



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0048741

(43) 공개일자 2015년05월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/4985 (2006.01) A61K 31/167 (2006.01)

A61K 31/192 (2006.01) A61K 31/437 (2006.01)

A61K 9/24 (2006.01) A61K 9/28 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/4985 (2013.01)

A61K 31/167 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-7005105

(22) 출원일자(국제) 2013년06월28일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2015년02월26일

(86) 국제출원번호 PCT/US2013/048616

(87) 국제공개번호 WO 2014/018222

국제공개일자 2014년01월30일

(30) 우선권주장

13/560,665 2012년07월27일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(71) 출원인

웰즐리 파마슈티컬스 엘엘씨

미국, 펜실베이니아 18940, 벨리 뷰 드라이브 뉴타운 3

딜, 데이비드, 에이.

미국, 펜실베이니아 18940, 뉴타운, 벨리 뷰 드라이브 3

(72) 발명자

딜, 데이비드, 에이.

미국, 펜실베이니아 18940, 뉴타운, 벨리 뷰 드라이브 3

(74) 대리인

김순웅

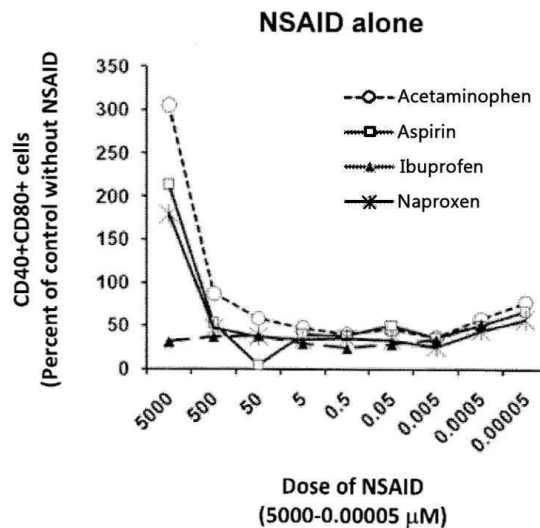
전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 발명의 명칭 배뇨 빈도를 감소시키기 위한 약학적 조성물 및 이의 이용 방법

(57) 요약

본 발명은 배뇨 빈도를 감소시키기 위한 방법 및 조성물이 개시된다. 일 방법은 1 종 이상의 진통제를 포함하는 약학적 조성물의 유효량을 대상(subject)에게 투여하는 단계를 포함한다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A61K 31/192 (2013.01)

A61K 31/437 (2013.01)

A61K 9/209 (2013.01)

A61K 9/2866 (2013.01)

(30) 우선권주장

13/800,761 2013년03월13일 미국(US)

13/847,940 2013년03월20일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

1 종 이상 진통제의 유효량 및 타다라필(tadalafil)의 유효량을 대상(subject)에게 투여하는 단계를 포함하는 배뇨 빈도를 감소시키는 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 1 종 이상의 진통제는 연장-방출형(extended-release)으로 제형화되고, 상기 타다라필은 속방형(immediate-release)으로 제형화되는 것인 방법.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 1 종 이상의 진통제는 서방형(delayed-release)으로 제형화되고, 상기 타다라필은 속방형(immediate-release)으로 제형화되는 것인 방법.

청구항 4

진통제 당 1 내지 2000 mg의 용량인 1 종 이상의 진통제를 포함하는 유효성분; 및 PDE 5(phosphodiesterase type 5) 억제제를 포함하는 약학적 조성물을 대상(subject)에게 투여하는 단계를 포함하는 배뇨 빈도를 감소시키는 방법:

상기 1 종 이상의 진통제는 아스피린, 이부프로펜, 나프록센, 나프록센 소듐, 인도메타신, 나부메톤 및 아세트아미노펜으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

청구항 5

제 4 항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 장용성 코팅(enteric coating)으로 코팅되는 것인 방법.

청구항 6

제 1 항에 있어서, 상기 약학적 조성물은, 상기 유효 성분의 20% 내지 60%는 투여 후 2 시간 이내에 방출되고, 상기 유효 성분의 나머지는 2 시간 내지 12 시간 동안 지속적으로 방출되는 2 단계 방출 프로파일로 특징지어지는 연장-방출형(extended-release)으로 제형화되는 것인 방법.

청구항 7

제 6 항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 장용성 코팅제(enteric coating)로 코팅되는 것인 방법.

청구항 8

제 4 항에 있어서, 상기 1 종 이상의 진통제는 아세트아미노펜을 포함하는 것인 방법.

청구항 9

제 4 항에 있어서, 상기 유효성분은 항무스카린제, 항이뇨제, 진경제 및 졸피뎀(zolpidem)으로 이루어진 군으로부터 선택된 추가제제를 추가적으로 포함하는 것인 방법.

청구항 10

제 1 항에 있어서, 상기 PDE 5 억제제는 타다라필(tadalafil)인 것인 방법.

청구항 11

1 종 이상의 진통제 및 타다라필을 포함하는 제1 유효 성분; 및 진통제, 항무스카린제, 항이뇨제, 진경제, PDE 5 억제제 및 졸피뎀으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 종 이상의 제제를 포함하는 제2 유효 성분을 포함하는

약학적 조성물을 대상(subject)에게 투여하는 단계를 포함하는 배뇨 빈도를 감소시키는 방법:

상기 제1 유효 성분은 속방형(immediate-release)으로 제형화되고, 상기 제2 유효 성분은 연장-방출형(extended-release)으로 제형화된다.

청구항 12

제 11 항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 장용성 코팅제(enteric coating)로 추가적으로 코팅되는 것인 방법.

청구항 13

제 11 항에 있어서, 상기 제1 유효 성분은 아세트아미노펜을 포함하는 것인 방법.

청구항 14

제 1 항에 있어서, 상기 제1 유효 성분은 항무스카린제, 항이뇨제, 진경제 또는 졸피뎀을 추가적으로 포함하는 것인 방법.

청구항 15

다음에 포함하는 약학적 조성물:

1 종 이상의 진통제;

PDE 5 억제제; 및

약학적으로 허용가능한 담체.

청구항 16

제 15 항에 있어서, 상기 1 종 이상의 진통제는 연장-방출형(extended-release)으로 제형화되고, 상기 PDE 5 억제제는 속방형(immediate-release)으로 제형화되는 것인 조성물.

청구항 17

제 15 항에 있어서, 상기 1 종 이상의 진통제는 서방형(delayed-release)으로 제형화되고, 상기 PDE 5 억제제는 속방형(immediate-release)으로 제형화되는 것인 조성물.

청구항 18

제 15 항에 있어서, 상기 1 종 이상의 진통제 및 상기 PDE 5 억제제는 2 시간 내지 12 시간 동안 방출되는 연장-방출형 제제로 제형화되는 것인 조성물.

청구항 19

제 15 항에 있어서, 상기 PDE 5 억제제 및 상기 1 종 이상의 진통제의 각각 20% 내지 60%는 속방형 제제로 제형화되고, 상기 1 종 이상의 진통제의 나머지 각각은 연장-방출형 제제로 제형화되는 것인 조성물.

청구항 20

제 19 항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 장용성 코팅(enteric coating)으로 추가적으로 코팅되는 것인 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 특허출원은 2013년 03월 13일에 출원된 미국 특허출원 제 13/800,761 호, 2013년 03월 20일에 출원된 미국 특허출원 제 13/847,940 호, 및 2012년 07월 27일에 출원된 미국 특허출원 제 13/560,665 호에 대하여 우선권을 주장한다.

[0002] 본 발명은 일반적으로 방광의 평활근을 억제하기 위한 방법 및 조성물, 특히, 배뇨 빈도를 감소시키기 위한 방

법 및 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

- [0003] 배뇨근은 나선형, 세로방향, 원형 번들로 배열된 평활근 섬유로 이루어진 방광벽의 한 층이다. 방광은 팽창될 때, 배뇨근을 수축시키는 부교감 신경계로 신호를 보낸다. 이것은 방광에서 요도를 통해 소변이 배출되도록 한다.
- [0004] 방광에서 소변이 배출되기 위해서는, 자율적으로 조절되는 내부 괄약근과 자발적으로 조절되는 외부 괄약근이 모두 열려야 한다. 이러한 근육들에 생긴 문제는 요실금을 초래할 수 있다. 소변의 양이 방광의 절대 용량의 100%에 도달하면, 자발적 괄약근이 불수의되어, 소변이 즉시 배출된다.
- [0005] 개인차가 있지만, 성인의 방광은 보통 약 300-350 ml(잔뇨량), 최대 약 1000 ml(절대량)까지 소변을 저장할 수 있다. 소변이 축적되면, 평탄한 방광 벽이 접히면서 주름(rugae)이 생기고, 방광이 팽창되면서 방광 벽이 얇아져서, 내압의 상당한 증가 없이 보다 많은 양의 소변을 저장 할 수 있게 된다.
- [0006] 방광에 있는 소변의 양이 약 200 ml에 도달하면, 대부분 배뇨 욕구를 느끼기 시작한다. 이 단계에서는 원하는 경우, 이러한 배뇨에 대한 충동을 참기가 쉽다. 그러나 방광이 계속해서 채워지면, 배뇨 욕구가 강해져서 무시하기 어려워진다. 결국, 배뇨 욕구를 참을 수 없을 때까지 방광이 채워지고, 상기 대상은 더 이상 이를 무시할 수 없게 된다. 어떤 사람은 방광의 잔뇨량과 관련하여 100 % 미만으로 차있을 때, 배뇨 욕구가 시작된다. 이러한 증가된 배뇨 욕구는 충분한 휴식을 위한 잠을 방해하는 등의 정상적인 활동을 방해 할 수 있다. 어떤 경우, 이러한 증가된 배뇨 욕구는 남성에게 있어 양성 전립선 비대증이나 전립선 암, 여성에게 있어 임신과 같은 의학적 상태와 연관 될 수 있다. 그러나, 증가된 배뇨 욕구는 또 다른 건강 상태에 영향을 받지 않는 남성 및 여성 모두에게 개별적으로 발생한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 따라서, 방광의 잔뇨량이 100 % 미만인 경우에도 느끼는 배뇨 욕구로 인하여 고통 받는 남성 및 여성을 대상으로 한 치료용 조성물 및 방법이 필요하다. 상기 조성물 및 방법은 상기 대상이 방광의 잔뇨량이 약 100 %를 초과 할 때 배뇨 욕구를 느끼기 시작하도록 근육 수축을 억제시킨다.

과제의 해결 수단

- [0008] 본 발명의 일 양태는 대상(subject)의 배뇨 빈도를 감소시키는 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 1 종 이상 진통제의 유효량 및 타다라필(tadalafil)의 유효량을 대상에게 투여하는 단계를 포함한다,
- [0009] 본 발명의 다른 양태는 대상의 배뇨 빈도를 감소시키는 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 진통제 당 1 내지 2000 mg의 용량인 1 종 이상의 진통제를 포함하는 유효성분 및 PDE 5(phosphodiesterase type 5) 억제제를 포함하는 약학적 조성물을 대상에게 투여하는 단계를 포함하며, 상기 1 종 이상의 진통제는 아스피린, 이부프로펜, 나프록센, 나프록센 소듐염, 인도메타신, 나부메톤 및 아세트아미노펜으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0010] 본 발명의 또 다른 양태는 대상의 배뇨 빈도를 감소시키는 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 1 종 이상의 진통제 및 타다라필을 포함하는 제1 유효 성분; 및 진통제, 항무스카린제, 항이뇨제, 진경제, PDE 5 억제제 및 졸피뎀으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 종 이상의 제제를 포함하는 제2 유효 성분을 포함하는 약학적 조성물을 대상(subject)에게 투여하는 단계를 포함하며, 상기 제1 유효 성분은 속방형(immediate-release)으로 제형화되고, 상기 제2 유효 성분은 연장-방출형(extended-release)으로 제형화된다.
- [0011] 본 발명의 또 다른 양태는 1 종 이상의 진통제, PDE 5 억제제 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1a 및 도 1b는 LPS의 부재시(도 1a) 또는 존재시(도 1b) 진통제가 Raw 264 대식세포에 의한 공동-자극 분자의 발현을 조절하는 것을 보여주는 도면이다. 세포들에 진통제를 단독 처리 또는 *Salmonella typhimurium* LPS(0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$)와 함께 처리하여 24 시간 동안 배양하였다. 결과들은 $\text{CD40}^+\text{CD80}^+$ 세포의 평균 상대%로 나타내었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 이하, 상세한 설명은 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0014] 본 명세서에서 사용되는 용어 "유효량"은 선택된 결과를 달성하는 데 필요한 양을 의미한다.

[0015] 본 명세서에서 사용되는 용어 "진통제(analgesic)"는 통증을 완화시키는데 이용되는 제제, 화합물 또는 약물을 의미하며, 항-염증 화합물을 포함한다. 예컨대, 진통제 및/또는 항-염증제, 화합물 또는 약물은 다음과 같은 물질을 포함하나, 이에 한정되지 않는다: 비-스테로이드성 항-염증성 약물(NSAIDs, non-steroidal anti-inflammatory drugs), 살리실레이트, 아스피린, 살리실산, 메틸 살리실레이트, 디플루니살, 살살레이트, 올살라진, 설파살라진, 파라-아미노페놀 유도체, 아세트아닐라이드, 아세트아미노펜, 페나세틴, 페나메이트, 메페나믹산, 메클로페나메이트, 소디움 메클로페나메이트, 헤테로아릴 아세트산 유도체, 톨메틴, 케토로락, 디클로페낙, 프로피온산 유도체, 이부프로펜, 나프록센 소디움, 나프록센, 페노프로펜, 케토프로펜, 플루르비프로펜, 옥사프로진; 에놀릭산, 옥시캄 유도체, 피록시캄, 멜록시캄, 테녹시캄, 암피록시캄, 드록시캄, 피복시캄, 피라졸론 유도체, 페닐부타존, 옥시펜부타존, 안티피린, 아미노피린, 디피론, 콕시브, 셀레콕시브, 로페콕시브, 나부메톤, 아파존, 인도메타신, 셀린다, 에토돌락, 이소부틸페닐 프로피온산, 루미 라콕시브, 에토리콕시브, 파레콕시브, 발데콕시브, 티라콕시브, 에토돌락, 다르부페론, 텍스케토프로펜, 아세클로페낙, 리코페론, 브롬페낙, 프라노프로펜, 록소프로펜, 피록시캄, 니메실라이드, 시줄리린, 3-포르밀아미노-7-메틸술폰아미노-6-페녹시-4H-1-벤조피란-4-온, 멜록시캄, 로르녹시캄, D-인도부펜, 모페졸락, 암톨메틴, 프라노프로펜, 톨페나믹, 플루르비프로펜, 서프로펜, 옥사프로진, 잘토프로펜, 알미노프로펜, 티아프로페닉 산, 이들의 약학적 염, 이들의 수화물 및 이들의 용매화물.

[0016] 본 명세서에서 사용되는 용어 "콕시브(coxib)"는 COX2 효소의 활성 또는 발현을 억제할 수 있거나 또는 염증 반응의 통증 및 부종을 포함한 심각도를 억제 또는 감소시킬 수 있는 화합물의 조성물을 의미한다.

[0017] 본 명세서에서 사용되는 용어 "유도체(derivative)"는 화학적으로 변형된 화합물을 의미하고, 상기 변형은, 알코올이나 티올에 벤질기 및 아민에 대한 tert-부톡시카르보닐기와 같은 보호기, 산의 아미드나 에스테르와 같이, 숙련된 화학자에 의해 일상적으로 고려된다.

[0018] 본 명세서에서 사용되는 용어 "유사체(analogue)"는 특정 화합물 또는 그의 부류의 화학적으로 변형된 형태를 포함하고, 상기 화합물 또는 부류의 약학적 및/또는 약리학적 활성 특성을 유지하는 화합물이다.

[0019] 본 명세서에서 사용되는 용어 "약학적으로 허용 가능한 염"은 개시된 화합물의 유도체를 의미하고, 모 화합물(parent compound)은 그의 산성 또는 염기성 염을 만드는 것에 의해 변형된다. 약학적으로 허용 가능한 염의 예로는 아민류와 같은 염기성 잔류물의 미네랄 또는 유기산 염; 카르복실산과 같은 산성 잔류물의 알칼리 또는 유기 염 등을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 약학적으로 허용 가능한 염은 예를 들어, 비독성 무기 또는 유기산으로부터 형성된 모 화합물의 사차 암모늄염 또는 일반적인 비독성 염을 포함한다. 예를 들어, 이러한 일반적인 비독성 염은 염화수소산, 브롬화수소산, 황산, 술폰산, 인산, 질산 등과 같은 무기산으로부터 유도된 염; 및 아세트산, 프로피온산, 숙신산, 글리콜산, 스테아르산, 젖산, 말산, 주석산, 시트르산, 아스코르브산, 팜산, 말레산, 하이드록시말레산, 페닐아세트산, 글루탐산, 벤조산, 살리실산, 술폰산, 2-아세톡시벤조산, 푸마르산, 톨루엔술폰산, 메탄술폰산, 에탄디술폰산, 옥살산, 이세티온산 등과 같은 유기산으로부터 제조된 염을 포함한다.

[0020] 본 명세서에서 사용되는 용어 "약학적으로 허용 가능한"이라는 관용구는 합리적인 이익/위험 비에 상응하는 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응, 또는 다른 문제나 합병증 없이 인간 및 동물의 조직과 접촉하여 사용하기에

적합한, 의학적 판단의 범위 내의 화합물, 물질, 조성물, 및/또는 제형(dosage form)을 참조하여 사용한다.

- [0021] SR(sustained-release), SA (sustained-action), TR(time-release), CR(controlled-release), MR(modified release), 또는 CR(continuous-release)로도 알려져 있는, 본 명세서에서 사용되는 용어 "연장-방출형(extended-release)"은 시간이 지나 유효 성분들이 천천히 용해되고 방출되도록 약물 정제 또는 캡슐에 이용되는 기작이다. 연장-방출형 정제 또는 캡슐의 장점들은 동일한 약물의 속방형 제제보다 덜 빈번하게 섭취할 수 있고, 혈류에서 약물의 농도를 보다 안정되게 유지함으로써 혈류에서의 약물의 최대 양을 낮추고 약물 작용의 지속 시간을 연장한다는 것이다.
- [0022] 본 명세서에서 사용되는 용어 "서방형(delayed-release)"은 약학적 조성물의 유효 성분(들)의 방출이 상기 약학적 조성물의 투여 후 일정 기간(예컨대, 지연 시간) 동안 지연 또는 연기되는 약제 방출 프로파일을 의미한다.
- [0023] 본 명세서에서 사용되는 용어 "속방형(immediate-release)"은 용해 속도조절 물질을 포함하지 않는 약물 제형을 의미한다. 속방형 제제 투여 후 활성제의 방출에 있어 실질적인 지연이 없다. 속방형 코팅은 투여 후 약물 성분이 방출되도록 즉시 용해되는 적합한 물질을 포함 할 수 있다. 일부 구현예에서, 용어 "속방형"은 투여 2 시간 내에 유효 성분이 방출되는 약제 제형을 참조하여 사용된다.
- [0024] 본 발명의 일 양태에 따르면, 약학적 조성물을 대상에게 투여하여 배뇨 빈도를 감소시키는 방법에 관한 것이다. 상기 약학적 조성물은 1 종 이상의 진통제, 1 종 이상의 PDE 5 억제제 및 선택적으로 1 종 이상의 항무스카린제, 1 종 이상의 항이뇨제 및/또는 1 종 이상의 진경제를 포함한다. 상기 약학적 조성물은 속방형(immediate-release) 제제, 연장-방출형(extended-release) 제제, 서방형(delayed-release) 제제 또는 이들의 조합으로 제형화될 수 있다.
- [0025] 일 구현예에서, 본 약학적 조성물은 아크릴 또는 키틴과 같은 불용성 물질(들)의 매트릭스에 상기 유효 성분을 포매(embedding)하여 연장-방출형으로 제형화된다. 연장-방출형 형태는 특정 기간 동안 일정한 약물 수준을 유지하여 지정된 속도로 진통제 화합물을 방출하도록 설계된다. 이것은 다양한 제제를 통하여 달성될 수 있으며, 상기 제제는 리포솜 및 하이드로겔과 같은 약물-고분자 복합체를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0026] 연장-방출형 제제는 지정된 속도로 활성제를 방출하도록 제작되어 특정, 연장된 시간 동안 일정한 약물 수준을 유지하게 되며, 예컨대, 투여 후 또는 약물의 지연-방출과 관련된 지연 시간 후 약 12 시간, 약 11 시간, 약 10 시간, 약 9 시간, 약 8 시간, 약 7 시간, 약 6 시간, 약 5 시간, 약 4 시간, 약 3 시간, 약 2 시간, 또는 약 1 시간이다.
- [0027] 특정 구현예에서, 활성제는 약 2 내지 약 12 시간 사이의 시간 간격으로 방출된다. 택일적으로, 활성제는 약 3 시간, 약 4 시간, 약 5 시간, 약 6 시간, 약 7 시간, 약 8 시간, 약 9 시간, 약 10 시간, 약 11 시간, 또는 약 12 시간 동안 방출될 수 있다. 또 다른 구현예에서, 활성제는 투여 후 약 5 내지 약 8 시간 사이의 시간에 걸쳐 방출된다.
- [0028] 일부 구현예에서, 연장-방출형 제제는 1 종 이상의 불활성 입자로 구성된 활성 코어를 포함하며, 이는 당업자에게 공지된 기술 또는 다른 방법들을 이용하여 약물-함유 필름-형성 조성물과 같은 형태의 약물로 표면을 코팅한 각각의 비드, 펠렛, 알약, 과립형 입자, 마이크로캡슐, 마이크로스피어, 미립제(microgranule), 나노캡슐 또는 나노스피어의 형태이다. 상기 불활성 입자는 저조한 용해가 유지될 정도로 충분히 큰 상태인 한, 다양한 크기일 수 있다. 택일적으로, 상기 활성 코어는 약물 성분을 함유하는 중합체 조성물의 과립화 및 밀링 및/또는 압출 및 구형화에 의해 제조될 수 있다.
- [0029] 상기 활성제는 약품 레이어링, 분말 코팅, 압출/구형화, 롤러 압밀 또는 과립과 같은 당업자에게 공지된 기술에 의해 불활성 담체에 도입 될 수 있다. 코어 내 약물의 양은 요구되는 투여량에 의존적일 수 있고, 전형적으로 약 5-90 중량%로 다양하다. 일반적으로, 활성 코어 상의 중합체 코팅은 요구되는 지연 시간 및 방출 프로파일 유형 및/또는 선택된 중합체 및 코팅 용매의 종류에 따라, 코팅된 입자의 중량을 기준으로 약 1 내지 50 %의 범위일 수 있다. 당업자는 코어 상에 코팅 또는 코어 내로 포함시키기 위한 약물의 적합한 양을 선택하여 원하는 투여량을 달성할 수 있다. 일 구현예에서, 비활성 코어는 슈가스페어 또는 버퍼 결정 또는 탄산 칼슘, 중탄산 나트륨, 푸마르산, 타르타르산 등의 캡슐화된 버퍼 결정일 수 있고, 이는 그것의 방출을 촉진하는 약물의 미세 환경을 변경시킨다.
- [0030] 연장-방출형 제제는 다양한 연장-방출형 코팅 또는 시간이 지남에 따라 활성제의 점진적 방출을 촉진하는 다양한 메커니즘을 이용할 수 있다. 일부 구현예에서, 연장-방출형제는 용해 조절 방출에 의해 방출이 조절되는 중합체를 포함한다. 특정 구현예에서, 활성제(들)은 불수용성 중합체 및 약물 입자 또는 다양한 두께의 고분자 물

질로 코팅된 과립을 포함하는 매트릭스에 포함된다. 중합체 물질은, 카르나우바 왁스, 밀랍, 경랍 왁스, 칸텔릴라 왁스, 살라 왁스, 코코아 버터, 세토스테아릴 알콜, 부분적으로 수소화된 식물성 오일, 세레신, 파라핀 왁스, 세레신, 미리스틸 알코올 및 스테아릭 산 등의 왁스성 물질을 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트 같은 계면 활성제와 함께 포함하는 지질 장벽(lipid barrier)을 포함 할 수 있다. 생물학적 유액과 접촉했을 때, 중합체 코팅의 두께에 따라 지정된 지연-시간 후 중합체 코팅은 유화(Emulsion)되거나 또는 부식된다. 상기 지연 시간은 위장관 운동, pH, 또는 위의 내용물에 영향받지 않는다.

[0031] 다른 구현예에서, 연장-방출형제는 확산 조절 방출(diffusion controlled release) 효과를 갖는 중합체 매트릭스를 포함한다. 상기 매트릭스는 1 종 이상의 친수성 및/또는 팽윤성, 매트릭스 형성 중합체, pH-의존성 중합체 및/또는 pH-독립성 중합체를 포함 할 수 있다.

[0032] 일 구현예에서, 연장-방출형 제제는 선택적으로 1 종 이상의 용해도-향상부형제 및/또는 연장-촉진제를 포함하는, 수용성 또는 수-팽윤성 매트릭스-형성 중합체를 포함한다. 수용성 중합체의 가용화에 따라, 활성제(들)이 (수용성 경우) 용해되고, 상기 매트릭스의 수화된 부분을 통해 확산된다. 시간에 따라 더 많은 물이 매트릭스의 코어내로 침투할수록 겔 층의 두께를 증가시키고, 이는 장벽(barrier) 확산을 제공하여 약물이 방출된다. 외층이 충분히 수화됨에 따라, 중합체 사슬은 완전히 이완되고 더이상 겔층의 무결성을 유지할 수 없게 되어, 매트릭스 표면 상의 외층 수화된 중합체가 풀리고 침식된다. 완전히 침식될 때까지 물이 겔층을 통해 코어쪽으로 끊임없이 침투된다. 수용성 약물이 이러한 확산 및 침식 메커니즘의 조합에 의해 방출되는 반면, 용량에 상관없이 침식은 불용성 약물에 대한 주요 메커니즘이다.

[0033] 유사하게, 수-팽윤성 중합체는 일반적으로 생물학적 유액으로 수화되고 팽창하여 균질한 매트릭스 구조를 형성하는데, 상기 매트릭스 구조는 약물 방출 동안 그 형상을 유지하고, 약물에 대한 담체, 용해도 향상제 및/또는 방출 촉진제 역할을 한다. 초기 매트릭스 중합체 수화 단계는 약물의 느린 방출(slow-release)을 초래한다(지연 단계). 팽윤성 중합체 매트릭스가 완전히 수화되고 팽창되면, 매트릭스 내 물이 약물 물질을 유사하게 용해할 수 있고, 매트릭스 코팅을 통해 확산된다.

[0034] 추가적으로, 매트릭스의 다공성은 pH-의존성 방출 촉진제의 외부로의 침출을 증가시킬 수 있어, 빠른 속도로 약물이 방출된다. 약물 방출 속도는 일정하게 되고, 이는 수화된 중합체 겔을 통해 약물 확산의 기능이다. 매트릭스로부터의 방출 속도는 중합체의 종류와 수준, 약물의 용해도 및 용량, 약물에 대한 중합체의 비율, 충전제의 유형 및 수준, 충전제에 대한 중합체의 비율, 약물 및 중합체의 입자 크기, 및 매트릭스의 다공성 및 형태 등 다양한 요인에 따라 달라진다.

[0035] 친수성 및/또는 팽윤성, 매트릭스 형성 중합체의 예로는, 다음을 포함하나, 이에 한정되지 않는다: 히드록시알킬 셀룰로오스와 같은 셀룰로오스 중합체 및 히드록시프로필메틸셀룰로오스(HPMC), 히드록시프로필셀룰로오스(HPC)와 같은 카르복시 셀룰로오스, 히드록시에틸셀룰로오스(HEC), 메틸셀룰로오스(MC), 카르복시메틸셀룰로오스(CMC), 미결정 셀룰로오스와 같은 분말 셀룰로오스, 셀룰로오스 아세테이트, 에틸셀룰로오스, 이들의 염, 및 이들의 조합; 알지네이트, 크산탄과 같은 헤테로폴리사카라이드 겔 및 호모폴리사카라이드 겔을 포함하는 겔, 트라가 칸트, 펙틴, 아카시아, 카라야, 아가, 구아, 히드록시프로필 구아, 비겔, 카라기난, 로커스트 빈 겔, 젤란 겔, 및 이들로부터의 유도체; 중합체와 아크릴산 공중합체를 포함하는 아크릴산, 메타크릴산, 메틸 아크릴 레이트 및 메틸 메타크릴 레이트 및 가교결합된 폴리아크릴산 유도체, 카르보머(예컨대, 다양한 분자량 등급의 CARBOPOL[®], CARBOPOL[®] 71G NF, Noveon, Inc., Cincinnati, OH); 카라기난; 폴리비닐 아세테이트(예컨대, KOLLIDON[®] SR); 폴리비닐 피롤리돈 및 크로스피돈과 같은 이의 유도체; 폴리에틸렌 산화물; 및 폴리비닐알코올. 바람직한 친수성 및 수-팽윤성 중합체는 셀룰로오스 중합체이고, 특히 HPMC이다.

[0036] 연장-방출형 제제는 최소 1 종의 결합제(binder)를 추가적으로 포함할 수 있으며, 이는 생물학적 유액을 포함하는 수성 매질에서 친수성 중합체 매트릭스 (즉, 겔 매트릭스)에 친수성 화합물을 가교 결합시킬 수 있다.

[0037] 결합제의 예로는 갈락토만난 겔과 같은 호모폴리사카라이드, 구아 겔, 하이드록시프로필 구아 겔, 히드록시프로필셀룰로오스(예를 들어, HPC; KluCEL EXF) 및 로커스트 빈 겔을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 다른 구현예에서, 결합제는 알긴산 유도체, HPC 또는 미결정 셀룰로오스(MCC)이다. 기타 결합제는 전분, 미결정 셀룰로오스, 히드록시프로필 셀룰로오스, 히드록시에틸 셀룰로오스, 히드록시프로필메틸 셀룰로오스 및 폴리비닐피롤리돈을 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0038] 일 구현예에서, 도입 방법은 불활성 담체에 활성제(들) 및 결합제의 현탁액을 분무하여 약물 레이어링하는 것이

다.

- [0039] 상기 결합체는 약 0.1 중량% 내지 약 15 중량%의 양으로 비드 제형에 존재할 수 있고, 바람직하게는 약 0.2 중량% 내지 약 10 중량%이다.
- [0040] 일부 구현예에서, 친수성 중합체 매트릭스는 이온성 중합체, 비이온성 중합체, 또는 수-불용성 소수성 중합체를 추가적으로 포함하여, 보다 강한 겔층을 제공하고/거나 매트릭스의 기공양 및 면적을 감소시킴으로써, 활성제(들)의 방출에 수반되는 확산 및 침식 속도를 느리게 한다. 이것은 추가적으로 초기 붕괴 효과를 억제하고, 보다 안정적인 "영차 속도 방출(zero order release)"를 생성할 수 있다.
- [0041] 용해 속도를 느리게 하는 이온성 중합체의 예는 음이온과 양이온성 중합체를 모두 포함한다. 음이온성 중합체는, 예를 들어, 소듐 카복시메틸셀룰로오스(Na CMC), 소듐 알지네이트, 아크릴산 또는 카르보머(예, CARBOPOL[®] 934, 940, 974P NF)의 중합체; 폴리비닐 아세테이트 프탈레이트(PVAP)와 같은 장용성 중합체, 메타크릴산 공중합체(예, EUDRAGIT[®] L100, L 30D 55, A, 및 FS 30D), 하이프로멜로오스 아세테이트 숙시네이트(AQUAT HPMCAS); 및 잔탄 겔을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 양이온성 중합체는, 예를 들어, 디메틸아미노 에틸 메타크릴 레이트 공중합체(예, EUDRAGIT[®] E 100)를 포함한다. 음이온성 중합체, 특히 장용성 중합체의 포함(Incorporation)은, 친수성 중합체 단독에 비해 약 염기성 약물에 대한 pH-독립성 방출 프로파일을 개발하는데 유용하다.
- [0042] 용해 속도를 느리게 하는 비이온성 중합체는, 예를 들어, 히드록시프로필 셀룰로오스(HPC), 및 폴리에틸렌 옥사이드(PEO)(예, POLYOX[™])를 포함한다.
- [0043] 소수성 중합체의 예로는 에틸셀룰로오스(예를 들어, ETHOCEL[™] SURELEASE), 셀룰로오스 아세테이트, 메타크릴산 공중합체(예를 들어, EUDRAGIT NE 30D), 암모니오-메타크릴레이트 공중합체(예를 들어, EUDRAGIT[®] RL 100 또는 PO RS100), 폴리비닐 아세테이트, 글리세릴 모노스테아레이트, 아세틸 트리부틸 시트레이트와 같은 지방산, 이들의 조합 및 이들의 유도체를 포함한다.
- [0044] 팽윤성 중합체는 1 중량% 내지 50 중량%의 비율로 제제에 포함될 수 있으며, 바람직하게는 5 중량% 내지 40 중량%이고, 가장 바람직하게는 5 중량% 내지 20 중량%이다. 팽윤성 중합체 및 결합체는 과립화 전 또는 후에 제제에 포함될 수 있다. 또한, 중합체는 과립화 동안 유기 용매 또는 하이드로-알코올에 분산되고, 분사될 수 있다.
- [0045] 방출-촉진제의 예로는 pH-의존성 장용성 중합체를 포함하며, 이는 약 4.0보다 낮은 pH 값에서는 그대로 유지되고, 4.0 보다 높은 pH 값에서는 용해된다. 바람직하게는 5.0 보다 높은 것이고, 가장 바람직하게는 약 6.0인 것이 본 발명을 위한 방출-촉진제에 유용하게 고려된다. pH 의존성 중합체의 예로는 메타크릴산 공중합체, 메타크릴산-메틸 메타크릴레이트 공중합체(예컨대, EUDRAGIT[®] L100(타입 A), EUDRAGIT[®] S100(타입 B), Rohm GmbH, 독일), 메타크릴산-에틸 아크릴레이트 공중합체(예컨대, EUDRAGIT[®] L100-55(타입 C) 및 EUDRAGIT[®] L30D-55 공중합체 분산액, Rohm GmbH, 독일); 메타크릴산-메틸 메타크릴레이트 및 메틸 메타크릴레이트(EUDRAGIT[®] FS)의 공중합체; 메타크릴산, 메타크릴레이트 및 에틸 아크릴레이트의 3량체(terpolymer); 셀룰로오스 아세테이트 프탈레이트 (CAP); 히드록시프로필 메틸셀룰로오스 프탈레이트(HPMCP)(예컨대, HP-55, HP-50, HP-55S, Shinetsu Chemical, 일본); 폴리비닐 아세테이트 프탈레이트(PVAP)(예컨대, COATERIC[®], OPADRY[®] enteric white OY-P-7171); 셀룰로오스 아세테이트 숙시 네이트(CAS); 히드록시프로필 메틸셀룰로오스 아세테이트 숙시네이트(HPMCAS), 예컨대, HPMCAS LF Grade, MF Grade, AQOAT[®] LF 및 AQOAT[®] MF(Shinetsu Chemical, 일본)을 포함한 HF Grade; 셀락(예컨대, Marcoat[™] 125 및 Marcoat[™] 125N); 카르복시메틸 에틸셀룰로오스(CMEC, Freund Corporation, 일본), 셀룰로오스 아세테이트 프탈레이트 (CAP)(예컨대, AQUATERIC[®]); 셀룰로오스 아세테이트 트리멜리테이트(CAT); 및 이들의 2 종 이상의 혼합물을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 상기 혼합물은 약 2:1 내지 약 5:1 사이의 중량비(weight ratio)로 혼합되며, 예컨대, EUDRAGIT L 100-55 및 EUDRAGIT S 100을 약 3:1 내지 약 2:1의 중량비로 혼합한 혼합물이거나, 또는 EUDRAGIT L 30 D-55 및 EUDRAGIT FS를 약 3:1 내지 약 5:1의 중량비로 혼합한 혼합물이다.
- [0046] 이들 중합체는 단독으로 또는 조합하여, 또는 상술한 것들 이외의 중합체와 함께 사용될 수 있다. 바람직한 장

용성 pH-의존성 중합체는 약학적으로 허용가능한 메타크릴산 공중합체이다. 이러한 공중합체는 메타크릴산 및 메틸 메타크릴레이트에 기반한 음이온성 중합체이며, 바람직하게는 약 135,000의 평균 분자량을 갖는다. 이러한 공중합체의 메틸-에스테르화된 카르복실기에 대한 프리 카르복실기의 비율은 예컨대, 1:1 내지 1:3, 예컨대, 1:1 또는 1:2일 수 있다. 이러한 중합체는 Eudragit L 시리즈, 예컨대, Eudragit L 12.5[®], Eudragit L 12.5P[®], Eudragit L100[®], Eudragit L 100-55[®], Eudragit L-30D[®], Eudragit L-30 D-55[®], Eudragit S[®] 시리즈, 예컨대, Eudragit S 12.5[®], Eudragit S 12.5P[®], Eudragit S100[®]과 같은 상품명 Eudragit으로 판매되고 있다. 방출 촉진제는 pH 의존성 중합체에 한정되지 않는다. 또한, 빨리 용해되고 다공성 구조를 신속하게 벗어나 용량이 외부로 침출되는 기타 친수성 분자들을 동일한 목적을 위해 이용할 수 있다.

[0047] 일부 구현예에서, 상기 매트릭스는 방출 촉진제 및 용해도 증진제의 조합을 포함할 수 있다. 용해도 증진제는 분자의 포획을 통해 난용성 약물의 용해도를 증가시키는 분자뿐만 아니라, 이온성 및 비이온성 계면 활성제, 착화제, 친수성 중합체, 산성화제 및 알칼리화제와 같은 pH 조절제일 수 있다. 다양한 용해도 증진제가 동시에 이용될 수 있다.

[0048] 용해도 증진제는 다음과 같은 물질들을 포함할 수 있다: 소듐 도큐세이트, 소듐 라우릴 설페이트, 소듐 스테아릴 푸마레이트, 트윈스 및 스펜스(PEO 변형 소르비탄 모노에스테르 및 지방산 소르비탄 에스테르), 폴리(에틸렌 옥사이드)-폴리프로필렌 옥사이드-폴리(에틸렌 옥사이드) 블록 공중합체(일명 PLURONICS[™])과 같은 계면 활성제; 저 분자량 폴리비닐 피롤리돈 및 저분자량 히드록시프로필 메틸 셀룰로오스와 같은 착화제; 시클로텍스트린과 같이 분자를 포획하여 용해도를 돕는 분자 및 시트르산, 푸마르산, 타르타르산 및 염산과 같은 산성화제 등의 pH 개질제; 및 메글루민 및 소듐 히드록사이드와 같은 알칼리화제.

[0049] 용해도 증진제는 일반적으로 투여 제형의 1 중량% 내지 80 중량%로 구성되며, 바람직하게는 1 중량% 내지 60 중량%이고, 보다 바람직하게는 1 중량% 내지 50 중량%이며, 다양한 방법으로 포함될 수 있다. 그것들은 건식 또는 습식 형태로 과립화 전에 제제에 포함될 수 있다. 또한, 그것들은 물질의 나머지는 과립화되고 나머지는 달리 처리된 후 제제에 첨가될 수 있다. 과립화 동안, 가용화제는 결합체가 있거나 없는 용액으로 분사될 수 있다.

[0050] 일 구현예에서, 연장-방출형 제제는 활성 코어를 포함하는 1 종 이상의 불수용성-투수성 필름-형성을 포함하는 불용성 투수성 중합체 코팅 또는 매트릭스를 포함한다. 코팅은 추가적으로 1 종 이상의 수용성 중합체 및/또는 1 종 이상의 가소제를 포함 할 수 있다. 불수용성 중합체 코팅은 코어 내 활성제의 방출을 위한 장벽 코팅을 포함하며, 저 분자량(점도) 등급은 고점도 등급에 비해 더 빠른 방출 속도를 나타낸다.

[0051] 일부 구현예에서, 불수용성 필름-형성 중합체는 1 종 이상의 알킬 셀룰로오스 에테르(예컨대, 에틸 셀룰로오스) 및 이들의 혼합물(예, 에틸 셀룰로오스 등급 PR100, PR45, PR20, PR10 및 PR7; ETHOCEL[®], Dow).

[0052] 일부 구현예에서, 불수용성 중합체는 가소제를 필요로 하지 않고 적합한 특성(예를 들면, 연장-방출 특성, 기계적 특성 및 코팅 특성)를 제공한다. 예를 들어, 폴리비닐 아세테이트(PVA), 시판용 Eudragit NE30D(Evonik Industries)와 같은 아크릴레이트/메타크릴레이트 에스테르의 중성 공중합체, 히드록시 프로필 셀룰로오스, 왁스 등과 조합된 에틸 셀룰로오스를 포함하는 코팅은 가소제없이 적용 할 수 있다.

[0053] 또 다른 구현예에서, 불수용성 중합체 매트릭스는 가소제를 추가적으로 포함 할 수 있다. 필요한 가소제의 양은 가소제, 불수용성 중합체의 특성 및 코팅의 궁극적으로 목적하는 특성에 따라 다르다. 가소제의 적절한 수준은 코팅의 전체 중량에 대하여 1중량% 내지 약 20중량%, 약 3중량% 내지 약 20중량%, 약 3중량% 내지 약 5중량%, 약 7중량% 내지 약 10중량%, 약 12중량% 내지 약 15중량%, 약 17중량% 내지 약 20중량%, 또는 약 1중량%, 약 2중량%, 약 3중량%, 약 4중량%, 약 5중량%, 약 6중량%, 약 7중량%, 약 8중량%, 약 9중량%, 약 10중량%, 약 15중량%, 또는 약 20중량% 범위이고, 이들 사이의 모든 범위 및 하위 범위를 포함한다.

[0054] 가소제의 예로는, 트리아세틴, 아세틸화 모노글리세리드, 오일(피마자유, 경화 피마자유, 유채씨유, 참기름, 올리브유 등); 시트레이트 에스테르, 트리에틸 시트레이트, 아세틸트리에틸 시트레이트 아세틸트리부틸 시트레이트, 트리부틸 시트레이트, 아세틸 트리-n-부틸 시트레이트, 디에틸 프탈레이트, 디부틸 프탈레이트, 디옥틸 프탈레이트, 메틸 파라벤, 프로필 파라벤, 프로필 파라벤, 부틸 파라벤, 디에틸 세바케이트, 디부틸 세바케이트, 글리세롤트리부틸레이트, 치환된 트리글리세라이드 및 글리세라이드, 모노아세틸레이티드 및 디아세틸레이티드 글리세라이드(예를 들어, MYVACET[®] 9-45), 글리세릴 모노스테아레이트, 글리세롤 트리부틸레이트, 폴리소르베이트 80, 폴리에틸렌글리콜(예컨대, PEG-4000, PEG-400), 프로필렌글리콜, 1,2-프로필렌글리콜, 글리세린, 소르비

톨, 디에틸 옥살레이트, 디에틸 말레이트, 디에틸 푸마레이트, 디에틸 말레에이트, 디에틸 숙시네이트, 디에틸 말로네이트, 디옥틸 프탈레이트, 디부틸 세바케이트, 및 이들의 혼합물을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 가소제는 계면활성제 특성을 갖고, 이에 의해 방출 개질제로서 작용할 수 있다. 예를 들어, Brij 58 (폴리옥시에틸렌(20) 세틸 에테르) 등의 비이온성 계면 활성제가 사용될 수 있다.

[0055] 가소제는 강하거나 부서지기 쉬운 중합체 물질에 유연성을 부여하는데 이용되는 고비점 유기 용매일 수 있고, 활성제(들)에 대한 방출 프로파일에 영향을 줄 수 있다. 가소제는 일반적으로 중합체 사슬을 따라 응집 분자간 힘의 감소를 야기하여, 인장 강도의 감소, 신장의 증가 및 유리 전이 또는 중합체의 연화 온도의 감소와 같은 중합체의 다양한 변화를 초래한다. 가소제의 양 및 선택은 예를 들어, 정제의 정도에 영향을 줄 수 있고, 심지어는 용해 또는 봉해 특성뿐만 아니라, 그것의 물리적 및 화학적 안정성에 영향을 미칠 수 있다. 특정 가소제는 코트의 탄성 및/또는 유연성을 높일 수 있고, 이에 의해 코트의 불안정함이 감소된다.

[0056] 또 다른 구현예에서, 연장-방출형 제제는 최소 1 종의 비-이온성 겔 형성 중합체 및/또는 최소 1 종의 음이온성 겔 형성 중합체를 포함하는 최소 2 종의 겔 형성 중합체의 조합을 포함한다. 제제가 섭취되어 위장관 유액과 접촉하면, 표면에서 제일 가까운 중합체가 수화되어 점성 겔층을 형성하고, 상기 겔 형성 중합체의 조합에 의해 형성된 겔은 조절된 방출을 제공한다. 고점도때문에, 점성 층은 서서히 용해되어, 동일한 프로세스에서 하부 물질이 노출된다. 이후, 매스는 천천히 용해되고, 이에 의해 서서히 위장관 유액 내로 유효 성분이 방출된다. 최소 2 종의 겔-형성 중합체의 조합은 결과물인 겔의 특성(예컨대, 점성)을 조작 가능하게 하여, 원하는 방출 프로파일을 제공한다.

[0057] 특정 구현예에서, 상기 제제는 1 종 이상의 비-이온성 겔 형성 중합체 및 최소 1 종의 음이온성 겔 형성 폴리머를 포함한다. 다른 구현예에서, 제제는 2 종의 상이한 비-이온성 겔 형성 중합체를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 제제는 화학적 성질은 동일하나, 상이한 용해도, 점도 및/또는 분자량을 갖는 비-이온성 겔 형성 중합체의 조합을 포함한다(예컨대, 상이한 점도 등급의 히드록시프로필 메틸셀룰로오스의 배합, HPMC K100 및 HPMC K15M 또는 HPMC K100M).

[0058] 음이온성 겔 형성 중합체의 예로는, 소듐 카복시메틸셀룰로오스(Na CMC), 카르복시메틸 셀룰로오스(CMC), 알지네이트 소듐, 알긴산, 펙틴, 폴리 글루론산(폴리- α 및 $-\beta$ -1,4-글루쿠론산), 갈락투론산(펙트 산), 콘드로이틴 설페이트, 카라기난, 퍼셀라란, 크산탄 검과 같은 음이온성 검, 아크릴산 또는 카르보머(Carbopol[®] 934, 940, 974P NF)의 중합체, Carbopol[®] 공중합체, Pemulen[®] 중합체, 폴리카르보필 및 기타를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0059] 비이온성 겔 형성 중합체의 예로는 포비돈(PVP: 폴리비닐피롤리돈), 폴리 비닐 알콜, PVP 및 폴리비닐 아세테이트의 공중합체, HPC(히드록시프로필 셀룰로오스), HPMC(히드록시프로필 메틸셀룰로오스), 히드록시 에틸 셀룰로오스, 히드록시메틸 셀룰로오스, 젤라틴, 폴리에틸렌 옥사이드, 아카시아, 텍스트린, 전분, PHEMA(polyhydroxyethylmethacrylate), 수용성 비이온성 폴리메타크릴레이트 및 그들의 공중합체, 변성 셀룰로오스, 변성 폴리사카라이드, 비이온성 검, 비이온성 다당류 및/또는 이들의 혼합물을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0060] 제제는 선택적으로 상술한 장용성 중합체 및/또는 충전제, 결합제(전술한 바와 같이), 봉해제, 및/또는 유동 보조제 또는 활택제와 같은 하나 이상의 부형제를 포함할 수 있다.

[0061] 충전제의 예로는, 락토즈, 글루코오스, 프락토스, 수크로즈, 디칼슘 포스페이트, 소르비톨과 같은 슈가 알코올("슈가 폴리올"로 알려진), 만니톨, 락티톨, 자일리톨, 이소말트, 에리트리톨, 수소화된 전분 가수 분해물(몇개의 슈가 알코올의 혼합물), 옥수수 전분, 감자 전분, 소듐 카르복시메틸셀룰로오스, 에틸 셀룰로오스 및 셀룰로오스 아세테이트, 장용성 중합체, 또는 이들의 혼합물을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0062] 결합제의 예로는, 포비돈(PVP: 폴리비닐 피롤리돈)과 같은 수용성 친수성 중합체, 코포비돈(폴리비닐피롤리돈 및 폴리비닐 아세테이트의 공중합체), 저분자량 HPC(히드록시프로필 셀룰로오스), 저분자량 HPMC(히드록시프로필 메틸셀룰로오스), 저분자량 카르복시 메틸 셀룰로오스, 에틸 셀룰로오스, 젤라틴, 폴리에틸렌 옥사이드, 아카시아, 텍스트린, 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분, 및 Eudragit NE 30D, Eudragit RL, Eudragit RS, Eudragit E와 같은 폴리메타크릴 레이트, 폴리비닐 아세테이트 및 장용성 중합체, 또는 이들의 혼합물을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0063] 봉해제의 예로는, 저-치환 카르복시메틸 셀룰로오스 소듐, 크로스포비돈(가교된 폴리비닐피롤리돈), 소듐

카르복시메틸 전분(소디움 전분 글리콜레이트), 가교된 소디움 카르복시메틸 셀룰로오스(크로스카르멜로즈), 호화 전분 (전분 1500), 미결정 셀룰로오스, 불용성 전분, 칼슘 카르복시메틸 셀룰로오스, 저치환 히드록시프로필 셀룰로오스, 및 마그네슘 또는 알루미늄 실리케이트를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0064] 활택제의 예로는, 마그네슘, 이산화 규소, 탈크, 전분, 이산화 티탄 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0065] 또 다른 구현예에서, 연장-방출형 제제는 선택적으로, 코팅 물질로 비드 또는 비드 포플레이션(전술한 바와 같이)과 같은 수용성/분산성 약물-함유 입자를 코팅하여 형성되며, 선택적으로 기공 형성제 및 다른 부형제이다. 코팅 물질은 바람직하게는 에틸셀룰로오스와 같은 셀룰로스 중합체(예를 들면, SURELEASE[®]), 메틸셀룰로오스, 히드록시프로필 셀룰로오스, 히드록시프로필메틸 셀룰로오스, 셀룰로오스 아세테이트 및 셀룰로오스 아세테이트 프탈레이트; 폴리비닐 알코올; 폴리아크릴레이트와 같은 아크릴 중합체, 폴리메타크릴레이트 및 이들의 공중합체, 및 기타 수용성-기반 또는 용매-기반 코팅 재료로 이루어진 군으로부터 선택된다. 비드 포플레이션을 위한 방출-조절 코팅은 코팅의 성질, 코팅 수준, 유형 및 기공 형성제의 농도, 과정 기준 및 이들의 조합과 같은 방출 조절 코팅의 최소 1 개의 파라미터에 의하여 조절될 수 있다. 따라서, 기공 형성제 농도, 또는 커팅 조건과 같은 파라미터들을 변경함으로써, 모든 비드 포플레이션으로부터 활성제(들)의 방출을 변경하게 되고, 이에 따라 지정된 방출 프로파일에 대한 제제의 선택적인 조정이 가능해진다.

[0066] 방출 조절 코팅에 이용하기에 적합한 기공 형성제는 유기 또는 무기제일 수 있고, 이용의 환경에 있어 코팅으로부터 용해, 추출 또는 용출될 수 있는 물질들을 포함한다. 기공 형성제의 예로는, 수크로즈, 글루코오스, 프락토스, 만니톨, 만노스, 갈락토오스, 소르비톨, 폴루란, 텍스트란과 같은 모노-, 올리고- 및 다당류; 수용성 친수성 중합체와 같은 수용성 중합체, 히드록시알킬 셀룰로스, 카복시알킬셀룰로오스, 히드록시프로필메틸셀룰로오스, 셀룰로오스 에테르, 아크릴 수지, 폴리비닐피롤리돈, 가교 폴리비닐피롤리돈, 폴리에틸렌 옥사이드, 카르복소, 카르복실, 디올, 폴리올, 폴리히드로 알코올, 폴리알킬렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 또는 이들의 블록 중합체, 폴리 글리콜, 폴리(α - Ω)알킬렌디올; 알칼리 금속염과 같은 무기화합물, 탄산 리튬, 염화나트륨, 브롬화 나트륨, 염화칼륨, 황산 칼륨, 인산 칼륨, 아세트산 나트륨, 시트르산 나트륨, 적합한 칼슘 염, 및 이들의 조합 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0067] 상기 방출 조절 코팅은 가소제, 부착 방지제, 활택제(또는 유동 보조제), 및 소포제와 같은 당업계에 공지된 다른 첨가제를 추가적으로 포함할 수 있다.

[0068] 일부 구현예에서, 코팅된 입자 또는 비드는 추가적으로 "오버코트(overcoat)"를 포함하여 방습, 정전기 제거, 맛-마스킹, 향료, 착색제 및/또는 광택 또는 다른 화장품 소구를 제공할 수 있다. 이러한 오버코트에 적당한 코팅 재료는 당업계에 알려져 있으며, 예컨대, 히드록시프로필메틸셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스 및 미결정 셀룰로오스, 또는 이들의 조합(다양한 OPADRY[®] 코팅 물질)와 같은 셀룰로오스 중합체를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0069] 코팅된 입자 또는 비드는 추가적으로 증진제를 함유할 수 있으며, 예컨대, 용해도 증진제, 용해 촉진제, 흡수 증진제, 침투성 강화제, 안정제, 착화제, 효소 저해제, p-글루코프روت레인 억제제, 및 다중약제 저항 단백질 억제제를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 택일적으로는, 제제는, 예를 들면, 비드 또는 분말의 분리 포플레이션에서 코팅된 입자로부터 분리되는 증진제를 함유할 수 있다. 또 다른 구현예에서, 증진제(들)은 방출 조절 코팅의 상부 또는 하부에 있는 코팅된 입자에 별도의 층에 함유 될 수 있다.

[0070] 다른 구현예에서, 약물은 삼투압 기작에 의해 방출될 수 있다. 이러한 예로, 캡슐은 단일 삼투압 단위로 제형화될 수 있거나, 경질 젤라틴 캡슐내에 캡슐화된 2, 3, 4, 5 또는 6 푸시-풀 단위(push-pull units)로 포함될 수 있으며, 이에 의해 각 이중층 푸시 풀 단위는 반투과성 막에 의해 둘러싸인 삼투압 푸시층 및 약물층 모두를 포함하게 된다. 1 개 이상의 오리피스(orifices)를 약물 층 옆의 막을 통하여 뚫을 수 있다. 이 막은 별도로 위배출이 끝날 때까지 방출을 방지하기 위해 pH-의존성 장용성 코팅으로 커버될 수 있다. 젤라틴 캡슐은 섭취 후 즉시 용해된다. 푸시 풀 단위(들)은 소장으로 들어가면, 장용성 코팅이 붕괴되어, 유액이 반투과성 막을 통하여 유입되고, 삼투성 푸시 성분들이 팽창하여, 오리피스(들)을 통하여 물 수송 속도에 의해 정확하게 조정된 속도로 약물들이 외부로 강제로 나가게 된다. 약물의 방출은 최대 24 시간 이상 일정한 속도로 발생될 수 있다.

[0071] 삼투성 푸시 층은 반투과성 막을 통한 전달 비히클(vehicle)의 코어로의 물 수송을 위한 구동력을 생성하는 1 종 이상의 삼투제를 포함한다. 삼투제의 한 종류로 물-팽윤성 친수성 중합체를 포함하며, 또한 "오스모폴리머(osmopolymers)" 및 "하이드로 겔"로 불린다. 예컨대, 친수성 비닐 및 아크릴 중합체, 칼슘 알기 네이트, 폴리에틸렌 옥사이드(PEO), 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 폴리프로필렌 글리콜(PPG), 폴리(2-히드록시에틸 메타크릴레이

트), 폴리(아크릴) 산, 폴리(메타크릴) 산, 폴리비닐피롤리돈(PVP), 가교결합된 PVP, 폴리비닐 알콜 (PVA), 메틸 메타크릴레이트 및 비닐 아세테이트와 같은 소수성 모노머와의 PVA/PVP 공중합체, 대형 PEO 블록을 함유하는 친수성 폴리우레탄, 소듐 크로스 카멜로스, 카라기난, 히드록시에틸 셀룰로오스(HEC), 히드록시프로필 셀룰로오스 (HPC), 히드록시프로필 메틸 셀룰로오스(HPMC), 카르복시메틸 셀룰로오스(CMC), 카르복시 에틸 셀룰로오스 (CEC), 소듐 알지네이트, 폴리카르보필, 젤라틴, 크 산탄 겔, 및 소듐 스타치 글리콜레이트를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0072] 또 다른 종류의 삼투제는 오스모겐(osmogen)을 포함하며, 이는 물을 흡수할 수 있어 반투과 막에 걸쳐 삼투압 구배에 영향을 미친다. 오스모겐의 예로는, 황산 마그네슘, 염화 마그네슘, 염화칼슘, 염화나트륨, 염화 리튬, 칼륨, 황산 칼륨, 인산 나트륨, 탄산나트륨, 아황산나트륨, 황산 리튬, 염화 칼륨 및 황산나트륨 등의 무기염; 포도당, 과당, 포도당, 이노시톨, 락토스, 말토스, 만니톨, 라피노스, 소르비톨, 수크로스, 트레할로스 및 자일리톨 등의 당류; 아스코르브 산, 벤조산, 푸마르산, 구연산, 말레 산, 세바 산, 소르빈산, 아 디프 산, 에테 트 산, 글루탐산, p-톨루엔술폰산, 숙신산 및 타르타르산 등의 유기산; 우레아; 및 이들의 혼합물을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0073] 반투과막을 형성하는데 유용한 물질은, 생리적으로 관련된 pH에서 물 투과성 및 불수용성이거나, 가교결합과 같은 화학적 변형에 의해 불수용성으로 되기 쉬운 다양한 등급의 아크릴, 비닐, 에테르, 폴리아미드, 폴리에스테르 및 셀룰로오스 유도체를 포함한다.

[0074] 일부 구현예에서, 연장-방출형 제제는 위장과 소장 모두에서 부식에 저항하는 1 종 이상의 다당류(polysaccharides)를 포함할 수 있다. 이러한 중합체는 폴리스카라이드 코팅제와 같은 생분해성 효소를 함유하는 미생물이 존재하는 대장 내에서 분해되어 약물 성분들이 조절, 시간-의존적인 방식으로 방출될 수 있다. 다당류의 예로는, 아밀로오스, 아라비노갈락탄, 키토산, 콘드로이틴 설페이트, 시클로덱스트린, 텍스트란, 구아검, 펙틴 및 자일란 및 이들의 조합 또는 이들로부터의 유도체를 포함할 수 있다.

[0075] 일부 구현예에서, 본 약학적 조성물은 서방형(delayed extended-release)으로 제형화된다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "지연 연장-방출형(delayed extended-release)"은 약물 투여 후 방출에 있어 지정된 지연이 있는 방출 프로파일을 갖는 약제 제형을 참조하여 사용되며, 일단 시작되면, 상기 약물은 연장된 시간 동안 지속적으로 방출된다. 일부 구현예에서, 상기 지연 연장-방출형 제제는 장용성 코팅(enteric coating)을 포함하며, 이는 소장에 도달하기 전에 약물의 방출을 방지한 경구 약제에 적용시킨 장벽이다. 장용성 코팅과 같은 서방형 제제는 아스피린처럼 위장에서 용해되어, 위장을 자극하는 효과를 방지한다. 또한, 이러한 코팅은 산성에 불안정한 약물을 위장의 산성 노출로부터 보호하여, 약물이 분해되지 않는 염기성 pH 환경(소장의 pH는 5.5 이상)으로 전달 시키고, 원하는 효과가 나타나도록 한다. 용어 "박동성 방출(pulsatile release)"은 서방형의 한 유형으로서, 지정된 지연 시간(lag period) 후 즉각적으로 단시간 내 약물을 신속하고 일시적으로 방출시켜서, 약물 투여 후 약물의 "박동(pulsed)" 플라스마 프로파일을 생성하는 약물 제형을 참조하여 사용된다. 제형은 투여 후 소정의 시간 간격으로 한 번의 박동성 방출 또는 다중 박동성 방출, 또는 한 번의 박동성 방출(예를 들어, 유효 성분의 20 내지 60%) 후 시간의 기간에 걸쳐서 연장 방출(예를 들어, 나머지 유효 성분의 지속적인 방출)을 제공하도록 설계될 수 있다. 서방형 또는 박동성 방출 제제는 일반적으로, 특정 지연 단계 후의 용해, 침식 또는 붕괴되는 장벽 코팅으로 커버된 1 종 이상의 성분을 포함한다.

[0076] 서방형을 위한 장벽 코팅(barrier coating)은 목적에 따라 여러가지 다양한 물질로 구성될 수 있다. 또한, 제제는 일시적 방식으로 방출을 용이하게 하는 다수의 장벽 코팅을 포함 할 수 있다. 상기 코팅은 당 코팅, 필름 코팅(예컨대, 히드록시프로필 메틸 셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 메틸 히드록시에틸셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스, 아크릴레이트 공중합체, 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 폴리비닐피롤리돈), 또는 메타크릴산 공중합체, 셀룰로오스 아세테이트 프탈레이트, 히드록시프로필 메틸셀룰로오스 프탈레이트, 히드록시프로필 메틸셀룰로오스 아세테이트 숙시네이트, 폴리비닐 아세테이트 프탈레이트, 셀락, 및/또는 에틸셀룰로오스 기반 코팅일 수 있다. 또한, 상기 제제는 추가적으로, 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 디스테아레이트와 같은 시간 지연 물질을 포함 할 수 있다.

[0077] 일부 구현예에서, 상기 서방형, 연장-방출형 제제는 위장관의 근위 또는 원위 영역에서 활성제의 방출을 촉진하는 1 종 이상의 중합체가 포함된 장용성 코팅을 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "장용성 중합체 코팅"은 pH 의존성 또는 pH 독립성 방출 프로파일을 갖는 1 종 이상의 중합체를 포함하는 코팅이다. 장용성 코팅된 알약은 위의 산성액(pH ~3)에서는 분해되지 않지만, 소장 또는 대장에 존재하는 알칼리성(pH 7-9) 환경에서는 분해될 것이다. 장용성 중합체 코팅은 일반적으로 투여 후 약 3-4 시간의 지연 시간에 위장이 비워지는 얼마간

의 시간까지 활성제의 방출을 방해한다.

- [0078] pH 의존성 장용성 코팅은 1 종 이상의 pH-의존성 또는 pH-민감성 중합체를 포함한다. 상기 중합체는 위장과 같은 낮은 pH 환경에서는 구조적 안정한 상태를 유지하지만 소장과 같은 위장관의 원위 지역의 높은 pH 환경에서는 분해되어 약물 성분들이 방출된다. 본 발명의 목적을 위하여, "pH 의존성"은 pH 환경에 따라 달라지는 특성(예컨대, 용해)을 갖는 것으로 정의된다. pH 의존성 중합체의 예로는 전술한 바 있다. pH-의존성 중합체는 일반적으로 용해되는데 최적인 pH 특성을 나타낸다. 일부 구현예에서, pH-의존성 중합체는 약 5.0와 5.5 사이, 약 5.5와 6.0 사이, 약 6.0 와 6.5 사이, 또는 약 6.5와 7.0 사이에서 최적 pH를 나타낸다. 다른 구현예에서, pH-의존성 중합체는 ≥ 5.0 , ≥ 5.5 , ≥ 6.0 , ≥ 6.5 , 또는 ≥ 7.0 의 최적 pH를 나타낸다.
- [0079] 특정 구현예에서, 코팅 방법은 1 종 이상의 pH 의존성 또는 1 종 이상의 pH 독립성 중합체의 혼합물을 이용한다. 수용성 중합체가 가용화 최적 pH에 도달하면, pH 의존성 및 pH 독립성 중합체의 혼합물은 유효 성분들의 방출 속도를 감소시킬 수 있다.
- [0080] 일부 구현예에서, "시간-조절" 또는 "시간-의존" 방출 프로파일은 1 종 이상의 유효 성분들이 함유된 불수용성 캡슐 바디를 이용하여 획득할 수 있고, 상기 캡슐 바디는 투과팽윤가능한 하이드로겔 플러그(hydrogel plug)로 마감되어 있다. 위장관 유액 또는 용해 매질과의 접촉에 따라, 플러그는 팽창하여, 캡슐 밖으로 자체적으로 밀어내고, 지정된 지연 기간 후에 약물을 방출시키며, 플러그의 위치 및 크기 등에 의해 조절될 수 있다. 상기 캡슐 바디는 소장에 도달할 때까지 그대로 유지되도록 외부로 pH 의존성 장용성 코팅으로 추가적으로 코팅될 수 있다. 적합한 플러그 물질은, 예를 들어, 폴리메타크릴레이트, 부식성 압축 중합체(예컨대, HPMC, 폴리비닐 알콜), 응결 용융 중합체 (예컨대, 글리세릴 모노 올레에이트) 및 효소적 조절 부식성 중합체(예컨대, 아밀로오스, 아라비노갈락탄, 키토산, 콘드로이틴 설페이트, 시클로덱스트린, 텍스트란, 구아검, 펙틴 및 자일란과 같은 폴리사카라이드)를 포함한다.
- [0081] 다른 구현예에서, 캡슐 또는 이중층 정제는 팽창되는 층으로 덮힌 약물-함유 코어, 불용성이지만 반투과성 중합체 코팅 또는 막인 외부로 함유하도록 제형화할 수 있다. 파열 전 지연 시간은 중합체 코팅의 투과 및 기계적 특성 및 팽윤층의 팽창되는 형태에 의해 제어 될 수 있다. 통상적으로, 팽윤층은 그 구조에 있어 물을 팽창시키고 유지하는 팽윤성 친수성 중합체와 같은 1 종 이상의 팽윤제를 포함한다.
- [0082] 팽윤성 물질의 예로는, 폴리에틸렌 옥사이드(예컨대, POLYOX[®]와 같이 1,000,000 내지 7,000,000 사이의 평균 분자량을 갖는), 메틸셀룰로오스, 히드록시프로필 셀룰로오스, 히드록시프로필 메틸셀룰로오스; 폴리(메틸렌 옥사이드) 폴리(부틸렌 옥사이드)를 포함하나 이에 한정되지 않는 1,000,000 내지 6,000,000 사이의 평균 분자량을 갖는 폴리알킬렌 옥사이드; 25,000 내지 5,000,000 사이의 평균 분자량을 갖는 폴리(히드록시 알킬 메타크릴레이트); 글리옥살, 포름알데히드 또는 글루타르알데히드로 가교(cross-linked)된 낮은 아세트알 잔기를 갖고, 200 내지 30,000의 중합도를 갖는 폴리(비닐)알코올; 메틸 셀룰로스, 가교된 한천 및 카르복시메틸 셀룰로오스의 혼합물; 공중합체에서 말레산 무수물의 몰당 포화 가교제 0.001-0.5 몰로 가교된 스티렌, 에틸렌, 프로필렌, 부틸렌 또는 이소부틸렌과 말레산 무수물의 미세하게 미분된 공중합체의 분산액을 형성함으로써 생성된 공중합체를 형성하는 하이드로겔; 450,000 내지 4,000,000의 분자량을 갖는 CARBOPOL[®] 산성 카르복시 중합체; CYANAMER[®] 폴리아크릴아미드; 가교 팽윤성 인데네말레익 안히드로라이드(indenemaleicanhydride) 중합체; 80,000 내지 200,000의 분자량을 갖는 GOODRITE[®] 폴리아크릴산; 전분 그래프트 공중합체; 폴리글루칸으로 가교된 디에스테르와 같은 압축된 포도당 단위로 구성된 AQUA-KEEPS 아크릴레이트 중합체 다당류; 0.5%-1% w/v 수용액으로서 3,000 내지 60,000 mPa의 점도를 갖는 카르보머; 1% w/v 수용액(25℃)으로서 약 1000-7000 mPa의 점도를 갖는 히드록시프로필셀룰로오스와 같은 셀룰로오스 에테르; 2% w/v 수용액으로서 약 1000 이상, 바람직하게는 2,500 이상 최대 25,000 mPa의 점도를 갖는 히드록시프로필 메틸셀룰로오스; 10% w/v 수용액(20℃)으로서 약 300-700 mPa의 점도를 갖는 폴리비닐피롤리돈; 및 이들의 조합을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0083] 택일적으로, 약물의 방출 시간은 불수용성 중합체 막(예컨대, 에틸 셀룰로오스, EC)의 내성(tolerability) 및 두께 사이의 균형에 따른 분해 지연 시간에 의해 조절될 수 있으며, 이는 바디의 하부에 소정의 마이크로포어와 L-HPC(low substituted hydroxypropyl cellulose) 및 소듐 글리콜레이트 등의 팽윤 부형제를 함유한다. 경구 투여 후, GI 유액이 마이크로포어를 통하여 침투하여, 팽윤성 부형제의 팽창을 초래하고, 이는 팽윤성 물질을 함유한 제1 캡슐 바디, 약물을 함유한 제2 캡슐 바디 및 제1캡슐 바디에 부착된 외부 캡을 비롯한 캡슐 내 성분들이 방출되는 내부 압력이 생성된다.

- [0084] 장용성 층은 탈크 또는 글리세릴 모노스테아레이트와 같은 항-점착성제 및/또는 가소제(plasticizers)를 추가적으로 포함 할 수 있다. 상기 장용성 층은 1 종 이상의 가소제를 추가적으로 포함 할 수 있으며, 예컨대, 트리에틸 시트레이트, 아세틸 트리에틸 시트레이트, 아세틸트리부틸 시트레이트, 폴리에틸렌 글리콜 아세틸화 모노글리세리드, 글리세린, 트리아세틴, 프로필렌 글리콜, 프탈레이트 에스테르(예를 들어, 디에틸 프탈레이트, 디부틸 프탈레이트), 티타늄 디옥사이드, 페릭 옥사이드, 카스토르 오일, 소르비톨 및 디부틸 세바케이트를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0085] 다른 구현예에서, 서방형 제제는 투수성의 불용성 필름 코팅을 사용하여 유효 성분 및 삼투제를 둘러싼다. 소화관으로부터 물이 천천히 필름을 통하여 코어 내로 확산되면, 상기 코어는 상기 필름이 파괴될 때까지 팽창되고, 이로 인해 유효 성분들이 방출된다. 상기 필름 코팅은 다양한 속도의 물 투과 또는 방출 시간이 허용되도록 조정될 수 있다.
- [0086] 또 다른 실시예에서, 서방형 제제는 물-불침투성 정제 코팅을 이용하며, 이에 의해 코어가 붕괴될 때까지 물이 조절된 구멍(aperture)을 통해 들어온다. 정제가 붕괴될 때, 약물 성분들은 즉시 또는 오랜 기간에 걸쳐 방출된다. 이들 및 다른 기술들은 약물의 방출이 개시되기 전에 미리 지정된 지연 기간을 허용하도록 변경 될 수 있다.
- [0087] 또 다른 실시예에서, 활성제는 제제 내에 전달되어 서방형 방출 및 연장-방출형(지연-유지) 모두에 제공된다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "지연-연장-방출(delayed-extended-release)은 투여 후 활성제가 연장-방출되는 지정된 시간 또는 지연 시간에 활성제의 박동성 방출을 제공하는 약물 제제를 참조하여 사용된다.
- [0088] 일부 구현예에 있어서, 속방형, 연장-방출형, 서방형 또는 지연-연장-방출형 제제는 1 종 이상의 불활성 입자로 구성된 활성 코어를 포함하며, 이는 당업자에게 공지된 기술 또는 다른 방법들을 이용하여 약물-함유 필름-형성 조성물과 같은 형태의 약물로 표면을 코팅한 각각의 비드, 펠렛, 알약, 과립형 입자, 마이크로캡슐, 마이크로스피어, 미립제(microgranule), 나노캡슐 또는 나노스피어의 형태이다. 상기 불활성 입자는 저조한 용해가 유지될 정도로 충분히 큰 상태인 한, 다양한 크기일 수 있다. 택일적으로, 상기 활성 코어는 약물 성분을 함유하는 중합체 조성물의 과립화 및 밀링 및/또는 압출 및 구형화에 의해 제조 될 수 있다.
- [0089] 코어 내 약물의 양은 요구되는 투여량에 의존적일 수 있고, 전형적으로 약 5-90 중량%로 다양하다. 일반적으로, 활성 코어 상의 중합체 코팅은 요구되는 지연 시간 및 방출 프로파일 유형 및/또는 선택된 중합체 및 코팅 용매의 종류에 따라, 코팅된 입자의 중량을 기준으로 약 1 내지 50 %의 범위일 수 있다. 당업자는 코어 상에 코팅 또는 코어 내로 포함시키기 위한 약물의 적합한 양을 선택하여 원하는 투여량을 달성할 수 있다. 일 구현예에서, 비활성 코어는 슈가스페어 또는 버퍼 결정 또는 탄산 칼슘, 중탄산 나트륨, 푸마르산, 타르타르산 등의 캡슐화된 버퍼 결정일 수 있고, 이는 그것의 방출을 촉진하는 약물의 미세 환경을 변경시킨다.
- [0090] 일부 구현예에서, 서방형 또는 지연-연장-방출형 제제는 비드와 같은 수용성/분산성 약물-함유 입자와 불수용성 중합체 및 장용성 중합체의 혼합물로 코팅하여 형성되며, 상기 불수용성 중합체 및 장용성 중합체는 4:1 내지 1:1의 중량비로 존재할 수 있고, 상기 코팅의 총 중량은 코팅된 비드의 총 중량을 기준으로 하여 10 내지 60 중량%이다. 비드 약물층은 선택적으로 에틸 셀룰로오스의 내부 용해 속도 조절 막을 포함 할 수 있다. 중합체 막의 내층과 외층의 각각의 중량뿐만 아니라 외층의 조성물은 원하는 주기 리듬 방출 프로파일을 달성하기 위해 최적화시키고, 이는 인 비트로/인 비보 상관관계를 기반으로 하여 예측된다.
- [0091] 다른 구현예에서, 본 제제는 용해 속도 조절 중합체(dissolution rate-controlling polymer) 막이 없는 속방형 약물-함유 입자와 예컨대, 경구 투여 후 2-4 시간의 지연 시간을 나타내는 지연-연장-방출형 서방형 비드의 혼합물을 포함하고, 이에 따라 두 가지-펄스 방출 프로파일을 제공한다.
- [0092] 일부 구현예에서, 상기 활성 코어는 1 종 이상의 용해 속도-조절 중합체 층으로 코팅하여 지연 시간에 또는 지연 시간 없이 원하는 방출 프로파일을 획득한다. 내층막이 코어 내로의 물 또는 체액의 흡수 후 약물 방출 속도를 크게 조절할 수 있는 반면, 외층막은 원하는 지연 시간(코어 내로의 물 또는 체액의 흡수 후 약물이 전혀 방출되지 않거나 또는 약간의 약물이 방출된 기간)을 제공 할 수 있다. 상기 내층막은 불수용성 중합체, 또는 불수용성 또는 수용성 중합체의 혼합물을 포함 할 수 있다.
- [0093] 최대 6 시간의 지연 시간을 조절하는 상기 외층막에 적합한 상기 중합체는, 상술한 바와 같이, 장용성 중합체 및 불수용성 중합체를 10 내지 50 중량%로 포함 할 수 있다. 장용성 중합체에 대한 불수용성 중합체의 비율은 4:1 내지 1:2로 다양할 수 있으며, 바람직하게는 상기 중합체들이 약 1:1의 비율로 존재하는 것이다. 일반적으로 사용되는 불수용성 중합체는 에틸셀룰로오스이다.

- [0094] 불수용성 중합체는 예컨대, 에틸셀룰로오스, 폴리비닐 아세테이트 (BASF사의 Kollicoat SR#0D), 에틸 아크릴레이트 및 메틸메타크릴레이트를 기반으로 한 중성 공중합체, 4 급 암모늄기(quaternary ammonium groups)를 갖는 아크릴 및 메타아크릴산 에스테르의 공중합체(예컨대, EUDRAGIT[®] NE, RS 및 RS30D, 또는 RL30D 등)를 포함한다. 수용성 중합체의 예로는, 물과 용매에서의 활성 용해도에 따라 1 중량% 내지 최대 10 중량%의 범위의 두께인 저분자량 용해도에 따라까지 두께 HPMC, HPC, 메틸셀룰로오스, 폴리에틸렌 글리콜(PEG의 분자량> 3000) 또는 사용된 코팅제제 기반 라텍스 서스펜션을 포함한다. 수용성 중합체에 대하여 불수용성 중합체는 일반적으로 95:5 내지 60:40로 다양할 수 있으며, 바람직하게는 80:20 내지 65:35이다.
- [0095] 일부 구현예에서, AMBERLITE[™] IRP69 수지는 연장-방출형 담체로서 사용된다. AMBERLITE[™] IRP69는 불용성, 강산성, 소디움 형태의 양이온 교환 수지이며, 양이온(염기성) 물질에 대한 담체로서 적합하다. 다른 구현예에서, DUOLITE[™] AP143/1093 수지는 연장-방출형 담체로서 사용된다. DUOLITE[™] AP143/1093은 불용성, 강염기성, 음이온 교환 수지이며, 음이온(산성) 물질에 대한 담체로서 적합하다. 약물 전달체를 이용하는 경우, AMBERLITE IRP69 및/또는 DUOLITE[™] AP143/1093 수지는 불용성 중합체 매트릭스에 약제가 결합할 수 있는 수단을 제공한다. 연장-방출형은 수지-약물 복합체(약물을 수지화)의 형성을 통해 달성된다. 약물이 위장관의 전형적인 높은 전해질 농도와 평형에 도달하면, 약물은 *생체 내* 수지로부터 방출된다. 양이온 교환 시스템의 방향족 구조를 갖는 소수성 상호 작용으로 인하여, 일반적으로 보다 많은 소수성 약물이 낮은 속도로 수지로부터 용출될 수 있다.
- [0096] 일부 구현예에서, 본 약학적 조성물은 경구 투여용으로 제형화된다. 경구 투여 형태는, 예를 들면, 정제, 캡슐, 캐플릿을 포함하고, 또한 캡슐화되거나 캡슐화 되지 않은 다수의 과립, 비드, 분말 또는 펠릿을 포함할 수 있다. 정제 및 캡슐은 고체 약학적 담체가 사용되는 경우에 가장 편리한 경구 투여 형태를 나타낸다.
- [0097] 서방형 제제에서, 1 종 이상의 장벽(barrier) 코팅은 소장에서 약물이 천천히 용해되고 방출되도록 펠릿, 정제 또는 캡슐에 적용될 수 있다. 전형적으로, 상기 장벽 코팅은 약학 조성물 또는 활성 코어 주변의 층, 또는 막을 매립, 둘러싸거나, 형성하는 1 종 이상의 중합체를 함유한다. 일부 구현예에서, 활성제는 투여 후 지정된 시간에 서서히 방출되도록 제공하는 제제에 전달된다. 지연은 약 10 분, 약 20 분, 약 30 분, 약 1 시간, 약 2 시간, 약 3 시간, 약 4 시간, 약 5 시간, 약 6 시간, 또는 그 이상까지 할 수 있다.
- [0098] 다양한 코팅 기술이 서로 다른 별개의 방출 프로파일을 생성하기 위해 활성제를 함유하는 과립, 비드, 분말이나 펠릿, 정제, 캡슐 또는 이들의 조합에 적용될 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 약학적 조성물은 단일 코팅층을 함유하는 정제 또는 캡슐 형태이다. 다른 구현예에서, 상기 약학적 조성물은 복수의 코팅층을 함유하는 정제 또는 캡슐 형태이다. 일부 구현예에서, 본 약학적 조성물은 유효성분 100%인 연장-방출형 또는 서방형으로 제형화된다.
- [0099] 다른 구현예에서, 본 발명의 약학적 조성물은 투여 2 시간 이내에 방출되는"속방형(immediate-release)" 성분 및 2-12 시간의 기간에 걸쳐서 방출되는 "연장-방출형(extended-release)" 성분으로 특징지어지는 2 단계 방출 연장-방출형 또는 지연된 2 단계 방출 연장-방출형으로 제형화된다. 일부 구현예에서, 상기 "속방형(immediate-release)" 성분은 약학적 제제에 의해 전달되는 활성화제(들)의 총 복용량의 약 20-60%를 제공하고, "연장-방출형(extended-release)" 성분은 40-80%를 제공한다. 예컨대, 속방형 성분은 약학적 제제에 의해 전달되는 활성화제(들)의 총 복용량의 약 20-60%, 또는 약 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%를 제공할 수 있다. 상기 연장-방출 성분은 제제에 의해 전달되는 활성화제(들)의 총 복용량의 약 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% 또는 80%를 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 속방형 성분은 및 상기 연장-방출 성분은 동일한 유효성분을 포함한다. 다른 구현예에서, 상기 속방형 성분 및 상기 연장-방출 성분은 상이한 유효성분을 포함한다(예컨대, 하나의 성분은 진통제이고 다른 하나의 성분은 항무스카린제). 일부 구현예에서, 상기 속방형 성분 및 상기 연장-방출 성분은 각각 아스피린, 이부프로펜, 나프록센 소디움, 인도메타신, 나부메톤, 및 아세트아미노펜으로 이루어진 군으로부터 선택된 진통제를 포함한다. 다른 구현예에서, 상기 속방형 성분 및/또는 상기 연장-방출 성분은 항무스카린제, 항이뇨제, 진경제, PDE 5(phosphodiesterase type 5) 억제제 및 졸피뎀으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 종 이상의 추가 활성제를 추가적으로 포함한다.
- [0100] 일부 구현예에서, 본 약학적 조성물은 진통제, 항무스카린제, 항이뇨제, 진경제 및 PDE 5 억제제로 이루어진 군으로부터 선택된 다수의 유효 성분을 포함한다. 항무스카린제의 예는 옥시부티딘, 솔리페나신, 다리페나신, 페조테로딘, 툴테로딘, 트로스피움, 아트로핀, 및 삼환계 항우울제(tricyclic antidepressants)를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 항이뇨제의 예는 항이뇨 호르몬(ADH), 엔지오텐신 II, 알도스테론, 바소프레신, 바소프

레신 유사체(예를 들어, 데스모프레신, 아르기프레신, 라이프레신, 펠리프레신, 오르니프레신, 테를리프레신); 바소프레신 수용체 작용제, 심방성 나트륨이뇨 펩타이드(ANP) 및 C형 나트륨이뇨 펩타이드(CNP) 수용체(즉, NPR1, NPR2, NPR3) 길항제(예를 들어, HS-142-1, 이사틴, [Asu7,23']b-ANP-(7-28)], 아난틴, 스트렙토마이세스 해파리로부터의 고리형 펩타이드, 및 3G12 단일클론 항체); 소마토스타틴 제 2 형 수용체 길항제(예를 들어, 소마토스타틴), 이들의 약학적으로 허용 가능한 유도체, 및 유사체, 염, 수화물 및 용매화합물을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 진경제의 예로는, 캐리소프로돌, 벤조디아제핀, 바클로펜, 시클로벤자프린, 메타살론, 메토카르바몰, 클로니딘, 클로니딘 아날로그 및 단트롤렌을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. PDE 5 억제제의 예로는, 타다라필, 실데나필 및 바르데나필을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0101]

일부 구현예에서, 본 약학적 조성물은 1 종 이상의 진통제를 포함한다. 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 (1) 1 종 이상의 진통제 및 (2) 항 무스카린제, 항이뇨제, 진경제 및 PDE 5 억제제로 이루어진 군으로부터 선택되는 1 종 이상의 다른 유효 성분을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 (1) 1 종 이상의 진통제 및 (2) 1 종 이상의 항무스카린제를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 (1) 1 종 이상의 진통제 및 (2) 1 종 이상의 항이뇨제를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 (1) 1 종 이상의 진통제 및 (2) 1 종 이상의 진경제를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 (1) 1 종 이상의 진통제, 및 (2) 1 종 이상의 PDE 5 억제제를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 (1) 1 종 또는 2 종의 진통제, (2) 1 종 또는 2 종의 항무스카린제, 및 (3) 1 종 또는 2 종의 항이뇨제를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 (1) 1 종 또는 2 종의 진통제, (2) 1 종 또는 2 종의 항무스카린제, 및 (3) 1 종 또는 2 종의 진경제를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 (1) 1 종 또는 2 종의 진통제, (2) 1 종 또는 2 종의 항무스카린제, 및 (3) 1 종 또는 2 종의 PDE 5 억제제를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 (1) 1 종 이상의 진통제, (2) 1 종 이상의 항이뇨제, 및 (3) 1 종 이상의 진경제를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 (1) 1 종 이상의 진통제, (2) 1 종 이상의 항이뇨제, 및 (3) 1 종 이상의 PDE 5 억제제를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 (1) 1 종 이상의 진통제, (2) 1 종 이상의 진경제, 및 (3) 1 종 이상의 PDE 5 억제제를 포함한다.

[0102]

일 구현예에서, 본 다수의 유효 성분들은 속방형으로 제형화된다. 다른 구현예에서, 본 다수의 유효 성분들은 연장-방출형으로 제형화된다. 또 다른 구현예에서, 본 다수의 유효 성분들은 속방형 및 연장-방출형 모두로 제형화된다(예를 들어, 각 유효 성분의 제1 부분은 속방형으로 제형화되고, 각 유효 성분의 제2 부분은 연장-방출형으로 제형화된다). 또 다른 구현예에서, 다수의 유효 성분의 일부는 속방형으로 제형화되고, 다수의 유효 성분의 일부는 연장-방출형으로 제형화된다(예컨대, 유효 성분 A, B, C가 속방형으로 제형화되고, 유효 성분 C와 D는 연장-방출형으로 제형화된다). 또 다른 구현예에서, 속방형 성분 및/또는 연장-방출형 성분은 장용성 코팅과 같은 서방형 코팅으로 추가적으로 코팅된다.

[0103]

특정 구현예에서, 본 약학적 조성물은 속방형 성분 및 연장-방출형 성분을 포함한다. 상기 속방형 성분은 진통제, 항무스카린제, 항이뇨제, 진경제 및 PDE 5 억제제로 이루어진 군으로부터 선택된 1 종 이상의 유효 성분들을 포함할 수 있다. 상기 연장-방출형 성분은 진통제, 항무스카린제, 항이뇨제, 진경제, PDE 5 억제제 및 졸피뎀으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 종 이상의 유효 성분들을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 속방형 성분 및 상기 연장-방출형 성분은 정확하게 동일한 유효 성분을 갖는다. 다른 실시예에서, 상기 속방형 성분 및 상기 연장-방출형 성분은 상이한 유효 성분을 갖는다. 또 다른 실시예에서, 상기 속방형 성분 및 상기 연장-방출형 성분은 1 종 이상의 공통 유효 성분을 갖는다. 일부 다른 구현예에서, 속방형 성분 및/또는 연장-방출형 성분은 장용성 코팅과 같은 서방형 코팅으로 추가적으로 코팅된다.

[0104]

일 구현예에서, 본 약학적 조성물은 거의 동시에 즉시 방출되도록 제형화된 2 종 이상의 유효 성분(예를 들면, 2 종 이상의 진통제, 또는 1 종 이상의 진통제와 1 종 이상의 항무스카린제 또는 항이뇨제 또는 진경제 또는 PDE 5 억제제의 혼합물)을 포함한다. 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 거의 동시에 연장-방출되도록 제형화된 2 종 이상의 유효 성분을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 각각 상이한 연장-방출형 프로파일을 제공하는 2 종의 연장-방출형으로 제형화된 2 종 이상의 유효 성분들을 포함한다. 예를 들어, 제1 연장-방출형 성분은 제1 방출 속도로 제1 유효 성분을 방출하고, 제2 연장-방출형 성분은 제2 방출 속도로 제2 유효 성분을 방출한다. 다른 실시형태에서, 본 약학적 조성물은 서방형으로 모두 제조된 2 종 이상의 유효 성분을 포함한다.

[0105]

다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 서방형으로 제조된 2 종 이상의 유효 성분을 포함한다. 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 각각 상이한 서방형 프로파일을 제공하는 2 종의 서방형 성분으로 제조된 2 종 이상의 유효 성분을 포함한다. 예를 들어, 제 1 서방형 성분은 제 1 시점에서 제 1 유효 성분을 방출하고, 제

2 서방형 성분은 제 2 시점에서 제 2 유효 성분을 방출한다.

[0106] 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 속방형으로 제형화된 2 종의 유효 성분(예를 들면, 2 종의 진통제, 또는 1 종의 진통제와 1 종의 항무스카린제 또는 항이노제 또는 진경제 또는 PDE 5 억제제 또는 졸피뎀의 혼합물), 및 (2) 연장-방출형으로 제형화된 2 종의 유효 성분(예를 들면, 2 종의 진통제, 또는 1 종의 진통제와 1 종의 항무스카린제 또는 항이노제 또는 진경제 또는 PDE 5 억제제의 혼합물)을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 속방형으로 제형화된 3 종의 유효 성분, 및 (2) 연장-방출형으로 제형화된 3 종의 유효 성분을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 속방형으로 제형화된 4 종의 유효 성분, 및 (2) 연장-방출형으로 제형화된 4 종의 유효 성분을 포함한다. 이들 구현예에서, 상기 속방형 성분 내 유효 성분(들)은 상기 연장-방출형 성분 내 유효 성분(들)과 동일하거나, 서로 상이할 수 있다. 일부 다른 구현예에서, 상기 속방형 성분 및/또는 상기 연장-방출형 성분은 장용성 코팅과 같은 서방형 코팅으로 추가적으로 코팅된다.

[0107] 일부 구현예에서, 본 약학적 조성물은 1 종 이상의 진통제 및 PDE 5 억제제를 포함하고, 1 종 이상의 진통제는 서방형으로 제형화되고, PDE 5 억제제는 속방형으로 제형화된다. 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 진통제, 항무스카린제, 항이노제, 진경제, PDE 5 억제제 및 졸피뎀으로 이루어진 군에서 선택된 1 종의 추가 제제를 추가적으로 포함하고, 상기 추가 제제는 속방형 또는 서방형으로 제형화된다. 일부 구현예에서, 서방형 제형은 1 시간, 2 시간, 3 시간, 4 시간, 또는 5 시간의 기간 동안 유효 성분(예컨대, 진통제, 항무스카린제, 항이노제, 진경제, 졸피뎀 및/또는 PDE 5 억제제)의 방출을 지연시킨다.

[0108] 속방형 조성물은 단일 단위 투여량으로 투여되는 유효 성분의 전체 투여량의 100%를 포함할 수 있다. 택일적으로, 속방형 성분은 약학적 제형에 의해 전달되도록 유효 성분(들)의 전체 투여량의 약 1% 내지 약 60%를 제공할 수 있는 조합된 방출 프로파일 제형의 성분으로서 포함될 수 있다. 예를 들어, 속방형 성분은 제형에 의해 전달되도록 유효 성분(들)의 전체 투여량의 약 5%-60%, 약 10% 내지 약 60%, 약 10% 내지 약 50%, 약 10% 내지 약 40%, 약 10% 내지 약 30%, 약 10% 내지 약 20%, 약 20% 내지 약 60%, 약 20% 내지 약 50%, 약 20% 내지 약 30%, 약 30% 내지 약 60%, 약 30% 내지 약 50%, 약 40% 내지 약 60%, 약 40% 내지 약 50%, 약 45% 내지 약 60% 또는 약 45% 내지 약 50%를 제공할 수 있다. 택일적 구현예에서, 속방형 성분은 제형에 의해 전달되도록 유효 성분(들)의 전체 투여량의 약 2, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 또는 60%를 제공한다.

[0109] 일부 구현예에서, 속방형 또는 서방형 제제는 1 종 이상의 불활성 입자로 구성된 활성 코어를 포함하며, 이는 당업자에게 공지된 기술 또는 다른 방법들을 이용하여 약물-함유 필름-형성 조성물과 같은 형태의 약물로 표면을 코팅한 각각의 비드, 펠렛, 알약, 과립형 입자, 마이크로캡슐, 마이크로스피어, 미립제(microgranule), 나노캡슐 또는 나노스피어의 형태이다. 상기 불활성 입자는 저조한 용해가 유지될 정도로 충분히 큰 상태인 한, 다양한 크기일 수 있다. 택일적으로, 상기 활성 코어는 약물 성분을 함유하는 중합체 조성물의 과립화 및 밀링 및/또는 압출 및 구형화에 의해 제조될 수 있다.

[0110] 코어 내 약물의 양은 요구되는 투여량에 의존적일 수 있고, 전형적으로 약 5-90 중량%로 다양하다. 일반적으로, 활성 코어 상의 중합체 코팅은 요구되는 지연 시간 및 방출 프로파일 유형 및/또는 선택된 중합체 및 코팅 용매의 종류에 따라, 코팅된 입자의 중량을 기준으로 약 1 내지 50 %의 범위일 수 있다. 당업자는 코어 상에 코팅 또는 코어 내로 포함시키기 위한 약물의 적합한 양을 선택하여 원하는 투여량을 달성할 수 있다. 일부 구현예에서, 비활성 코어는 슈가스페어 또는 버퍼 결정 또는 탄산 칼슘, 중탄산 나트륨, 푸마르산, 타르타르산 등의 캡슐화된 버퍼 결정일 수 있고, 이는 그것의 방출을 촉진하는 약물의 미세 환경을 변경시킨다.

[0111] 일부 구현예에서, 서방형 제제는 비드와 같은 수용성/분산성 약물-함유 입자와 불수용성 중합체 및 장용성 중합체의 혼합물로 코팅하여 형성되며, 상기 불수용성 중합체 및 장용성 중합체는 4:1 내지 1:1의 중량비로 존재할 수 있고, 상기 코팅의 총 중량은 코팅된 비드의 총 중량을 기준으로 하여 10 내지 60 중량%이다. 비드 약물층은 선택적으로 에틸 셀룰로오스의 내부 용해 속도 조절 막을 포함할 수 있다. 중합체 막의 내층과 외층의 각각의 중량뿐만 아니라 외층의 조성물은 원하는 주기 리듬 방출 프로파일을 달성하기 위해 최적화시키고, 이는 $\ln \text{비드}/\ln \text{비드}$ 상관관계를 기반으로 하여 예측된다.

[0112] 다른 구현예에서, 본 제제는 용해 속도 조절 중합체(dissolution rate-controlling polymer) 막이 없는 속방형 약물-함유 입자와 예컨대, 경구 투여 후 2-4 시간의 지연 시간을 나타내는 지연-연장-방출형 서방형 비드의 혼합물을 포함하고, 이에 따라 두 가지-펄스 방출 프로파일을 제공한다. 또 다른 구현예에서, 본 제제는 두 가지 유형의 서방형 비드의 혼합물을 포함한다: 1-3시간의 지연 시간을 나타내는 제1형 및 4-6 시간의 지연 시간을 나타내는 제2형. 또 다른 구현예에서, 본 제제는 두 가지 유형의 방출 비드의 혼합물을 포함한다: 속방형을 나타내는 제1형 및 1-4 시간의 지연 시간 후 연장-방출형을 나타내는 제2형.

- [0113] 다른 구현예에서, 상기 제형은 약물의 일부(예컨대, 20% 내지 60%)는 투여 후 2 시간 이내에 방출되고, 나머지는 연장 기간 동안 방출되는 방출 프로파일로 설계된다. 본 약학적 조성물은 일일 투여하거나 필요에 따라 투여할 수 있다. 특정 구현예에서, 본 약학적 조성물은 취침전에 대상에게 투여된다. 일부 구현예에서, 본 약제학적 조성물은 취침 직전에 투여된다. 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 취침전 약 2 시간 이내에, 바람직하게는 취침전 약 1 시간 이내에 투여된다. 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 취침 약 2 시간 전에 투여된다. 추가적인 구현예에서, 본 약학적 조성물은 취침 최소 2 시간전에 투여된다. 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 취침 약 1 시간전에 투여된다. 추가적인 구현예에서, 본 약제적 조성물은 취침 최소 1 시간전에 투여된다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 취침 직전에 투여된다. 바람직하게는, 본 약학적 조성물은 경구 투여된다.
- [0114] 속방형-성분, 연장-방출형 성분, 서방형 성분 또는 지연-연장-방출형 성분 내 활성제(들)의 적합한 용량("치료학적 유효량")은, 예컨대, 상태의 심각도 및 단계, 투여 방식, 특정 제제(들)의 생체이용률, 환자의 나이 및 체중, 환자의 임상 병력 및 활성제(들) 반응, 의사의 판단 등에 따라 달라질 수 있다.
- [0115] 일반적으로 제안된 바와 같이, 속방형 성분, 연장-방출형 또는 지연-연장-방출형 성분 내 유효 성분의 치료학적 유효량은 하나를 투여하든 그 이상을 투여하든 약 10 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 100 mg/kg 체중/일의 범위로 투여된다. 일부 구현예에서, 단일 투여량 또는 다중 투여량으로 매일 투여되는 각 유효 성분의 범위는 약 10 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 100 mg/kg 체중/일, 10 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 30 mg/kg 체중/일, 10 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 1 mg/kg 체중/일, 10 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 3 mg/kg 체중/일, 10 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 1 mg/kg 체중/일, 10 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 300 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일, 10 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 100 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일, 10 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 30 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일, 30 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 100 mg/kg 체중/일, 30 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 30 mg/kg 체중/일, 30 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 10 mg/kg 체중/일, 30 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 3 mg/kg 체중/일, 30 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 1 mg/kg 체중/일, 30 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 300 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일, 30 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 100 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일, 100 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 100 mg/kg 체중/일, 100 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 30 mg/kg 체중/일, 100 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 10 mg/kg 체중/일, 100 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 3 mg/kg 체중/일, 100 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 1 mg/kg 체중/일, 100 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 300 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일, 300 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 100 mg/kg 체중/일, 300 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 30 mg/kg 체중/일, 300 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 10 mg/kg 체중/일, 300 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 3 mg/kg 체중/일, 300 $\mu\text{g/kg}$ 체중/일 내지 약 1 mg/kg 체중/일, 1 mg/kg 체중/일 내지 약 100 mg/kg 체중/일, 1 mg/kg 체중/일 내지 약 30 mg/kg 체중/일, 1 mg/kg 체중/일 내지 약 10 mg/kg 체중/일, 1 mg/kg 체중/일 내지 약 3 mg/kg 체중/일, 3 mg/kg 체중/일 내지 약 100 mg/kg 체중/일, 3 mg/kg 체중/일 내지 약 30 mg/kg 체중/일, 3 mg/kg 체중/일 내지 약 10 mg/kg 체중/일, 10 mg/kg 체중/일 내지 약 100 mg/kg 체중/일, 10 mg/kg 체중/일 내지 약 30 mg/kg 체중/일 또는 30 mg/kg 체중/일 내지 약 100 mg/kg 체중/일이다.
- [0116] 본 명세서에 기재된 진통제(들)은 속방형 성분 또는 연장-방출형 성분 또는 지연-연장-방출형 또는 이들의 조합에, 1 mg 내지 2000 mg, 1 mg 내지 1000 mg, 1 mg 내지 300 mg, 1 mg 내지 100 mg, 1 mg 내지 30 mg, 1 mg 내지 10 mg, 1 mg 내지 3 mg, 3 mg 내지 2000 mg, 3 mg 내지 1000 mg, 3 mg 내지 300 mg, 3 mg 내지 100 mg, 3 mg 내지 30 mg, 3 mg 내지 10 mg, 10 mg 내지 2000 mg, 10 mg 내지 1000 mg, 10 mg 내지 300 mg, 10 mg 내지 100 mg, 10 mg 내지 30 mg, 30 mg 내지 2000 mg, 30 mg 내지 1000 mg, 30 mg 내지 300 mg, 30 mg 내지 100 mg, 100 mg 내지 2000 mg, 100 mg 내지 1000 mg, 100 mg 내지 300 mg, 300 mg 내지 2000 mg, 300 mg 내지 1000 mg 또는 1000 mg 내지 2000 mg의 범위의 단일 투여량 또는 조합된 투여량으로 매일 경구 투여용으로 포함될 수 있다. 예상한 바와 같이, 투여량은 환자의 상태, 크기, 및 연령에 따라 달라질 수 있다.
- [0117] 일부 구현예에서, 본 약학적 조성물은 단일 진통제를 포함한다. 일 구현예에서, 단일 진통제는 아스피린이다. 다른 구현예에서, 단일 진통제는 이부프로펜이다. 또 다른 구현예에서, 단일 진통제는 나프록센 또는 나프록센 소디움이다. 또 다른 구현예에서, 단일 진통제는 인도메타신이다. 또 다른 구현예에서, 단일 진통제는 나부메톤이다. 또 다른 구현예에서, 단일 진통제는 아세트아미노펜이다.
- [0118] 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 한 쌍의 진통제를 포함한다. 이러한 한 쌍의 진통제의 예로는, 아세틸살리실산과 이부프로펜, 아세틸살리실산과 나프록센 소디움, 아세틸살리실산과 나부메톤, 아세틸살리실산과 아세트아미노펜, 아세틸살리실산과 인도메타신, 이부프로펜과 나프록센 소디움, 이부프로펜과 나부메톤, 이부프로펜과 아세트아미노펜, 이부프로펜과 인도메타신, 나프록센, 나프록센 소디움과 나부메톤, 나프록센 소디움과 아세트아미노펜, 나프록센 소디움과 인도메타신, 나부메톤과 아세트아미노펜, 나부메톤과 인도메타신, 및 아세트아미노펜과 인도메타신을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 한 쌍의 진통제는 0.1:1 내지 10:1, 0.2:1 내지 5:1

또는 0.3:1 내지 3:1범위의 중량비로 혼합된다. 일 구현예에서, 상기 한 쌍의 진통제는 1:1 범위의 중량비로 혼합된다.

[0119]

일부 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 1 종 이상의 항무스카린제를 포함한다. 상기 항무스카린제의 예로는, 옥시부티닌, 졸리페나신, 다리페나신, 페조테로딘, 톨테로딘, 트로스피움, 아트로핀 및 삼환계 항우울제(tricyclic antidepressants)를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 항무스카린제의 일일 용량은 1 μ g 내지 300 mg, 1 μ g 내지 100 mg, 1 μ g 내지 30 mg; 1 μ g 내지 10 mg, 1 μ g 내지 3 mg, 1 μ g 내지 1 mg, 1 μ g 내지 300 μ g, 1 μ g 내지 100 μ g, 1 μ g 내지 30 μ g, 1 μ g 내지 10 μ g, 1 μ g 내지 3 μ g, 3 μ g 내지 100 mg, 3 μ g 내지 100 mg, 3 μ g 내지 30 mg; 3 μ g 내지 10 mg, 3 μ g 내지 3 mg, 3 μ g 내지 1 mg, 3 μ g 내지 300 μ g, 3 μ g 내지 100 μ g, 3 μ g 내지 30 μ g, 3 μ g 내지 10 μ g, 10 μ g 내지 300 mg, 10 μ g 내지 100 mg, 10 μ g 내지 30 mg; 10 μ g 내지 10 mg, 10 μ g 내지 3 mg, 10 μ g 내지 1 mg, 10 μ g 내지 300 μ g, 10 μ g 내지 100 μ g, 10 μ g 내지 30 μ g, 30 μ g 내지 300 mg, 30 μ g 내지 100 mg, 30 μ g 내지 30 mg; 30 μ g 내지 10 mg, 30 μ g 내지 3 mg, 30 μ g 내지 1 mg, 30 μ g 내지 300 μ g, 30 μ g 내지 100 μ g, 30 μ g 내지 100 μ g, 100 μ g 내지 300 mg, 100 μ g 내지 100 mg, 100 μ g 내지 30 mg; 100 μ g 내지 10 mg, 100 μ g 내지 3 mg, 100 μ g 내지 1 mg, 100 μ g 내지 300 μ g, 300 μ g 내지 300 mg, 300 μ g 내지 100 mg, 300 μ g 내지 30 mg; 300 μ g 내지 10 mg, 300 μ g 내지 3 mg, 300 μ g 내지 1 mg, 1 mg 내지 300 mg, 1 mg 내지 100 mg, 1 mg 내지 30 mg, 1 mg 내지 3 mg, 3 mg 내지 300 mg, 3 mg 내지 100 mg, 3 mg 내지 30 mg, 3 mg 내지 10 mg, 10 mg 내지 300 mg, 10 mg 내지 100 mg, 10 mg 내지 30 mg, 30 mg 내지 300 mg, 30 mg 내지 100 mg 또는 100 mg 내지 300 mg의 범위이다.

[0120]

일부 다른 구현예에서, 본 발명의 약학적 조성물은 1 종 이상의 항이노제를 추가적으로 포함한다. 항이노제의 예는 항이노 호르몬(ADH), 엔지오텐신 II, 알도스테론, 바소프레신, 바소프레신 유사체(예를 들어, 데스모프레신, 아르기프레신, 라이프레신, 펠리프레신, 오르니프레신, 테를리프레신); 바소프레신 수용체 작용제, 심방성 나트륨이노 펩타이드(ANP) 및 C형 나트륨이노 펩타이드(CNP) 수용체(즉, NPR1, NPR2, 및 NPR3) 길항제(예를 들어, HS-142-1, 이사틴, [Asu7,23']b-ANP-(7-28)], 아난틴, 스트렙토마이세스 해파리로부터의 고리형 펩타이드, 및 3G12 단일클론 항체); 소마토스타틴 제 2 형 수용체 길항제(예를 들어, 소마토스타틴), 이들의 약학적으로 허용 가능한 유도체, 및 유사체, 염, 수화물 및 용매화합물을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 일부 구현예에서, 상기 1 종 이상의 항이노제는 데스모프레신을 포함한다. 다른 구현예에서, 상기 1 종 이상의 항이노제는 데스모프레신이다. 항이노제의 일일 용량은 1 μ g 내지 300 mg, 1 μ g 내지 100 mg, 1 μ g 내지 30 mg; 1 μ g 내지 10 mg, 1 μ g 내지 3 mg, 1 μ g 내지 1 mg, 1 μ g 내지 300 μ g, 1 μ g 내지 100 μ g, 1 μ g 내지 30 μ g, 1 μ g 내지 10 μ g, 1 μ g 내지 3 μ g, 3 μ g 내지 100 mg, 3 μ g 내지 100 mg, 3 μ g 내지 30 mg; 3 μ g 내지 10 mg, 3 μ g 내지 3 mg, 3 μ g 내지 1 mg, 3 μ g 내지 300 μ g, 3 μ g 내지 100 μ g, 3 μ g 내지 30 μ g, 3 μ g 내지 10 μ g, 10 μ g 내지 300 mg, 10 μ g 내지 100 mg, 10 μ g 내지 30 mg; 10 μ g 내지 10 mg, 10 μ g 내지 3 mg, 10 μ g 내지 1 mg, 10 μ g 내지 300 μ g, 10 μ g 내지 100 μ g, 10 μ g 내지 30 μ g, 30 μ g 내지 300 mg, 30 μ g 내지 100 mg, 30 μ g 내지 30 mg; 30 μ g 내지 10 mg, 30 μ g 내지 3 mg, 30 μ g 내지 1 mg, 30 μ g 내지 300 μ g, 30 μ g 내지 100 μ g, 100 μ g 내지 300 mg, 100 μ g 내지 100 mg, 100 μ g 내지 30 mg; 100 μ g 내지 10 mg, 100 μ g 내지 3 mg, 100 μ g 내지 1 mg, 100 μ g 내지 300 μ g, 300 μ g 내지 300 mg, 300 μ g 내지 100 mg, 300 μ g 내지 30 mg, 300 μ g 내지 1 mg, 1 mg 내지 300 mg, 1 mg 내지 100 mg, 1 mg 내지 30 mg, 1 mg 내지 3 mg, 3 mg 내지 300 mg, 3 mg 내지 100 mg, 3 mg 내지 30 mg, 3 mg 내지 10 mg, 10 mg 내지 300 mg, 10 mg 내지 100 mg, 10 mg 내지 30 mg, 30 mg 내지 300 mg, 30 mg 내지 100 mg 또는 100 mg 내지 300 mg의 범위이다.

[0121]

다른 구현예에서, 본 발명의 약학적 조성물은 1 종 이상의 진경제를 추가적으로 포함한다. 진경제의 예로는, 캐리소프로돌, 벤조디아제핀, 바클로펜, 시클로벤자프린, 메탁살론, 메토카르바몰, 클로니딘, 클로니딘 아날로그 및 단트롤렌을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 진경제는 0.1 mg 내지 1000 mg, 0.1 mg 내지 300 mg, 0.1 mg 내지 100 mg, 0.1 mg 내지 30 mg, 0.1 mg 내지 10 mg, 0.1 mg 내지 3 mg, 0.1 mg 내지 1 mg, 0.1 mg 내지 0.3 mg, 0.3 mg 내지 1000 mg, 0.3 mg 내지 300 mg, 0.3 mg 내지 100 mg, 0.3 mg 내지 30 mg, 0.3 mg 내지 10 mg, 0.3 mg 내지 3 mg, 0.3 mg 내지 1 mg, 1 mg 내지 1000 mg, 1 mg 내지 300 mg, 1 mg 내지 100 mg, 1 mg 내지 30 mg, 1 mg 내지 10 mg, 1 mg 내지 3 mg, 3 mg 내지 1000 mg, 3 mg 내지 300 mg, 3 mg 내지 100 mg, 3 mg 내지 30 mg, 3 mg 내지 10 mg, 10 mg 내지 1000 mg, 10 mg 내지 300 mg, 10 mg 내지 100 mg, 10 mg 내지 30 mg, 30 mg 내지 1000 mg, 30 mg 내지 300 mg, 30 mg 내지 100 mg, 100 mg 내지 1000 mg, 100 mg 내지 300 mg, 또는 300 mg 내지 1000 mg의 일일 용량으로 이용된다.

[0122]

다른 구현예에서, 본 발명의 약학적 조성물은 1 종 이상의 PDE 5 억제제를 추가적으로 포함한다. PDE 5 억제제의 예로는, 타다라필, 실데나필 및 바르데나필을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 상기 1 종

이상의 PDE 5 억제제는 타다라필을 포함한다. 다른 구현예에서, 상기 1 종 이상의 PDE 5 억제제는 타다라필이다. 일부 구현예에서, 상기 PDE 5 억제제는 0.1 mg 내지 1000 mg, 0.1 mg 내지 300 mg, 0.1 mg 내지 100 mg, 0.1 mg 내지 30 mg, 0.1 mg 내지 10 mg, 0.1 mg 내지 3 mg, 0.1 mg 내지 1 mg, 0.1 mg 내지 0.3 mg, 0.3 mg 내지 1000 mg, 0.3 mg 내지 300 mg, 0.3 mg 내지 100 mg, 0.3 mg 내지 30 mg, 0.3 mg 내지 10 mg, 0.3 mg 내지 3 mg, 0.3 mg 내지 1 mg, 1 mg 내지 1000 mg, 1 mg 내지 300 mg, 1 mg 내지 100 mg, 1 mg 내지 30 mg, 1 mg 내지 10 mg, 1 mg 내지 3 mg, 3 mg 내지 1000 mg, 3 mg 내지 300 mg, 3 mg 내지 100 mg, 3 mg 내지 30 mg, 3 mg 내지 10 mg, 10 mg 내지 1000 mg, 10 mg 내지 300 mg, 10 mg 내지 100 mg, 10 mg 내지 30 mg, 30 mg 내지 1000 mg, 30 mg 내지 300 mg, 30 mg 내지 100 mg, 100 mg 내지 1000 mg, 100 mg 내지 300 mg, 또는 300 mg 내지 1000 mg의 일일 용량으로 이용된다.

[0123] 다른 구현예에서, 본 발명의 약학적 조성물은 졸피렘을 추가적으로 포함한다. 졸피렘의 일일 용량은 100 μ g 내지 100 mg, 100 μ g 내지 30 mg, 100 μ g 내지 10 mg, 100 μ g 내지 3 mg, 100 μ g 내지 1 mg, 100 μ g 내지 300 μ g, 300 μ g 내지 100 mg, 300 μ g 내지 30 mg, 300 μ g 내지 10 mg, 300 μ g 내지 3 mg, 300 μ g 내지 1 mg, 1 mg 내지 100 mg, 1 mg 내지 30 mg, 1 mg 내지 10 mg, 1 mg 내지 3 mg, 10 mg 내지 100 mg, 10 mg 내지 30 mg, 또는 30 mg 내지 100 mg의 범위이다.

[0124] 항무스카린제, 항이뇨제, 진경제, 졸피렘 및/또는 PDE 5 억제제는 속방형, 연장-방출형, 서방형, 지연-연장-방출형 또는 이들의 조합으로 본 약학적 조성물 내에 단독 또는 다른 유효 성분(들)과 함께 제형화될 수 있다.

[0125] 특정 구현예에서, 본 약학적 조성물은 연장-방출형 제제로 제형화되고, (1) 아세틸살리실산, 이부프로펜, 나프록센, 나프록센 소듐염, 나부메톤, 아세트아미노펜, 및 인도메타신으로 이루어진 군으로부터 선택된 진통제 및 (2) 타다라필과 같은 PDE 5 억제제를 포함한다.

[0126] 본 약학적 조성물은 정제, 캡슐, 당의정, 분말, 과립, 액체, 젤 또는 에멀전 형태로 제형화될 수 있다. 상기 액체, 젤 또는 에멀전은 네이키드 형태 또는 캡슐 내 포함되어 대상에게 섭취될 수 있다.

[0127] 일부 구현예에서, 본 약학적 조성물은 단일 진통제 및 단일 PDE 5 억제제를 포함한다. 일 구현예에서, 단일 진통제는 아스피린이다. 다른 구현예에서, 단일 진통제는 이부프로펜이다. 또 다른 구현예에서, 단일 진통제는 나프록센 또는 나프록센 소듐염이다. 또 다른 구현예에서, 단일 진통제는 인도메타신이다. 또 다른 구현예에서, 단일 진통제는 나부메톤이다. 또 다른 구현예에서, 단일 진통제는 아세트아미노펜이다. 또 다른 구현예에서, 단일 PDE 5 억제제는 타다라필이다. 상기 진통제 및 PDE 5 억제제는 상술한 범위에서 투여량을 정할 수 있다.

[0128] 일부 구현예에서, 본 약학적 조성물은 1 종 이상의 진통제를 10-1000 mg, 10-800 mg, 10-600 mg, 10-500 mg, 10-400 mg, 10-300 mg, 10-250 mg, 10-200 mg, 10-150 mg, 10-100 mg 30-1000 mg, 30-800 mg, 30-600 mg, 30-500 mg, 30-400 mg, 30-300 mg, 30-250 mg, 30-200 mg, 30-150 mg, 30-100 mg, 100-1000 mg, 100-800 mg, 100-600 mg, 100-400 mg, 100-250 mg, 300-1000 mg, 300-800 mg, 300-600 mg, 300-400 mg, 400-1000 mg, 400-800 mg, 400-600 mg, 600-1000 mg, 600-800 mg 또는 800-1000 mg 사이의 양으로 개별적으로 또는 조합으로 포함하고, 상기 조성물은 1 종 이상의 진통제가 2-12 시간 또는 5-8 시간의 기간에 걸쳐서 지속적으로 방출되는 방출 프로파일을 갖는 연장 방출형으로 제형화된다.

[0129] 일부 구현예에서, 상기 조성물은 1 종 이상의 진통제의 최소 90%는 2-12 시간 또는 5-8 시간의 기간에 걸쳐서 지속적으로 방출되는 방출 프로파일을 갖는 연장 방출형으로 제형화된다.

[0130] 일부 구현예에서, 상기 조성물은 상기 1 종 이상의 진통제가 5 시간, 6 시간, 7 시간, 8 시간, 10 시간 또는 12 시간의 기간에 걸쳐서 지속적으로 방출되는 방출 프로파일을 갖는 연장 방출형으로 제형화된다. 일부 구현예에서, 상기 약학적 조성물은 항무스카린제, 항이뇨제, 진경제, 졸피렘 또는 PDE 5 억제제를 추가적으로 포함한다.

[0131] 다른 구현예에서, 상기 조성물은 진통제가 2-12 시간 또는 5-8 시간의 기간에 걸쳐서 일정한 속도로 방출되는 방출 프로파일을 갖는 연장 방출형으로 제형화된다. 다른 구현예에서, 상기 조성물은 진통제가 5 시간, 6 시간, 7 시간, 8 시간, 10 시간 또는 12 시간의 기간에 걸쳐서 일정한 속도로 방출되는 방출 프로파일을 갖는 연장 방출형으로 제형화된다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "시간의 기간에 걸쳐서 일정한 속도"는 시간의 주어진 기간 동안 모든 지점에서의 방출 속도가 해당 시간의 주어진 기간에 걸쳐서 평균 방출 속도의 30% 내지 300% 이내인 방출 프로파일로서 정의된다. 예를 들어, 80 mg의 아스피린이 8 시간의 기간에 걸쳐서 일정한 속도로 방출되면, 평균 방출 속도는 이 시간의 기간 동안 10 mg/hr이고, 이 기간 동안 언제라도 실제 방출 속도는 3 mg/hr 내지 30 mg/hr의 범위 이내(즉, 8 시간 기간 동안 10 mg/hr의 평균 방출 속도의 30% 내지 300% 이내)이다. 일부 구현예에서, 상기 조성물은 항무스카린제, 항이뇨제, 진경제, 졸피렘 또는 PDE 5 억제제를 추가적으로

로 포함한다.

- [0132] 일부 구현예에서, 상기 진통제는 아스피린, 이부프로펜, 나프록센 나트륨, 나프록센, 인도메타신, 나부메톤 및 아세트아미노펜으로 이루어진 군에서 선택된다. 일 구현예에서, 상기 진통제는 아세트아미노펜이다. 상기 약학적 조성물은, 단일 투여량에서의 약물의 총량이 속방형 제형에 비해 감소되도록, 혈액에서 유효 약물 농도를 유지하기 위해 소량의 진통제의 일정한 방출을 제공하기 위해 제형화된다.
- [0133] 일부 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 1 종 이상의 진통제를 10-1000 mg, 10-800 mg, 10-600 mg, 10-500 mg, 10-400 mg, 10-300 mg, 10-250 mg, 10-200 mg, 10-150 mg, 10-100 mg 30-1000 mg, 30-800 mg, 30-600 mg, 30-500 mg, 30-400 mg, 30-300 mg, 30-250 mg, 30-200 mg, 30-150 mg, 30-100 mg, 100-1000 mg, 100-800 mg, 100-600 mg, 100-400 mg, 100-250 mg, 300-1000 mg, 300-800 mg, 300-600 mg, 300-400 mg, 400-1000 mg, 400-800 mg, 400-600 mg, 600-1000 mg, 600-800 mg 또는 800-1000 mg 사이의 양으로 개별적으로 또는 조합으로 포함하고, 상기 진통제(들)은 진통제(들)의 20% 내지 60%는 투여 후 2 시간 이내에 방출되고, 나머지는 2-12 시간 또는 5-8 시간의 기간에 걸쳐서 지속적으로 또는 일정한 속도로 방출되는 2 단계 방출 프로파일로 특징지어지는 연장 방출형으로 제형화된다. 또 다른 구현예에서, 상기 진통제(들)은 진통제(들)의 20%, 30%, 40%, 50% 또는 60%는 투여 후 2 시간 이내에 방출되고, 나머지는 2-12 시간 또는 5-8 시간의 기간에 걸쳐서 지속적으로 또는 일정한 속도로 방출되는 2 단계 방출 프로파일을 갖는 연장 방출형으로 제형화된다. 일 구현예에서, 상기 진통제(들)은 아스피린, 이부프로펜, 나프록센 나트륨, 나프록센, 인도메타신, 나부메톤 및 아세트아미노펜으로 이루어진 군에서 선택된다. 일 구현예에서, 상기 진통제는 아세트아미노펜이다. 다른 구현예에서, 상기 진통제는 아세트아미노펜이다. 일부 구현예에서, 본 약학적 조성물은 항무스카린제, 항이뇨제, 진경제, 졸피뎀 및/또는 PDE 5 억제제를 추가적으로 포함한다. 일부 구현예에서, 항무스카린제, 항이뇨제, 진경제, 졸피뎀 및/또는 PDE 5 억제제는 속방형 제제로 제형화된다.
- [0134] 본 발명의 다른 양태는 약물 내성의 진행을 방지하는 2 종 이상의 진통제를 택일적으로 대상(subject)에게 투여하여 배뇨 빈도를 감소시키는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 상기 방법은 제1 기간 동안 제1 진통제를 투여한 후 제2 기간 동안 제2 진통제를 투여하는 것을 포함한다. 다른 구현예에서, 상기 방법은 제3 기간 동안 제3 진통제를 투여하는 것을 추가적으로 포함한다. 제1, 제2 및 제3 진통제는 서로 상이하며, 이들 중 최소 하나는 연장-방출형 또는 지연, 연장-방출형으로 제형화된다. 일 구현예에서, 상기 제1 진통제는 아세트아미노펜이며, 상기 제2 진통제는 이부프로펜이고, 상기 제3 진통제는 나프록센 소디움이다. 각 기간의 길이는 각각의 진통제에 대한 대상의 반응에 따라 달라질 수 있다. 일부 구현예에서, 각각의 기간은 3 일 내지 3 주 동안 지속된다. 또 다른 구현예에서, 제1, 제2 및 제3 진통제 모두는 연장-방출형 또는 지연, 연장-방출형으로 제형화된다.
- [0135] 본 발명의 다른 양태는 약물 내성의 진행을 방지하는 2 종 이상의 진통제를 택일적으로 대상(subject)에게 투여하여 배뇨 빈도를 감소시키는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 상기 방법은 제1 기간 동안 제1 진통제를 투여한 후 제2 기간 동안 제2 진통제를 투여하는 것을 포함한다. 다른 구현예에서, 상기 방법은 제3 기간 동안 제3 진통제를 투여하는 것을 추가적으로 포함한다. 제1, 제2 및 제3 진통제는 서로 상이하며, 이들 중 최소 하나는 연장-방출형 또는 지연, 연장-방출형으로 제형화된다. 일 구현예에서, 상기 제1 진통제는 아세트아미노펜이며, 상기 제2 진통제는 이부프로펜이고, 상기 제3 진통제는 나프록센 소디움이다. 각 기간의 길이는 각각의 진통제에 대한 대상의 반응에 따라 달라질 수 있다. 일부 구현예에서, 각각의 기간은 3 일 내지 3 주 동안 지속된다. 또 다른 구현예에서, 제1, 제2 및 제3 진통제 모두는 연장-방출형 또는 지연, 연장-방출형으로 제형화된다.
- [0136] 본 발명의 또 다른 양태는 본 발명의 약학적 조성물을 이뇨제를 필요로 하는 대상에게 투여하여 야뇨증(nocturia)을 치료하는 방법에 관한 것이다. 상기 이뇨제는 투여 후 6 시간 내에 이뇨 효과를 갖도록 용량화 및 제형화되어 취침 전 최소 8 시간 또는 7 시간전에 투여된다. 본 발명의 약학적 조성물은 연장-방출형 또는 지연, 연장-방출형으로 제형화되어, 취침 전 2 시간 이내에 투여된다.
- [0137] 이뇨제의 예에는 CaCl_2 및 NH_4Cl 과 같은 산성화 염; 암포테리신B 및 리튬 시트레이트와 같은 아르기닌 바소프레신 수용체 2 길항제; 글렌로드 및 유니페와 같은 아쿠아레틱스(aquaretics); 도파민과 같은 Na-H 교환 길항제; 아세타졸아미드 및 도르줄아미드와 같은 카보닉 안히드라제 억제제; 부메타니드, 에타그리닉 산, 푸로세미드 및 토르세미드와 같은 루프 이뇨제; 글루코스 및 만니톨과 같은 삼투성 이뇨제;아밀로리드, 스피로노락톤, 트리암테렌, 포타슘 칸레노에이트와 같은 포타슘-스페어링 이뇨제; 벤드로플루메티아지드 및 히드로클로로티아지드와 같은 티아지드; 및 카페인, 테오필린 및 테오브로민과 같은 크산틴을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0138] 본 발명의 또 다른 양태는 배뇨 빈도를 감소시키는 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 보툴리눔 독소(botulinum toxin)의 유효량을 대상(subject)에게 투여하는 단계를 포함하며, 상기 보툴리눔 독소는 방광 근육(bladder

muscle)에 주사로 투여되고; 본 발명의 약학적 조성물을 대상에게 경구투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 주사하는 단계는 위치(site) 당 2-10 유닛(unit)의 주사 용량으로 방광 근육내 5-20 위치에 보툴리눔 독소의 10-200 유닛의 주사를 포함한다. 일 구현예에서, 상기 주사하는 단계는 위치(site) 당 2-10 유닛(unit)의 주사 용량으로 방광 근육내 5 위치에 보툴리눔 독소의 주사를 포함한다. 다른 구현예에서, 상기 주사하는 단계는 위치(site) 당 2-10 유닛(unit)의 주사 용량으로 방광 근육내 10 위치에 보툴리눔 독소의 주사를 포함한다. 다른 구현예에서, 상기 주사하는 단계는 위치(site) 당 2-10 유닛(unit)의 주사 용량으로 방광 근육내 15 위치에 보툴리눔 독소의 주사를 포함한다. 다른 구현예에서, 상기 주사하는 단계는 위치(site) 당 2-10 유닛(unit)의 주사 용량으로 방광 근육내 20 위치에 보툴리눔 독소의 주사를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 주사하는 단계는 매 3, 4, 6, 8, 10 또는 12 개월 동안 반복되고, 상기 경구 투여 단계는 매일 반복된다.

[0139] 일부 구현예에서, 본 발명의 약학적 조성물은 진통제 당 50 내지 400 mg의 용량인 1 종 이상의 진통제를 유효성분으로 포함하고, 상기 1 종 이상의 진통제는 아스피린, 이부프로펜, 나프록센, 나프록센 소듐염, 인도메타신, 나부메톤 및 아세트아미노펜으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 상기 약학적 조성물은 연장-방출형(extended-release)으로 제형화된다. 다른 구현예에서, 상기 보툴리눔 독소는 매 3 또는 4 개월 동안 투여되고, 상기 본 발명의 약학적 조성물은 매일 투여된다. 상기 방법은 야뇨증(nocturia) 또는 과민성 방광 치료에 이용될 수 있다.

[0140] 본 발명의 또 다른 양태는 배뇨 빈도를 감소시키는 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 1 종 이상의 진통제의 유효량 및 타다라필의 유효량을 대상(subject)에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0141] 일 구현예에서, 상기 1 종 이상의 진통제는 연장 방출형 제제로 제형화되고, 상기 타다라필은 속방형 제제로 제형화된다.

[0142] 다른 구현예에서, 상기 1 종 이상의 진통제는 서방형 제제로 제형화되고, 상기 타다라필은 속방형 제제로 제형화된다.

[0143] 본 발명의 또 다른 양태는 배뇨 빈도를 감소시키는 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 진통제 당 1 내지 2000 mg의 용량인 1 종 이상의 진통제; 및 PDE 5(phosphodiesterase type 5) 억제제를 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물을 대상(subject)에게 투여하는 단계를 포함하며, 상기 1 종 이상의 진통제는 아스피린, 이부프로펜, 나프록센, 나프록센 소듐염, 인도메타신, 나부메톤 및 아세트아미노펜으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0144] 일 구현예에서, 상기 약학적 조성물은 장용성 코팅제(enteric coating)로 코팅된다.

[0145] 다른 구현예에서, 상기 약학적 조성물은, 상기 유효 성분의 20% 내지 60%는 투여 후 2 시간 이내에 방출되고, 상기 유효 성분의 나머지는 2 시간 내지 12 시간 동안 지속적으로 방출되는 2 단계 방출 프로파일로 특징지어지는 연장-방출형(extended-release)으로 제형화된다. 연관된 구현예에서, 상기 약학적 조성물은 장용성 코팅제(enteric coating)로 코팅된다.

[0146] 다른 구현예에서, 상기 1 종 이상의 진통제는 아세트아미노펜을 포함한다.

[0147] 다른 구현예에서, 상기 유효성분은 항무스카린제, 항이뇨제, 진경제 및 졸피뎀(zolpidem)으로 이루어진 군으로부터 선택된 추가제제를 추가적으로 포함한다.

[0148] 다른 구현예에서, 상기 PDE 5 억제제는 타다라필(tadalafil)이다.

[0149] 본 발명의 또 다른 양태는 배뇨 빈도를 감소시키는 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 1 종 이상의 진통제 및 타다라필을 포함하는 제1 유효 성분; 및 진통제, 항무스카린제, 항이뇨제, 진경제, PDE 5 억제제 및 졸피뎀으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 종 이상의 제제를 포함하는 제2 유효 성분을 포함하는 약학적 조성물을 대상(subject)에게 투여하는 단계를 포함하며, 상기 제1 유효 성분은 속방형(immediate-release)으로 제형화되고, 상기 제2 유효 성분은 연장-방출형(extended-release)으로 제형화된다.

[0150] 일 구현예에서, 상기 약학적 조성물은 장용성 코팅제(enteric coating)로 추가적으로 코팅된다.

[0151] 다른 구현예에서, 상기 1 종 이상의 진통제는 아세트아미노펜을 포함한다.

[0152] 다른 구현예에서, 상기 제1 유효 성분은 항무스카린제, 항이뇨제, 진경제 또는 졸피뎀을 추가적으로 포함한다.

[0153] 본 발명의 또 다른 양태는 1 종 이상의 진통제, PDE 5 억제제 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다.

- [0154] 일 구현예에서, 상기 1 종 이상의 진통제는 연장-방출형(extended-release)으로 제형화되고, 상기 PDE 5 억제제는 속방형(immediate-release)으로 제형화된다.
- [0155] 다른 구현예에서, 상기 1 종 이상의 진통제는 서방형(delayed-release)으로 제형화되고, 상기 PDE 5 억제제는 속방형(immediate-release)으로 제형화된다.
- [0156] 다른 구현예에서, 상기 1 종 이상의 진통제 및 상기 PDE 5 억제제는 2 시간 내지 12 시간 동안 방출되는 연장-방출형 제제로 제형화된다.
- [0157] 다른 구현예에서, 상기 PDE 5 억제제 및 상기 1 종 이상의 진통제의 각각 20% 내지 60%는 속방형 제제로 제형화되고, 상기 1 종 이상의 진통제의 나머지 각각은 연장-방출형 제제로 제형화된다. 연관된 구현예에서, 상기 약학적 조성물은 장용성 코팅제(enteric coating)로 추가적으로 코팅된다.
- [0158] 이하, 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다. 본 명세서 전체에 걸쳐 인용된 모든 특허들 및 문헌들이 참고로서 포함된다.
- [0159] **실시예 1: 배뇨 욕구의 억제**
- [0160] 조기 배뇨 충동 또는 욕구를 경험한 남성과 여성 총 20 명의 지원자들의 잠을 방해하여 충분한 휴식을 취하지 못하게 하였다. 각각의 지원자는 취침전 단일 용량으로 이부프로펜 400-800 mg을 섭취하였다. 최소 14 명은 배뇨 충동으로 인하여 자주 잠에서 깨지 않았기 때문에, 휴식을 취할 수 있었다고 보고하였다.
- [0161] 일부는 야간에 이부프로펜을 섭취한 지 몇 주 지나자, 배뇨 충동이 덜 느껴졌던 효과가 더 이상 느껴지지 않았다고 보고하였다. 그러나, 이러한 지원자들 모두는 복용을 중지한 지 며칠 후 효과가 다시 나타남을 추가적으로 보고하였다. 최근 테스트에서 효과의 어떠한 차후 감소 없이 훨씬 낮은 용량에서 유사한 결과가 달성될 수 있음을 확인하였다.
- [0162] **실시예 2: 염증성 및 비-염증성 자극에 대한 대식 세포 반응에 있어서 진통제인 보툴리눔 신경독소(botulinum neurotoxin) 및 항무스카린제(antimuscarinic agent)의 효과**
- [0163] **실험 설계**
- [0164] 본 실험은 COX2와 프로스타글란딘(PGE, PGH, 등)에 의해 매개되는 염증성 자극 및 비-염증성 자극에 대한 대식 세포 반응을 조절하는 진통제 및 항무스카린제의 용량 및 인 비트로 효능을 확인하기 위하여 설계하였다. 이는 방광 세포에서 염증성 및 비-염증성 반응기(effector)에 대한 기준 반응(용량과 운동)을 정립하였다. 간략하게, 배양된 세포를 다양한 반응기의 부재 또는 존재 하에 진통제 및/또는 항무스카린제에 노출시키는 것이다.
- [0165] 상기 반응기는 다음을 포함한다: 염증성 자극제로서 LPS(lipopolysaccharide), 및 염증성 자극제로서 Cox2 유도제; 비-염증성 자극제로서 평활근 수축 자극제인 카바콜 또는 아세틸콜린; 양성 대조군으로서, 아세틸콜린 방출 억제제로 알려진 보툴리눔 신경독소 A; 및 사이클로옥시제나아제(cyclooxygenases)(COX1 및 COX2) 및 터미널 프로스타글란딘 합성효소(terminal prostaglandin synthases)에 의하여 세포 내부의 AA, DGLA 또는 EPA가 연속적 산화되어 생성된 프로스타글란딘 전구체인 AA(arachidonic acid), DGLA(gamma linolenic acid) 또는 EPA(eicosapentaenoic acid).
- [0166] 상기 진통제는 다음을 포함한다: 아스피린과 같은 살리실레이트; 애드빌, 모트린, 누프린 및 메디프렌과 같은 이소부틸프로판페놀 산 유도체(이부프로펜); 알레베, 아나프록스, 안탈진, 페미낙스 울트라, 플라낙스, 인자, 미돌 익스텐디드 릴리프, 날게진, 나포진, 나프레탄, 나프로게직, 나프로진, 나프로진 서스펜션, EC-나프로진, 나로신, 프록센, 진플렉스 및 제노비드와 같은 나프록센 소디움; 인도메타신(Indocin)과 같은 아세트산 유도체; 나부메톤 또는 레라펜과 같은 1-나프탈렌아세트산 유도체; 아세트아미노펜 또는 파라세타몰(타이레놀)과 같은 N-아세트-파라-아미노페놀(APAP) 유도체; 및 셀레코시브.
- [0167] 상기 항무스카린제는 다음을 포함한다: 옥시부티닌, 졸리페나신, 다리페나신 및 아트로핀.

- [0168] 대식세포를 단기간(1-2 시간) 또는 장기간(24-48 시간) 동안 다음과 같이 자극하였다:
- [0169] (1) 다양한 용량의 각각의 진통제 단독.
- [0170] (2) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0171] (3) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0172] (4) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0173] (5) 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A 단독.
- [0174] (6) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0175] (7) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0176] (8) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0177] (9) 다양한 용량의 각각의 항무스카린제 단독.
- [0178] (10) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0179] (11) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0180] (12) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0181] 이후 상기 세포들을 PGH₂, PGE, PGE₂, 프로스타시딘(Prostacyclin), 트롬복산(Thromboxane), IL-1 β , IL-6 및 TNF- α 방출, COX2 활성, cAMP 및 cGMP 생성, IL-1 β , IL-6, TNF- α 및 COX2 mRNA 생성, 및 CD80, CD86 및 MHC class II 분자의 표면 발현에 대하여 분석하였다.

[0182] 재료 및 방법

[0183] **대식세포**

[0184] (ATCC로부터 수득한) 뮤린 RAW264.7 또는 J774 대식 세포주를 이 실험에 이용하였다. 세포를 10% 소태아혈청 (FBS), 15 mM HEPES, 2 mM의 L-글루타민, 100 U/ml 페니실린 및 스트렙토마이신 100 μ g/ml이 첨가된 RPMI 1640 을 함유한 배지에서 배양하였다. 세포를 5% CO₂, 37℃에서 배양하고, 일주일에 한 번씩 계대배양하였다.

[0185] **인 비트로 상 대식세포의 진통제 처리**

[0186] RAW264.7 대식세포를 배양액 100 μ l에 웰당 1.5x10⁵ 세포 밀도로 96-웰 플레이트에 분주하였다. 세포에 (1) 다양한 농도의 진통제(아세트아미노펜, 아스피린, 이부프로펜 또는 나프록센), (2) 대식세포에 대한 염증성 자극의 반응기인 다양한 농도의 LPS, (3) 비-염증성 자극의 반응기인 다양한 농도의 카바콜 또는 아세틸콜린, (4) 진통제와 LPS 또는 (5) 진통제와 카바콜 또는 아세틸콜린을 처리하였다. 요약하면, 진통제를 FBS-무첨가 배지 (즉, 15 mM HEPES, 2 mM L-글루타민, 100 U/ml 페니실린 및 스트렙토마이신 100 μ g/ml이 첨가된 RPMI 1640)에 용해시키고, 동량으로 연속적 희석하여 원하는 농도로 희석시켰다. LPS 부재하에서 진통제를 처리한 세포에 대한 실험을 위하여, 진통제 용액 50 μ l 및 FBS-무첨가 배지 50 μ l를 각 웰에 첨가하였다. LPS 존재하에서 진통제를 처리한 세포에 대한 실험을 위하여, 진통제 용액 50 μ l 및 FBS-무첨가 배지에 넣은 LPS(*Salmonella typhimurium*으로부터 분리) 50 μ l를 각 웰에 첨가하였다. 모든 조건은 중복 시험하였다.

[0187] 24 또는 48 시간 배양 후, 배양 상층액 150 μ l을 획득하여, 4℃에서 8,000 rpm으로 2 분 동안 원심분리시켜서 세포 및 데브리스를 제거하고, ELISA에 의한 사이토카인 반응의 분석을 위해 -70℃에 저장하였다. 상기 획득된 세포들에 PBS(Phosphate buffer) 500 μ l를 첨가하여, 원심 분리(4℃에서 1,500 rpm으로 5 분)하여 세척하였다. 세포의 절반은 액체 질소에 냉동하여 -70℃에서 저장하였다. 나머지 세포는 형광 모노클로날 항체로 염색하고, 유동 세포 계측법(flow cytometry)으로 분석하였다.

[0188] **공동-자극 분자 발현(co-stimulatory molecule expression)의 유동 세포 계측법(Flow cytometry) 분석**

[0189] 유동 세포 계측법 분석의 경우, 대식세포를 FACS 버퍼(2% BSA 및 0.01% NaN₃를 첨가한 PBS) 100 μ l에 희석시키고, FITC-결합 항-CD40 항체, PE-결합 항-CD80 항체, PE-결합 항-CD86 항체, 항 MHC 클래스II(I-A^d) PE(BD Bioscience사)를 첨가하여 4℃에서 30 분 동안 염색시켰다. 그 후 세포들에 FACS 버퍼 300 μ l를 첨가하여, 원심

분리(4℃에서 1,500 rpm으로 5 분)하여 세척하였다. 두 번째 세척 후, 세포를 FACS 버퍼 200 μ l에 재현탁시키고, 원하는 마커를 발현하는 세포의 비율(단일 양성), 또는 조합된 마커를 발현하는 세포의 비율(이중 양성)을 Accuri C6 유세포 계측기(BD Bioscience사)를 이용하여 분석하였다.

[0190]

ELISA를 이용한 사이토카인 반응의 분석

[0191]

진통제, LPS 단독 또는 LPS와 진통제를 조합하여 처리한 대식세포를 배양한 배양 상층액에 사이토카인-특이 ELISA를 실시하여 IL-1 β , IL-6 및 TNF- α 반응을 확인하였다. 0.1 M 소듐 바이카보네이트(sodium bicarbonate) 버퍼(pH 9.5)에 넣은 IL-6, TNF- α mAb(BD Biosciences 사) 또는 IL-1 β mAb(R&D Systems 사) 100 μ l로 밤새 코팅한 Nunc MaxiSorp Immunoplates (Nunc) 상에서 분석을 실시하였다. PBS(웰당 200 μ l)로 2회 세척한 후, PBS 3% BSA 200 μ l을 각 웰에 첨가하고(블록킹), 상기 플레이트를 실온에서 2 시간 동안 인큐베이션시켰다. 각 웰당 200 μ l를 첨가하여 플레이트를 다시 2회 세척하고, 사이토카인 스탠다드 100 μ l 및 배양 상층액의 연속적인 희석액을 첨가하여(중복 실험), 상기 플레이트를 4℃에서 밤새 인큐베이션시켰다. 최종적으로, 상기 플레이트를 2회 세척하고, 이차 바이오틴-결합 항-마우스 IL-6, TNF α mAb(Biosciences 사) 또는 IL-1 β mAb(R&D Systems 사) 100 μ l로 인큐베이션 한 후, 퍼옥시다제-표지 고트 항-비오틴 mAb(Vector Laboratories 사)로 인큐베이션하였다. 2,2'-아지노-비스(3)-에틸벤질티아졸린-6-술폰산(ABTS) 기질 및 H₂O₂(Sigma 사)을 첨가하여 발색 반응을 확인하고, Victor V 멀티라벨 플레이트 리더기(PerkinElmer 사)로 415 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0192]

COX2 활성 및 cAMP와 cGMP의 생성의 결정

[0193]

배양된 대식세포의 COX2 활성을 COX2 활성 어세이로 결정하였다. cAMP 및 cGMP의 생성은 cAMP 어세이 및 cGMP 어세이로 결정하였다. 이러한 분석법은 당업계에서 통상적으로 실시된다.

[0194]

결과

[0195]

표 1은 공동자극 분자 CD40 및 CD80의 세포 표면 발현에 있어 진통제의 효과 관점에서 Raw 264 대식세포주로 실시한 실험 및 주요 실험 결과들을 요약 한 것이다. 이러한 분자들의 발현은 COX2 및 염증성 신호에 의해 자극되고, 이에 따라 COX2의 억제제의 작용 결과를 결정하기 위하여 분자들의 발현을 평가하였다.

[0196]

표 2에 나타난 바와 같이, 아세트아미노펜, 아스피린, 이부프로펜 및 나프록센은, 가장 높은 용량(즉, 5x 10⁶ nM)을 제외한 모든 테스트 용량(즉, 5x 10⁵ nM, 5x 10⁴ nM, 5x 10³ nM, 5x 10² nM, 50 nM 및 5 nM)에서 대식세포에 의한 공동-자극 분자 CD40 및 CD80의 기저 발현을 억제하였다. 가장 높은 용량에서는 공동자극 분자들의 발현이 억제되었다기 보다는 향상된 것처럼 보인다. 도 1a 및도 1b에 나타난 바와 같이, CD40 및 CD50 발현에 있어 이러한 억제 효과는 0.05 nM(즉, 0.00005 μ M)만큼 낮은 진통제 용량에서도 관찰되었다. 이것은 저용량인 진통제의 조절된 방출이 많은 용량을 급성 전달하는 것보다 바람직 할 수 있다는 것을 보여준다. 또한, 상기 실험은 아세트아미노펜, 아스피린, 이부프로펜 및 나프록센이 CD40 및 CD80의 LPS 유도 발현에 있어 유사한 억제 효과를 나타낸다는 것을 보여준다.

표 1

[0197]

실험 요약

	대조군	LPS <i>Salmonella typhimurium</i>	아세트아미노펜	아스피린	이부프로펜	나프록센
TESTS						
1	X					
2	X	용량 반응 (0, 5, 50, 1000) ng/ ml				
3	X		용량 반응 (0, 5, 50, 500, 5x10 ³ , 5x10 ⁴ , 5x10 ⁵ , 5x10 ⁶) nM			
4	X	X (5 ng/ml) X (50 ng/ml) X (1000 ng/ml)	용량 반응 (0, 5, 50, 500, 5.10 ³ , 5.10 ⁴ , 5.10 ⁵ , 5.10 ⁶) nM			
ANALYSIS						

a	활성화/자극 상태 특징: CD40, CD80, CD86 및 MHC 클래스 II의 유세포 계측(Flow cytometry) 분석
b	염증성 반응의 매개체: IL-1 β , IL-6, TNF- α ELISA 분석

표 2

주요 실험 결과의 요약

반응기	% 양성	음성 대조군	LPS 5 ng/ml	진통제 용량(nM)						
				5.10 ⁶	5.10 ⁵	5.10 ⁴	5.10 ³	500	50	5
	CD40 ⁺ CD80 ⁺	20.6	77.8							
아세트아미노펜	CD40 ⁺ CD80 ⁺			63	18	12	9.8	8.3	9.5	7.5
아스피린	CD40 ⁺ CD80 ⁺			44	11	10.3	8.3	8	10.5	7.5
이부프로펜	CD40 ⁺ CD80 ⁺			ND*	6.4	7.7	7.9	6.0	4.9	5.8
나프록센	CD40 ⁺ CD80 ⁺			37	9.6	7.7	6.9	7.2	6.8	5.2
				진통제 및 LPS						
아세트아미노펜	CD40 ⁺ CD80 ⁺			95.1	82.7	72.4	68.8	66.8	66.2	62.1
아스피린	CD40 ⁺ CD80 ⁺			84.5	80	78.7	74.7	75.8	70.1	65.7
이부프로펜	CD40 ⁺ CD80 ⁺			ND	67	77.9	72.9	71.1	63.7	60.3
나프록센	CD40 ⁺ CD80 ⁺			66.0	74.1	77.1	71.0	68.8	72	73

* ND: not done (독성)

표 3은 성인 인간이 경구로 약용량 섭취 후 진통제의 혈청 농도를 측정 한 여러 연구의 결과를 요약한 것이다. 표 3에 나타낸 바와 같이, 경구 투여 후 진통제의 최대 혈청 농도는 10⁴-10⁵ nM의 범위이다. 따라서, 표 2의 인 비트로 상 실험한 진통제의 용량은 인간의 생체 내에서 달성 가능한 농도의 범위를 포함한다.

표 3

경구 투여 후 인간 혈중 진통제의 혈청 농도

진통제	분자량	경구 투여 후 최대 혈청 농도		참조
		mg/L	nM	
아세트아미노펜 (타이레놀)	151.16	11-18	7.2x10 ⁴ - 1.19x10 ⁵	* BMC Clinical Pharmacology.2010, 10:10 * Anaesth Intensive Care. 2011, 39:242
아스피린 (아세틸살리실산)	181.66	30-100	1.65x10 ⁵ - 5.5x10 ⁵	* <i>Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man</i> , 8th Edition, Biomedical Public, Foster City, CA, 2008, pp. 22-25 * J Lab Clin Med. 1984 Jun;103:869
이부프로펜 (에드빌, 모트린)	206.29	24-32	1.16x10 ⁵ - 1.55 x10 ⁵	* BMC Clinical Pharmacology2010, 10:10 * J Clin Pharmacol. 2001, 41:330
나프록센 (알레베)	230.26	Up to 60	Up to 2.6x10 ⁵	* J Clin Pharmacol. 2001, 41:330

[0202] **실시에 3: 염증성 및 비-염증성 자극에 대한 방광 평활근 세포 반응에 있어서 진통제, 보툴리눔 신경 독소 및 항무스카린제의 효과**

[0203] 실험 설계

[0204] 본 실험은 실시예 2에서 결정된 진통제의 최적 용량이 세포 배양 또는 조직 배양된 방광 평활근 세포에 미치는 영향을 특화하고, 상이한 종류의 진통제가 보다 효율적으로 COX2와 PGE2 반응을 억제하는 시너지 효과를 낼 수 있는지의 여부를 확인하기 위해 설계하였다.

[0205] 상기 반응기, 진통제 및 항무스카린제는 실시예 2에 설명하였다.

[0206] 마우스 방광 평활근 세포의 일차 배양시 단기간(1-2 시간) 또는 장기간(24-48 시간) 동안 다음과 같이 자극하였다:

- [0207] (1) 다양한 용량의 각각의 진통제 단독.
- [0208] (2) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0209] (3) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0210] (4) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0211] (5) 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A 단독.
- [0212] (6) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0213] (7) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0214] (8) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0215] (9) 다양한 용량의 각각의 항무스카린제 단독.
- [0216] (10) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0217] (11) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0218] (12) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.

[0219] 이후 상기 세포들을 PGH₂, PGE, PGE₂, 프로스타시딘(Prostacyclin), 트롬복산(Thromboxane), IL-1 β , IL-6 및 TNF- α 방출, COX2 활성, cAMP 및 cGMP 생성, IL-1 β , IL-6, TNF- α 및 COX2 mRNA 생성, 및 CD80, CD86 및 MHC class II 분자의 표면 발현에 대하여 분석하였다.

[0220] 재료 및 방법

[0221] **마우스 방광 세포의 분리 및 정제**

[0222] 안락사시킨 C57BL/6 마우스(8-12주령)로부터 방광을 분리하고, 효소적 분해 후 퍼콜 그라데이션으로 정제하여 세포들을 분리하였다. 요약하면, 마우스 10 마리의 방광을 분해 버퍼(RPMI 1640, 2 % 소태아 혈청, 0.5 mg/ml 콜라게나제, 30 μ g/ml DNase) 10 ml에 넣고 가위질을 하여 잘게 조각내었다. 상기 결과물을 37°C에서 30 분 동안 효소적으로 분해시켰다. 분해되지 않은 조각은 추가적으로 세포-트레이너를 통해 분산시켰다. 세포 현탁액을 뭉치게 한 후, 단핵 세포 정제용 연속적인 20%, 40% 및 75 % 퍼콜 그라데이션을 첨가하였다. 각 실험은 50-60 개의 방광을 사용하였다.

[0223] RPMI 1640로 세척한 후, 방광 세포를 10% 소태아혈청(FBS), 15 mM HEPES, 2 mM의 L-글루타민, 100 U/ml 페니실린 및 스트렙토마이신 100 μ g/ml이 첨가된 RPMI 1640에 재현탁하고, 100 μ l에 웰당 3x10⁴ 세포 밀도로 clear-bottom black 96-웰 세포 배양 마이크로배양 플레이트에 분주하였다. 세포를 5% CO₂, 37°C에서 배양하였다.

[0224] **인 비트로 상 세포의 진통제 처리**

[0225] 방광 세포에 진통제 용액(50 μ l/웰)을 단독 처리하거나, 또는 비-염증성 자극으로서 카바콜(10-Molar, 50 μ l/웰), 또는 비-염증성 자극으로서 *Salmonella typhimurium*의 LPS(1 μ g/ml, 50 μ l/웰)를 함께 처리하였다. 세포에 대한 다른 반응기가 첨가되지 않은 경우, 소 태아 혈청이 없는 배지(RPMI 1640) 50 μ l를 웰에 추가하여 200 μ l로 최종 부피를 맞췄다.

[0226] 24 시간 배양 후, 배양 상층액 150 μ l을 획득하여, 4℃에서 8,000 rpm으로 2 분 동안 원심분리시켜서 세포 및 데브리스를 제거하고, ELISA에 의한 PEG₂(Prostaglandin E2)반응의 분석을 위해 -70℃에 저장하였다. 세포들을 고정 및 투과화시키고, 블로킹한 후, 형광 기질을 이용하여 COX2(Cyclooxygenase-2)를 검출하였다. 선택된 실험에서, 세포들을 인 비트로 상에서 12 시간 동안 자극하여 COX2 반응을 분석하였다.

[0227] **COX2 반응의 분석**

[0228] 제조사의 지침에 따라 인간/마우스 전체 COX2 면역어세이(R&D Systems 사)를 이용하는 세포-기반 ELISA로 COX2 반응을 분석하였다. 요약하면, 세포 고정 및 투과화 후, 마우스 항-전체 COX2 및 래빗 항-전체 GAPDH를 clear-bottom black 96-웰 세포 배양 마이크로배양 플레이트의 웰에 첨가하였다. 인큐베이션 및 세척 후, HRP-결합 항-마우스 IgG 및 AP-결합 항-래빗 IgG를 웰에 첨가하였다. 또 다른 배양 및 세척 후, HRP- 및 AP-형광 기질을 첨가하였다. 최종적으로, Victor V 멀티라벨 플레이트 리더기(PerkinElmer 사)를 이용하여 600 nm(COX2 형광) 및 450 nm(GAPDH 형광)에서 방출되는 형광을 관독하였다. RFU(relative fluorescence unit)로 결정된 총 COX2의 상대적인 수준으로 결과들을 표현하고, 하우스키퍼 단백질인 GAPDH에 대하여 표준화시켰다.

[0229] **PGE2 반응의 분석**

[0230] 순차적 경쟁 ELISA(sequential competitive ELISA, R&D Systems 사)를 이용하여 프로스타글란딘 E2 반응을 분석하였다. 보다 상세하게는, 배양 상층액 또는 PGE2 스탠다드를 고트 항-마우스 폴리크로날 항체로 코팅된 96-웰 폴리스틸렌 마이크로플레이트에 첨가하였다. 마이크로플레이트 교반기에서 1 시간 인큐베이션 후, HRP-결합 PGE2를 첨가하고, 플레이트를 추가적으로 2 시간 동안 실온에서 인큐베이션시켰다. 그 후 상기 플레이트를 세척하고, HRP 기질 용액을 각 웰에 첨가하였다. 30 분 동안 발색 반응시키고, 황산을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 570 nm에서의 파장 보정 및 450 nm에서 관독하였다. 결과는 PGE2의 평균 pg/ml로 표현하였다.

[0231] **기타 분석**

[0232] 실시예 2에 기재한 바와 같이, PGH₂, PGE, PGE₂, 프로스타시딘(Prostacyclin), 트롬복산(Thromboxane), IL-1 β , IL-6 및 TNF- α 방출, cAMP 및 cGMP 생성, IL-1 β , IL-6, TNF- α 및 COX2 mRNA 생성, 및 CD80, CD86 및 MHC class II 분자의 표면 발현을 확인하였다.

[0233] 결과

[0234] **진통제는 염증성 자극에 대한 마우스 방광 세포의 COX2 반응을 저해한다**

[0235] 진통제가 COX2 반응을 유도 할 수 있는지 여부를 결정하기 위해 5 μ M 또는 50 μ M의 농도의 다양한 진통제(아세트아미노펜, 아스피린, 이부프로펜 및 나프록센)를 마우스 방광 세포에 실험하였다. 24 시간 배양 후 결과는, 처리된 어떠한 진통제도 인 비트로 상 마우스 방광 세포에서 COX2 반응을 유도하지 않은 것으로 나타났다.

[0236] 또한, 인 비트로 상에서 카바콜 또는 LPS 자극에 대한 마우스 방광 세포의 COX2 반응에 있어 이러한 진통제의 효과를 실험하였다. 표 1에 나타난 바와 같이, 실험된 카바콜의 용량은 마우스 방광 세포 내 COX2 수준에 대해 유의성 있는 영향을 미치지 않는다. 한편, LPS는 전체 COX2 수준을 확연하게 증가시켰다. 흥미롭게도, 아세트아미노펜, 아스피린, 이부프로펜 및 나프록센은 모두 COX2 수준에 있어서의 LPS의 효과를 억제할 수 있었다. 상기 진통제의 억제 효과는, 이러한 약물들이 5 μ M 또는 50 μ M일 때 나타났다(표 4).

표 4

[0237] 인 비트로 상에서 자극 및 진통제 처리한 마우스 방광 세포에 의한 COX2 발현

자극	진통제	총 COX2 수준(Normalized RFUs)
None	None	158 \pm 18
Carbachol (mM)	None	149 \pm 21
LPS (1 μ g/ml)	None	420 \pm 26
LPS (1 μ g/ml)	아세트아미노펜 (5 μ M)	275 \pm 12
LPS (1 μ g/ml)	아스피린 (5 μ M)	240 \pm 17
LPS (1 μ g/ml)	이부프로펜 (5 μ M)	253 \pm 32
LPS (1 μ g/ml)	나프록센 (5 μ M)	284 \pm 11
LPS (1 μ g/ml)	아세트아미노펜 (50 μ M)	243 \pm 15

LPS (1 μ g/ml)	아스피린 (50 μ M)	258 \pm 21
LPS (1 μ g/ml)	이부프로펜 (50 μ M)	266 \pm 19
LPS (1 μ g/ml)	나프록센 (50 μ M)	279 \pm 23

[0238] 진통제는 염증성 자극에 대한 뮤린 방광 세포의 PGE2 반응을 저해한다

[0239] 마우스 방광 세포의 배양 상등액 내 PGE2의 분비를 측정하여 진통제에 의한 마우스 방광 세포 COX2 수준 변화의 생물학적 중요성을 확인하였다. 표 5에 나타난 바와 같이, PGE2는 비자극된 방광 세포 또는 카바콜 존재하에서 배양된 방광 세포의 배양 상등액에서 검출되지 않았다. 상술한 COX2 반응과 일관되게, LPS를 이용한 뮤린 방광 세포의 자극은 PGE2의 높은 수준의 분비를 유도하였다. 진통제인 아세트아미노펜, 아스피린, 이부프로펜 및 나프록센의 첨가는 PGE2 분비에 대한 LPS의 효과를 억제하였고, 5 μ M 또는 50 μ M 용량의 진통제로 처리된 세포 반응 간에는 어떠한 차이도 나타나지 않았다.

표 5

[0240] 인 비트로 상에서 자극 및 진통제 처리한 마우스 방광 세포에 의한 PGE2 분비

자극	진통제	PGE2 수준(pg/ml)
None	None	< 20.5
Carbachol (mM)	None	< 20.5
LPS (1 μ g/ml)	None	925 \pm 55
LPS (1 μ g/ml)	아세트아미노펜 (5 μ M)	619 \pm 32
LPS (1 μ g/ml)	아스피린 (5 μ M)	588 \pm 21
LPS (1 μ g/ml)	이부프로펜 (5 μ M)	593 \pm 46
LPS (1 μ g/ml)	나프록센 (5 μ M)	597 \pm 19
LPS (1 μ g/ml)	아세트아미노펜 (50 μ M)	600 \pm 45
LPS (1 μ g/ml)	아스피린 (50 μ M)	571 \pm 53
LPS (1 μ g/ml)	이부프로펜 (50 μ M)	568 \pm 32
LPS (1 μ g/ml)	나프록센 (50 μ M)	588 \pm 37

[0241] 요약하면, 이러한 데이터들은 마우스 방광 세포에서 5 μ M 또는 50 μ M의 진통제 단독 처리시 COX2와 PGE2 반응을 유발하지 않는다는 것을 보여준다. 그러나, LPS(1 μ g/ml)로 인 비트로 상 자극된 마우스 방광 세포에서 5 μ M 또는 50 μ M의 진통제는 COX2와 PGE2 반응을 확연하게 억제하였다. 카바콜(1 mM)로 자극된 뮤린 방광 세포에서 COX2와 PGE2 반응에 대한 진통제의 유의한 효과는 관찰되지 않았다.

[0242] 실시예 4: 방광 평활근 세포의 수축에 대한 진통제, 보툴리눔 신경 독소 및 항 무스카린제의 효과

[0243] 실험 설계

[0244] 배양된 마우스 또는 랫트 방광 평활근 세포 및 마우스 또는 랫트 방광 평활근 조직을 다양한 농도의 진통제 및/또는 항무스카린제의 존재 하에 염증성 자극 및 비-염증성 자극에 노출시켰다. 자극-유발 근육 수축을 측정하여 진통제 및/또는 항 무스카린제의 억제 효과를 평가하였다.

[0245] 상기 반응기, 진통제 및 항무스카린제는 실시예 2에 설명하였다.

[0246] 마우스 방광 평활근 세포의 일차 배양시 단기간(1-2 시간) 또는 장기간(24-48 시간) 동안 다음과 같이 자극하였다:

- [0247] (1) 다양한 용량의 각각의 진통제 단독.
- [0248] (2) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0249] (3) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0250] (4) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0251] (5) 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A 단독.

- [0252] (6) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0253] (7) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0254] (8) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0255] (9) 다양한 용량의 각각의 항무스카린제 단독.
- [0256] (10) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0257] (11) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0258] (12) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0259] 재료 및 방법
- [0260] 실시예 3에 기재한 바와 같이, 일차 마우스 방광 세포를 분리하였다. 선택된 실험에서, 배양된 방광 조직을 사용하였다. Grass polygraph (Quincy Mass, USA)로 방광 평활근 세포 수축을 기록하였다.
- [0261] 실시예 5: 방광 평활근 세포의 COX2 및 PGE2 반응에 대한 경구용 진통제 및 항 무스카린제의 효과
- [0262] 실험 설계
- [0263] 정상 마우스와 과민성 방광 증후군(over active bladder syndrome, OAB)인 마우스에게 아스피린, 나프록센 나트륨, 이부프로펜, 인도신, 나부메톤, 타이레놀, 셀레코시브, 옥시부티닌, 졸리페나신, 다리페나신, 아트로핀 및 이들의 조합을 경구 복용시켰다. 대조군은 아무런 처리를 하지 않은 정상 마우스와 아무런 처리를 하지 않은 OAB 마우스였다. 최종 복용 30분 후, 방광을 획득하여 카바콜 또는 아세틸콜린으로 생체의(ex vivo) 자극하였다. 선택된 실험에서 카바콜로 자극하기 전에 방광을 보툴리눔 신경독소 A로 처리하였다. 실험 동물을 신진 대사 케이지에 넣고, 배뇨 횟수(양)를 측정하였다. 방광의 용량은 물 섭취량과 케이지 내 오물의 무게를 모니터링하여 결정하였다. 혈청 PGH₂, PGE, PGE₂, 프로스타딘, 트롬복산, IL-1 β , IL-6, TNF- α , cAMP, 및 cGMP 수준을 ELISA로 확인하였다. 전체 혈액 세포의 CD80, CD86, MHC 클래스 II 발현은 유동 세포 계측법으로 확인하였다.
- [0264] 실험 말미에, 동물을 안락사시키고, 생체의 방광 수축을 Grass polygraph 로 기록하였다. 방광의 일부를 포르말린에 고정시키고, 면역 조직 화학 염색으로 COX2 반응을 분석하였다.
- [0265] 실시예 6: 염증성 및 비-염증성 자극에 대한 인간 방광 평활근 세포 반응에 있어서 진통제, 보툴리눔 신경 독소 및 항 무스카린제의 효과
- [0266] 실험 설계
- [0267] 본 실험은 실시예 1 내지 5에서 결정된 진통제의 최적 용량이 세포 배양 또는 조직 배양된 인간 방광 평활근 세포에 미치는 영향을 특성화하고, 상이한 종류의 진통제가 보다 효율적으로 COX2와 PGE2 반응을 억제하는 시너지 효과를 낼 수 있는지의 여부를 확인하기 위해 설계하였다.
- [0268] 상기 반응기, 진통제 및 항무스카린제는 실시예 2에 설명하였다.
- [0269] 인간 방광 평활근 세포를 단기간(1-2 시간) 또는 장기간(24-48 시간) 동안 다음과 같이 자극하였다:
- [0270] (1) 다양한 용량의 각각의 진통제 단독.
- [0271] (2) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0272] (3) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0273] (4) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0274] (5) 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A 단독.
- [0275] (6) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.

- [0276] (7) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0277] (8) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0278] (9) 다양한 용량의 각각의 항무스카린제 단독.
- [0279] (10) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0280] (11) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0281] (12) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0282] 이후 상기 세포들을 PGH₂, PGE, PGE₂, 프로스타시딘(Prostacyclin), 트롬복산(Thromboxane), IL-1 β , IL-6 및 TNF- α 방출, COX2 활성화, cAMP 및 cGMP 생성, IL-1 β , IL-6, NF- α 및 COX2 mRNA 생성, 및 CD80, CD86 및 MHC class II 분자의 표면 발현에 대하여 분석하였다.

[0283] **실시예 7: 인간 방광 평활근 세포의 수축에 대한 진통제, 보툴리눔 신경 독소 및 항 무스카린제의 효과**

[0284] **실험 설계**

[0285] 배양된 인간 방광 평활근 세포를 다양한 농도의 진통제 및/또는 항무스카린제의 존재 하에 염증성 자극 및 비-염증성 자극에 노출시켰다. 자극-유발 근육 수축을 측정하여 진통제 및/또는 항 무스카린제의 억제 효과를 평가하였다.

[0286] 상기 반응기, 진통제 및 항무스카린제는 실시예 2에 설명하였다.

[0287] 인간 방광 평활근 세포를 단기간(1-2 시간) 또는 장기간(24-48 시간) 동안 다음과 같이 자극하였다:

- [0288] (1) 다양한 용량의 각각의 진통제 단독.
- [0289] (2) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0290] (3) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0291] (4) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0292] (5) 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A 단독.
- [0293] (6) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0294] (7) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0295] (8) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0296] (9) 다양한 용량의 각각의 항무스카린제 단독.
- [0297] (10) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0298] (11) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0299] (12) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0300] Grass polygraph (Quincy Mass, USA)로 방광 평활근 세포 수축을 기록하였다.

[0301] **실시예 8: 염증성 및 비-염증성 시그널에 대한 정상 인간 방광 평활근 세포 반응에 있어서 진통제의 효과**

[0302] **실험 설계**

[0303] **정상 인간 방광 평활근 세포의 배양**

[0304] 인간 방광의 정상 조직으로부터 효소적 분해를 이용하여 정상 인간 방광 평활근 세포들을 분리하였다. 10% 소태아혈청(FBS), 15 mM HEPES, 2 mM의 L-글루타민, 100 U/ml 페니실린 및 스트렙토마이신 100 μ g/ml이 첨가된 RPMI 1640을 함유한 배지로 5% CO₂, 37°C에서 세포들을 배양하고, 일주일에 한 번씩 트립신을 처리하여 세포들

을 떼어낸 후 새로운 플라스크에 분주하여 계대배양하였다. 배양 첫 주에, 배양 배지에 0.5 ng/ml EGF(epidermal growth factor), 2 ng/ml FGF(fibroblast growth factor) 및 5 µg/ml 인슐린을 첨가하였다.

[0305] **인 비트로 상 정상 인간 방광 평활근 세포의 진통제 처리**

[0306] 인간 방광 평활근 세포에 트립신을 처리한 후 웰당 100 µl에 3×10^4 세포 밀도로 마이크로배양 플레이트에 분주하였다. 세포에 진통제 용액(50 µl/웰)을 단독 처리하거나, 또는 비-염증성 자극으로서 카바콜(10-Molar, 50 µl/웰), 또는 비-염증성 자극으로서 *Salmonella typhimurium*의 LPS(1 µg/ml, 50 µl/웰)를 함께 처리하였다. 세포에 대한 다른 반응기가 첨가되지 않은 경우, 소 태아 혈청이 없는 배지(RPMI 1640) 50 µl를 웰에 추가하여 200 µl로 최종 부피를 맞췄다.

[0307] 24 시간 배양 후, 배양 상층액 150 µl를 획득하여, 4°C에서 8,000 rpm으로 2 분 동안 원심분리시켜서 세포 및 데브리스를 제거하고, ELISA에 의한 PEG₂(Prostaglandin E2) 반응의 분석을 위해 -70°C에 저장하였다. 세포들을 고정 및 투과화시키고, 블로킹한 후, 형광 기질을 이용하여 COX2(Cyclooxygenase-2)를 검출하였다. 선택된 실험에서, 세포를 인 비트로 상에서 12 시간 동안 자극하여 COX2, PGE2 및 사이토카인 반응을 분석하였다.

[0308] **COX2, PGE2 및 사이토카인 반응의 분석**

[0309] 실시예 3에 기재한 바와 같이, COX2 및 PGE2 반응을 분석하였다. 실시예 2에 기재한 바와 같이 사이토카인 반응을 분석하였다.

[0310] 결과

[0311] 진통제는 염증성 및 비-염증성 자극에 대한 정상 인간 방광 평활근 세포의 COX2 반응을 저해한다

[0312] 24 시간 배양 후 세포 및 배양 상층액의 분석 결과는, 단독 처리된 어떠한 진통제도 정상 인간 방광 평활근 세포에서 COX2 반응을 유도하지 않은 것으로 나타났다. 그러나, 표 6에 요약한 바와 같이, 카바콜은 정상 인간 방광 평활근 세포에서 약하지만, 유의한 COX2 반응을 유도하였다. 한편, LPS 처리는 정상 인간 방광 평활근 세포에서 높은 COX2 반응을 초래하였다. 아세트아미노펜, 아스피린, 이부프로펜 및 나프록센은 모두 COX2 수준에 있어서의 LPS의 효과를 억제할 수 있었다. 상기 진통제의 억제 효과는, 이러한 약물들이 5 µM 또는 50 µM일 때 LPS-유도 반응을 나타내었다.

표 6

[0313] 인 비트로 상에서 염증성 및 비-염증성 자극으로 자극하고 진통제 처리한 인간 방광 평활근 세포에 의한 COX2 발현

자극	진통제	총 COX2 수준 [#] (Normalized RFUs) 대상 1	총 COX2 수준 (Normalized RFUs) 대상 2
None	None	230	199
Carbachol 10 ⁻³ M	None (50 µM)	437	462
Carbachol 10 ⁻³ M	아세트아미노펜 (50 µM)	298	310
Carbachol 10 ⁻³ M	아스피린 (50 µM)	312	297
Carbachol 10 ⁻³ M	이부프로펜 (50 µM)	309	330
Carbachol 10 ⁻³ M	나프록센 (50 µM)	296	354
LPS (10 µg/ml)	None	672	633
LPS (10 µg/ml)	아세트아미노펜 (5 µM)	428	457
LPS (10 µg/ml)	아스피린 (5 µM)	472	491
LPS (10 µg/ml)	이부프로펜 (5 µM)	417	456
LPS (10 µg/ml)	나프록센 (5 µM)	458	501
LPS (10 µg/ml)	아세트아미노펜 (50 µM)	399	509
LPS (10 µg/ml)	아스피린 (50 µM)	413	484
LPS (10 µg/ml)	이부프로펜 (50 µM)	427	466
LPS (10 µg/ml)	나프록센 (50 µM)	409	458

[0314] #데이터는 중복 실험의 평균을 나타낸다.

[0315] 진통제는 염증성 및 비-염증성 자극에 대한 정상 인간 방광 평활근 세포의 PGE2 반응을 저해한다

[0316] 상술한 COX2 반응의 유도와 일관되게, 카바콜 및 LPS 모두는 정상 인간 방광 평활근 세포에 의한 PGE2의 생성을 유도하였다. 또한, 5 μ M 또는 50 μ M 용량의 아세트아미노펜, 아스피린, 이부프로펜 및 나프록센은 LPS-유도 PGE2 반응을 억제하는 것으로 나타났다(표 7).

표 7

[0317] 인 비트로 상에서 염증성 및 비-염증성 자극으로 자극하고 진통제 처리한 인간 방광 평활근 세포에 의한 PGE2 분비

자극	진통제	PGE2 수준 [#] (pg/ml) 대상 1	PGE2 수준 (pg/ml) 대상 2
None	None	< 20.5	< 20.5
Carbachol 10 ⁻³ M	None (50 μ M)	129	104
Carbachol 10 ⁻³ M	아세트아미노펜 (50 μ M)	76	62
Carbachol 10 ⁻³ M	아스피린 (50 μ M)	89	59
Carbachol 10 ⁻³ M	이부프로펜 (50 μ M)	84	73
Carbachol 10 ⁻³ M	나프록센 (50 μ M)	77	66
LPS (10 μ g/ml)	None	1125	998
LPS (10 μ g/ml)	아세트아미노펜 (5 μ M)	817	542
LPS (10 μ g/ml)	아스피린 (5 μ M)	838	598
LPS (10 μ g/ml)	이부프로펜 (5 μ M)	824	527
LPS (10 μ g/ml)	나프록센 (5 μ M)	859	506
LPS (10 μ g/ml)	아세트아미노펜 (50 μ M)	803	540
LPS (10 μ g/ml)	아스피린 (50 μ M)	812	534
LPS (10 μ g/ml)	이부프로펜 (50 μ M)	821	501
LPS (10 μ g/ml)	나프록센 (50 μ M)	819	523

[0318] #데이터는 중복 실험의 평균을 나타낸다.

[0319] 진통제는 염증성 자극에 대한 정상 인간 방광 평활근 세포의 사이토카인 반응을 저해한다

[0320] 24 시간 배양 후 세포 및 배양 상층액의 분석 결과는, 단독 처리된 어떠한 진통제도 정상 인간 방광 평활근 세포에서 IL-6 또는 TNF α 분비를 유도하지 않은 것으로 나타났다. 표 8 및 9에 나타난 바와 같이, 카바콜은 정상 인간 방광 평활근 세포에서 약하지만, 유의한 TNF α 및 IL-6 반응을 유도하였다. 한편, LPS 처리는 이러한 전염 증성(proinflammatory) 사이토카인들의 대량 유도를 초래하였다. 아세트아미노펜, 아스피린, 이부프로펜 및 나프록센은 TNF α 및 IL-6 반응에 있어서의 카바콜 및 LPS의 효과를 억제하였다. 상기 진통제의 억제 효과는, 이러한 약물들이 5 μ M 또는 50 μ M일 때 LPS-유도 반응을 나타내었다.

표 8

[0321] 인 비트로 상에서 염증성 및 비-염증성 자극으로 자극하고 진통제 처리한 인간 방광 평활근 세포에 의한 TNF α 분비

자극	진통제	TNF α (pg/ml) [#] 대상 1	TNF α (pg/ml) 대상 2
None	None	< 5	< 5
Carbachol 10 ⁻³ M	None	350	286
Carbachol 10 ⁻³ M	아세트아미노펜 (50 μ M)	138	164
Carbachol 10 ⁻³ M	아스피린 (50 μ M)	110	142

Carbachol 10^{-3} M	이부프로펜 (50 μ M)	146	121
Carbachol 10^{-3} M	나프록센 (50 μ M)	129	137
LPS (10 μ g/ml)	None	5725	4107
LPS (10 μ g/ml)	아세트아미노펜 (5 μ M)	2338	2267
LPS (10 μ g/ml)	아스피린 (5 μ M)	2479	2187
LPS (10 μ g/ml)	이부프로펜 (5 μ M)	2733	2288
LPS (10 μ g/ml)	나프록센 (5 μ M)	2591	2215
LPS (10 μ g/ml)	아세트아미노펜 (50 μ M)	2184	2056
LPS (10 μ g/ml)	아스피린 (50 μ M)	2266	2089
LPS (10 μ g/ml)	이부프로펜 (50 μ M)	2603	1997
LPS (10 μ g/ml)	나프록센 (50 μ M)	2427	2192

[0322]

#데이터는 중복 실험의 평균을 나타낸다.

표 9

[0323]

인 비트로 상에서 염증성 및 비-염증성 자극으로 자극하고 진통제 처리한 인간 방광 평활근 세포에 의한 IL-6 분비

자극	진통제	IL-6 (pg/ml) [#] 대상 1	IL-6 (pg/ml) 대상 2
None	None	< 5	< 5
Carbachol 10^{-3} M	None	232	278
Carbachol 10^{-3} M	아세트아미노펜 (50 μ M)	119	135
Carbachol 10^{-3} M	아스피린 (50 μ M)	95	146
Carbachol 10^{-3} M	이부프로펜 (50 μ M)	107	118
Carbachol 10^{-3} M	나프록센 (50 μ M)	114	127
LPS (10 μ g/ml)	None	4838	4383
LPS (10 μ g/ml)	아세트아미노펜 (5 μ M)	2012	2308
LPS (10 μ g/ml)	아스피린 (5 μ M)	2199	2089
LPS (10 μ g/ml)	이부프로펜 (5 μ M)	2063	2173
LPS (10 μ g/ml)	나프록센 (5 μ M)	2077	2229
LPS (10 μ g/ml)	아세트아미노펜 (50 μ M)	2018	1983
LPS (10 μ g/ml)	아스피린 (50 μ M)	1987	2010
LPS (10 μ g/ml)	이부프로펜 (50 μ M)	2021	1991
LPS (10 μ g/ml)	나프록센 (50 μ M)	2102	2028

[0324]

#데이터는 중복 실험의 평균을 나타낸다.

[0325]

일차 정상 인간 방광 평활근 세포를 분리, 배양하여 비-염증성(카바콜) 및 염증성(LPS) 자극의 존재 하에서의 진통제에 대한 반응을 평가하였다. 본 실험의 목적은 정상 인간 방광 평활근 세포가 이전의 무린 방광 세포에서의 관찰 결과를 재현하는지의 여부를 확인하기 위한 것이다.

[0326]

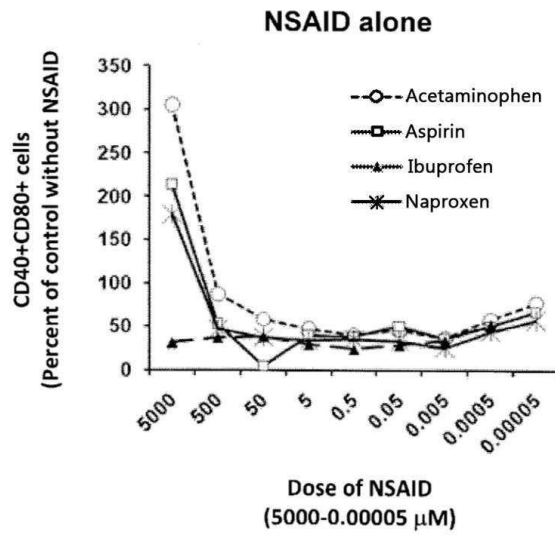
상술한 실험은 서방형(delayed-release), 또는 연장-방출형(extended-release), 또는 지연-연장-방출형(delayed-and-extended-release) 제제의 진통제 및/또는 항무스카린제로 반복될 수 있다.

[0327]

이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

도면1a



도면1b

