважно використовуються для лікування астми і обструктивної легеневої хвороби (Spina 2003).

Розкриття винаходу

Один з аспектів винаходу стосується профілю експресії мРНК ФДЕ, що демонструє поширеність цГМФ-залежної ФДЕ-5 і цАМФ-залежної ФДЕ-4 не лише в простаті, але і в тканині міхура (Фігури 1, 2). Тому, селективні інгібітори ФДЕ-5 або ФДЕ-4, і в певних комбінаціях обидва, не лише зменшують контрактильність простати, але також, як додаткова перевага від комбінації, послаблюють подразнювальні симптоми, викликані обструкцією вихідного отвору міхура, оскільки це часто зустрічається при урологічних розладах. Селективними інгібіторами ФДЕ-5 є Варденафіл, Сілденафіл і Тадалафіл, селективним інгібітором ФДЕ-4 - Рофлуміласт.

Урологічні розлади, що піддаються лікуванню терапевтичними агентами винаходу, включають: доброякісну гіперплазію простати (ДГП), симптоми нижчого сечового тракту (СНСТ) і, зокрема, подразнювальні симптоми, викликані ДГП-індукованою обструкцією вихідного отвору міхура (ОВОСМ). Оскільки не лише симптоматичні подразнення міхура, але і, також ті, що лежать в основі ДГП-індукованої обструкції вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) піддаються лікуванню специфічними інгібіторами ФДЕ-5 та/або ФДЕ-4 (і в специфічних їх комбінаціях), це лікування забезпечує істотну перевагу над вже відомими способами лікування в даній галузі.

Іншими урологічними розладами, які конкретно і з істотною перевагою можуть бути проліковані вищезгаданими інгібіторами або комбінацією інгібіторів, є сечостатеві розлади, що включають нейрогенний синдром сечового міхура [також згадуваний як надактивний міхур (НАСМ) або інтерстиціальний цистит (ІЦ)], нетримання сечі (НС) подібно до змішаного, позивного, стресового, або переповненого нетримання (ЗНС, ПНС, СНС, ПНС); тазовий біль, доброякісні і злоякісні розлади органів, що складають сечостатеву систему жінки і чоловіка, захворювання нирок, такі як гостра або хронічна ниркова недостатність, імунологічно опо-

середковані ниркові захворювання, такі як відторгнення ниркового трансплантату, люпус-нефрит, імунокомплексні ниркові захворювання, гломерулопатії, нефрити, токсична нефропатія, обструктивні уропатії і еректильна дисфункція.

Інший аспект винаходу демонструє, що інгібітор ФДЕ-5 - Варденафіл - має релаксуючий ефект на уретру щурів із EC_{50} значенням 0,96 мкмоль/л, і простату щурів і міхура із EC_{50} значенням 1,1 і 5,0 мкмоль/л відповідно (Фігура 3, Таблиця 1).

Інший аспект винаходу демонструє, що інгібітор ФДЕ-4 - Рофлуміласт та інгібітор ФДЕ-5 - Варденафіл, обидва показують релаксуючі ефекти на міхур кролика з IC_{50} 260 нмоль/л, так і 1,7 мкмоль/л відповідно (Фігура 4, Таблиця 2).

Інший аспект винаходу демонструє, що інгібітор ФДЕ-5 - Варденафіл значно зменшує кількість довільних позивів, не спрямованих на сечовиділення, як міру подразнювальних симптомів ДГП на щурячій моделі обструкції вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) (Фігура 5).

Винахід забезпечує інгібітори ФДЕ-5, які, поодинокі або в комбінації з інгібіторами ФДЕ-4, є корисними для лікування урологічних розладів. Зокрема, сполуки винаходу - Тадалафіл ((6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-Гексагідро-2-метил-6-(3,4-метилendioксифеніл)-піразино(1',2':1,6)піридо(3,4-b)індол-1,4-діон), Варденафіл (2-(2-Етоксис-5-(4-етилпіперазин-1-іл-1-сульфоніл)феніл)-5-метил-7-пропіл-3Н-імідазо(5,1-f)(1,2,4)триазин-4-он), Сілденафіл (3-[2-етоксис-5-(4-метилпіперазин-1-іл)сульфонілфеніл]-7-метил-9-пропіл-2,4,7,8-тетразабіцикло[4,3,0]нона-3,8,10-триен-5-он), Уденафіл 5-[2-пропілокси-5-(1-метил-2-піролідинілетиламідосульфоніл)феніл]метил-3-пропіл-1,6-дигідро-7Н-піразоло(4,3-d)піримідин-7-он, Дазантафіл 7-(3-Бромо-4-метоксibenзил)-1-етил-8-[[[1,2)-2-гідроксциклопентил]аміно]-3-(2-гідроксиметил)-3,7-дигідро-1-пурин-2,6-діон, Аванафіл 4-[[[3-хлоро-4-метоксифеніл]метил]аміно]-2-[(2S)-2-(гідроксиметил)піролідин-1-іл]-N-(піримідин-2-ілметил)піримідин-5-карбоксамід, SLx 2101 від Surface Logix, LAS 34179 Триазоло[1,2-]ксантин, 6-метил-4-пропіл-2-[2-пропокси-5-(4-метилпіперазино)сульфоніл]-феніл-, Рофлуміласт (3-(циклопропілметокси)-N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-4-(диформетокси)бензамід), Циломіласт (4-ціано-4-(3-циклопентокси-4-метоксифеніл)циклогексан-1-карбонова кислота) і Пікламіласт (3-циклопентокси-N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-4-метоксibenзамід).

Ще одним аспектом винаходу є спосіб скринінгу інгібіторів ФДЕ, зокрема інгібіторів ФДЕ-4 і ФДЕ-5, для використання поодинокі або в комбінації для одержання медикаментів для лікування урологічних розладів, згаданих вище.

Винахід забезпечує способи (також тут і надалі „скринінгове випробування”) для ідентифікації інгібіторів ФДЕ, які можуть використовуватися для лікування урологічних розладів. Способи визначають ідентифікацію кандидата або тестових сполук або агентів (наприклад, пептидів, пептидоміметиків, маленьких молекул або інших молекул), які зв'язуються з фосфодіестеразами та/або мають стимулюючий або інгібуючий ефект на біологічну

активність ФДЕ ІА або її експресію, і потім визначать, яка з цих сполук має ефект щодо симптомів або захворювань, пов'язаних з урологічними розладами, в *in vivo* випробуванні.

Кандидат або тестові сполуки, або агенти, які зв'язуються з ФДЕ-4 або ФДЕ-5 та/або мають стимулюючий або інгібуючий ефект на активність або експресію ФДЕ-4 або ФДЕ-5, ідентифікуються у випробуваннях, в яких використовують клітини, що експресують ФДЕ-4 та/або ФДЕ-5 (випробування, засновані на клітинах), або у випробуваннях з ізолюваними ФДЕ-4 та/або ФДЕ-5 (неклітинні випробування). Різні випробування можуть використовувати різноманітні варіанти ФДЕ (наприклад, ФДЕ повної довжини, біологічно активний фрагмент ФДЕ, або злитий білок, який включає всю або частку ФДЕ). Окрім того, ФДЕ-4 та/або ФДЕ-5 можуть бути отримані від будь-яких прийнятних видів ссавців. Випробування може бути випробуванням зв'язування, що полягає у прямому або непрямому вимірюванні зв'язування тестової сполуки або ліганди відомої ФДЕ-4 або ФДЕ-5 з ФДЕ-4 або ФДЕ-5. Випробування може також бути випробуванням активності, що включає пряме або непряме вимірювання активності ФДЕ-4 або ФДЕ-5. Випробування може також бути випробуванням експресії, що включає пряме або непряме вимірювання експресії мРНК ФДЕ-4 та/або ФДЕ-5 або ФДЕ-4 та/або протеїну ФДЕ-5. Різні скринінгові випробування комбінуються *in vivo* дослідженнями, що включають вимірювання ефекту тестової сполуки на симптоми урологічних розладів.

Представлений винахід включає біохімічні, неклітинні випробування, які дозволяють ідентифікацію інгібіторів і агоністів ФДЕ, придатних як головних структур для розвитку фармакологічних лікарських засобів. Такі випробування включають контактування ФДЕ-4 та/або ФДЕ-5 з тестовою сполукою, і визначення здатності тестової сполуки діяти як антагоніст (переважно) або агоніст ензиматичної активності ФДЕ-4 та/або ФДЕ-5. У одному з варіантів реалізації випробування включає моніторинг ФДЕ активності ФДЕ-4 та/або ФДЕ-5, вимірюючи конверсію цАМФ або цГМФ до його монофосфату нуклеозиду після контактування ФДЕ-4 та/або ФДЕ-5 з тестовою сполукою.

Наприклад, рівні цАМФ і цГМФ можуть бути визначені використанням тритій-містких сполук 3НцАМФ і 3НцГМФ, як описано в [Hansen, R. S., і Beavo, J.A., PITAS USA1982,79: 2788-92]. Для скринінгу пулу сполук, що складається з великої кількості сполук, можна використовувати дослідження проксимальної сцинтиляції на мікротитрованій пластині (SPA), як описано в [Bardelle, C. і інші. (1999) Anal. Biochem. 275: 148-155].

Альтернативно, фосфодіестеразна активність рекомбінантного протеїну може бути випробувана, використовуючи комерційно доступний SPA набір (Amersham Pharmacia). Фермент ФДЕ гідролізує циклічні нуклеотиди, наприклад цАМФ і цГМФ до їх лінійних аналогів. Дослідження SPA використовує тритійовані циклічні нуклеотиди [3Н]цАМФ або [3Н]цГМФ, і засновується на селективній взаємодії тритійованого нециклічного продукту з SPA-

гранулами, тоді як циклічні субстрати ефективно не зв'язуються.

Радіомічений продукт, зв'язаний з сцинтиляційними гранулами, генерує світло, що може бути проаналізоване на сцинтиляційному лічильнику.

Фармацевтична композиція винаходу утворена таким чином, щоб бути сумісною із притаманним їй шляхом введення. Приклади шляхів введення включають: парентеральний (наприклад, внутрішньовенний, внутрішньоартеріальний, внутрішньоскірний, підшкірний, внутрішньом'язовий, інгаляційний, трансдермальний, трансмукозальний, назальний і ректальний шляхи призначення), оральний (наприклад, букальний, сублінгвальний, орально-мукозальний і пероральний) і місцевий (наприклад, локальна інстиляція розчинів або суспензій і місцеві імплантанти).

Фармацевтичні композиції, прийнятні для ін'єкцій або ін'єкцій, включають стерильні водні розчини (якщо активний інгредієнт досить розчинний у воді), суспензії, емульсії і стерильні порошки, для екстемпорального виготовлення стерильних ін'єкційних розчинів або дисперсій. Носій може бути розчинником або дисперсійним середовищем, що містить, наприклад, воду, етанол, фармацевтично прийнятний поліол, подібно до гліцерину, пропіленгліколю, рідкого поліетиленгліколю і прийнятних їх сполук. Можуть додаватися фармацевтично прийнятні інгредієнти, наприклад, буфери, консерванти, антиоксиданти, ізотонуючі агенти або сурфактанти. Депо-ін'єкції засновані на відомих принципах, подібно до масляних розчинів або суспензій, або частинок біодеструктуючих полімерів.

Для інгаляційного введення сполуки доставляються у формі аерозольного спрею із аерозольного контейнера або диспенсера, який містить прийнятний пропелент, із розпилювача або інгальатора сухого порошку.

Системне введення може також бути здійснено засобами трансмукозального або трансдермального введення. Для трансмукозального або трансдермального введення у композиції використовуються прийнятні пенетранти щодо бар'єру, через який потрібно проникнути композиції. Такі пенетранти є загальновідомими в даній галузі і включають, наприклад, для трансмукозального введення - детергенти, солі жовчних кислот і похідні фузидової кислоти. Трансмукозальне введення може бути здійснено використанням назальних спреїв, сублінгвальними або букальними препаратами або супозиторіями. Для трансдермального введення активні сполуки утворюють у вигляді мазей, пластирів, гелів, або кремів, як загальновідомо в даній галузі.

Сполуки можуть також бути одержані у формі супозиторіїв (наприклад, з загальноприйнятними супозиторними основами, як наприклад, масло какао і інші гліцериди), або у вигляді утримуючих клізм для ректального введення.

Оральні композиції загалом включають інертний розріджувач або наповнювач і функціональні ексципієнти. Вони можуть бути введені у капсули або спресовані в таблетки. Інші прийнятні дозовані форми - шипучі таблетки, жувальні таблетки, оро-

диспергувальні таблетки, м'яко-желатинові капсули, заповнені рідиною тверді желатинові капсули, порошки в пакетиках і оральні рідини.

Прийнятні функціональні ексципієнти для одержання оральних дозованих форм добре відомі в даній галузі і включають, наприклад, зв'язуючі, такі як, полівінілпіролідон або гідроксипропілметилцелюлозу, дезінтегранти, як, наприклад, кросповідон або натрій-кроскармелоза, глід анти, подібно коловидному діоксиду кремнію, лубриканти, такі як стеарат магнію, макроголі або стеаринова кислота, підсолоджувальні агенти, такі як аспартам, сахароза або сахарин-натрій, і ароматизатори, такі як, наприклад, м'ятний або апельсиновий.

У одному з варіантів реалізації активні сполуки одержані з носіями, які захищають сполуки від швидкої елімінації із організму, такі як, наприклад, таблетки контрольованого вивільнення або капсули, заповнені гранулами в оболонці, або парентеральні композиції контрольованого вивільнення, у тому числі імплантанти і мікроінкапсульовані системи доставки. Можуть використовуватися біодеструктуючі або біологічно сумісні полімери, як наприклад, етиленвінілацетат, поліангідрид, полігліколева кислота, колаген, поліортоестери, полімолочна кислота або полігліколеві полімолочні співполімери.

У іншому варіанті реалізації винахід забезпечує комбінації інгібіторів ФДЕ-4 і ФДЕ-5 і їх використання для одержання фармацевтичних композицій для лікування урологічних розладів, причому ці комбінації включають або i) фармацевтичні композиції, що включають сполуку, яка має інгібувальну дію як на активність ФДЕ-4, так і на активність ФДЕ-5, або ii) фармацевтичні композиції, що включають принаймні один інгібітор ФДЕ-4 і, принаймні, один інгібітор ФДЕ-5, як фіксовану комбінацію в одній застосовуваній одиниці, або iii) комплект компонентів, що складається з принаймні двох наборів фармацевтичних композицій, де кожен набір складається принаймні з одної фармацевтичної композиції, що включає інгібітор ФДЕ-5 в одиницях принаймні однієї дози, і з принаймні однієї фармацевтичної композиції, що містить інгібітор ФДЕ-4 в одиницях принаймні однієї дози, причому кожна застосовувана одиниця згадуваних фармацевтичних композицій призначається в комбінації, послідовно, як одно- або багатократна доза.

Представлений винахід додатково забезпечує:

Спосіб скринінгу інгібіторів ФДЕ-5, корисних як терапевтичні агенти в лікуванні захворювання, що входить у групу захворювань, яка складається з доброякісної гіперплазії простати (ДГП), обструкції вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптомів нижчого сечового тракту (СНСТ), який включає стадії i) контактування тестової сполуки (яка має або не має інгібувальної активності ФДЕ-4) з ФДЕ-5 поліпептидом, ii) визначення активності поліпептиду ФДЕ-5 при певній концентрації тестової сполуки або за відсутності згадуваної тестової сполуки, iii) визначення активності згадуваного поліпептиду ФДЕ-5 при різних концентраціях згадуваної тестової сполуки, iv) відбір принаймні однієї сполуки з інгібувальним ефектом щодо поліпептиду ФДЕ-5.

Спосіб скринінгу інгібіторів ФДЕ-5, корисних як терапевтичні агенти в лікуванні захворювання, що входить у групу захворювань, яка складається з доброякісної гіперплазії простати (ДГП), обструкції вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптомів нижчого сечового тракту (СНСТ), який включає стадії i) контактування тестової сполуки (яка має або не має інгібувальної активності ФДЕ-5) з поліпептидом ФДЕ-4, ii) визначення активності ФДЕ-4 поліпептиду при певній концентрації тестової сполуки або за відсутності згадуваної тестової сполуки, iii) визначення активності згадуваного ФДЕ-4 поліпептиду при різних концентраціях згадуваної тестової сполуки, iv) відбір принаймні однієї сполуки з інгібувальним ефектом щодо ФДЕ-4 поліпептиду.

Спосіб скринінгу комбінацій інгібіторів ФДЕ-5 і інгібіторів ФДЕ-4, корисних як терапевтичні агенти в лікуванні захворювання, яке входить у групу захворювань, що складається з доброякісної гіперплазії простати (ДГП), обструкції вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптомів нижчого сечового тракту (СНСТ), який включає стадії: i) контактування першої тестової сполуки з ФДЕ-5 поліпептидом, ii) визначення активності ФДЕ-5 поліпептиду при певній концентрації тестової сполуки або за відсутності згадуваної тестової сполуки, iii) визначення активності згадуваного поліпептиду ФДЕ-5 при різних концентраціях згадуваної тестової сполуки, iv) відбір принаймні однієї сполуки з інгібувальним ефектом щодо поліпептиду ФДЕ-5; v) контактування другої тестової сполуки з ФДЕ-4 поліпептидом, vi) визначення активності ФДЕ-4 поліпептиду при певній концентрації другої тестової сполуки або за відсутності згадуваної другої тестової сполуки, vii) визначення активності ФДЕ-4 поліпептиду при різних концентраціях згадуваної другої тестової сполуки, viii) відбір принаймні однієї другої сполуки з інгібувальним ефектом щодо ФДЕ-4 поліпептиду, ix) комбінування принаймні однієї першої сполуки з ФДЕ-5 інгібувальною активністю з принаймні однією другою сполукою, що має ФДЕ-4 інгібувальну активність.

Способи скринінгу, які включають контактування тестової сполуки в клітині або на її поверхні, де клітина знаходиться *in vitro*.

Способи скринінгу, які включають контактування тестової сполуки з ФДЕ-4 або ФДЕ-5 поліпептидом в неклітинній системі.

Способи скринінгу можуть включати тестову сполуку, яка зв'язується із здатною до виявлення міткою.

Зокрема, представлений винахід забезпечує:

Фармацевтичну композицію для лікування захворювання, що входить в групу захворювань, яку складають доброякісна гіперплазія простати (ДГП), обструкція вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ), симптоми нижчого сечового тракту (СНСТ), сечостатеві розлади, що включають нейрогенні синдроми міхура - синдром надактивного міхура (СНАМ) та інтерстиціальний цистит (ІЦ), нетримання сечі (НС), подібно до змішаного, позивного, стресового, або переповненого нетримання (ЗНС, ПНС, СНС, ПНС), тазовий біль, доброякісні і злоякісні розлади органів, що складають сечоста-

теву систему жінки і чоловіка, захворювання нирок, подібно до гострої або хронічної ниркової недостатності, імунологічно опосередковані ниркові захворювання, подібно до відторгнення ниркового трансплантату, вовчаковий нефрит, імунокомплексні ниркові захворювання, гломерулопатії, нефрит, токсична нефропатія і обструктивні уропатії у ссавця, яка містить терапевтичний агент, який регулює активність поліпептиду ФДЕ-5.

Фармацевтична композиція для лікування захворювання, що входить в групу захворювань, яку складають доброякісна гіперплазія простати (ДГП), обструкція вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптоми нижчого сечового тракту (СНСТ) у ссавця, яка включає терапевтичний агент, що регулює активність ФДЕ-4 поліпептиду.

Фармацевтична композиція для лікування захворювання, що входить в групу захворювань, яку складають доброякісна гіперплазія простати (ДГП), обструкція вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптоми нижчого сечового тракту (СНСТ) у ссавця, яка включає терапевтичний агент, що є комбінацією згаданих вище селективних терапевтичних агентів.

Фармацевтична композиція для лікування захворювання, що входить в групу захворювань, яку складають доброякісна гіперплазія простати (ДГП), обструкція вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптоми нижчого сечового тракту (СНСТ) у ссавця, яка включає терапевтичний агент, який регулює активність поліпептиду ФДЕ-5 і ФДЕ-4 поліпептиду.

Фармацевтична композиція для лікування захворювання, що входить в групу захворювань, яку складають доброякісна гіперплазія простати (ДГП), обструкція вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптоми нижчого сечового тракту (СНСТ) у ссавця, яка включає інгібітор ФДЕ-4, вибраний із групи інгібіторів ФДЕ-4, що складається з наступних: Рофлуміласт (3-(циклопропілметокси)-N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-4-(диформетокси)бензамід), Циломіласт (4-ціано-4-(3-циклопентокси-4-метоксифеніл)циклогексан-1-карбонова кислота) і Пікламіласт (3-циклопентокси-N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-4-метоксibenзамід).

Фармацевтична композиція для лікування захворювання, що входить в групу захворювань, яку складають доброякісна гіперплазія простати (ДГП), обструкція вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптоми нижчого сечового тракту (СНСТ), сечостатевих розладів, що включають нейрогенні синдроми міхура - синдром надактивного міхура (СНАМ) та інтерстиціальний цистит (ІЦ), нетримання сечі (НС) подібно до змішаного, позивного, стресового, або переповненого нетримання (ЗНС, ПНС, СНС, ПНС), тазовий біль, доброякісні і злоякісні розлади органів, що складають сечостатеву систему жінки і чоловіка, захворювання нирок, подібно до гострої або хронічної ниркової недостатності, імунологічно опосередковані ниркові захворювання, подібно до відторгнення ниркового трансплантату, вовчаковий нефрит, імунокомплексні ниркові захворювання, гломерулопатії, нефрит, токсична нефропатія і обструкти-

вні уропатії у ссавця, яка включає інгібітор ФДЕ-5, вибраний із групи інгібіторів ФДЕ-5, що складається з наступних: Тадалафіл ((6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-гексагідро-2-метил-6-(3,4-метилендіоксифеніл)піразино(1',2':1,6)піридо(3,4-b)індол-1,4-діон), Варденафіл (2-(2-етокси-5-(4-етилпіперазин-1-іл-1-сульфоніл)феніл)-5-метил-7-пропіл-3Н-імідазо(5,1-f)(1,2,4)триазин-4-он), Сілденафіл (3-[2-етокси-5-(4-метилпіперазин-1-іл)сульфонілфеніл]-7-метил-9-пропіл-2,4,7,8-тетразабіцикло[4,3,0]нона-3,8,10-триєн-5-он), Уденафіл 5-[2-пропілокси-5-(1-метил-2-піролідинілетиламідосульфоніл)феніл]метил-3-пропіл-1,6-дигідро-7Н-піразоло(4,3-d)піримідин-7-он, Дазантафіл 7-(3-бromo-4-метоксибензил)-1-етил-8-[[[(1,2)-2-гідроксициклопентил]аміно]-3-(2-гідроксиетил)-3,7-дигідро-1-пурин-2,6-діон, Аванафіл 4-[[[(3-хлоро-4-метоксифеніл)метил]аміно]-2-[(2S)-2-(гідроксиметил)піролідин-1-іл]-N-(піримідин-2-ілметил)піримідин-5-карбоксамід, SLx 2101 від Surface Logix, LAS 34179 триазоло[1,2-]ксантин,6-метил-4-пропіл-2-[2-пропокси-5-(4-метилпіперазино)сульфоніл] феніл або солі, гідрати або гідрати їх солей.

Фармацевтична композиція для лікування захворювання, що входить в групу захворювань, яку складають доброякісна гіперплазія простати (ДГП), обструкція вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптоми нижчого сечового тракту (СНСТ) у ссавця, яка містить комбінацію принаймні одного інгібітора ФДЕ-4, вибраного із групи інгібіторів ФДЕ-4, що складається з наступних: Рофлуміласт (3-(циклопропілметокси)-N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-4-(дифторметокси)бензамід), Циломіласт (4-ціано-4-(3-циклопентокси-4-метоксифеніл)циклогексан-1-карбонова кислота) і Пікламіласт (3-циклопентокси-N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-4-метоксибензамід), і принаймні одного інгібітора ФДЕ-5, вибраного із групи інгібіторів ФДЕ-5, що складається з наступних: Варденафіл (2-(2-Етоксид-5-(4-етилпіперазин-1-іл-1-сульфоніл)феніл)-5-метил-7-пропіл-3Н-імідазо(5,1-f)(1,2,4)триазин-4-он), Сілденафіл (3-[2-етокси-5-(4-метилпіперазин-1-іл)сульфонілфеніл]-7-метил-9-пропіл-2,4,7,8-тетразабіцикло[4,3,0]нона-3,8,10-триєн-5-он) і Тадалафіл ((6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-гексагідро-2-метил-6-(3,4-метилендіоксифеніл).

Застосування інгібітора ФДЕ-5 для одержання фармацевтичної композиції для лікування захворювання, що входить в групу захворювань, яку складають доброякісна гіперплазія простати (ДГП), обструкція вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптоми нижчого сечового тракту (СНСТ), сечостатеві розлади, що включають нейрогенні синдроми міхура - синдром надактивного міхура (CHAM) та інтерстиціальний цистит (ІЦ), нетримання сечі (НС), таке як змішане, позивне, стресове або переповнене нетримання (ЗНС, ПНС, СНС, ПНС), тазовий біль, доброякісні і злаякісні розлади органів, що складають сечостатеву систему жінки і чоловіка, захворювання нирок подібно до гострої або хронічної ниркової недостатності, імунологічно опосередковані ниркові захворювання, такі як відторгнення ниркового

трансплантату, вовчаковий нефрит, імунокомплексні ниркові захворювання, гломерулопатії, нефрит, токсична нефропатія і обструктивні уропатії у ссавця.

Застосування інгібітора ФДЕ-4 для одержання фармацевтичної композиції для лікування захворювання, що входить в групу захворювань, яка складається з доброякісної гіперплазії простати (ДГП), обструкції вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптомів нижчого сечового тракту (СНСТ) у ссавця.

Застосування комбінації принаймні одного інгібітора ФДЕ-4 і принаймні одного інгібітора ФДЕ-5 для одержання фармацевтичної композиції для лікування захворювання, що входить в групу захворювань, яку складають доброякісна гіперплазія простати (ДГП), обструкція вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптоми нижчого сечового тракту (СНСТ), сечостатеві розлади, що включають нейрогенні синдроми міхура - синдром надактивного міхура (CHAM) та інтерстиціальний цистит (ІЦ), нетримання сечі (НС), таке як змішане, позивне, стресове або переповнене нетримання (ЗНС, ПНС, СНС, ПНС), тазовий біль, доброякісні і злаякісні розлади органів, що складають сечостатеву систему жінки і чоловіка, захворювання нирок подібно до гострої або хронічної ниркової недостатності, імунологічно опосередковані ниркові захворювання, такі як відторгнення ниркового трансплантату, вовчаковий нефрит, імунокомплексні ниркові захворювання, гломерулопатії, нефрит, токсична нефропатія і обструктивні уропатії і еректильна дисфункція у ссавця.

Застосування агента, який є інгібітором ФДЕ-4 поліпептиду і поліпептиду ФДЕ-5, для одержання фармацевтичної композиції для лікування захворювання, що входить в групу захворювань, яка складається з доброякісної гіперплазії простати (ДГП), обструкції вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптомів нижчого сечового тракту (СНСТ) у ссавця.

Застосування інгібітора ФДЕ-5, вибраного із групи інгібіторів ФДЕ-5, що складається з наступних: Тадалафіл ((6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-гексагідро-2-метил-6-(3,4-метилендіоксифеніл)піразино(1',2':1,6)піридо(3,4-b)індол-1,4-діон), Варденафіл (2-(2-етокси-5-(4-етилпіперазин-1-іл-1-сульфоніл)феніл)-5-метил-7-пропіл-3Н-імідазо(5,1-f)(1,2,4)триазин-4-он), Сілденафіл (3-[2-етокси-5-(4-метилпіперазин-1-іл)сульфонілфеніл]-7-метил-9-пропіл-2,4,7,8-тетразабіцикло[4,3,0]нона-3,8,10-триєн-5-он), Варденафіл 5-[2-пропілокси-5-(1-метил-2-піролідинілетиламідосульфоніл)феніл]-метил-3-пропіл-1,6-дигідро-7Н-піразоло(4,3-cl)піримідин-7-он, Дазантафіл 7-(3-Бromo-4-метоксибензил)-1-етил-8-[[[(1,2)-2-гідроксициклопентил]аміно]-3-(2-гідроксиетил)-3,7-дигідро-1-пурин-2,6-діон, Аванафіл 4-[[[(3-хлоро-4-метоксифеніл)метил]аміно]-2-[(2S)-2-(гідроксиметил)піролідин-1-іл]-N-(піримідин-2-ілметил)піримідин-5-карбоксамід, SLx 2101 від Surface Logix, MS 3477P триазоло[1,2-]ксантин,6-метил-4-пропіл-2-[2-пропокси-5-(4-метилпіперазино)сульфоніл]-феніл або солі, гідрати або гідрати їх солей, для одержання фармацев-

тичної композиції для лікування захворювання, що входить в групу захворювань, яку складають доброякісна гіперплазія простати (ДГП), обструкція вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптоми нижчого сечового тракту (СНСТ), сечостатеві розлади, що включають нейрогенні синдроми міхура - синдром надактивного міхура (CHAM) та інтерстиціальний цистит (ІЦ), нетримання сечі (НС), таке як змішане, позивне, стресове або переповнене нетримання (ЗНС, ПНС, СНС, ПНС), тазовий біль, доброякісні і злоякісні розлади органів, що складають сечостатеву систему жінки і чоловіка, захворювання нирок подібно до гострої або хронічної ниркової недостатності, імунологічно опосередковані ниркові захворювання, такі як відторгнення ниркового трансплантату, вовчаковий нефрит, імунокомплексні ниркові захворювання, гломерулопатії, нефрит, токсична нефропатія і обструктивні уропатії у ссавця.

Застосування інгібітора ФДЕ-4, вибраного із групи інгібіторів ФДЕ-4, що складається з наступних: Рофлуміласт (3-(циклопропілметокси)-N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-4-(диформетокси)бензамід), Циломіласт (4-ціано-4-(3-циклопентокси-4-метоксибензил)циклогексан-1-карбонова кислота) і Пікламіласт (3-циклопентокси-N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-4-метоксибензамід), для одержання фармацевтичної композиції для лікування захворювання, що входить в групу захворювань, яка складається з доброякісної гіперплазії простати (ДГП), обструкції вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптомів нижчого сечового тракту (СНСТ) у ссавця.

Застосування комбінації принаймні одного інгібітора ФДЕ-4, вибраного із групи інгібіторів ФДЕ-4, що складається з наступних: Рофлуміласт (3-(циклопропілметокси)-N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-4-(диформетокси)бензамід), Циломіласт (4-ціано-4-(3-циклопентокси-4-метоксибензил)циклогексан-1-карбонова кислота), Пікламіласт (3-циклопентокси-N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-4-метоксибензамід), і принаймні одного інгібітора ФДЕ-5, вибраного із групи інгібіторів ФДЕ-5, що складається з наступних: Варденафіл (2-(2-Етоксис-5-(4-етилпіперазин-1-іл-1-сульфоніл)феніл)-5-метил-7-пропіл-3Н-імідазо(5,1-f)(1,2,4)триазин-4-он), Сілденафіл (3-[2-етоксис-5-(4-метилпіперазин-1-іл)сульфонілфеніл]-7-метил-9-пропіл-2,4,7,8-тетразабіцикло[4,3,0]нона-3,8,10-триєн-5-он), і Тадалафіл ((6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-гексагідро-2-метил-6-(3,4-метилендіоксифеніл), для одержання фармацевтичної композиції для лікування захворювання, що входить в групу захворювань, яку складають доброякісна гіперплазія простати (ДГП), обструкція вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптоми нижчого сечового тракту (СНСТ), сечостатеві розлади, що включають нейрогенні синдроми міхура - синдром надактивного міхура (CHAM) та інтерстиціальний цистит (ІЦ), нетримання сечі (НС), таке як змішане, позивне, стресове або переповнене нетримання (ЗНС, ПНС, СНС, ПНС), тазовий біль, доброякісні і злоякісні розлади органів, що складають сечостатеву систему жінки і чоловіка, захворювання нирок подібно до гострої або хронічної ниркової недостат-

ності, імунологічно опосередковані ниркові захворювання, такі як відторгнення ниркового трансплантату, вовчаковий нефрит, імунокомплексні ниркові захворювання, гломерулопатії, нефрит, токсична нефропатія, обструктивні уропатії і еректильна дисфункція у ссавця.

Спосіб одержання фармацевтичної композиції, корисної для лікування захворювання, що входить в групу захворювань, яку складають доброякісна гіперплазія простати (ДГП), обструкція вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптоми нижчого сечового тракту (СНСТ), сечостатеві розлади, що включають нейрогенні синдроми міхура - синдром надактивного міхура (CHAM) та інтерстиціальний цистит (ІЦ), нетримання сечі (НС), таке як змішане, позивне, стресове або переповнене нетримання (ЗНС, ПНС, СНС, ПНС), тазовий біль, доброякісні і злоякісні розлади органів, що складають сечостатеву систему жінки і чоловіка, захворювання нирок подібно до гострої або хронічної ниркової недостатності, імунологічно опосередковані ниркові захворювання, такі як відторгнення ниркового трансплантату, вовчаковий нефрит, імунокомплексні ниркові захворювання, гломерулопатії, нефрит, токсична нефропатія, обструктивні уропатії і еректильна дисфункція у ссавця, який включає стадії i) ідентифікування інгібітора ФДЕ-5 відповідно до скринінгового способу, описаного вище, ii) ідентифікування інгібітора ФДЕ-4 відповідно до скринінгового способу, описаного вище, визначення того, чи послаблює згадуваний інгібітор симптоми захворювання, що входить в групу захворювань, яка складається з доброякісної гіперплазії простати (ДГП), обструкції вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптомів нижчого сечового тракту (СНСТ) у ссавця; iii) комбінування принаймні одного із згадуваних інгібіторів з прийнятим фармацевтичним носієм.

Спосіб одержання фармацевтичної композиції, де інгібітором ФДЕ-5 є інгібітор ФДЕ-5, вибраний із групи інгібіторів ФДЕ-5, що складається з наступних: Варденафіл (2-(2-Етоксис-5-(4-етилпіперазин-1-іл-1-сульфоніл)феніл)-5-метил-7-пропіл-3Н-імідазо(5,1-f)(1,2,4)триазин-4-он), Сілденафіл (3-[2-етоксис-5-(4-метилпіперазин-1-іл)сульфонілфеніл]-7-метил-9-пропіл-2,4,7,8-тетразабіцикло[4,3,0]нона-3,8,10-триєн-5-он), Тадалафіл ((6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-гексагідро-2-метил-6-(3,4-метилендіоксифеніл), Уделафіл 5-[2-пропілокси-5-(1-метил-2-піролідинілетиламідосульфоніл)феніл]метил-3-пропіл-1,6-дигідро-7Н-піразоло(4,3-d)піримідин-7-он, Дазантафіл 7-(3-Бромо-4-метоксибензил)-1-етил-8-[[[(1,2)-2-гідроксициклопентил]аміно]-3-(2-гідроксиетил)-3,7-дигідро-1-пурин-2,6-діон, Аванафіл 4-[[[(3-хлоро-4-метоксифеніл)метил]аміно]-2-[(2S)-2-(гідроксиметил)піролідин-1-іл]-N-(піримідин-2-ілметил)піримідин-5-карбоксамід, SLx 2101 від Surface Logix і MS 34179 триазоло[1,2-]ксантин, 6-метил-4-пропіл-2-[2-пропокси-5-(4-метилпіперазино)сульфоніл] феніл.

Спосіб одержання фармацевтичної композиції, в якій інгібітор ФДЕ-4 є інгібітором ФДЕ-4, вибраним із групи інгібіторів ФДЕ-4, що складається з наступних: Рофлуміласт (3-(циклопропілметокси)-

N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-4-(дифторметокси)бензамід), Циломіласт (4-ціано-4-(3-циклопентокси-4-метоксифеніл-циклогексан-1-карбонова кислота) і Пікламіласт(3-циклопентокси-N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-4-метоксибензамід).

Застосування фармацевтичної композиції, як зазначено вище, для регулювання активності ФДЕ у ссавця, що має захворювання, яке входить в групу захворювань, яку складають доброякісна гіперплазія простати (ДГП), обструкція вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптоми нижчого сечового тракту (СНСТ), сечостатевої розлади, що включають нейрогенні синдроми міхура - синдром надактивного міхура (CHAM) та інтерстиціальний цистит (ІЦ), нетримання сечі (НС), таке як змішане, позивне, стресове або переповнене нетримання (ЗНС, ПНС, СНС, ПНС), тазовий біль, доброякісні і злоякісні розлади органів, що складають сечостатеву систему жінки і чоловіка, захворювання нирок подібно до гострої або хронічної ниркової недостатності, імунологічно опосередковані ниркові захворювання, такі як відторгнення ниркового трансплантату, вовчаковий нефрит, імунокомплексні ниркові захворювання, гломерулопатії, нефрит, токсична нефропатія, обструктивні уропатії і еректильна дисфункція.

Набір компонентів для лікування захворювання, що входить в групу захворювань, що складається з доброякісної гіперплазії простати (ДГП), обструкції вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптомів нижчого сечового тракту (СНСТ), у ссавця, у тому числі людини, який містить комбінацію принаймні однієї фармацевтичної композиції, вибраної із групи фармацевтичних композицій, що складається з Варденафілу, Силденафілу і Тадалафілу, і принаймні однієї фармацевтичної композиції, вибраної із групи фармацевтичних композицій, що складаються з Рофлуміласту, Циломіласту і Пікламіласту.

Спосіб одержання набору компонентів, корисних для лікування захворювання, що входить в групу захворювань, яка складається з доброякісної гіперплазії простати (ДГП), обструкції вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптомів нижчого сечового тракту (СНСТ), у ссавця, який включає наступні стадії: i) відбір принаймні однієї фармацевтичної композиції із групи фармацевтичних композицій, що складається з Варденафілу, Силденафілу і Тадалафілу, ii) відбір принаймні однієї фармацевтичної композиції із групи фармацевтичних композицій, що складається з Рофлуміласту, Циломіласту і Пікламіласту, iii) комбінування принаймні двох згадуваних фармацевтичних композицій, створюючи таким чином згадуваний набір компонентів.

Набір компонентів для лікування захворювання, яке входить в групу захворювань, що складається з доброякісної гіперплазії простати (ДГП), обструкції вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптомів нижчого сечового тракту (СНСТ) у ссавця, який містить комбінацію принаймні одного терапевтичного агента, що регулює активність поліпептиду ФДЕ-5 і Тадалафілу, і принаймні одного терапевтичного агента, що регулює активність ФДЕ-4 поліпептиду.

Спосіб одержання набору компонентів, корисних для лікування захворювання, яке входить в групу захворювань, що складається з доброякісної гіперплазії простати (ДГП), обструкції вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптомів нижчого сечового тракту (СНСТ), у ссавця, який включає наступні стадії i) відбір принаймні однієї фармацевтичної композиції, яка містить терапевтичний агент, що регулює активність поліпептиду ФДЕ-5, ii) відбір принаймні однієї фармацевтичної композиції, яка містить терапевтичний агент, що регулює активність ФДЕ-4 поліпептиду, iii) комбінування принаймні двох згадуваних фармацевтичних композицій, створюючи таким чином згадуваний набір компонентів.

Переважаючий варіант реалізації винаходу - фармацевтична композиція, яка містить Варденафіл, або сіль, гідрат або гідрат солі, для лікування захворювання, яке входить в групу захворювань, яку складають доброякісна гіперплазія простати (ДГП), обструкція вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ) і симптоми нижчого сечового тракту (СНСТ), сечостатевої розлади, що включають нейрогенні синдроми міхура - синдром надактивного міхура (CHAM) та інтерстиціальний цистит (ІЦ), нетримання сечі (НС), таке як змішане, позивне, стресове або переповнене нетримання (ЗНС, ПНС, СНС, ПНС), тазовий біль, доброякісні і злоякісні розлади органів, що складають сечостатеву систему жінки і чоловіка, захворювання нирок подібно до гострої або хронічної ниркової недостатності, імунологічно опосередковані ниркові захворювання, такі як відторгнення ниркового трансплантату, вовчаковий нефрит, імунокомплексні ниркові захворювання, гломерулопатії, нефрит, токсична нефропатія і обструктивні уропатії у ссавця.

Несподівано було виявлено, що особливо Варденафіл або сіль, гідрат або гідрат солі демонструють вищі активності і показують кращі результати в лікуванні нейрогенного міхура (також як надактивний міхур або інтерстиціальний цистит) порівняно з іншими інгібіторами ФДЕ-5.

Опис фігур

Фігура 1: Відносна експресія мРНК ФДЕ-5 в нирках (н), міхурі (м), простаті (п), уретрі (у) і кавернозному тілі (к) щурів Sprague Dawley. Дані є середніми + стандартне відхилення, n=10.

Фігура 2: Відносна експресія мРНК ФДЕ-4A, -4b, -4c, -4d і ФДЕ-5 в міхурі і простаті щурів Sprague Dawley. Дані є середніми + стандартне відхилення, n=10.

Фігура 3: Вплив Варденафілу на контракцію ізольованого уретрального кільця (чорні трикутники) і міхура - (чорні ромби) і стрип простати (сірі квадрати). Стрипи міхура були попередньо скорочені, використовуючи K⁺ (50 ммоль/л) Krebs-Henseleit розчин. Простата і уретральні тканини були попередньо скорочені, використовуючи 10 ммоль/л Фенілефрину. Релаксація була виражена, як відсоток попереднього скорочення. Кожна крапка представляє середнє значення ± стандартне відхилення, n=9.

Фігура 4: Вплив Рофлуміласту (чорні ромби) і Варденафілу (сірі квадрати) на скорочення (конт-

ракцію) ізольованих стрипів міхура кролика. Стрипи міхура були попередньо скорочені, використовуючи K^+ (50 ммоль/л) Krebs-Henseleit розчин. Релаксація була виражена, як відсоток попереднього скорочення. Кожна крапка представляє середнє значення \pm стандартне відхилення, $n=9$.

Фігура 5: Кількість довільних позивів, не спрямованих на сечовиділення, у % після внутрішньовенної болюсної інфузії з носієм (Н) і Варденафілом HCl (1, 3 і 10 міліграм/кг). Дані є середніми \pm стандартне відхилення * = суттєві при $p < 0,05$ (парний тест Стюдента).

Фігура 6: Інтервал сечовипускання в % після внутрішньовенної болюсної інфузії з носієм (Н) і Варденафілом HCl (1,3 міліграма/кг), порівняно з базальним інтервалом сечовипускання (С). Дані є середніми \pm стандартне відхилення * = суттєве з $p < 0,05$ (парний тест Стюдента).

Приклад 1

Зразки тканин і одержання РНК: Для забору тканини використовувалися самці Sprague Dawley з вагою тіла між 200-250 г. Щури були швидко анестезовані сумішшю 5% Ізофлурану (Baxter S.A.) на носії з 70% N_2O і 30% O_2 і етаназовані декапітацією. Абдомінальну порожнину відкривали середнім розрізом і нирки і тканини нижчого сечового тракту - мозкова тканина нирки, уретра, простата, міхур і уретра були відкриті і швидко видалені. Тканини заморожували в рідкому N_2 і зберігали до одержання РНК. Уся РНК була ізольована, використовуючи міні колонки RNeasy (Qiagen Inc.) і додатково очищена ферментуванням ДН-азами.

Визначення кількості ФДЕ мРНК: мРНК експресія різних ізогенів ФДЕ тканинах нижчого сечового тракту щурів була виміряна кількісно PCR (TaqMan-PCR, Heid 1996). Тому 1 мг загальної РНК був підданий транскрипції в кДНК з набором синтезу кДНК Superscript II RT (Gibco, Inc) згідно з інструкцією початальника. мРНК для ФДЕ були виміряні кількісно RT-PCR на ABI на приладі визначення послідовності ABI Prism 7700 (Applied Biosystems, Inc.). Специфічні послідовності для форвардних і реверсивних праймерів щодо флуорогенного дослідження кожного ФДЕ ізогену мРНК проектувало програмне забезпечення Primer Express 1.5 (Applied Biosystems, Inc.). Протягом PCR ампліфікації, 5' нуклеолітична активність полімерази Taq розщеплювала проби, відокремлюючи 5' флуоресцентний колір репортера від 3' кольору гасителя. Пороговий цикл, C_t , що інверсивно корелює з цільовим мРНК рівнем, був виміряний як номер циклу, в якому флуоресцентна емісія репортера збільшує 10 середніх квадратичних відхилень вище за попередній рівень. Як допоміжний ген, бета-активність була кількісно визначена, як викладено вище, використовуючи як форвардний праймер 5'-accttcaacacccagcca-3', реверсивний праймер 5'-cagtggtacgaccagaggca-3' і флуоресцентну пробу 5'-6afm-acgtagccatccaggctgtgtgtcc-TAMARA-3'. ФДЕ мРНК рівні були виправлені для бета-актинових рівнів мРНК і обчислені як відносна експресія, використовуючи порівняльний C_t -спосіб.

Експресія ФДЕ-5 і ФДЕ-4A, -4B, -4C, -4D мРНК в нижчому сечовому тракті: тільки після неповних

даних профілю експресії ФДЕ-5 тканинах нижчого сечового тракту, ФДЕ мРНК була кількісно визначена на самцях Sprague Dawley через TaqMan RT-PCR. Найбільш виражена експресія ФДЕ-5 була знайдена в міхурі (Фігура 1). Нижчі рівні експресії були знайдені в уретрі, кавернозному тілі і простаті (Фігура 1). Ці результати показують, що є істотна експресія мРНК ФДЕ-5 в тканинах нижчого сечового тракту, особливо в міхурі.

Однак, експресія мРНК ФДЕ-4 всього чотирьох ФДЕ-4 ізогенів (ФДЕ-4A, -4B, -4C і -4D) була визначена TaqMan RT-PCR в міхурі і простаті (Фігура 2). Ми знайшли дуже низьку експресію ФДЕ-4C, яке було на межі виявлення, проте мРНК ФДЕ-4A, -4B і -4D були істотно експресовані в межах обох тканин. ФДЕ-4D у міхурі мРНК ізогену ФДЕ-4 була з надлишком, тоді як в простаті ФДЕ-4A і -4D майже однаково поширені і експресія у 2,5 разів вища, ніж мРНК ФДЕ-5 (Фігура 2).

Профіль експресії демонструє, що мРНК ФДЕ-5 і ФДЕ-40 мРНК багато в міхурі, але також і в тканині простати. Тому, інгібітори ФДЕ-5 або ФДЕ-4, але обидва в специфічних комбінаціях, інгібітори ФДЕ-5 і ФДЕ-4, як наприклад Варденафіл в комбінації з Рофлуміластом, повинен не лише редукувати контрактильність міхура, але і контрактильність простати, тому забезпечуючи перевагу над способами лікування урологічних розладів, уже існуючих в даній галузі, згадувані розлади включають доброякісну гіперплазію простати (ДГП) і, зокрема, подразнювальні симптоми, викликані ДГП-індукованою обструкцією вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ), але не обмежуються симптомами нижчого сечового тракту тракту (СНСТ).

Приклад 2

Препарат тканини: самці Wistar (200-300 г) були піддані етаназії, використовуючи вуглекислоту. Тканини були видалені і поміщені в крижаний Krebs-Henseleit буфер наступного складу (у ммоль/л): NaCl 112, KCl 5,9, $CaCl_2$ 2,0 $MgCl_2$ 1,2, NaH_2PO_4 1,2, $NaHCO_3$ 25, глюкоза 11,5. Чотири однакового розміру по довжині стрипи приблизно 2 мм x 10 мм були вирізані із тіла міхура. Стрипи простати одержували поперечний розтин домі простати до уретри. Одне кільце на тварину розтинали від проксимальної частини уретри.

Білі ново-зеландські кролики були анестезовані, використовуючи тіопентал. Сечовий міхур був видалений і поміщений в крижаний Krebs-Henseleit буфер наступного складу (у ммоль/л): NaCl 112, KCl 5,9, $CaCl_2$ 2,0 $MgCl_2$ 1,2, NaH_2PO_4 1,2, $NaHCO_3$ 25, глюкоза 11,5. Однакового розміру подовжні стрипи приблизно 2 мм x 10 мм були вирізані із тіла міхура.

Запис механічної активності: препарати були поміщені в 20 мл ванни, що містять розчин Krebs-Henseleit, екілібрований 95% O_2 , 5% CO_2 при 37°C. Стрипи фіксували між двома гачками за допомогою двох зажимів. Для запису ізометричної напруги, один з гачків був сполучений з силовим трансдуктором, який був у свою чергу пов'язаний з підсилювачем і діаграмним самописцем. Інший гачок був приєднаний до пересувної одиниці, що дозволяє точному коригуванню напруги поперед-

нього навантаження. Всі тканини були потім піддані 60 хв періоду урівноваження, протягом якого вони були промиті і напруга спокою була скоригована до 1 г кожні 20 хв.

Після періоду урівноваження, кожен експеримент був запущений, експонуючи препарат у розчин Krebs-Henseleit K^+ (50 ммоль/л). Процедура була повторена 3 рази і тканини промиті принаймні три рази між кожним скороченням.

Стрипи міхура були, попередньо скорочені, використовуючи розчин Krebs-Henseleit K^+ (50 ммоль/л). Коли контракція була стабілізована, конструювали криву відповідь - кумуляційна доза тестової сполуки. Стійке скорочення, що індукується розчином Krebs-Henseleit K^+ (50 ммоль/л) було визначене як 100% напруга. Релаксація була виражена як відсоток напруги.

Стрипи простати і кільця уретри були попередньо скорочені, використовуючи 10^{-6} моль/л фенілефрину. Ефекти сполук на тканину простати були протестовані некумулятивним чином із стадіями промивання між кожною концентрацією.

Випробування у ванні: ефекти Варденафілу на ізольованих сечостатевих органах щурів: ефекти ФДЕ-5 інгібітору Варденафілу на релаксацію гладких м'язів були перевірені в системі органної ванни. Сполука була застосована в діапазоні концентрацій від 10^{-8} моль/л до 10^{-5} моль/л (Фігура 3, Таблиця 1). Варденафіл релаксував кільця уретри з EC_{50} значенням 0,96 мкмоль/л і стрипи простати і міхура з EC_{50} значеннями 1,1 і 5,0 мкмоль/л відповідно.

Таблиця 1

Вплив Варденафілу на контракцію ізольованих щурячих сечостатевих тканин. Релаксація виражається як відсоток попереднього скорочення (пре-контракція). Кожна точка представляє середнє значення \pm стандартне відхилення, $n=9$

| Концентрація мкмоль/л | Міхур (% контракції) | Уретра (% контракції) | Простата (% контракції) |
|-----------------------|----------------------|-----------------------|-------------------------|
| 0,001 | 94,3 \pm 9,9 | 88,4 \pm 2,4 | - |
| 0,01 | 91,2 \pm 1,3 | 88,5 \pm 2,1 | - |
| 0,1 | 89,9 \pm 1,8 | 77,1 \pm 3,9 | 99,2 \pm 3,0 |
| 1 | 77,8 \pm 2,1 | 40,9 \pm 1,5 | 76,0 \pm 2,3 |
| 10 | 25,3 \pm 3,2 | 3,5 \pm 1,7 | 25,3 \pm 3,2 |

Приклад 3

Препарат тканини: самці Wistar (200-300г) були піддані евтаназії, використовуючи вуглекислоту. Тканини були видалені і поміщені в крижаний Krebs-Henseleit буфер наступного складу (у ммоль/л): NaCl 112, KCl 5,9, CaCl₂ 2,0 MgCl₂ 1,2, NaH₂PO₄ 1,2, NaHCO₃ 25, глюкоза 11,5. Чотири однакового розміру по довжині стрипи приблизно 2 мм x 10 мм були вирізані із тіла міхура. Стрипи простати одержували поперечним розтином долі простати до уретри. Одне кільце на тварину розтинали від проксимальної частини уретри.

Білі ново-зеландські кролики були анестезовані, використовуючи тіопентал. Сечовий міхур був видалений і поміщений в крижаний Krebs-Henseleit буфер наступного складу (у ммоль/л): NaCl 112, KCl 5,9, CaCl₂ 2,0 MgCl₂ 1,2, NaH₂PO₄ 1,2, NaHCO₃ 25, глюкоза 11,5. Однакового розміру подовжні стрипи приблизно 2 мм x 10 мм були вирізані із тіла міхура.

Запис механічної активності: препарати були поміщені в 20 мл ванни, що містять розчин Krebs-Henseleit, еквілібрований 95% O₂, 5% CO₂ при 37°C. Стрипи фіксували між двома гачками за допомогою двох зажимів. Для запису ізометричної напруги, один з гачків був сполучений з силовим трансдуктором, який був у свою чергу пов'язаний з підсилювачем і діаграмним самописцем. Інший гачок був приєднаний до пересувної одиниці, що дозволяє точному коригуванню напруги попереднього навантаження. Всі тканини були потім піддані 60 хв періоду урівноваження, протя-

гом якого вони були промиті і напруга спокою була скоригована до 1 г кожні 20 хв.

Після періоду урівноваження, кожен експеримент був запущений, експонуючи препарат у розчин Krebs-Henseleit K^+ (50 ммоль/л). Процедура була повторена 3 рази і тканини промиті принаймні три рази між кожним скороченням.

Стрипи міхура були, попередньо скорочені, використовуючи розчин Krebs-Henseleit K^+ (50 ммоль/л). Коли контракція була стабілізована, конструювали криву відповідь - кумуляційна доза тестової сполуки. Стійке скорочення, що індукується розчином Krebs-Henseleit K^+ (50 ммоль/л) було визначене як 100% напруга. Релаксація була виражена як відсоток напруги.

Стрипи простати і кільця уретри були попередньо скорочені, використовуючи 10^{-6} моль/л фенілефрину. Ефекти сполук на тканину простати були протестовані некумулятивним чином із стадіями промивання між кожною концентрацією.

Ефекти інгібіторів ФДЕ-5 і ФДЕ-4 на ізольованих стрипах міхура кролика: ефекти ФДЕ-5 інгібітора Варденафілу і ФДЕ-4 інгібітора Рофлуміласту на релаксацію гладкої мускулатури міхура тестували у органній ванні, використовуючи стрипи міхура кролика. Обидві сполуки були перевірені в концентрації від 10^{-9} моль/л до 10^{-5} моль/л (Фігура 4, Таблиця 2). Рофлуміласт і Варденафіл релаксували стрипи міхура з IC_{50} 260 нмоль/л, так і 1,7 мкмоль/л відповідно. (Таблиця 2).

Таблиця 2

Вплив Рофлуміласту і Варденафілу на контракцію ізольованих стрипів міхура кролика. Релаксація виражається як відсоток попереднього скорочення(контракції). Кожна крапка представляє середнє значення \pm стандартне відхилення, $n=9$

| Концентрація мкмоль/л | Рофлуміласт % контракції | Варденафіл % контракції |
|-----------------------|--------------------------|-------------------------|
| 0,001 | 100,8 \pm 0,6 | 100,9 \pm 1,0 |
| 0,01 | 90,1 \pm 1,7 | 99,9 \pm 0,9 |
| 0,1 | 75,1 \pm 2,1 | 95,7 \pm 1,7 |
| 1 | 55,8 \pm 2,5 | 76,3 \pm 3,7 |
| 10 | 40,9 \pm 3,3 | 9,6 \pm 12,6 |

Приклад 4

Всі тваринні експерименти виконувалися відповідно «Німецького Закону для Захисту Лабораторних Тварин» і проводилися згідно схваленим директивам дозволу «Tierversuchsvorhaben Hi 401/A01 M010/M011 vom 09.07.2004». Експерименти виконувалися із самками Sprague Dawley з вагою тіла між 200-250 г.

Обструкція вихідного отвору міхура: для обструкції вихідного отвору міхура, щурі були анестезовані з сумішшю 1,5-2% ізофлурану на носії 66% N₂O 33% O₂. Живіт голили, відкривали нижчим середнім розрізом, ідентифікували міхур і уретру, і уретровезикальне сполучення експонували. Металевий стрижень 1,0 мм був розміщений уздовж проксимальної уретри і 6-0 нейлонових лігатур зав'язували сильно довкола уретри і стрижня. Стрижень послідовно видаляли і абдомінальну порожнину зашивали шовковими лігатурами і обробляли 70% етанолом. Після операційне знеболювання - 10 міліграм/кг Rimadyl® (Pfizer). Щурів тримали протягом 2 тижнів на водопровідній воді і стандартній їжі. За 24 години до цистометрії щурів було знеболено ізофлураном, як викладено вище. Лапаротомія виконувалася, як викладено вище, міхур експонували і поліетиленовий катетер (PE50) був насаджений на купол міхура. Катетер був прокладений підшкірно, використовуючи порожнисту голку, щоб досягти зворотної сторони шиї тварини. Додатково катетер для внутрішньовенної інфузії (PEIO) був розміщений в шийній вені і прокладений тунель підшкірно до зворотної сторони шиї тварини. Обидва катетери фіксувалися швом і стрічкою.

Цистометрія: для цистометрії тварин швидко анестезували ізофлураном, як викладено вище, розміщували в Ballman клітці і фіксували. Потім тварин повертали принаймні за 1 годину перед запуском експерименту. Катетер міхура був потім з'єднували з t-подібною трубкою, щоб з'єднати трансдуктор тиску для вимірювання внутрішньоміхурового тиску (MLT0698, ADInstruments) і інфузійний насос (Perfusor Compact®, Braun Melsungen) для безперервного вливання сольового розчину при швидкості потоку 10 мл/год. Тварини з ОВОСМ показали збільшення в ємності міхура (завдяки розширенню міхура) і незвільнювальних контракцій (імітація подразнювальних симптомів ДГП), порівняно з контрольною твариною.

Ефективність лікування була кількісно визначена через обчислення незвільнювальних контракцій за інтервал сечовипускання до і після лікування. Для позитивного контролю використовувався антагоніст альфа-рецептора тамзулозин (10 мг/кг). Значення надані у % незвільнювальних контракцій.

Статистичний аналіз результатів: дані виражені як середні значення \pm стандартна помилка (стандартне відхилення), і n , вказуючий число експериментів. Суттєві відмінності між середніми значеннями визначали парним і непарним t -тестом Стьюдента. Рівні вірогідності менш, ніж 0,05 вважали істотними.

Вплив Варденафілу на незвільнювальні контракції у щурів з ОВОСМ: Для ОВОСМ моделі часткова лігатура уретри виконувалася на щурі під анестезією. Обструкція вихідного отвору сечового міхура (ОВОСМ), що походить від цієї процедури, викликала істотне збільшення ваги міхура (дані не показані), що вказує на явну гіпертрофію міхура. Це також спричинило незвільнювальні контракції міхура (НKM), які були виявлені цистометрією на свідомих тваринах. Ці НКМ були виміряні подразнювальними симптомами при ДГП і були значно зменшені MED 3мг/кг Варденафілу внутрішньовенно.

Приклад 5

Всі тваринні експерименти виконувалися відповідно «Німецького Закону для Захисту Лабораторних Тварин» і проводилися згідно схваленим директивам дозволу «Tierversuchsvorhaben Hi 401/A01 M010/M011 vom 09.07.2004». Експерименти виконувалися із самками Sprague Dawley з вагою тіла між 200-250 г.

Анестезійна цистометрія: для цистометрії самки SD щурів були анестезовані уретаном (1,2г/кг, інтраперитонеально). Після лапаротомії, міхур був експонований, на сечоводи були накладували лігатури і розтинали. Катетер із поліетилену імплантували в купол міхура і абдомінальну порожнину закривали. Катетер міхура був з'єднаний з t-подібною трубкою, щоб з'єднати інфузійний насос (Perfusor®compact; Braun Melsungen) для безперервної інфузії сольового розчину і з'єднати трансдуктор тиску (Combitrans; Braun Melsungen) для виміру внутрішньоміхурового тиску. Внутрішньоміхурові сигнали тиску були зареєстровані Powerlab System (MLT0698, ADInstrument). Цистометрія виконувалася після 1-годинного періоду еквілібрації після хірургічної

процедури. Для внутрішньовенного медикаментозного лікування, ліва стегнова вена була катетеризована катетером із поліетилену. Ефект лікування був обчислений на інтервалі сечовипускання (відповідність місткості міхура).

Індукування надактивного міхура виконувалося інфузією 0,2% оцтової кислоти (розбавленої сольовим розчином) у міхур замість сольового розчину або інтраперитонеальною ін'єкцією 150мг/кг циклофосфаміду за 18 годин перед цистометрією.

Статистичний аналіз результатів: дані виражені як середні значення \pm стандартна помилка (стандартне відхилення), і n , вказуючий число експериментів. Суттєві відмінності між середніми значеннями визначали парним і непарним t -тестом Стюдента. Рівні вірогідності менш, ніж 0,05 вважали істотними.

Вплив Варденафілу на інтервалі сечовипускання в СYP-оброблених щурах: інтервал сечовипускання був суттєво збільшений з MED 3мг/кг Варденафілу внутрішньовенно.

Література

1. Andersson KE, Chappie CR, Hoffer K. Перспективні медикаменти для лікування доброякісної гіперплазії простати. *World J Urol* 2002; 19: 436-42.
2. Bardelle, C. et al. (1999) *Anal. Biochem.* 275: 148-155.
3. Carbone DJ Jr, Hodges S: Лікування доброякісної гіперплазії простати: сексуальна дисфункція і вплив на якість життя. *Int J Impot Res* 2003; 15: 299-306.
4. Desgrandchamps F. Клінічна доцільність антагоністів фактору росту в лікуванні доброякісної гіперплазії простати. *Eur Urol.* 1997; 32: 28-31.
5. Drescher P, RE Eckert, Madsen PO. Контракційність гладкої мускулатури при гіперплазії прост-

тати: роль циклічного аденозинмонофосфату. *Prostate* 1994; 25: 76.

6. M. Gopalakrishnan, Shieh CC. Субтипи калієвих каналів як молекулярні мішені для надактивного міхура і інших урологічних розладів. *Expert Opin Ther Targets* 2004; 8: 437-58.

7. Gillespie JL, Drake MJ.. Фосфодіестеразоопосередковане інгібування активності несечовипускання в ізолюваному міхурі. *BJU International* 2004; 93: 1325-1332.

8. Guess HA, Епідеміологія і механізм розвитку доброякісної гіперплазії простати. *Urol Clin North Am* 1995; 22: 247.

9. Hansen, R. S., and Beavo, J.A., PITAS USA 1982, 79: 2788-92.

10. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM, Сучасний кількісний ПЦР-аналіз. *Genome Res* 1996; 6: 986-994.

11. Sciarra F, Toscano V. Роль естрогенів при доброякісній гіперплазії простати у людини. *Arch Androl* 2000; 44: 213-20.

12. Soderling SH, Beavo JA, Регулювання сигналізування цАМФ і цГМФ: нові фосфодіестерази і нові функції. *Curr Opin Cell Biol.* 2000; 12: 174-179.

13. Spina D, Інгібітори ФДЕ-4 в лікуванні запальних легневих захворювань, *Drugs* 2003; 63: 2575-2594.

14. Truss M.C, Stief C, Machtens S, Wagner T, Jonas U (Eds) Фармакотерапія в урології, Springer 2001.

15. Uckert S, Kuthe A, Jonas U, Stief CG, Характеристика і функціональна доцільність ізоензимів нуклеотиду циклічної фосфодіестерази людської простати. *J Urol* 2001; 166: 2484-2490.

16. Ying J, Yao D, Jiang Y, Ren X, M. Xu, Позитивний ефект силденафілу на симптоми нижчого сечового тракту при лікуванні доброякісної гіперплазії простати *ED Zhonghua Nan Ke Xue* 2004 10: 681-683.

Fig.1

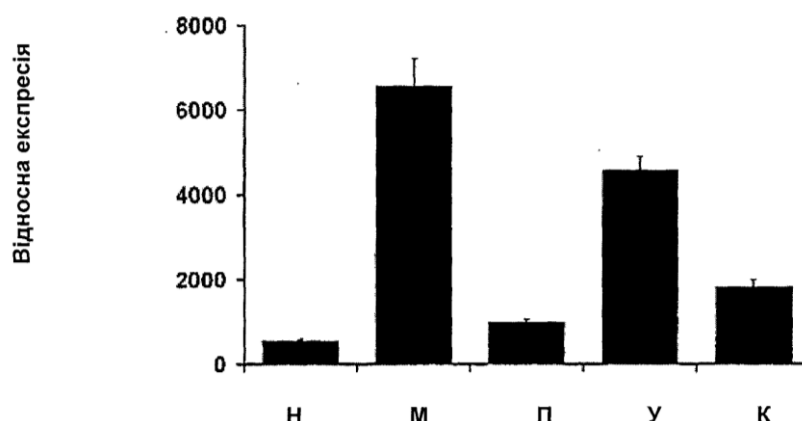


Fig.2

Відносна експресія

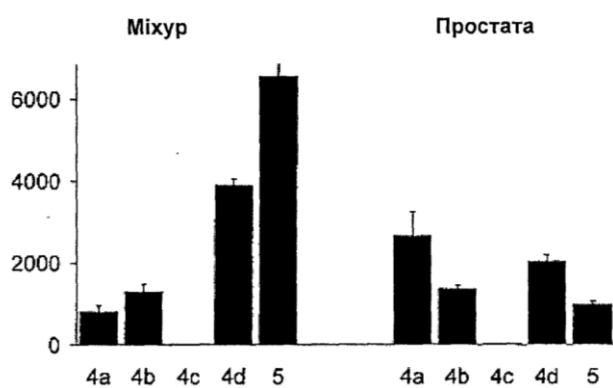


Fig.3

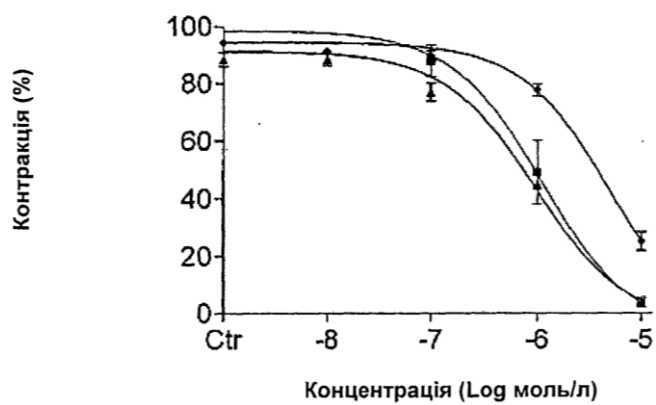


Fig.4

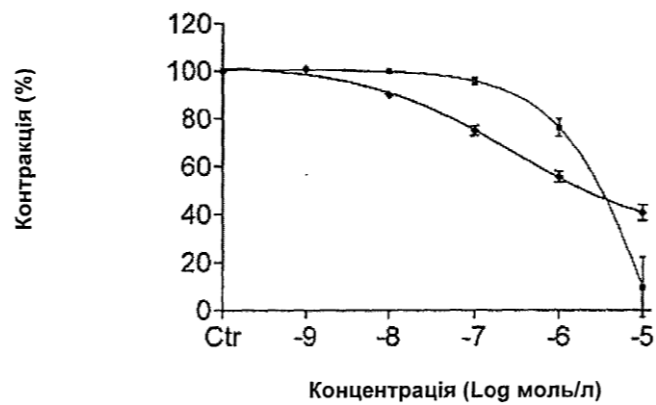


Fig.5

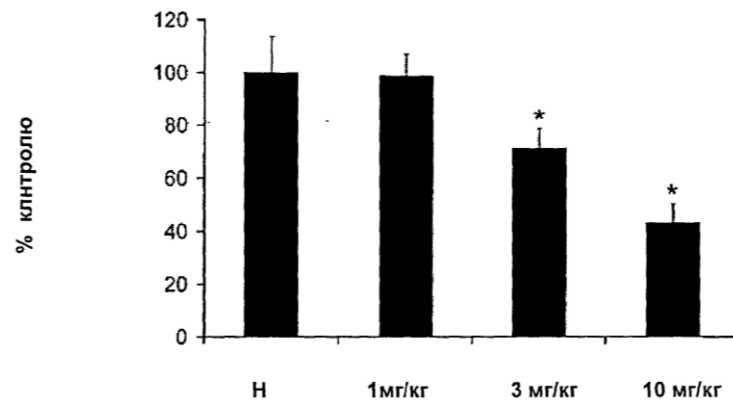


Fig.6

