(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl.[6]
A61K 31/015

(11) 공개번호 특1998-042433
(43) 공개일자 1998년08월17일

(21) 출원번호 특1997-060004
(22) 출원일자 1997년11월14일
(30) 우선권주장 60/031, 274 1996년11월15일 미국(US)
(71) 출원인 화이자인크. 알렌제이.스피겔
미국 10017 뉴욕주 뉴욕시 이스트 42번 스트리트 235
(72) 발명자 아이엘로,로버트,조셉
미국 06385 코넥티커트주 워터포드 버틀러타운 로드 67
(74) 대리인 김영, 위혜숙

심사청구 : 있음

(54) 에스트로겐 아고니스트/안타고니스트를 포함하는 아테롬성 동맥경화증 치료용 제약 조성물

요약

지질 저하에 의존하지 않는, 아테롬성 병변의 진행을 억제하거나 플라크를 안정화시킴으로써 사람을 포함하는 포유동물에서 아테롬성 동맥경화증을 치료하는 방법을 개시한다. 치료 유효량의 화학식 1의 화합물을 투여하여, 과도한 염증 세포 보충을 일으키는 케모카인 발현을 직접적으로 억제함으로써 그러한 병변 진행의 억제 또는 플라크의 안정화가 성취된다.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 특정 에스트로겐 효능제/길항제를 사용하여, 사람을 포함하는 포유동물에서 아테롬성 동맥경화증 치료용 제약 조성물에 관한 것이다.

심근경색증은 미국에서만 매년 500,000명 이상이 그로 인해 사망하는, 서양 국가에서 주된 사망 원인이다. 관상동맥 협착 및 손상된 혈관의 수가 심장병 발병률 및 그에 의한 사망률의 지표로 인정된다. 불안정성 아테롬성 동맥경화성 플라크의 파열이 모든 심근경색증 및 발작증의 거의 75%에 기여한다. 그러나, 혈관촬영법으로는 혈관 폐색 및(또는) 파열이 발생할 부위를 예측하지 못한다. 최근의 연구에서는 관상동맥 관련 사건의 72%가 심하게 석회화된 섬유성 병변에 의한 것이기보다, 종종 혈관촬영법에 의해 관찰되지 않는, 완화한 협착성의 지질이 풍부한 플라크의 파열에 의한 것임을 제안하였다 (Circulation, 1994; 90: 4: 2126-2146). 최근의 몇몇 연구에서는, 증가된 대식세포 침입이 아테롬성 동맥경화성 병변의 세포외 매트릭스의 침식, 병변부 캡(cap)의 약화 및 파열 가능성의 증가와 관련됨을 보여주었다 (Circulation, 1994; 90: 1669-1678). 비제어된 단핵구 침입이 과도한 지질 축적을 일으키고, 아테롬성 동맥경화성 병변의 섬유성 캡의 세포외 파괴를 증가시켜, 혈전증을 유발시키는 것이 제안되었다. 전-염증 반응의 억제제가 과도한 단핵구 침입을 방지함으로써, 플라크의 안정도를 증가시킬 것임이 또한 제안되었다.

또한, 문헌[Wiseman 등, Biochem. Pharm. 45, No. 9, 1851 (1993)]에서는 심혈관 손상 및 아테롬성 동맥경화증의 진행에서 지질 과산화의 역할을 기술하였다. 덧붙여, 문헌[Wiseman 등, Cancer Letters 66, 61 (1992)]에서는 드롤록시펜이 지질 과산화를 억제하는 것을 개시하였다. 또한, 미국 특허 제 5,047,431호에서는 호르몬 의존성 유방암의 치료에서의 드롤록시펜의 사용을 개시하였고, 미국 특허 제 5,254,594호에서는 에스트로겐 결핍에 의한 뼈 질병을 경감시키기 위한 드롤록시펜의 사용을 개시하였다. 미국 특허 제 5,426,123호에서는 드롤록시펜의 지질 저하 작용을 개시하였다.

또한, 문헌[Grainger 등, Nature Medicine, Vol. 1, No. 10 (1995. 10)]에서는 타목시펜이 마우스의 대동맥에서 음식 유도된 지질 병변부의 형성을 억제함을 기재하였다.

따라서, 다양한 아테롬성 동맥경화증 치료법이 존재하지만, 당업계에서는 아테롬성 동맥경화증 치료를 위한 대체 치료법이 계속 요구되며 연구되고 있다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

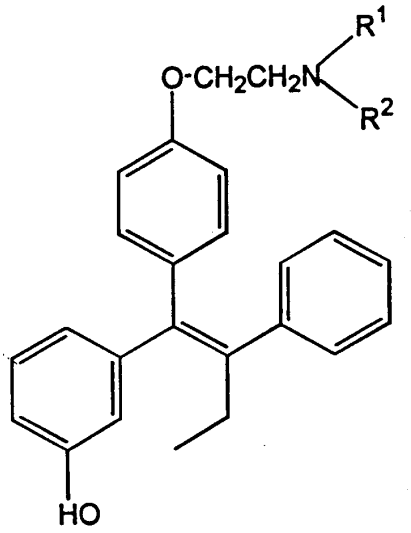
본 발명은 지질 저하에 의존하지 않는, 아테롬성 병변의 진행 억제 또는 플라크의 안정화에 의한, 아테롬성 동맥경화증의 치료를 요하는 사람을 포함하는 포유동물에서 아테롬성 동맥경화증을 치료하기 위한 방법에 관한 것이다. 그러한 병변 진행의 억제 또는 플라크의 안정화는, 치료 유효량의 화학식 1의 화합물

을 투여하여, 과도한 염증 세포 보충을 일으키는 케모카인 발현을 직접적으로 억제함으로써 성취된다.

상기 기술한 효과(아테롬성 진행의 억제 및 플라크의 안정화)는 유전자의 발현을 직접적으로 조절함으로써 염증 세포의 보충을 억제하여 발생한다. 이러한 유전자 발현의 직접적인 조절은, 에스트로겐 유사 화합물의 공지된 항산화성을 통한 지질 산화의 억제에 의한 유전자 발현의 간접 억제라기보다는 DNA 수준에서 케모카인의 직접적인 조절을 포함하므로 지질 과산화의 억제와 구별된다. 이는 이들 화합물의 공지된 지질 저하 효과에 의존하지 않는다.

본 발명은 하기 화학식 1의 화합물 또는 그의 제약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

화학식 1



상기 식에서,

R^1 및 R^2는 동일하거나 상이할 수 있으며, 단, R^1 및 R^2가 동일한 경우 각각 메틸기 또는 에틸기이며, R^1 및 R^2가 상이한 경우 이들 중 하나는 메틸기 또는 에틸기이고, 다른 하나는 수소 또는 벤질기이다. 화학식 1의 바람직한 화합물은 R^1 및 R^2가 메틸인 화합물이다. 바람직한 염은 시트레이트염이다.

상기 방법을 위한 바람직한 투여량은 약 0.01 내지 약 200 ㎎/㎏/일이고, 바람직하게는 0.5 내지 100 ㎎/㎏/일이다.

병변의 진행은 증가된 단핵구 보충, 평활근 세포 증식, 이동 및 매트릭스 합성을 포함하는 성장, 및 세포성 및 세포외 지질 축적을 포함하는 변성을 의미한다.

플라크의 안정화는 지질 코어가 성장하고 섬유성 캡이 매우 얇은, 대식세포의 증가된 밀도로 인해 파열 가능성이 있는 상을 통한 플라크의 통과의 억제를 의미한다.

케모카인은 혈관벽에서 발견되는 내피 세포, 평활근 세포 및 대식세포에서 생산되는 MIP-1α, MIP-1β, RANTES, MCP-1, MCP-2 및 MCP-3을 포함하는 케모카인의 C-C(β) 아족에 속하는 단핵구에 대한 특이적 화학주성(chemoattractant) 사이토카인을 의미한다.

케모카인 발현의 직접적인 억제는 DNA에 직접적으로 결합하는 전사 요소 또는 인자와 상호반응하여 그 유전자의 발현을 방지함에 의한 유전자 발현의 억제를 의미한다. 전사의 조절은 mRNA 합성의 개시 수준에서 실행된다.

과도한 단핵구 보충은 내막 공간내로의 단핵구의 내피통과 이동으로 인한 동맥벽에서의 대식세포의 축적을 일으키는 염증 반응을 의미한다.

본원에 사용된 용어 치료하는, 치료하다, 또는 치료는 예방 치료(예를 들면, 프로필락틱) 및 완화 치료를 포함한다.

다른 특징 및 이점은 본 발명을 설명하는 명세서 및 청구 범위로부터 명백해질 것이다.

발명의 상세한 설명

본 발명의 화합물은 아테롬성 동맥경화성 플라크의 형성(예를 들면, 진행)을 억제하고, 또한 플라크의 안정화를 돕는다. 일반적으로, 전염증성 케모카인(예를 들면, MCP-1)을 포함하는 몇몇 잠재적인 분자 표적이 이러한 효과를 매개할 수 있는 것으로 믿어진다. MCP-1은 단핵구 및 대식세포에 대한 강력한 화학주성 인자이다. MCP-1은 IL-1과 같은 염증 매개체 및 산화 지질에 대한 반응으로 내피 세포, 혈관 평활근 세포 및 대식세포에서 생산되어 분비된다.

더 특히, 저밀도 지질단백질(LDL)이 반응성 산소 종에 의해 변경되어 산화적으로 변경된 LDL(Ox-LDL)이 되는 것이 아테롬성 동맥경화증의 개시에 중심이 되는 것으로 믿어진다. 플라크 형성이 일어나기 쉬운

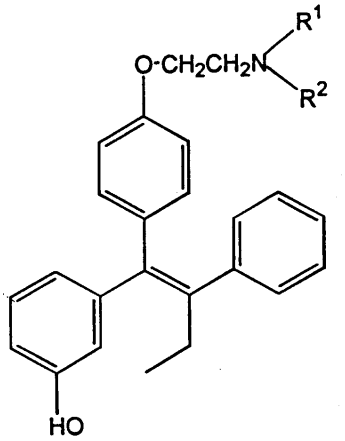
혈관벽 영역에 순환 LDL이 축적한다. 이어서, 내피 세포, 평활근 세포 및(또는) 염증 세포가 LDL을 Ox-LDL으로 전환시킨다. 결과적으로, 단핵구가 Ox-LDL을 탐식하여 대식세포 포말(foam) 세포를 형성한다. Ox-LDL 및 기타 위험 인자는 대식세포 및 기타 염증 세포내의 유전자를 활성화시켜, 동맥 또는 정맥 혈관벽으로의 염증 세포의 부가적인 보충을 촉진한다. 본 발명의 화합물은 mRNA 합성 수준에서 단핵구의 케모탁시스에 관여하는 단핵구 화학주성 단백질-1(MCP-1)과 같은 유전자의 전사를 제어함으로써, 아테롬성 동맥경화성 플라크 진행을 일으키는 혈관벽으로의 염증 세포의 보충을 제한하는 것으로 믿어진다. 예를 들면, 본 발명인들의 지질을 먹인 ApoE KO 마우스의 분석의 결과로부터, 본 발명의 화합물이 아테롬성 동맥경화성 병변부에서 나타나는 높은 수준의 MCP-1 mRNA를 저하시키는 것으로 믿어진다. MCP-1 mRNA의 수준이 감소되면, 단핵구 이동에서 상당한 변화가 일어나 아테롬성 병변 진행이 억제된다.

본 발명의 화합물은 또한 플라크의 안정화를 돕는다. 아테롬성 플라크의 전개의 초기에, 모든 플라크가, 지질 코어가 성장하고 섬유성 캡이 매우 얇은, 파열되기 쉬운 상을 통과하는 것으로 믿어진다. 섬유성 캡의 분해에 대식세포(이는 프로테아제 및 리파제를 분비한다)가 관여하는 많은 증거가 있다. 데이비스(Davies) 등[Br. Heart J. 1985; 53; 363-373]은 안정성 플라크에 비해 파열된 플라크에서 대식세포의 밀도가 증가함을 설명하였다. 더욱, 플라크 파열 또는 침식의 직접 부위는 항상 염증 과정을 특색으로 한다. 본 발명의 화합물은 또한 아테롬성 동맥경화증 병변부의 섬유성 캡의 파괴를 일으키는 동맥벽으로의 단핵구(예를 들면, 염증 세포)의 보충(예를 들면, 단핵구 침입)을 억제함으로써 플라크를 안정화시킨다. 이러한 단핵구 보충의 억제는, 동맥벽에서 과도한 단핵구 침입 및 포말 세포 형성을 일으키는 MCP-1과 같은 케모카인의 발현을 직접적으로 억제함으로써 발생한다.

상기 설명된 효과(1. 아테롬성 진행의 억제 및 2. 플라크의 안정화)는 유전자의 발현을 직접 제어함으로써 염증 세포의 보충을 억제하여 발생한다. 이러한 유전자 발현의 직접적인 제어는, 에스트로겐 유사 화합물의 공지된 항산화성을 통한 지질 산화 방지에 의한 유전자 발현의 간접적인 억제라기보다 DNA 수준에서 케모카인의 직접적인 조절을 포함하므로 지질 과산화의 억제와 구별된다.

본 발명의 방법은 유효량의 하기 화학식 1의 화합물 또는 그의 제약학적으로 허용가능한 염을 아테롬성 동맥경화증의 치료를 요하는 환자에게 투여함으로써 실행된다.

화학식 1



상기 식에서,

R^1 및 R^2는 동일하거나 상이할 수 있으며, 단, R^1 및 R^2가 동일한 경우, 각각 메틸 또는 에틸기이며, R^1 및 R^2가 상이한 경우, 이들 중 하나는 메틸 또는 에틸기이고, 다른 하나는 수소 또는 벤질기이다.

화학식 1의 화합물은 당업계에 공지되어 있으며, 본질적으로 본원에 참고로 인용한 미국 특허 제 5,047,431호에 설명된 방법에 의해 제조된다.

화학식 1의 바람직한 화합물은 R^1 및 R^2가 각각 메틸인 화합물이다. 이 바람직한 화합물은 드롤록시펜, (E)-1-[4'-(2-디메틸아미노에톡시)페닐]-1-(3-히드록시페닐)-2-페닐부트-1-엔으로 공지되었고, 이전에 항에스트로겐제로서 설명되었고, 호르몬 의존 유방암의 치료에 유용하며(미국 특허 제 5,047,431호), 에스트로겐 또는 유사체의 결핍에 의해 발병된 뼈 질병의 경감에 유용하다(미국 특허 제 5,254,594호).

본 발명의 방법에서 화학식 1의 화합물의 유리 염기 형태를 사용할 수 있지만, 그의 제약학적으로 허용가능한 염 형태를 제조하여 사용하는 것이 바람직하다. 따라서, 본 발명의 방법에서 사용되는 화합물은 광범위한 무기산 및 바람직하게는 유기산과 함께 제약학적으로 허용가능한 산 부가 염, 및 염기 부가 염을 형성하고, 제약 화학에서 종종 사용되는 생리학적으로 허용가능한 염을 포함한다. 그러한 염은 또한 본 발명의 일부를 형성한다. 전형적인 염기는 수산화나트륨 및 수산화칼륨을 포함한다. 그러한 염을 형성하기 위해 사용되는 전형적인 무기산은 염산, 브롬화수소산, 요오드화수소산, 질산, 황산, 인산 및 차아인산 등을 포함한다. 지방족 모노카르복실산 및 디카르복실산, 페닐 치환 알칸산, 히드록시알칸산 및 히드록시알칸디온산, 방향족산, 지방족 및 방향족 술폰산과 같은 유기산으로부터 유도된 염을 또한 사용할 수 있다. 따라서, 그러한 제약학적으로 허용가능한 염은 아세테이트, 페닐아세테이트, 트리플루오로아세테이트, 아크릴레이트, 아스코르베이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 디니트로벤조에이트, 히드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 메틸벤조에이트, o-아세톡시벤조에이트, 나프탈렌-2-벤조에이트, 브로마이드, 이소부티레이트, 페닐부티레이트, β-히드록시부티레이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥신-1,4-디오에이트, 카프레이트, 카프릴레이트, 클로라이드, 신나메이트, 시트레이트, 포르메이트, 푸마레이트, 글리콜레이트, 헵타노에이트, 히푸레이트, 락테이트, 말레이트, 말리에이트, 히드록시말리에이트, 말로네이트, 만

델레이트, 메실레이트, 니코티네이트, 이소니코티네이트, 니트레이트, 옥살레이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 포스페이트, 모노히드로겐포스페이트, 디히드로겐포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트, 프로피올레이트, 프로피오네이트, 페닐프로피오네이트, 살리실레이트, 세바케이트, 숙시네이트, 수베레이트, 술페이트, 비술페이트, 피로술페이트, 술파이트, 비술파이트, 술포네이트, 벤젠술포네이트, p-브로모페닐술포네이트, 클로로벤젠술포네이트, 에탄술포네이트, 2-히드록시에탄술포네이트, 메탄술포네이트, 나프탈렌-1-술포네이트, 나프탈렌-2-술포네이트, p-톨루엔술포네이트, 크실렌술포네이트 및 타르타레이트 등을 포함한다. 바람직한 염은 시트레이트염이다.

제약학적으로 허용가능한 산 부가 염은 전형적으로 화학식 1의 화합물을 등몰량 또는 과량의 산과 반응시킴으로써 형성된다. 반응물을 일반적으로 디에틸 에테르 또는 벤젠과 같은 상호 용매중에서 혼합한다. 염은 보통 약 1 시간 내지 10 일 내에 용액으로부터 침전되며, 이를 여과에 의해 분리할 수 있거나, 통상의 방법으로 용매를 제거할 수 있다. 유사한 방법으로, 제약학적으로 허용가능한 염기 부가염을 제조할 수 있다.

화학식 1의 화합물의 제약학적으로 허용가능한 염은 일반적으로 그들의 원 화합물에 비해 안정성이 강화되며, 따라서, 종종 액제 또는 유화액제로 제제화하기가 더 쉽다.

일단 제조하면, 화학식 1의 화합물의 유리 염기 또는 염 형태를 본원에 설명된 방법으로의 치료를 요하는 개인에게 투여할 수 있다.

본 발명의 화합물 중 일부는 비대칭 탄소 원자를 갖고, 따라서, 에난티오머 또는 디아스테레오머로 존재한다. 디아스테레오머 혼합물을 자체로 공지된 방법, 예를 들면, 크로마토그래피 및(또는) 분할 결정화에 의해 물리적 및 화학적 차이를 기초로 그들의 개별적인 디아스테레오머로 분리할 수 있다. 에난티오머 혼합물을 적절한 광학 활성 화합물과 반응시켜 디아스테레오머 혼합물로 전환시키고, 디아스테레오머를 분리하고, 개별적인 디아스테레오머를 상응하는 순수 에난티오머로 전환시킴으로써(예를 들면, 가수분해시킴으로써) 에난티오머를 분리할 수 있다. 디아스테레오머, 에난티오머 및 이들의 혼합물을 포함하는 그러한 모든 이성질체는 본 발명의 일부로 간주된다.

본 발명의 방법은 포유동물, 특히 사람에서, 유전자 발현의 조절에 의한 염증 세포 보충의 억제, 또는 플라크의 안정화에 의한 치료 용도에 모두 적용된다. 이러한 작용은 아테롬성 동맥경화증 및 관상혈관 관련 심장 질환의 전개와 밀접하게 관련되므로, 이들 방법은 아테롬성 동맥경화증을 예방하거나, 정지시키거나, 역행시키거나 역전시킨다.

통상의 분석 및 하기 설명된 생체내 분석에서의 본 발명의 화합물의 활성에 의해, 포유동물(예를 들면, 사람, 특히 여성)의 아테롬성 동맥경화증 치료에서 의약으로서의 본 발명의 화합물의 효용을 증명하였다. 그러한 분석은 또한 본 발명의 화합물의 활성을 서로간 및 다른 공지 화합물의 활성과 비교할 수 있는 방법을 제공한다. 이러한 비교 결과는 그러한 질병을 치료하기 위한, 사람을 포함하는 포유동물에서의 투여량 수준을 결정하기 위해 유용하다.

이들 화합물의 효과를 아테롬성 동맥경화증 병변에 의해 덮인 대동맥 표면의 %에 대해 위약 대조군과 비교하여 평가함으로써(고지방식을 먹인 난소적출된 암컷 Apo E 결핍 마우스에 피하 투여함), 이들 화합물의 아테롬성 동맥경화증 치료 활성을 측정할 수 있다.

발명의 구성 및 작용

프로토콜

동물 준비: 난소적출된 암컷 Apo E 결핍 마우스를 고지방식으로 사육하였다. 동물을 대조군 및 시험 화합물 군으로 나누었다. 시험될 화합물 및 위약(이들은 60 일 방출 피하 펠렛에 포함된다)을 투관침과 함께 동물의 목 뒤쪽에서 피부 아래에 삽입하였다. 초기 투여의 약 55 일 후에 동물에 재투여하여, 마우스에서 총 투여 기간이 약 90 일이 되도록 하였다.

동물

암컷 Apo E 결핍 트랜스게닉 마우스

20 내지 30 g의 평균 체중

25 일령에서의 OVX

연구 시작일에 개별 분리 케이지에 보관

70 일령에서 90 일 동안 투여함

3 개월 동안 21 중량% 지방 및 0.15 중량% 콜레스테롤을 함유하는 웨스턴(Western) 유형 사료 (Harlan Teklad, Madison, Wisconsin, Cat.# TD 88137 TEKLAD)를 먹이고 희생시킴.

155 일령에 희생시킴.

시간 방출 펠렛

하기와 같이 시간 방출 펠렛(60 일, 30㎜)을 인노베이티브 리서치 오브 아메리카 (Innovative Research of America (1-800-421-8171))로부터 구입한다:

위약: 인노베이티브 리서치 오브 아메리카 (1-800-421-8171)로부터 구입한 5㎎ 펠렛(83㎍/일) CAT #SC-111.

시험 화합물: 인노베이티브 리서치 오브 아메리카 (1-800-421-8171)로부터 구입한 펠렛 CAT # 특별 주문품.

조직 수집: 90 일의 투여 기간의 끝에, 동물을 밤새 굶긴 다음 희생시켰다. 동물을 마취시키고, 혈장 콜레스테롤 및 트리글리세라이드 분석을 위해 각각의 동물로부터 전혈 샘플을 취하였다. 마우스를 단기간 동안 또는 조직에 혈액이 없어질때까지(관류액이 맑아질때까지) PBS를 사용하여 적소 관류시켰다 (좌심실에서 심장 천자에 의해). 관류액을 4% 카코딜레이트-완충된 파라포름알데히드로 교체하고, 동물을 단기간 동안 적소에서 관류 고정시켰다. 자궁을 취하여 칭량하였다. 심장 및 대동맥(심장에서 궁으로부터 신장 분지의 바로 하부까지)을 취하여 4% 카코딜레이트-완충된 파라포름알데히드를 포함하는 분리 바이알에 옮겨담았다. 조직을 몇시간 동안 후관류 고정시켰다. 조직을 30% 수크로스검에 옮겨 담고, 절편하기 전 적어도 하루 동안 조직에 수크로스를 침윤시켰다.

대동맥: 외부 외막(adventitia)을 대동맥으로부터 제거하고, 혈관을 궁에서 시작하여 하방으로 대퇴부 분지까지 대동맥의 면을 따라 세로 절단하여 절단 개열하였다. 대동맥궁의 다른 면을 두 번째로 세로 절단하여, 이 지점에서 혈관을 1/2로 쪼개었다. 예를 들면, 옵티마스(OPTIMAS) 이미지 분석 프로그램 ('옵티마스 4.1 소프트웨어 (Image Processing Solutions, Woburn, MA))를 사용하여 대동맥 혈관내 병변의 양을 정량하였다. 대동맥을 10% 완충된 포르말린에 저장하였다.

심장: 심장을 OCT에 묻고, 심장의 대동맥동(sinus) 및 대동맥 판막의 냉동조직(cryostat) 절편을 제조하였다. 10 ㎛ 절편을 취하고, 매 다른 절편을 벡타본드(Vectabond) 피복 슬라이드 상에 보관하였다. 대동맥의 각각의 부위가 슬라이드마다 약 3 내지 4개의 슬라이드 w/4 절편으로 포함되어야 한다. 심장 절편을 오일 레드(Oil red) O를 사용하여 지질에 대해 염색하고, 대동맥동 및(또는) 대동맥 판막내 병변의 양을 옵티마스 이미지 분석 프로그램을 이용하여 정량하였다.

본 발명의 화합물의 투여는 본 발명의 화합물을 전신으로 전달하는 임의의 방법에 의할 수 있다. 이들 방법은 경구 경로, 비경구 및 십이지장내 경로 등을 포함한다. 일반적으로, 본 발명의 화합물을 경구 투여하지만, 예를 들면, 즉각적인 목적을 위해 경구 투여가 부적절하거나 환자가 약물을 섭취할 수 없는 경우, 비경구 투여(예를 들면, 정맥내, 근육내, 피하 또는 척수내 투여)를 이용할 수 있다. 본 발명의 화합물들을 동시에 또는 임의의 순서로 순차적으로 동시투여하거나 단독으로 투여할 수 있다.

임의의 경우, 투여될 화합물(들)의 양 및 타이밍은 물론 치료될 환자, 고통의 심각도, 투여 방식 및 처방 의사의 판단에 의존할 것이다. 따라서, 환자 대 환자 변동으로 인하여, 하기 주어진 투여량은 하나의 지침이며, 의사는 각각의 환자에 대해 적절한 것으로 간주하는 활성(즉, 아테롬성 동맥경화증 치료 효과)을 얻기 위한 약물의 투여량을 적정할 수 있다. 원하는 활성의 정도를 고려하여, 의사는 아테롬성 동맥경화증 출발 수준, 환자의 연령 뿐만 아니라 다른 질병의 존재(예를 들면, 골다공증)와 같은 다양한 요인의 균형을 맞추어야 한다. 예를 들면, 에스트로겐 효능제/길항제를 투여하면, 특히 폐경기후 여성에 대해 골다공증에 유리한 효과를 제공할 수 있다. 다음 단락에서는 본 발명의 다양한 화합물에 대한 바람직한 투여량 범위를 제공한다.

사용할 본 발명의 화합물의 양을 아테롬성 동맥경화증 치료제로서의 그의 활성에 의해 결정한다. 이러한 활성을 각각의 화합물의 약물동력학 및 상기 설명된 바와 같은 프로토콜을 사용하는 플라크 형성 억제 및(또는) 안정화에서의 그의 최소의 최대 유효량에 의해 결정한다.

일반적으로, 본 발명의 아테롬성 동맥경화증 치료 활성을 위한 유효 투여량은 본 발명의 화합물에 대해 0.01 내지 200 ㎎/㎏/일, 바람직하게는 0.10 내지 100 ㎎/㎏/일의 범위이다.

본 발명의 화합물을 일반적으로 1종 이상의 본 발명의 화합물을 제약학적으로 허용가능한 비히클 또는 희석제와 함께 포함하는 제약 조성물의 형태로 투여한다. 따라서, 본 발명의 화합물을 임의의 통상의 경구, 비경구 또는 경피 투여형태로 개별적으로 또는 함께 투여할 수 있다.

경구 투여를 위해, 제약 조성물은 용액제, 현탁액제, 정제, 환제, 캡슐제 및 산제 등의 형태일 수 있다. 나트륨 시트레이트, 탄산칼슘 및 인산칼슘과 같은 다양한 부형제를 함유하는 정제를 전분, 및 바람직하게는 감자 전분 및 타피오카 전분 및 특정 복합 실리케이트와 같은 붕해제와 폴리비닐피롤리돈, 수크로스, 젤라틴 및 아카시아와 같은 결합제와 함께 사용한다. 부가적으로, 마그네슘 스테아레이트, 나트륨 라우릴 술페이트 및 탈크와 같은 윤활제가 타정 목적으로 종종 매우 유용하다. 연질 또는 경질 충전된 젤라틴 캡슐내의 충전제로서 유사한 유형의 고체 조성물을 또한 사용하며; 이와 관련하여 바람직한 물질은 락토스 또는 밀크 설탕 뿐만 아니라 고분자량 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 경구 투여용으로 수성 현탁액제 및(또는) 엘릭서제를 원하는 경우, 본 발명의 화합물을 다양한 감미료, 향미료, 착색제, 유화제 및(또는) 현탁화제 뿐만 아니라, 물, 에탄올, 프로필렌 글리콜, 글리세린 및 다양한 이들의 유사한 조합과 혼합할 수 있다.

비경구 투여용으로, 참깨유 또는 낙화생유 또는 수성 프로필렌 글리콜 중의 용액제를 사용할 수 있고, 또한 상응하는 수용성 염의 멸균 수용액제를 사용할 수 있다. 그러한 수용액제를 필요한 경우 적합하게 완충시키고, 충분한 염수 또는 글루코스를 사용하여 액체 희석액을 먼저 등장성이 되도록 한다. 이들 수용액제는 정맥내, 근육내, 피하 및 복강내 주입용으로 특히 적합하다. 이와 관련하여, 사용되는 멸균 수성 매질을 당업계의 숙련인에게 잘 공지된 표준 기술에 의해 모두 쉽게 얻을 수 있다.

경피(예를 들면, 외용) 투여용으로, 희석 멸균 수용액제 또는 부분 수용액제(일반적으로 약 0.1% 내지 5% 농도)(그렇지 않으면 상기 비경구 용액제와 유사함)를 제조한다.

특정량의 활성 성분을 갖는 다양한 제약 조성물의 제조 방법은 당업계의 숙련인에게 공지되어 있거나, 본 명세서의 견지에서 명백해질 것이다. 제약 조성물의 제조 방법의 예로써, 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easter, PA., 15th Edition(1975)]을 참조하시오.

본 발명에 따른 제약 조성물은 0.1% 내지 95%, 바람직하게는 1% 내지 70%의 본 발명의 화합물(들)을 함유할 수 있다. 임의의 경우, 투여될 조성물 또는 제제는 치료될 환자의 질병/질환을 치료하기에 유효한 양으로 본 발명에 따른 화합물(들)을 함유할 것이다.

실시예 1

본 실시예에서는 90 일 동안 고지방식을 먹이고, 위약, 17-β-에스트라디올 또는 {4-[2-(2-아자-비시클로[2.2.1]헵트-2-일)-에톡시]-페닐}-[6-히드록시-2-(4-히드록시-페닐)-벤조[b]티오펜-3-일]메타논을 피하 투여한, 난소적출된 암컷 Apo E 결핍 마우스에서 발견되는 아테롬성 동맥경화증 병변의 양을 비교하였다. 후자의 화합물 및 그의 제조 방법은 국제 출원 공개 제WO/10513호에 개시되어 있다.

동물

동질성 아포지단백질(apo) E-결핍 마우스를 하우스에서 사육하였다. 마우스는 혼합 유전 배경(129ola×C57B/6)을 갖는다. 36 마리의 마우스를 사료 및 물에 자유롭게 접근가능하게 12 시간 주/야 사이클 룸에 유지하였다. 마우스에 칼로리를 조정한 웨스턴 유형 사료 (Harlan Teklad, Madison, Wisconsin, Cat. #TD 88137, 21 중량% 지방 및 0.15 중량% 콜레스테롤을 포함)를 먹였다. 이유기(28 일령)의 암컷 마우스를 1㎝의 척추 절개를 통해 양측 난소적출시키거나(OVX) 모의 수술하였다. 45 일령의 마우스를 무작위로 3가지 처리 군 중 하나로 지정하고, 60 일의 서방성 펠렛 (인노베이티브 리서치 오브 아메리카, Toledo, Ohio)을 마취하에 견갑골사이에 삽입하였다: 0.5㎎ 위약, 6 ㎍/일의 17-β-에스트라디올, 또는 50㎍/일의 {4-[2-(2-아자-비시클로[2.2.1]헵트-2-일)-에톡시]-페닐}-[6-히드록시-2-(4-히드록시-페닐)-벤조[b]티오펜-3-일]메타논. 55 일 후에 마우스에 재투여하여 총 투여 기간이 90 일이 되도록 하였다.

조직 제조

마우스를 밤새 굶긴 후, 케타민/크실라진/PLBS 1:1:2 (Miles Inc.)로 마취시켰다. 이어서, 혈액 및 자궁을 취하여, 인산염 완충 염수(PBS) pH 7.4로 적소 관류시켰다 (80㎜㎐g).

지질 염색 및 형태계측 분석용 절편을 하기와 같이 제조하였다. 심장을 4% 카코딜레이트-완충된 파라포름알데히드로 적소에 관류 고정시켰다. 심장 및 대동맥을 취하고, 부가의 2 내지 3시간 동안 4% 카코딜레이트-완충된 파라포름알데히드에 고정시킨 후, 30% 수크로스검(PBS 중 1% 아라비아검+30% 수크로스)으로 4℃에서 24 시간 동안 침윤시켰다. 병변부 단면적을 측정하기 위해, 심장을 OCT 임베딩(imbedding) 매질 (Optimal Cryostat Temperature Inc.)에 묻고, -18℃에서 10μ로 냉동조직 절편을 제조하였다. 매 다른 절편을 벡타본드 (Vector Laboratories, Inc., Burlingame, CA) 피복 슬라이드에 장착하였다. 절편된 심장의 면적을 마우스의 대동맥동 및 대동맥 판막내의 아테롬성 동맥경화증 병변의 정도를 정량하기 위해 통상적으로 사용되는 2개의 분리 영역으로 나누었다. 심장의 기저부로부터 상방으로 이동할 때, 대동맥동은 내강(lumen)을 3개의 구별되는 영역으로 분할시키는 판막 첨부(cusp)가 처음 나타나는 곳에서 시작한다. 이 영역에서, 대동맥벽은 부풀고 불규칙하다. 대동맥동 영역이 끝나고, 판막 영역은 판막 첨부가 내강을 더 이상 분할하지 않을때 시작하고, 대동맥벽은 보다 원형이고 뚜렷하다. 판막은 대동맥동의 단부에서 시작하고, 판막 첨부가 더 이상 명백하지 않을 때까지 지속하며, 대동맥벽은 보다 더 원형이다 (약 280㎛). 절편을 오일 레드 O (프로필렌 글리콜 중 0.5%, Polyscientific, BayShore, NY)를 사용하여 지질에 대해 염색하고, 길스(Gill's) III 헤마톡실린 (Sigma)을 사용하여 대비염색하였다.

병변 분석

대동맥동 및 대동맥 판막의 각각의 절편을 레이츠 래보럭스(Leitz Laborlux) S (Leica) 광학 현미경에 부착된 카메라로부터 직접 이미지를 포착하고, 그 이미지를 트리니트론(Trinitron) RGB 모니터에 디스플레이함으로써, 오일 레드 O 염색 면적에 대해 평가하였다. 이미지 분석을 '옵티마스 4.1 소프트웨어(Image Processing Solutions, Woburn, MA)를 사용하여 측정하였다. 단면에서 대동맥벽의 외부 주변 및 내부 주변의 윤곽을 그리고, 정상 조직(헥마톡실린으로 염색됨) 및 손상된 조직(오일 레드 O로 염색됨) 사이를 구별하기 위한 역치를 설정하였다. 결과를 절편당 평균 병변 크기 또는 오일 레드 O로 염색된 총 혈관벽 단면적(절편당 내강을 제외한 정상+손상 면적)의 %로 표현하였다. 각각의 동물에 대해, 평균 12 내지 16개의 절편을 측정하고, 데이터를 병변 크기 또는 평균 손상 면적%로 표현하였다.

엔 페이스(en face) 제제를 사용하여 병변에 의해 덮인 대동맥 표면의 %를 측정하였다. 상기 설명한 바와 같이 수크로스검이 침윤된 대동맥에서 외막을 제거하고, 궁으로부터 하향하여 대퇴 분지까지 세로 절단하였다. 대동맥궁에서 관상동맥 및 경동맥 사이를 두 번째 세로 절단하고, 대동맥을 폴리스티렌의 조각 상에 개열시켜 놓았다. 카피 스탠드(copy stand)에 부착된 CCD 카메라로부터 직접 이미지 포착하고, 트리니트론 모니터 상에 디스플레이시켜, 각각의 대동맥을 병변 면적에 대해 평가하였다. '옵티마스 4.1 이미지 분석을 이용하여 염색되지 않은 조직내의 병변 면적을 측정하였다. 외막이 제거된 대동맥내의 아테롬성 동맥경화성 플라크의 면적은 황색을 띤 백색 면적으로 나타난다. 흑색(배경), 회색(정상 조직) 및 백색(병변 영역)의 색농도에 대한 역치를 수동적으로 설정함으로써 이 면적을 정량하였다.

혈장 지질

상업적으로 이용가능한 키트(Wako and Boehrringer-Mannheim)를 이용하는 비색법을 사용하여 총 혈장 콜레스테롤 및 트리글리세라이드를 측정하였다.

통계학적 분석

치료, 혈청 지질 및 병변 크기에 관하여 군 사이에 통계학적으로 유의한 차이에 대해 시험하기 위해 편차의 분석(ANOVA)을 이용하였다. 평균 사이의 유의한 차이를 측정하기 위해 피숴(Fisher's)의 F 시험을 이용하였다.

결과

본 실시예의 결과를 하기 표에 상세히 기재하였다. 데이터는 에스트로겐 효능제인 {4-[2-(2-아자-비시클로[2.2.1]헵트-2-일)-에톡시]-페닐}-[6-히드록시-2-(4-히드록시-페닐)-벤조[b]티오펜-3-일]-메타논에 대한 아테롬성 동맥경화증 병변의 크기에서의 감소를 증명함으로써, 본 프로토콜의 유효성을 증명한다. 중요하게, 화합물을 경구 대신 피하 투여하기 때문에, 또는 마우스가 지질 효과에 관련하여 에스트로겐 유사 화합물에 반응하지 않기 때문에, 본 실험에서 에스트로겐 효능제의 콜레스테롤 저하 활성이 관찰되지 않는 것과 같이, 이러한 효과는 콜레스테롤을 감소시키지 않으면서 발생한다.

[표 1]

혈장 지질 또는 자궁 중량에 영향을 끼치지 않으면서 OVX apo E-결핍 마우스에서 병변 크기를 감소시키는 {4-[2-(2-아자-비시클로[2.2.1]헵트-2-일)-에톡시]-페닐}-[6-히드록시-2-(4-히드록시페닐)-벤조[b]티오펜-3-일]-메타논

시험군	N	총 콜레스테롤 (㎎/㎗)	트리글리세라이드 (㎎/㎗)	자궁 중량 (gm)	대동맥 관막 병변 면적 (%)
위약	15	929±315	96±24	37±39	33,4±11,2
17-β-에스트라디올 (6 ㎍/d)	8	641±172*	53±24*	165±105*	18,9±6,2*
X (50 ㎎/d)	10	820±134	91±55	35±15	21,6±6*
* 위약과 유의하게 상이함 (P가 0,05 미만이다).					
X는 {4-[2-(2-아자-비시클로[2,2,1]헵트-2-일)-에톡시]-페닐}-[6-히드록시-2-(4-히드록시페닐)-벤조[b]티오펜-3-일]-메타논이다.					

본 발명이 본원에 기재된 특정 실시태양에 제한되지 않으며, 하기 청구범위에서 정의되는 바와 같은 신규한 개념의 취지 및 범위로부터 벗어나지 않으면서 다양하게 변형 및 변경될 수 있음을 이해해야 한다.

발명의 효과

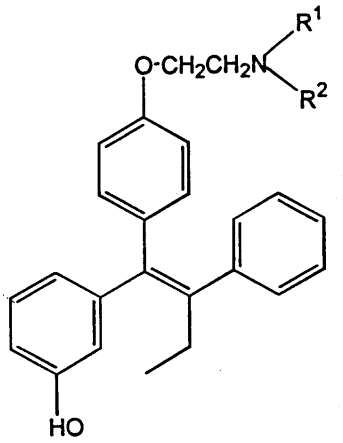
치료 유효량의 화학식 1의 화합물을 투여하여, 과도한 염증 세포 보충을 일으키는 케모카인 발현을 직접적으로 억제함으로써 아테롬성 병변의 진행을 억제하거나 플라크를 안정화시켜, 지질 저하에 의존하지 않으면서 사람을 포함하는 포유동물에서 아테롬성 동맥경화증을 치료할 수 있다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

치료 유효량의 하기 화학식 1의 화합물 또는 그의 제약학적으로 허용가능한 염, 및 제약학적으로 허용가능한 부형제 또는 희석제를 포함하는, 지질 저하에 의존하지 않는 아테롬성 동맥경화증 치료용 제약 조성물.

화학식 1



상기 식에서,

R^1 및 R^2는 동일하거나 상이하며, 단, R^1 및 R^2가 동일한 경우 각각 메틸기 또는 에틸기이며, R^1 및 R^2가 상이한 경우 이들 중 하나는 메틸기 또는 에틸기이고, 다른 하나는 수소 또는 벤질기이다.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 화학식 1의 화합물이 R^1 및 R^2가 각각 메틸인 화합물 또는 그의 제약학적으로 허용가능한 염인 조성물.

청구항 3

제 2 항에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물의 염이 시트레이트염인 조성물.

청구항 4

제 3 항에 있어서, 사람을 치료하기 위한 조성물.

청구항 5

제 4 항에 있어서, 치료 유효량이 약 0.01 ㎎/㎏/일 내지 약 200 ㎎/㎏/일인 조성물.

청구항 6

제 5 항에 있어서, 치료 유효량이 약 0.10 ㎎/㎏/일 내지 약 100 ㎎/㎏/일인 조성물.