

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。 Int. Cl.⁷
A61K 31/195
A61P 25/32

(11) 공개번호 10-2005-0116168
(43) 공개일자 2005년12월09일

(21) 출원번호	10-2005-7022543(분할)		
(22) 출원일자	2005년11월25일		
(62) 원출원	특허10-2000-7001703		
	원출원일자 : 2000년02월19일	심사청구일자	2003년08월14일
번역문 제출일자	2005년11월25일		
(86) 국제출원번호	PCT/US1998/017082	(87) 국제공개번호	WO 1999/08671
국제출원일자	1998년08월18일	국제공개일자	1999년02월25일

(30) 우선권주장	60/056,753	1997년08월20일	미국(US)
	60/074,794	1998년02월16일	미국(US)
	60/082,936	1998년04월24일	미국(US)

(71) 출원인
위너-램버트 캄파니 엘엘씨
미국 07950 뉴저지주 모리스 플레인즈 테이버 로드 201
더 유니버시티 오브 오클라호마
미국 73104 오클라호마주 오클라호마 시티 노쓰이스트 씨턴쓰 스트리트 800 (7엔 526)

(72) 발명자
구글리에타, 안토니오
미국 48103 미시간주 앤 아버 트레고 서클 623
테일러, 찰스, 프라이스, 주니어
미국 48118 미시간주 첼시 메디슨 스트리트 405
렌, 지아유안
미국 73162 오클라호마주 오클라호마 시티 노쓰웨스트원헌드레드트웰
브스 스트리트 8301
왓슨, 더블유., 피.
영국 디에이치7 8엔에프 더램 메도우필드 스테이션 로드 9
래퍼티, 마이클, 프란시스
미국 48105 미시간주 앤 아버 톨링 릿지 코트 3711
디오프, 라우렌
프랑스 에프-91400 사클레이 발 달비앙 뒤 드 빌라 38
쇼베, 마리아
프랑스 에프-92120 몽트로귀 빌라 뒤 카드랑 솔라이어 10
부예노, 리오넬
프랑스 에프-31840 오손느 케민 라우바레드 1
리틀, 힐러리, 제이.
영국 디엘13 3엔엔 카운티 더램 햄스터레이 베드번 필드 하우스

(74) 대리인
주성민
김영

심사청구 : 있음

(54) 위장 손상의 예방 및 치료를 위한감마-아미노부티르산(GABA) 동족체

요약

GABA 동족체는 위장 손상 및 에탄올 금단 증후군의 예방 및 치료에 유용하다. 바람직한 치료법은 가바펜틴 또는 프리가발린을 이용한다.

대표도

도 1

색인어

GABA 동족체, 가바펜틴, 프리가발린, 위장 손상, 에탄올 금단 증후군

명세서

도면의 간단한 설명

도 1은 인도메타신에 의하여 유발된 위장 장애에 대한 가바펜틴의 효과를 나타낸다.

도 2는 장기간 에탄올 처리의 중지후 따른 취급 반응에 대한 가바펜틴의 효과를 나타낸다.

도 3은 장기간 에탄올 처리를 행한 동물의 기억 및 졸음에 대한 가바펜틴의 효과를 나타낸다.

도 4는 결장 이통에 대한 가바펜틴, CI-1008(프리가발린) 및 모르핀의 효과를 나타낸다.

도 5는 래트의 결장 통증 발작에 대한 가바펜틴 및 CI-1008의 효과를 나타낸다.

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 감마-아미노부티르산(GABA) 동족체를 투여함으로써 위궤양과 같은 내장 및 위장 손상의 예방 방법 및 소화 불량 및 내장 통증을 포함하는 염증성 내장 질환(IBD) 및 기능적 내장 질환(FBD)과 같은 위장 질환의 치료 방법에 관한 것이다.

비스테로이드성 소염 약물(NSAID)은 골관절염과 관련된 통증 및 다른 근골격 및 염증성 질환을 치료하기 위하여 가장 빈번하게 조제되는 약물이다. 미국에서는, 효과적인 통증 해소 및 염증성 질환의 치료를 위하여 매년 약 100 만 회의 처방전이 작성되고 있다. 통상적으로 사용되고 있는 NSAID는 설린단, 나프록센, 인도메타신, 메페남산, 디클로페낙, 페노프로펜 및 디플루니살을 포함한다.

그러나, 상당한 증거들이 NSAID가 빈번하게 심각하고 고비용이 소요되는 위장 관 독성 부작용을 갖는다는 사실을 지시하고 있다. 이들은 경증 소화불량, 위염, 소화성 궤양 질환 뿐만 아니라, 출혈 및 천공과 같은 보다 심각한 위장 합병증을 포함하여, 때때로 현저한 질병을 및 보다 덜한 정도의 치사율을 가져온다. NSAID의 사용에 기인한 심각한 GI 합병증은 연결 조직 질환, 제1기 다음의 질환 및 이의 합병증을 앓고 있는 환자의 생명에 최고의 위험을 나타낸다. 유사한 위장 손상은 알코올의 섭취에 기인한다. 실제로, 에탄올 금단 증후군으로 공지되어 있는 증상은 통상적으로 장기간의 에탄올 소비가 중단되었을 때 발생하게 된다. 위장 손상에 부가하여, 이 증후군은 종종 떨림, 흥분, 경련, 환각 및 혼란을 가져온다.

통상적으로 겪게되는 다른 위장 질환은 소화불량을 포함하는 염증성 내장 질환(IBD) 및 기능성 내장 질환(FBD)를 포함한다. 이들 GI 질환은 크론(Crohn) 질환, 회장염, 허혈성 내장 질환, 및 궤양성 대장염 뿐만 아니라, IBD, 과민성 내장 증후군, 소화불량, 및 FBD에 대한 위-식도 환류 및 다른 형태의 내장 통증을 포함하는, 최근에는 단지 중간정도로만 조절되는 광범위한 질병 상태를 포함한다.

감마-아미노부티르산은 위장의 구심성 신경을 활성화 시킨다고 나타나고 있으며, 이는 위장의 방어 메커니즘에 관여하는 것으로도 나타나고 있다. 본 발명자들은 GABA 동족체가 약물 및 알콜에 기인한 위장 손상을 극적으로 감소시킨다는 사실을 발견하였다. 또한, GABA 동족체는 에탄올 금단 증후군으로부터 나타나는 증상, 및 IBD 및 IBS로 특징지어지는 GI 질환을 치료한다.

본 발명에 따라 위장 손상을 예방하고, UBD, IBS 및 알콜중독을 치료한 것은 오직 유효량의 GABA 동족체를 환자에서 투여하는 것이다.

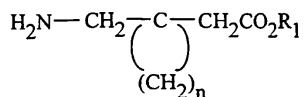
몇가지의 GABA 동족체가 공지되어 있다. 환형 GABA 동족체인 가바펜틴이 현재 상업적으로 시판되고 있으며, 간질 및 신경병성 통증의 치료를 위하여 임상적으로 광범위하게 사용되고 있다. 상기의 화합물은 미국 특허 제4,024,175호에 기술되어 있다. 항발작제인 또다른 군의 GABA 동족체가 미국 특허 제5,563,175호에 기술되어 있다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

<발명의 요약>

본 발명은 치료를 필요로하는 환자에게 유효량의 GABA 동족체를 투여하는 것을 포함하는 위장 손상 및 질환의 예방 및 치료 방법을 제공한다. 바람직한 실시 태양은 화학식 (I)의 환형 아미노산 화합물 및 그의 약제학적으로 허용가능한 염을 이용한다.

<화학식 I>



상기 식에서,

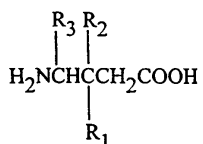
R₁은 수소 또는 저급 알킬이고,

n은 4 내지 6의 정수이다.

특히 바람직한 실시 태양은 R₁이 수소이고, n이 5인 화학식 (I)의 화합물, 즉, 일반적으로 가바펜틴으로 공지되어 있는 1-(아미노메틸)-시클로헥산 아세트산을 이용한다. 다른 바람직한 GABA 동족체는 환형 고리가, 예를 들어, 메틸 또는 에틸과 같은 알킬로 치환된 화학식 (I)을 갖는다. 전형적인 화합물은 (1-아미노메틸-3-메틸시클로헥실)아세트산, (1-아미노메틸-3-메틸시클로펜틸)아세트산, 및 (1-아미노메틸-3,4-디메틸시클로펜틸)아세트산을 포함한다.

또다른 실시 태양에 있어서, 본 발명의 방법은 화학식 (II)의 GABA 동족체 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염을 이용한다.

<화학식 II>



상기 식에서,

R_1 은 탄소수 1 내지 6의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 페닐, 또는 탄소수 3 내지 6의 시클로알킬이고,

R_2 는 수소 또는 메틸이고,

R_3 는 수소, 메틸 또는 카르복실이다.

화학식 (II) 화합물의 부분 입체 이성질체 및 거울상 이성질체를 본 발명에 이용할 수 있다.

본 발명의 특히 바람직한 방법은 (R), (S) 또는 (R,S) 이성질체로서 R_2 및 R_3 가 각각 수소이고, R_1 이 $-(CH_2)_{0-2}-iC_4H_9$ 인 화학식 (II)의 화합물을 이용한다.

본 발명의 보다 바람직한 실시 태양은 특히 현재 일반적으로 프리가발린 뿐만 아니라 CI-1008으로 알려져 있는 3-아미노메틸-5-메틸-헥산산을 이용하고, (S)-3-(아미노메틸)-5-메틸헥산산을 이용한다. 또다른 바람직한 화합물은 3-(1-아미노에틸)-5-메틸헥산산이다.

또한, 본 발명은 소염량의 NSAID 및 세포보호량의 GABA 동족체를 포함하는 조성물을 제공한다.

발명의 구성 및 작용

상기에서 지시한 바와 같이, 본 발명의 방법은 임의의 GABA 동족체를 이용한다. GABA 동족체는 감마-아미노부티르산으로 유래되거나, 이를 기재로 한 임의의 화합물이다. 이 화합물은 상업적으로 또는 유기 화학 업계의 당업자에게 공지되어 있는 합성 방법으로 손쉽게 입수할 수 있다. 본 발명의 방법에 이용되는 바람직한 GABA 동족체는 화학식 (I)의 환형 아미노산이다. 이들은 미국 특허 제4,024,175호에 기술되어 있고, 이는 본 명세서에 참고 문헌으로 포함되어 있다. 또다른 바람직한 방법은 화학식 (II)의 GABA 동족체를 이용하고, 이들은 미국 특허 제5,563,175호에 기술되어 있으며, 이는 본 명세서에 참고 문헌으로 포함되어 있다.

GABA 동족체를 손상 증상을 예방 또는 치료하는데, 즉, NSAID 또는 알콜의 효과에 대적하거나, IBD 및 IBS를 조절하는데 유효량으로 투여하는 것이 본 발명의 위장 손상 및 질환의 예방 및 치료 방법을 실시하는데 필요하다. 본 발명은 에탄올 급단 증후군 및 일반적인 알콜중독증의 치료 방법을 포함한다. 사용되는 유효량의 GABA 동족체는 일반적으로 환자의 체중 kg 당 약 1 내지 약 300 mg일 것이다. 전형적인 투여량은 통상적인 체중의 성인 환자에 대하여 일 당 약 10 내지 약 5,000 mg이 될 것이다.

NSAID 사용에 기인하는 전형적인 "위장 손상" 증상은 소화불량, 위염, 소화성 궤양 뿐만 아니라, 보다 적은 위장 출혈 및 천공을 포함한다. 에탄올 급단 증후군의 또다른 효과는 떨림, 흥분 및 경련을 포함한다. 전형적인 IBD 증상은 회장염, 궤양성 대장염, 및 크론(Crohn) 질환을 포함한다.

본 발명 화합물의 약제학적 조성물 또는 그의 염은 단위 투여 형태의 활성 화합물과 약제학적 담체를 배합하여 제조된다. 단위 투여 형태의 몇가지 예는 정제, 캡슐, 환제, 분말, 수성 및 비수성 경구 용액 및 현탁액, 및 단독 또는 다소 더 많은 수의 투여 단위를 함유하는 용기내에 포장되어 개별 투여량으로 분할될 수 있는 비경구용 용액이다. 약제학적 희석제를 포함하는 적절한 약제학적 담체의 몇가지 예는 젤라틴 캡슐; 락토스 및 슈크로스와 같은 당; 옥수수 전분 및 감자 전분과 같은 전분; 나트륨 카르복시메틸 셀룰로오스, 에틸 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스 및 셀룰로오스 아세테이트 프탈레이트와 같은 셀룰로오스 유도체; 젤라틴; 활석; 스테아르산; 스테아르산 마그네슘; 땅콩 오일, 면실유, 참기름, 올리브 오일, 옥수수 오일 및 테오브로마의 오일과 같은 식물성 오일; 프로필렌 글리콜, 글리세린; 소르비톨; 폴리에틸렌 글리콜; 물; 아가; 알긴산; 이소톤 염수, 및 인산염 완충 용액; 뿐만아니라, 약제학적 제제에 통상적으로 사용되는 다른 상용가능 물질이다. 또한, 본 발명이 조성물은 착색제, 향미제, 및(또는) 방부제와 같은 다른 성분을 함유할 수 있다. 이들 물질은, 존재하는 경우, 통상적으로 비교적 소량으로 사용될 수 있다. 조성물은, 바람직한 경우, 다른 치료제를 함유할 수도 있다. NSAID의 위장 효과에 대적하는데 사용하기 위하여, GABA 동족체는 단위 투여 형태로서 단독으로 투여되거나, 또는 NSAID와 조합하여 특정 환자를 위하여 이용될 수 있다.

상기 조성물의 활성 성분 비율(%)은 광범위한 범위내에서 다양할 수 있으나, 특정 목적을 위하여, 고체 조성물중에 10 % 이상 및 주요 액체 조성물중에서 2 % 이상의 농도로 존재하는 것이 바람직하다. 가장 만족스러운 조성물은 보다 큰 비율의 활성 성분이, 예를 들어, 10 내지 90 중량 %로 존재하는 것들이다.

본 발명 화합물 또는 그의 염의 투여 경로는 경구 또는 비경구이다. 예를 들어, 유용한 정맥내 투여량은 5 내지 50 mg이고, 유용한 경구 투여량은 20 내지 800 mg이다. 투여량은 궤양 및 IBS와 같은 위장 질환의 치료에 사용되는 투여 범위내이거나, 의사에 의하여 처방된 바와 같은 환자의 필요량에 의하여 지시된 바와 같을 수 있다.

본 발명에 사용되는 GABA 동족체의 단위 투여 형태는 위장 질환의 치료에 유용한 다른 화합물을 포함할 수도 있다.

본 발명에서 화학식 (I) 및 (II)의 화합물, 특히, 가바펜틴 및 프리가발린이 이용되는 잇점은 화합물의 비교적 비독성적 특성, 손쉬운 제제화, 이 화합물의 내성이 매우 양호하다는 사실, 및 약물의 IV 및 경구 투여의 용이성을 포함한다. 또한, 약물은 체내에서 임의의 과량까지 대사되지 않는다.

본 명세서에서 사용된 바와 같은 환자는 사람을 포함하는 포유류이다.

또한 본 발명은 NSAID(non-steroidal anti-inflammatory drug : 비스테로이드성 소염성 약물) 및 GABA 동족체를 포함하는 조성물을 제공한다. NSAID는 소염량, 바람직하게는 통상적으로 사용되는 되는 양보다 다소 적은 양으로 존재할 것이고, GABA 동족체는 세포 보호량, 즉 NSAID에 의하여 유발된 위장 손상을 예방 및 감소시키는데 유효량으로 존재할 것이다. 일반적으로, NSAID는 약 10 내지 약 500 mg의 투여량으로 존재할 것이고, GABA 동족체는 약 1 내지 약 1,500 mg의 양으로 존재할 것이다. 임의의 NSAID는 본 발명에 따른 임의의 GABA 동족체와 조합될 수 있다. 이용되는 바람직한 GABA 동족체는 화학식 (I) 및 (II)의 화합물, 특히, 가바펜틴 및 프리가발린이다. 조성물중에 이용되는 바람직한 NSAID는 셀린락, 나프록센, 인도메타신, 메페남산, 디클로페낙, 페노프로펜, 디플루니살, 에토돌락, 이부프로펜, 피록시캄, 아세틸 살리실산, 옥사프로진, 및 브로페낙을 포함한다. 사용되는 대부분의 NSAID는 일반적으로 칼슘, 나트륨 또는 칼륨과 같은 염으로서 상업적으로 시판되고 있으며, 예를 들어, 펜스프로펜 칼슘 및 브로페낙 나트륨이 있다. 특히 바람직한 조합은 프리가발린 또는 가바펜틴과 나프록센 나트륨 또는 이부프로펜이다. 조성물은 상기에 기술한 바와 같은 통상적인 약제학적 부형제를 함유할 수 있다.

본 발명에 따른 GABA 동족체의 위장 질환의 치료능은 유도된 위장 장애 및 알콜 중독의 몇가지 동물 모델중에서 입증되었다.

<실시예 1>

동물중에서 가바펜틴을 평가하여 인도메타신에 의하여 다른 방법으로 유발된 위장 장애의 예방 능력을 측정하였다.

체중 240 내지 250 g의 수컷 스프라귀-다우레이(Sprague-Dawley) 래트를 24 시간 동안 금식시키고, 실험전에 물에 자유롭게 접근하게 하였다. 모든 시험 약물을 위장내로 투여하였다. 40 내지 60 mg의 상이한 투여량의 가바펜틴으로 래트를 전처리하였다. 30 분 후, 인도메타신(25 mg/kg)을 투여하였다. 또다른 군의 래트에는 가바펜틴 10 mg을 3 시간 간격으로 2 회 투여한 후, 인도메타신을 투여하였다. 인도메타신으로 처리한지 3 시간 후, 래트를 살상하고, 위장 장애를 평가하였다. 가시적 장애의 평방 면적(mm²)을 측정하여 장애의 심각성을 측정하였다.

결과

1. 인도메타신은 심각한 위장 출혈 상해를 유발시켰다; 상해 면적은 $42.6 \pm 5.2 \text{ mm}^2$ (평균, \pm 평균의 표준 편차)으로 측정되었다.
2. 가바펜틴 전처리는 인도메타신-유도 위장 상해를 현저하게 감소시켰다. 상이한 가바펜틴 투여량으로 전처리한 후, 인도메타신으로 처리한 위장 장애는 40 mg으로 처리한 경우 $22.3 \pm 2.8 \text{ mm}^2$, 60 mg/kg으로 처리한 경우 $16.5 \pm 2.2 \text{ mm}^2$, 및 10 mg으로 2 회 처리한 경우 $4.2 \pm 0.39 \text{ mm}^2$ 이었다.
3. 가바펜틴 전처리 또한 위장 출혈을 현저하게 감소시켰다.

상기의 데이터를 도 1에 나타내었고, 여기서, 제1 바는 대조군(인도메타신 단독으로 처리한 동물)이고, 제2 바는 가바펜틴 40 mg의 1 회 투여량으로 처리한 동물에 대한 것이고, 제3 바는 가바펜틴 60 mg으로 1 회 투여한 동물에 대한 것이고, 제 4 바는 가바펜틴 10 mg으로 2 회 처리한 동물에 대한 것이다.

<실시예 2>

에탄올-유도 위장 장애에 대한 가바펜틴의 효과를 측정하기 위하여, 래트를 70 % 수성 에탄올(v/v) 1 mL로 전처리한 후, 각 40 및 60 mg 투여량으로 가바펜틴을 투여하였다. 또다른 군의 래트를 가바펜틴 20 mg으로 3 시간 간격으로 2 회 처리한 후, 에탄올을 투여하였다. 30 분 후, 모든 래트를 살상하고, 위장 장애를 분석하였다.

결과

1. 70 % 에탄올이 현저한 위장 상해를 유발시켰다. 상해 면적은 $41.9 \pm 3.7 \text{ mm}^2$ 으로 측정되었다.
2. 가바펜틴 전처리는 에탄올-유도 위장 상해를 감소시켰다. 20 mg의 가바펜틴 2 회 투여량으로 전처리함으로써, 상해 면적은 $2.1 \pm 0.3 \text{ mm}^2$ 으로 측정되었다. 가바펜틴 40 및 60 mg을 사용한 전처리에 있어서, 상해 영역은 각각 $24.4 \pm 3.5 \text{ mm}^2$ 및 $18.7 \pm 2.2 \text{ mm}^2$ 으로 측정되었다.

<실시예 3>

하기의 래트에 대한 실험을 수행하여 NSAID에 의하여 유발된 위장 손상을 감소시키기 위한 가바펜틴 및 프리가발린의 능력을 추가로 입증하였다.

동물:

수컷 CD-스프라귀-다우레이 래트(132-202 g)를 수용하고, 온도, 습도, 및 12 시간 명/암 주기가 조절되는 방에서 사육하였다. 4 내지 5 일 동안 적응시키고, 24 시간 동안 금식 시킨 후, 이 동물을 하기에 기술한 연구에 사용하였다.

GABA 동족체 및 인도메타신의 투여:

가바펜틴 또는 프리가발린(CI-1008)을 물에 용해시키고, 1 mL의 부피중에 1, 10, 100 및 200 mg/kg의 투여량으로 경구 투여하였다. 대조 동물에 동일한 부피의 비히클(물 1 mL)을 투여하였다. 60 분 후, 모든 동물에 5 % 수성 NaHCO_3 (80 mg/kg)에 용해되어 있는 인도메타신 용액 1 mL를 투여시켰다. 대조 동물에 5 % 수성 NaHCO_3 1 mL를 경구 투여하였다. 실험군은 하기와 같다:

군	전처리	손상제
1	물	없음(NaHCO_3)
2	물	인도메타신 80 mg/kg
3	가바펜틴 1 mg/kg	인도메타신 80 mg/kg
4	가바펜틴 10 mg/kg	인도메타신 80 mg/kg
5	가바펜틴 100 mg/kg	인도메타신 80 mg/kg
6	가바펜틴 200 mg/kg	인도메타신 80 mg/kg
7	프리가발린 1 mg/kg	인도메타신 80 mg/kg
8	프리가발린 10 mg/kg	인도메타신 80 mg/kg
9	프리가발린 100 mg/kg	인도메타신 80 mg/kg
10	프리가발린 200 mg/kg	인도메타신 80 mg/kg

효과의 평가:

인도메타신에 의하여 유발된 위장 손상은 시클로옥시게나제 생성물 프로스타글란딘 E_2 (PGE_2)의 억제와 관련이 있다. 인도메타신을 투여한지 4 시간 후, 동물을 목베어 살상하였다. 복부를 제거하고, 보다 큰 곡물로 개방하고, 그의 이미지를 디

지탈화시키고, CUE3 시스템 영상 분석 소프트웨어[올림퍼스 코퍼레이션(Olympus Corp.) 미국 조지아주 마리에타 소재]를 장착한 486 PC를 사용하여 광학 디스크에 저장하였다. 2 개의 6 mm 생체 검사용 조직을 위의 선형 부분의 각 측면에 위치한 위장 점막의 불변 구역으로부터 취하고, 그들의 PGE₂ 함량을 상업적으로 시판되는 ELISA 키트[에세이 디자인스 인크(Essay Desigms Inc.), 미국 미시간주 앤 알보 소재]를 사용하여 측정하였다. 재생시킨 전자 영상을 사용하여 위장 손상의 존재를 측정하고, 손상의 정도를 CUE3 영상 소프트웨어를 사용하여 측정하였다. 데이터를 손상된 위장 면적 및 PGE₂ 함량(pg/mL)의 %로서 나타내었다. 데이터를 하기의 표 1에 나타내었다.

<표 1>

화합물	약물 투여량	N	손상된 면적 %	PGE ₂ 합성 (pg/mL)
대조군	NA	10	0.00±0.00*	9525.27±156.00*
인도메타신+비허클	NA	9	5.56±0.48	1908.03±72.31
인도메타신+가바펜틴	1 mg/kg	5	2.99±0.46	1783.66±73.47
인도메타신+가바펜틴	10 mg/kg	9	3.96±0.35	3065.78±137.19
인도메타신+가바펜틴	100 mg/kg	10	1.87±0.1	2997.90±226.80
인도메타신+가바펜틴	200 mg/kg	5	1.43±0.40	2615.74±165.36
인도메타신+CI-1008	1 mg/kg	4	8.07±2.19	1209.95±105.50
인도메타신+CI-1008	10 mg/kg	10	4.07±0.42	2666.16±307.45
인도메타신+CI-1008	100 mg/kg	10	1.99±0.25*	3994.45±318.95
인도메타신+CI-1008	200 mg/kg	5	0.34±0.06*	3288.92±407.43

수치는 평균±표준 편차이다.
* p<0.05는 크루스칼-월리스(Kruskal-Wallis) 원-웨이 변수 분석에 이은 던(Dunn) 시험을 기준으로 하고, 인도메타신 군과 비교하였다.

가바펜틴 및 CI-1008 각각은 인도메타신에 의하여 유발된 위장 손상의 양을 감소시켰고, CI-1008의 경우에 있어서는, 100 내지 200 mg/kg의 투여량으로 통계적 현저성에 도달하였다.

예상한 바와 같이, 인도메타신에 의하여 유발된 위장 손상은 시클로옥시게나제 생성물 PGE₂의 현저한 억제와 관련이 있었다. 가바펜틴 또는 CI-1008 중 어느 것도 시험된 어떠한 투여량에서 이 효과를 현저하게 개선시킬 수 없었다. 이 데이터는 CI-1008에 의하여 유발된 인도메타신-유도 위장 손상의 현저한 감소가 시클로옥시게나아제 효소에 대한 이 GABA 동족체의 효과와 관련이 없다는 사실을 제시한다.

상기의 데이터는 가바펜틴 및 프리가발린과 같은 GABA 동족체가 위장 장애, 소화성 궤양과 같은 위장 손상을 방지하고, 알콜 또는 NSAIDs의 소비에 의하여 다른 방법으로 유발된 위장 출혈을 보다 감소시키는데 효과적이라는 사실을 입증한다. GABA 동족체는 또한 떨림, 환상, 및 혼란에 의하여 특징지워지는 증후군인 알콜 금단의 효과 및 IBD 및 IBS와 같은 일반적인 위장 장애를 치료한다.

하기의 시험은 GABA 동족체가 에탄올 금단 증후군의 치료에 유용하다는 사실을 입증한다.

<실시예 4>

모든 연구에 외부 사육된 TO 혈통의 수컷 알비노 마우스[밴틴 앤드 킹맨(Bantin and Kingman), 영국]을 사용하였다. 이들의 체중 범위는 25 내지 35 g이었고, 임의의 단일 실험에서도 5 g 범위를 넘지 않았다. 21±1 °C, 55±10% 상대 습도, 및 09:00에서 21:00까지 조명을 실시하여 12 시간의 명/암 주기로 우리 당 8 마리의 마우스를 사육하였다. 모든 마우스를 실험에 이용할 때까지 또는 이들의 식사를 액체 식사로 대체할 때까지 수돗물 및 표준 실험실 식사[RM-1, 스페셜 다이어트 서비스(Special Diet Services), 영국]에 임의로 접근시켰다.

물리적 의존성의 유도:

에탄올을 액체 식단에 투여하였다. 모든 마우스에게 초기 2 일의 기간 동안 대조 식사를 제공하였다. 이어서, 에탄올 처리된 마우스에 3.5 %(v/v) 에탄올/물을 함유하는 식사를 2 일 동안 제공한 후, 추가로 5 일 동안 7 % 에탄올을 함유하는 식사를 제공하였다. 평균 섭취량은 일 당 22 내지 30 g/kg이었다. 대조군에 에탄올 함유 식사를 등일발생적으로 맞추기 위하여 균형맞춘 대조 식사를 한벌로 공급하였다. 처리 주기의 종료시에 에탄올 처리된 마우스와 대조 마우스의 체중에는 차이가 없었다. 마우스에 에탄올 투여를 중지하였을 때(오전 07:00 및 오전 09:00), 이들을 실험에 이용할 때까지 수돗물을 제공하였다.

약물 처리:

가바펜틴을 염수에 용해시키고, 매 시험일 마다 이 용액을 새로이 만들었다. 취급 반응에 대한 연구시에 에탄올 금단 즉시 및 고주파음에 의한 발작을 측정하기 2 시간 전에 가바펜틴 10 mL/kg 또는 염수를 복막내(i.p.) 주사하였다. 표준 상승된 플러스 메이즈(plus maze)를 사용하는 실험에 있어서, 가바펜틴 또는 염수를 에탄올 식사를 제거한 지 8 시간 후에 복막내로 주사하였고, 주사한지 60 분 후 마우스를 플러스 메이즈상에 놓았다. 운동성 공동 작용(운동 실조) 및 운동 활성화에 대한 연구에 있어서, 가바펜틴 또는 염수를 에탄올 없는 식사를 공급한 마우스에 시험 직전에 주사하였다. 이어서, 60 분 동안 운동 실조 연구를 위한 측정을 수행하였고, 30 분 동안 운동 활성화의 경우를 위한 측정을 수행하였다.

취급-유도 거동의 측정:

오전 09:00에 에탄올 처리를 중지한 후, 취급-유도 거동의 등급을 에탄올의 투여를 중지한 후 12 시간 동안 매 시간 동일한 마우스에 대하여 동일한 실험 장치에 의하여 분석하였다. 숫자 등급은 하기 표 2에 나타난 바와 같이 정의된다.

<표 2>

온화한 취급 동안의 거동 등급

1 이동 및 회전시에 부드러운 떨림
2 이동 및 회전시에 연속적이고 심각한 떨림
3 이동시에 간대성 앞다리 신근 경련
4 이동시에 간대성 앞다리 신근 경련(마우스를 우리 상부에 놓은 후에 지속됨)
5 (4)에 이은 근육 경련성 활성화의 자발적인 증거

60-와트 전구를 장착한 "앵글포이즈 램프" 밑에 30 cm에서 각 마우스의 꼬리를 부드럽게 들어올리고, 3 초 동안 유지하였다. 동물을 부드럽게 회전시키고, 그의 계속되는 거동을 표 2의 기준에 따라 1 내지 5의 등급으로 평가하였다. 15 마리의 마우스 군을 각 처리 군에 사용하고, 데이터를 4 분위내의 범위를 사용하여 평균값으로서 계산하였다. 또한, 데이터를 에탄올 처리를 중지한 때로부터 4 및 12 시간에서의 곡선 밑의 면적으로 나타내었다. 결과를 도 2에 나타내었다.

고주파음에 의한 발작의 유발:

에탄올 금단으로부터 8 및 12 시간에서, 음향-유도 경련에 대한 민감성을 개별적인 10 마리의 마우스 군에서 측정하였다. 마우스를 전기 도어-벨을 장착한 30×30×30 cm 방음 방풍 유리 상자에서 개별적으로 시험하였다. 벨을 2 분 동안 또는 경련의 1 차 신호가 있을 때까지 울렸다. 광폭하게 날뛰는 반응을 하는 마우스의 수 및 간대성 경련을 일으킨 마우스의 수를 계수하였다. 최고의 경련이 관찰되자마자 마우스를 인력으로 살상하였다.

홍분-관련 거동:

오전 07:00에 마우스에 에탄올 식사를 중지시키고, 8 시간 후 쥐의 상승된 플러스 메이즈를 사용하여 홍분-관련 거동을 시험하였다. 방풍 유리는 중심 플랫폼(5×5 cm)으로부터 연장된 2 개의 대향하는 개방 암(30×5×0.25 cm) 및 2 개의 대향하는 밀폐 암(30×5×15 cm)을 갖추었다. 바닥은 흑색 방풍 유리 매트였다. 동물을 실험 1 시간 전에 실험실에 적응시켰다. 흐릿한 적색광하에서 실험을 수행하고, 각 5 분 회기 동안 처리전에 알지 못하는 옹저버에 의해 나중에 분석하기 위해 비디오로 촬영하였다. 이 분석[옹저버 3.0, 놀더스 인포메이션 테크놀로지(Noldus Information Technology), 네델란드 바게닝겐 소재] 동안 메이즈의 각 암상에 대하여 소비된 시간, 각 암상으로 도입되는 수 및 사육 활성을 측정하였다. 표 3의 정의에 따라 측정하였다.

<표 3>

상승된 플러스 메이즈에 대한 거동의 측정

○ 암 도입 = 밀폐 또는 개방 암상으로 네개 발 모두
○ "헤드 덤" = 개방암의 측면 위 및 바닥을 향한 탐지를 위한 머리/어깨의 전방향 이동
○ "보호된 헤드 덤" = 밀폐 암의 측면 위 및 바닥을 향한 탐지를 위한 머리/어깨의 전방향 이동

○ "스트레칭-수반 자세" = 마우스가 전방향으로 스트레칭된 후 전방향 이동 없이 원 위치로 되돌아오는 탐지를 위한 납작 엎드린 자세

운동 실조 행동의 측정:

가바펜틴의 가능한 운동 실조 효과를 회전막대 방식에 의하여 대조 동물(즉, 에탄올로 처리되지 않은)에 대하여 연구하였다. 마우스를 4.5 rpm으로 회전하는 막대상에 놓고, 이들이 막대상에 남아 있는 시간을 자동적으로 측정하였다. 모든 시험에서 180 초의 마감 시간을 사용하였다. 단기간 약물 주사 전에, 모든 마우스를 회전 막대상에서 시험하여 이들이 180 초 동안 남아있음을 확인하였다(매우 작은 수가 남아있지 않았고, 이들은 연구에서 배제하였음). 시험하에서 단기간 약물의 투여 후 60 분 동안 10 분 간격으로 측정하였다. 8 마리의 마우스를 각 처리 군에서 사용하였다

운동 활성:

대조 동물에 있어 가바펜틴의 효과를 운동 활성에 대하여 시험하여 금단 연구에 있어 효과의 선택성을 측정하였다. 마우스에 가바펜틴 용액 또는 살린을 주사하고, 즉시 적외선 빔이 교차하는 활성 시험용 우리에 넣었다. 적외선 빔 차단 수를 30 분 동안 매 5 분 마다 측정하였다. 우리 바닥으로부터 4 cm 위에 위치한 유사한 구성의 적외선 빔에 의하여 사육 활성을 측정하였다.

통계적 분석:

취급 반응 평가의 결과를 동일한 동물에 대한 측정을 반복하기 위하여 디자인된 비모수 투-웨이 변수 분석에 의하여 비교하였다. 곡선 밑의 면적 계산의 결과를 만-휘트니 U-시험(Mann-Whitney U-test)에 의하여 비교하였다. 경련 발생율을 피셔(Fisher)의 정밀 확률 시험에 의하여 분석하였다. 상승된 플러스 메이즈로부터의 측정값을 원-웨이 변수 분석 후, 보누페로니(Bonferroni) 병렬 비교 시험하고, 모든 군을 살린을 주사한 대조군과 비교하고, 또한 각각 가바펜틴을 주사한 에탄올 처리된 군과 살린을 주사한 에탄올 처리된 군을 비교하였다. 운동 소실 측정값을 만-휘트니 U-시험으로 분석하고, 스튜던츠 t-시험으로 운동 활성을 분석하였다.

결과

취급 반응:

온화한 취급에 대한 거동시의 등급은 에탄올 처리의 중지 후 예견된 증가를 나타내었다. 결과를 12 시간 시험 주기($p < 0.001$)에 걸쳐 비교한 결과 가바펜틴(GP) 100 mg/kg(도 2 a)이 이러한 등급의 증가를 현저하게 감소시켰다. 이러한 가바펜틴 투여량의 효과는 약 4 시간 동안의 처리 스코어를 현저하게 감소시켰음을 나타낸다. 따라서, 이 시간 주기를 약물의 각 투여량을 사용한 처리 곡선 밑의 면적을 조사하기 위한 나중의 분석에 사용하였다. 보다 적은 가바펜틴 투여량의 효과는 12 시간의 측정 주기에 걸쳐 현저하지 않았으나, 곡선 밑의 면적이 최초 4 시간의 연구 동안 계산되었을 때, 20- 및 50-mg/kg($p < 0.05$) 투여량 뿐만 아니라 100-mg/kg($p < 0.01$)의 현저한 효과가 나타났다.

고주파음에 의한 발작:

8 시간의 시간 간격으로, 고주파음 자극 후, 50 및 100 mg/kg의 가바펜틴이 경련 발생을 감소시킨 동시에, 100-mg/kg의 투여량이 통계적 현저성($p < 0.05$)에 도달하였다. 보다 적은 투여량에서는 효과가 없었다(표 4). 에탄올 처리의 종료로부터 12 시간에서 시험한 임의의 투여량에 대한 효과는 발견되지 않았다(데이터 나타내지 않음)

<표 4>

에탄올 금단한지 8 시간 후 측정된 고주파음에 의한 경련에 대한 가바펜틴의 효과

장기간 처리	단기간 주사	간대성 경련을 나타내는 군의 %
대조 식사	염수	0
에탄올 식사	염수	80* $p < 0.05$ c.f. 대조군/염수군
에탄올 식사	가바펜틴 5 mg/kg	92
에탄올 식사	가바펜틴 20 mg/kg	70
에탄올 식사	가바펜틴 50 mg/kg	40

에탄올 식사	가바펜틴 100 mg/kg	30* p<0.01 c. f. 에탄올/염수군
--------	----------------	--------------------------

상승된 플러스 메이즈:

이 시험에 있어서 에탄올 금단의 가장 두드러진 효과는 메이즈의 개방 암에 대한 시간 소비 %의 감소이다[도 3a, $F(4.50)=5.12$, $p<0.002$]. 가바펜틴은 각각 50 및 100 mg/kg에서 이 효과를 감소시켰다. p 값은 각각의 경우 염수 투여와 비교하여 50-mg/kg 투여량에 대하여는 $p<0.05$ 이고, 100 mg/kg의 투여량에 대하여는 $p<0.01$ 였다.

또한, 에탄올 금단을 겪은 마우스는 밀폐 암으로부터 헤드 딥의 현저한 증가를 나타내었다(보호된 헤드 딥). 이 효과는 도 3b에 예시한 바와 같이 [$F(4.50)=6.53$, $p<0.001$] 가바펜틴 100 mg/kg에 의하여 현저하게 감소되었다(염수의 효과와 비교하여 $p<0.01$). 대조 동물에 있어서, 보호된 헤드 딥의 수는 가바펜틴 100 mg/kg에 의하여 현저하게 감소되었다(염수 투여 후, 대조 값과 비교하여 $p<0.05$). 가바펜틴의 투여 후 개방 암에 대한 평균 시간이 대조 동물에 있어서 증가함에도 불구하고, 염수를 투여한 대조군과는 현저하게 차이나지 않았다.

<실시예 5>

LPS-결장 과민감성 분석:

GABA 동족체를 IBD 및 IBS로 특징지워지는 위장 질환을 조절하고 치료하는 능력에 대하여도 평가하였다. GABA 동족체를 평가하기 위하여 이용한 분석으로 래트중의 리포폴리사카라이드-유도 지연된 직장 이통에 대한 화합물의 효과를 측정하였다. 엔도톡신 리포폴리사카라이드(LPS)의 복막내(IP) 주사는 체강 통증 모델중의 장기간 지속되는 통각과민을 유도한다고 공지되어 있다. 하기의 분석 LPS-결장 과민감성 분석은 직장 팽창의 실험 모델중의 통증 발작에 대한 LPS의 IP 주사의 효과를 평가하기 위하여 디자인되었다.

동물 준비:

표준 기술에 따라 체중 250 내지 350 g의 수컷 위스타 래트를 전자근운동기록용으로 외과적으로 준비하였다. 래트에 아세프로마진 및 케타민(Imalgene 1000, Rhoene-Merieux, Lyon, France) 각 0.6 및 120 mg/kg을 주사하여 마취시켰다. 2 개 군의 니크롬 철사(60 cm 길이 및 80 μ m 직경)의 4 개의 전극을 서혜부 인대 바로위의 복부 외부 비스듬한 근육 조직중의 양쪽에 이식하였다. 전극을 목의 뒷부분에서 외면화시키고, 피부에 부착된 유리 튜브에 의하여 보호하였다. 동물을 개별적으로 폴리프로필렌 우리에서 사육하고, 온도 조절된 방(21 °C)에서 유지하였다. 이들이 물 및 음식에 자유롭게 접근할 수 있도록 하였다(UAR 펠렛, Epinay, France).

전자 근운동 기록:

수술 한지 5 일 후 전자근운동 기록을 시작하였다. 복부 가로무늬근의 전자적 활성을 저주파수 신호(<3 Hz) 및 3.6 cm/분의 종이 속도를 제거하기 위하여 숏-타임 정수(0.03 초)를 사용하는 전자 근운동 기록기(Mini VIII, Alvar, Paris, France)를 사용하여 기록하였다.

풍선 팽창 과정:

풍선의 손상을 방지하기 위하여 래트를 이들이 이동하거나, 빠져나가거나, 돌아갈 수 없는 플라스틱 터널(6 cm 직경, 25 cm 길이)에 놓았다. 직장 팽창(RD) 전 3 또는 4 일 동안 이들이 이 공정에 익숙해지도록 하여 실험 동안 스트레스 반응을 최소화하였다. 동물이 플라스틱 터널에 익숙해졌는지를 2 개의 카테고리, (i) 행동 성분(동물이 5 분 당 1 회 이하로 빠져나가려거나 돌아가려는 시도를 할 때), (ii) 복부 기부 활성(복부 가로무늬근이 팽창없이 5 분 당 5 회 미만으로 복부 위축할 때)를 사용하여 측정하였다. 팽창을 위하여 사용된 풍선은 동맥 색전적출 카테테르(Fogarty, Edwards Laboratories, Inc., Santa Ana, USA) 였다. 항문으로부터 1 cm에서 직장에 풍선(2-mm 직경, 2-cm 길이)을 삽입하여 직장 팽창(RD)를 수행하고, 카테테르를 꼬리에 고정하였다. 이를 0에서 1.6 mL까지 0.4 mL 단계로, 각 단계를 5 분 간 지속하면서 점진적으로 팽창시켰다. 가능한 누출을 감지하기 위하여, 팽창 기간의 종료시에 풍선에 도입된 물을 시린지를 사용하여 완전하게 제거함으로써 그의 부피를 체크하였다.

실험 프로토콜:

일련의 1차 실험에 있어서, 8 마리 래트의 군을 점진적으로 직장 팽창시켰다. 동물을 30 및 100 mg/kg의 가바펜틴 투여량 IP 또는 그의 비히클(수성 9 % NaCl)로 사전 처리하였다.

일련의 2차 실험에 있어서, 대조군을 직장 팽창시킨지 1 시간 후, 동일한 8 마리 래트의 군에 리포폴리사카라이드(E Coli, 혈청형 0111:B4) 또는 그의 비히클을 1 mg/kg의 투여량으로 IP 투여하였다. 이어서, LPS를 주사한 지 12 시간 후 RD를 수행하고, 가바펜틴(30 mg/kg) 또는 그의 비히클(0.3 mL/래트)의 IP 투여를 진행하였다(30 분).

약물:

LPS를 염수(NaCl 9 %)에 용해시켰다. 비히클 0.3 mL를 복막내 주사하였다. LPS를 시그마-알드리치(St. Quentin Fallavier, France)로부터 구입하였다.

통계적 분석:

RD 동안 각 5 분 간격 동안 발생한 복부 위축의 수에 대한 통계적 분석을 원-웨이 ANOVA에 이은 스튜던츠 t-시험에 의하여 수행하였다. 수치를 평균±SEM으로 나타내었고, 편차는 $p < 0.05$ 에서 현저하다고 여겨진다.

결과를 표 5 및 6에 나타내고, 가바펜틴이 IBS와 같은 위장 질환을 보다 낮게 감소시키는데 효과적이라는 사실을 입증하였다.

<표 5>

직장 팽창에 의하여 유도된 복부 반응에 대한 가바펜틴의 효과(복부 위축의 수/5 분; 평균±SEM, $n=7-8$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, 비히클과 현저하게 상이함; 감소 비히클의 $n\%$)

팽창 부피	비히클 (0.3 mL/래트)	가바펜틴 (30 mg/kg)	비히클 (0.3 mL/래트)	가바펜틴 (100 mg/kg)
0.4 mL	4.4±1.6	5.0±2.1	3.9±1.8	2.0±1.4
0.8 mL	19.1±2.8	10.6±3.4** (-45 %)	19.6±2.3	7.6±3.4** (-61.2 %)
1.2 mL	23.4±2.6	16.1±2.3* (-31.2 %)	19.1±2.3	16.7±2.9

<표 6>

LPS-유도 지연된(12 시간) 이통에 대한 가바펜틴의 효과(복부 위축의 수/5 분; 평균±SEM, $n=7-8$, + $p < 0.001$, "LPS/비히클" 값과 현저하게 상이함; 감소 대 "LPS/비히클"의 $n\%$)

팽창 부피	LPS(1 mg/kg) + 비히클(0.3 mL/래트)	LPS(1 mg/kg) + 가바펜틴(3.0 mg/래트)
0.4 mL	9.7±1.0	0.7±0.5+(-92.8 %)
0.8 mL	11.7±1.2	11.9±0.8
1.2 mL	23.5±2.2	16.3±3.2

상기의 실험을 GABA-동족체 프리가발린을 사용하여 수행하였다. 프리가발린 30 mg/kg이 0.4 및 0.8 mL의 모든 팽창 부피에서 복통의 수를 감소시켰다. 직장 팽창 120 분 전에 프리가발린 10 및 30 mg/kg을 모두 주사하였을 때, 모든 팽창 부피에서 유사한 효과가 나타났다. LPS는 그의 투여 12 시간 후 0.4 mL(9.7±1.0 vs 3.7±1.0)의 부피에서 복부 위축의 횟수를 증가시켰다. 이 효과는 직장 팽창 30 분 전에 동물에 프리가발린(1.8±0.9 vs 9.7±1.0) 30 mg/kg을 투여하였을 때 억제되었다. 이들 결과는 프리가발린이 래트의 기부 직장 감도의 감소 및 LPS-유도 직장 이통의 차단에 효과적이라는 사실을 입증한다.

<실시예 6>

TNBS-유도 이통

트리니트로벤젠 술폰산(TNBS)에 의하여 유도된 만성 내장 이통을 앓고 있는 래트중에서 GABA 동족체를 평가하였다. 동물의 결장으로 TNBS를 주사한 결과 만성 대장염이 유도된 것을 발견하였다. 사람에게 있어서, 소화 장애가 종종 내장 통증과 관련이 있다. 이들 병리학에 있어서, 내장 통증의 발작은 감소하였고, 이는 내장 고민감성을 나타낸다. 결과적으로, 하기의 연구는 결장 팽창의 실험 모델에 있어 내장 통증의 발작에 대한 결장으로 TNBS의 주사의 효과를 평가하기 위하여 의도되었다.

체중 340 내지 400 g의 수컷 스프라귀-다우레이 래트를 이 연구에 사용하였다. 동물을 조절된 환경($20\pm 1^{\circ}\text{C}$, $50\pm 5\%$ 습도, 8:00 AM부터 8:00 PM까지 조명 실시)에서 우리 당 3 마리씩 사육하였다. 마취(케타민 80 mg/kg i.p.; 아세프로마진 12 mg/kg i.p.)하에서, TNBS(50 mg/kg) 또는 염수(1.5 mL/kg)를 몸 중심에 가까운 결장(맹장으로부터 1 cm)에 주사하였다. 수술 후, 동물을 조절된 환경에서 개별적으로 사육하였다.

항문을 통하여 결장으로 풍선 카테테르(5-6 cm 길이)를 삽입하고, 카테테르를 꼬리의 기부에서 테이핑하여 위치(항문으로부터 풍선의 끝 5 cm)를 유지하였다. 풍선을 0 내지 75 mm Hg까지 5 mm Hg 단계로 각 팽창 단계를 30 초간 지속하면서 점진적으로 팽창시켰다. 결장 팽창의 각 주기를 표준 바로스타트로 조절하였다. 발작은 1 차 복부 위축을 일으키는 압력에 상응하였고, 이때 팽창의 주기를 중단하였다. 결장 발작을 측정하기 위하여, 동일한 동물에 대하여 4 회 주기의 팽창을 수행하였다.

일련의 1 차 실험에 있어서, 염수로 처리한 8 마리의 래트 군을 결장 팽창시켰다.

일련의 2 차 실험에 있어서, TNBS로 처리한 8 마리의 래트군을 결장 팽창시켰다.

일련의 3 차 실험에 있어서, TNBS로 처리한 8 마리의 래트군에 결장 팽창 주기의 개시 30 분 전에 가바펜틴 또는 CI-1008를 피하 주사하였다.

TNBS를 제외하고 모든 시험 화합물을 염수에 용해시켰다. TNBS를 30 % EtOH(w/v)에 용해시켰다. 비히클 2 mg/kg을 피하 주사하였다.

원-웨이 ANOVA에 이은 스튜던츠 언페어드 t-시험(Student's unpaired t-test)을 사용하여 각 군 사이의 통계적 현저성을 측정하였다. 편차는 $p < 0.05$ 에서 통계적으로 현저하리라고 여겨진다.

말초 결장 팽창후의 통증 발작(제1 복부 위축을 유도하는 팽창 압력)을 2 개 군의 각성된 래트, 대조군 동물 및 TNBS-처리된 동물에 7 일째에 측정하였다. TNBS-처리된 동물에서 통증 발작의 현저한 감소가 발견되었다. 염증성 매개 변수(결장 중량, 충혈 및 회저의 면적 및 결장 미에로퍼옥시다제 함량)를 TNBS 처리한지 7 일째에 말초 결장에서 측정하였다. 회저의 면적을 제외하고 모든 매개 변수가 현저하게 증가되었다.

카바펜틴(100, 300 및 500 mg/kg sc) 및 CI-1008(30, 60, 100 및 200 mg/kg sc)를 투여하고 30 분 후 결장 팽창 및 염증성 매개 변수 측정하였다. 가바펜틴은 투여량-관련 방식 TNBS-유도 결장 이통을 억제하였다. 500 mg/kg sc의 가바펜틴은 결장 통증에 대한 TNBS의 효과를 완전하게 차단하였다. CI-1008 또한 감소된 통증 발작의 투여량-관련 억제를 나타내었다. 100 mg/kg에서, CI-1008은 TNBS에 의하여 유도된 이통을 완전하게 억제하였다. 모르핀(0.1 mg/kg sc)은 결장 팽창 후 통증 발작에 있어 TNBS-유도 감소를 완전하게 억제하였다(도 4). 반대로, 가바펜틴 또는 CI-1008 중 어떤 것도 이들 실험 조건중에서 TNBS의 결장 염증성 효과를 억제하지 못하였다.

통상적인 조건(대조 동물)중에서, 모르핀(0.3 mg/kg sc)은 결장 통증 발작을 현저하게 증가시키는 반면, 동일한 조건에서, 가바펜틴(500 mg/kg sc) 또는 CI-1008(200 mg/kg sc)중 어떤 것도 결장 통증 발작을 개선시키지 못했다(도 5). 결과를 표 7 및 표 8에서 추가로 나타낸다.

<표 7>

래트중에 TNBS-유도 만성 결장 이통에 대한 CI-1008, 가바펜틴 및 모르핀의 효과

처리	결장 발작(mm Hg)		SEM	n	p
대조군	43.39	±	1.98	8	
샬	33.44	±	3.25	8	*
TNBS	17.81	±	1.27	8	***
CI-1008					
30 mg/kg sc	21.72	±	1.51	8	?
60 mg/kg sc	25.47	±	1.03	8	??
100 mg/kg sc	33.13	±	1.83	8	??
200 mg/kg sc	40.47	±	3.75	8	???
가바펜틴					
100 mg/kg sc	22.03	±	2.23	8	
300 mg/kg sc	24.69	±	1.27	8	?
500 mg/kg sc	36.88	±	1.46	8	???
모르핀					
0.1 mg/kg sc	34.22	±	1.72	8	???
0.3 mg/kg sc	46.09	±	1.43	8	???
1 mg/kg sc	64.84	±	1.88	8	???
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, 및 *** $p < 0.001$ 대 대조군 ? $p < 0.05$, ?? $p < 0.01$, 및 ??? $p < 0.001$ 대 대조군					

<표 8>

통상적인 래트중의 결장 발작에 대한 CI-1008 및 가바펜틴의 효과

처리	결장 발작(mm Hg)		SEM	n	p
대조군	43.33	±	1.23	6	
CI-1008					
200 mg/kg sc	46.41	±	2.26	8	NS
가바펜틴					
500 mg/kg sc	43.75	±	1.44	6	NS
NS=대조군에 대해 현저하지 않음					

상기의 데이터는 가바펜틴 및 CI-1008과 같은 GABA 동족체가 TNBS-유도 결장 이통을 억제하고, 따라서, IBS중의 결장 통증을 반영하는 비정상적인 결장 과민감성에 효과적이라는 사실을 입증한다.

<실시예 7>

포르말린-유도 염증성 결장 통증

GABA 동족체를 또다른 모델에서 평가하여, 체장염 및 장내 방광염과 같은 염증성 내장 통증에 대한 이들의 효과를 측정하였다.

래트 결장의 벽으로 포르말린을 투여하여 급성 염증 및 내장 통증을 유발시켰다. 이 연구의 목적은 포르말린의 결장 교내 주사에 의하여 유도된 내장 통증에 있어 가바펜틴 및 CI-1008의 항자극 활성을 평가하기 위한 것이다.

체중 240 내지 260 g의 성체 암컷 스프라귀-다우레이 래트를 이 연구에 사용하였다. 동물들을 조절된 환경($20 \pm 1^\circ\text{C}$, $50 \pm 5\%$ 습도, 8:00 AM부터 8:00 PM까지 조명 실시)중에서 우리 당 3 마리씩 사육한 후, 시험에 사용하였다.

각 시험 동물을 바닥에 나무 부스러기층을 깐 투명한 플라스틱 우리($27 \times 43 \times 28\text{ cm}$)에 넣었다. 물을 마실 수 있게 하였다. 동물들간의 시각적 상호작용을 피하도록 우리를 배치하였다. 거울을 각 우리 뒤에 놓아 거동의 기록을 개선하였다. 각 동물을 초기에 20 분 동안 환경에 적응시켰다. 이어서, 이소푸란(2:3 아산화 질소 및 1:3 산소의 혼합물중에서 초기에 4 %, 이어서, 1.5 %)을 사용하여 마취시켰다. 동물을 꼬리를 잡아 매달고, 면으로 쌓은 막대를 사용하여 직장을 부드럽게 비우고, 항문을 통해 대장내시경을 삽입하였다. 이렇게 디자인된 내시경은 51 mm 길이 바늘(26 ga)를 사용하여 항문 가장자리로부터 약 35 mm에서 시각적으로 조절하면서 장 벽을 천공할 수 있게 하는 측면 슬롯을 갖는다. 주입된 용액은 50 μL 5 % 수성 포르말린(v/v) 또는 동일한 부피의 등장 염수였다. 주사를 완료하자 마자(약 1 분) 동물을 마취로부터 회복시키고, 관찰을 시작하여, 2 시간 동안 지속하였다. 관찰 시험을 종료한지 30 분 후, 에반스 블루(1 %)의 IV 주사를 투여하고, 30 분 후, 동물을 살생시켰다. 개복하였다. 주사 위치 및 에반스 블루의 확산 대역을 영상 분석 소프트웨어에 의하여 기록하였다. 염료의 퍼짐이 S자 결장벽에 제한되지 않는 래트로부터의 데이터는 제외하였다.

통증 강도의 증가 순서로서 열거한 바와 같이, 이들 거동은

- (i) 복부를 핥고, 물어뜯고(L),
- (ii) 신체가 스트레칭되고, 즉, 뒷 다리가 뒷쪽으로 뻗치고(B),
- (iii) 옆구리가 위축되고, 때때로 스트레칭 자세로 발진하고(C),
- (iv) 신체 전체가 위축되고, 래트는 등을 구부리고 서며, 때때로 주어진 에피소드, 30 초 미만 W_1 , 30 초 내지 1 분 W_2 , 1 분 이상 W_3 의 경과에 따라 추가로 변화하였다. 2 시간의 시험을 통하여 개별적인 차트에 각각의 동물에 대한 거동을 기록하였다. 이어서, 각각의 연속적인 15 분의 기간 동안 하기의 식을 사용하여 통증 스코어(S)를 계산함으로써, 통증 스코어가 (i) 각 선택된 거동의 에피소드 수, 및 (ii) 주어진 거동에 의한 것으로 되는 1 내지 6의 계수에 비례하게 되었다.

$$S=1L+2B+3C+4W_1+5W_2+6W_3$$

모든 화합물을 염수에 용해시켰다. 2.5 mg/kg의 부피로 용액을 피하 주사하였다. 포르말린은 프롤라보(Prolabo)사로부터 구입하였다. 원-웨이 ANOVA를 사용한 후, 스튜던츠 언페이트 t-시험에 의하여 각 군간의 통계적 현저성을 측정하였다. 차이는 $p<0.05$ 에서 통계적으로 현저한 것으로 여겨진다.

비감염 암컷 스프라귀-다우레이 래트의 결장 벽에 포르말린의 교내 주사(5 %, 50 μ L/래트)에 의하여 통각과민을 도입하였다. 가바펜틴 및 CI-1008을 각각 100, 300, 500 및 100, 200 mg/kg sc으로 시험하였다. 가바펜틴 및 CI-1008은 결장 내 포르말린에 의하여 유도된 통증 스코어를 현저하고, 투여량-독립적으로 감소시켰다. 가바펜틴 500 mg/kg 및 CI-1008 200 mg/kg 후에 최대 억제 효과가 관찰되었다. 이 결과를 표 9에 나타내었다.

이 연구는 GABA 동족체가 결장내 포르말린-유도 통증에 대한 항자극 효과를 나타내어 IBD 및 IBS, 및 췌장염 및 장 방광염을 포함하는 내장 통증에 대해 효과적이라는 사실을 입증하였다.

<표 9>

포르말린 5 %의 교내 주사에 의하여 유도된 염증성 결장 통증에 대한 가바펜틴 및 CI-1008의 피하 주사 효과

처리	항자극율 %		SEM	n	p
CI-1008					
100 mg/kg sc	18.55	±	7.41	7	***
200 mg/kg sc	70.81	±	7.47	6	***
가바펜틴					
0.3 mg/kg sc	-7.73	±	10.43	3	NS
100 mg/kg sc	13.62	±	12.65	9	NS
300 mg/kg sc	55.07	±	9.98	6	***
500 mg/kg sc	88.01	±	16.96	6	***
***=					
NS=대조군에 비하여 현저하지 않음					

하기의 실시예는 본 발명에 따라 제공된 GABA 동족체와 NSAID를 함유하는 조성물을 추가로 예시한다.

<실시예 8>

정제 제형:

나프록센 나트륨	200 mg
가바펜틴	300 mg
스테아르산 마그네슘	20 mg
미세결정성 셀룰로오스	100 mg
프로비돈	100 mg
타르크	50 mg

성분들을 균일하게 블렌드하고, 정제로 압착하였다. 류마티스성 관절염, 교착성 척수염, 골관절염, 활액낭염, 건염 및 급성 통풍성 관절염과 같은 염증성 질환을 치료하기 위하여 정제를 1 일 당 1 내지 3 회 투여하였다.

<실시예 9>

캡슐 제형:

페노프로펜 칼슘, USP	150 mg
프리가발린	50 mg
셀루로오스	100 mg
젤라틴	50 mg
이산화 티타늄	10 mg
옥수수 전분	50 mg

성분들을 균일하게 블렌딩하고, 젤라틴 캡슐에 넣었다. 류마티스성 관절염 및 골관절염을 치료하기 위하여 캡슐을 1 일 당 1 내지 4 회 투여하였다.

본 발명에 의하여 제공된 조합은 NSAID(예를 들어, 나프록센 또는 메클로페남산) 및 GABA 동족체(예를 들어, 프리가발린 또는 가바펜틴)을 포함한다. 상기 조합은 통증을 치료하기 위한 이들의 능력에 상승작용을 하는 것으로 나타나고 있다. 예를 들어, 가바펜틴 및 나프록센 나트륨을 상승적인 양으로 합하고, 표준 래트 카라게닌 각부 열 통각과민 분석으로 평가하였다. 이 분석에는 시험 동물의 각부에 주입될 때, 멸균 염증을 일으켜 통증 발작을 낮추는 해초(카라게닌) 추출물을 이용하였다. 가바펜틴과 같은 GABA 동족체를 포함하는 진통제는 통증 발작을 정상 상태로 되돌려서 동물이 비처리된 대조 동물에 비하여 장기간 동안 외부 통증 원인을 완화시키도록 한다. 약 50 중량부의 GABA 동족체 대 1 중량부의 NSAID의 농도 범위로서 가바펜틴과 나프록센 나트륨의 1:1 조합으로 고정된 몇몇의 조합을 상기의 분석으로 평가하였다. 결과들도 6(고정된 1:1 조합에 대하여 다양한 투여량으로) 및 도 7(고정된 50:1 조합에 대하여 다양한 투여량으로)에 나타내었다. 데이터는 GABA 동족체와 NSAID의 조합이 급성 및 만성 통증을 완화시키고, 무통법을 유도하는데 있어, 그들의 능력에 상승적이라는 사실을 입증한다.

발명의 효과

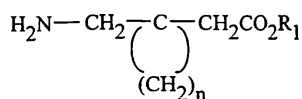
본 발명에 따라 감마-아미노부티르산(GABA) 동족체를 투여함으로써 위궤양과 같은 내장 및 위장 손상의 예방 방법 및 소화 불량 및 내장 통증을 포함하는 염증성 내장 질환(IBD) 및 기능적 내장 질환(FBD)과 같은 위장 질환의 치료 방법이 제공된다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

치료 효과량의 하기 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 에탄올 금단 증상의 치료를 위한 약제학적 조성물.

<화학식 I>



상기 식에서,

R₁은 수소 또는 저급 알킬이고,

n은 4 내지 6의 정수이다.

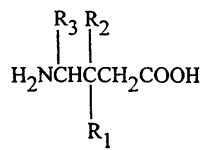
청구항 2.

제1항에 있어서, 상기 화합물이 가바펜틴인 조성물.

청구항 3.

치료 효과량의 하기 화학식 (II)의 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 에탄올 금단 증상의 치료를 위한 약제학적 조성물.

<화학식 II>



상기 식에서,

R₁은 1 내지 6 개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 페닐, 또는 3 내지 6 개의 탄소 원자를 갖는 시클로알킬이고,

R₂는 수소 또는 메틸이고,

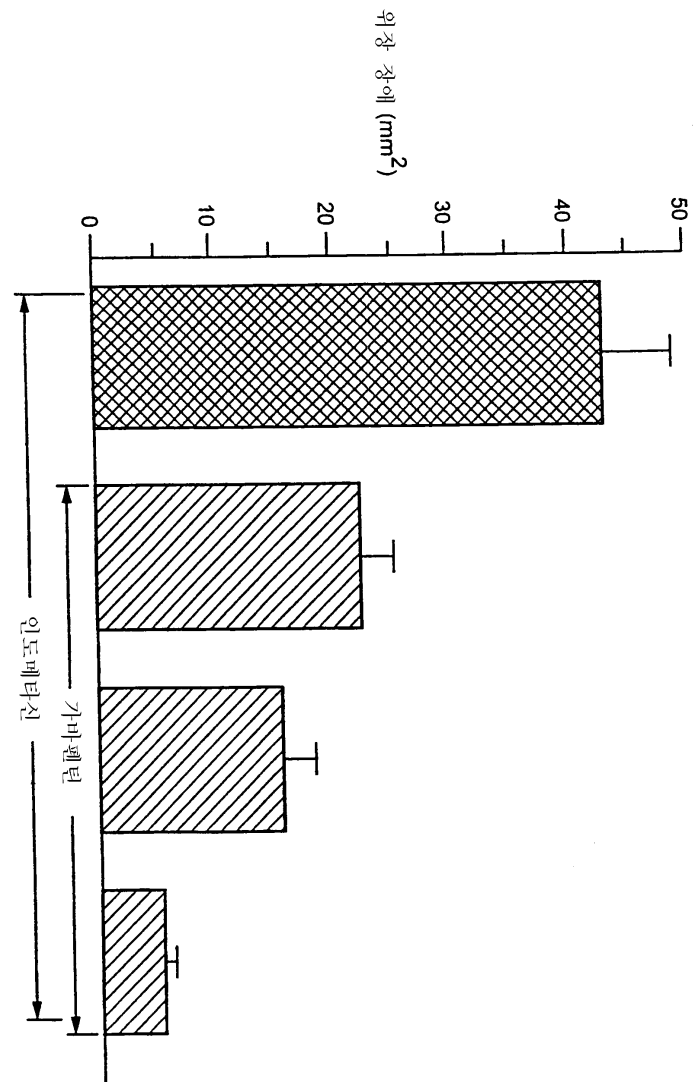
R₃는 수소, 메틸, 또는 카르복실이다.

청구항 4.

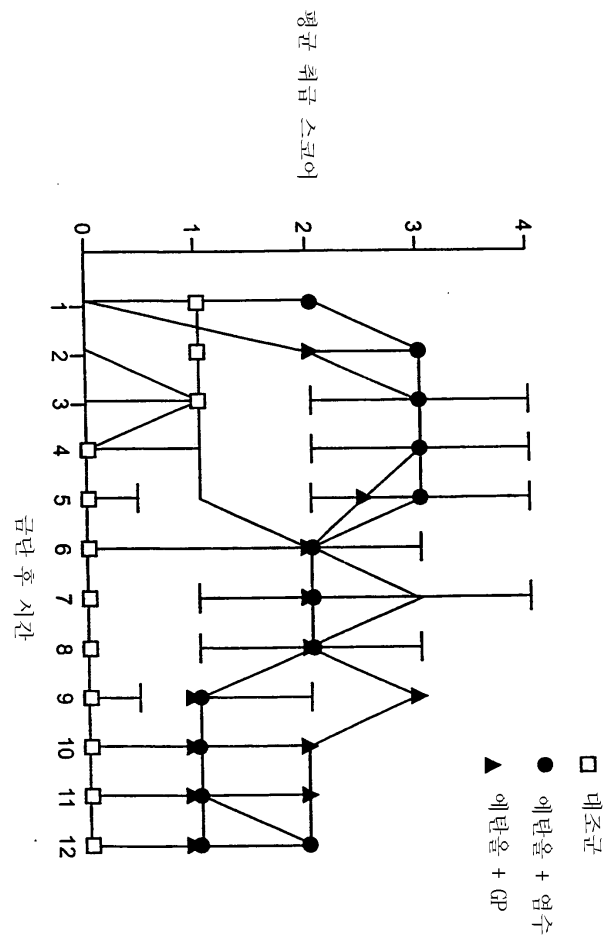
제3항에 있어서, 상기 화합물이 프리가발린인 조성물.

도면

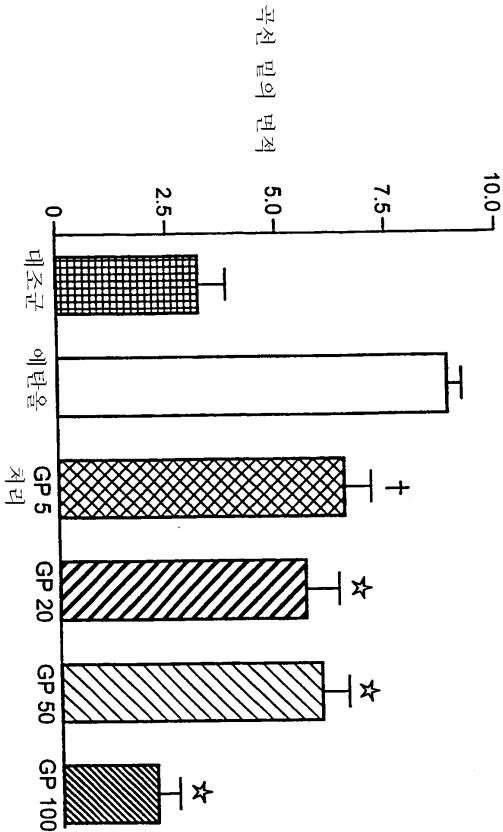
도면1



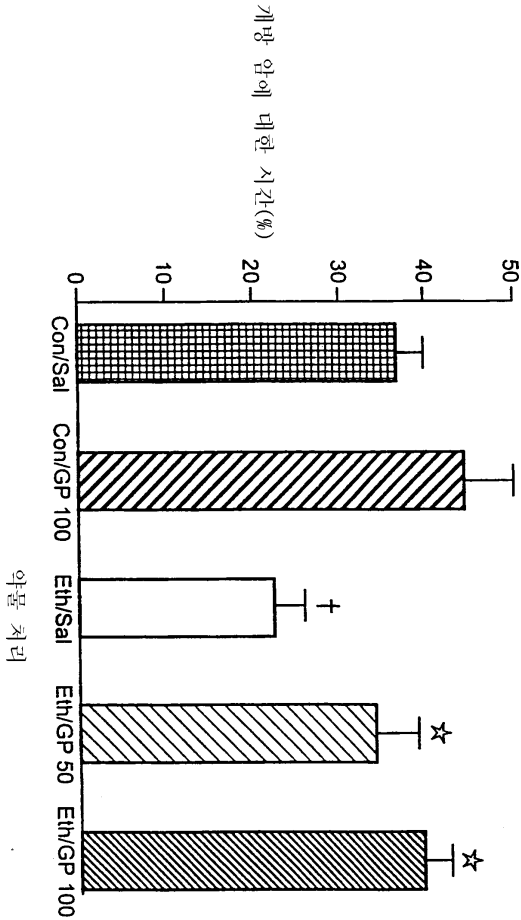
도면2a



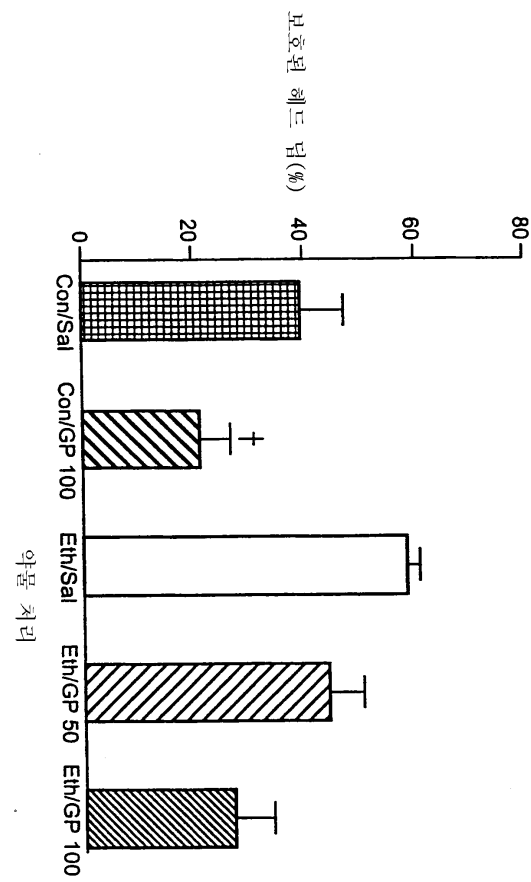
도면2b



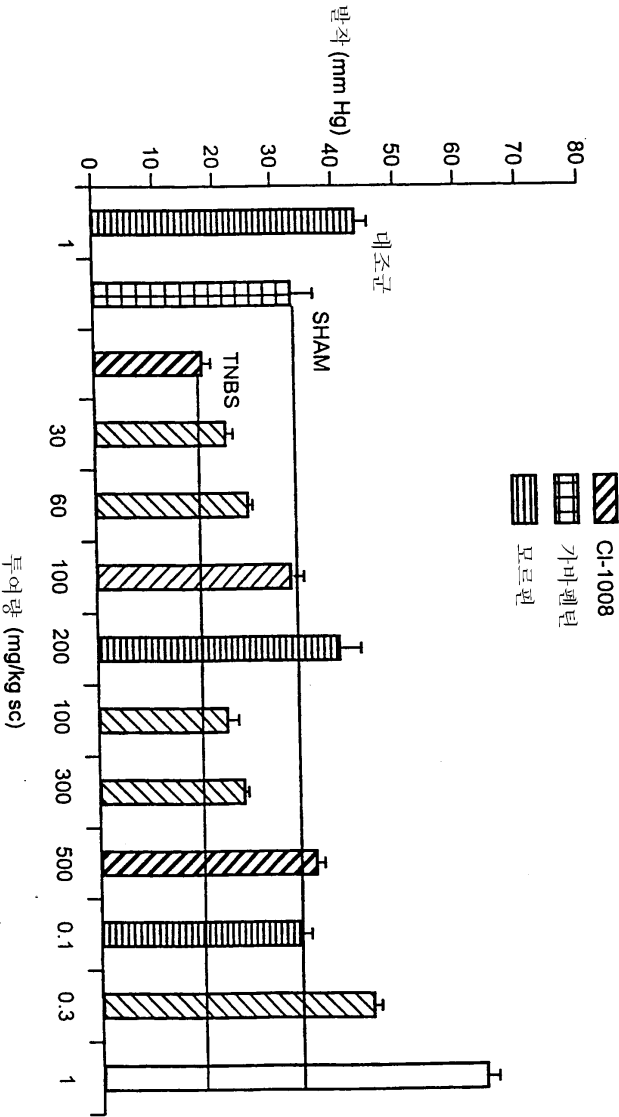
도면3a



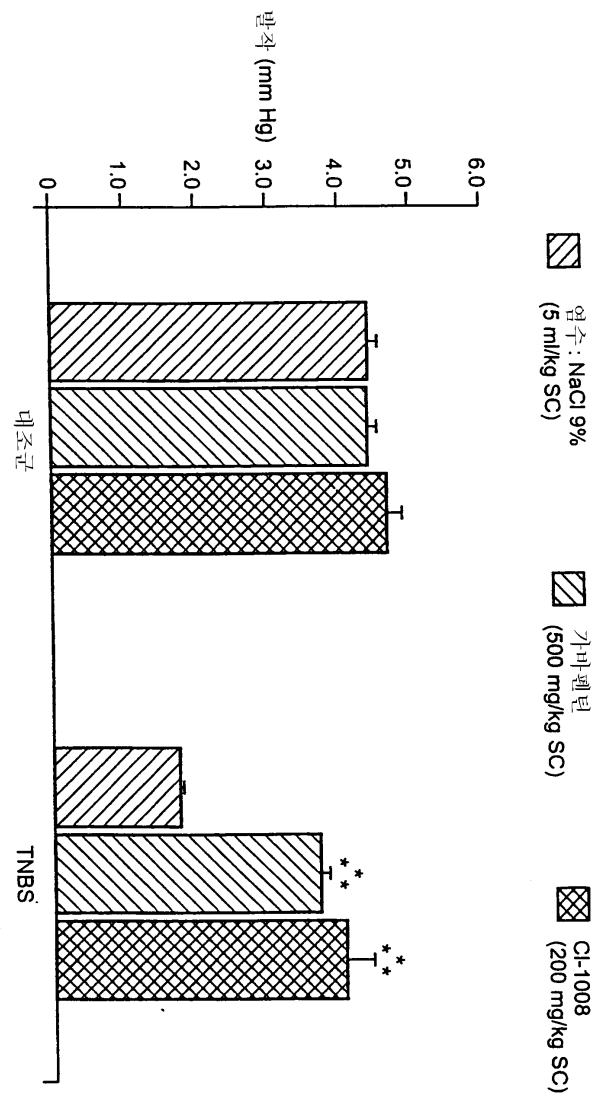
도면3b



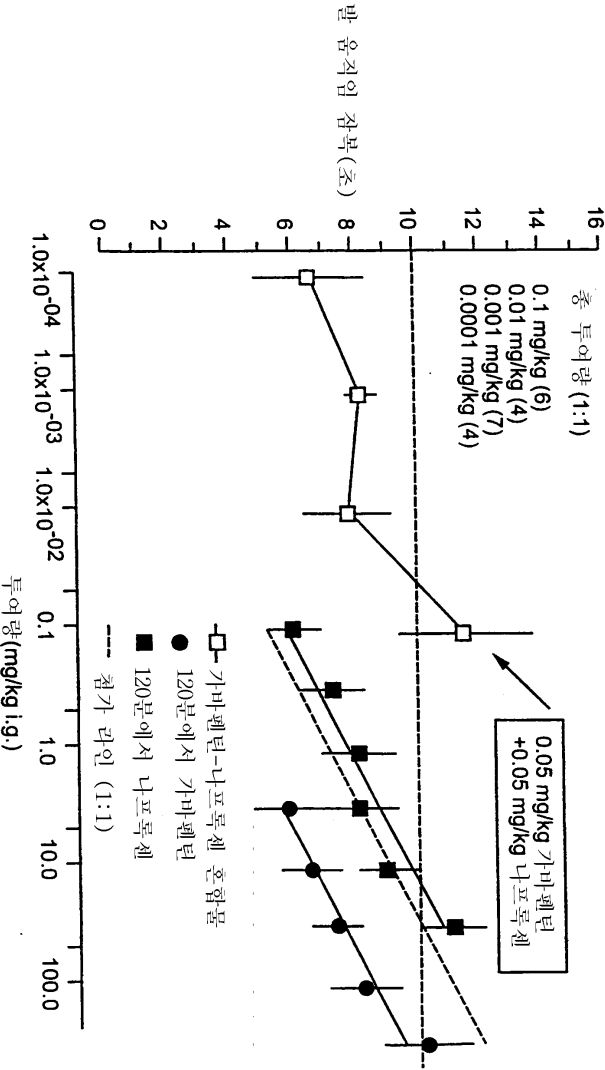
도면4



도면5



도면6



도면7

