

(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl.⁶
A61K 9/00

(11) 공개번호 특허2001-0020779
(43) 공개일자 2001년03월 15일

(21) 출원번호	10-2000-0022108
(22) 출원일자	2000년04월 26일
(30) 우선권 주장	60/132,036 1999년04월 30일 미국(US)
(71) 출원인	릴리 아이코스 엘엘씨 추후보정 미합중국 델라웨어 월링톤 오렌지 스트리트 1209 에릭제프리토마스 미국인디애나주46168플레인필드템버랜드드라이브6019 퍼거슨케니쓰마이클 미국워싱턴주98021보텔플레이스웨스트1423221 필먼월리엄어네스트 미국인디애나주46032카멜타운드라이브3004 취태커존스티븐 미국워싱턴주98072우던빌애비뉴 16219340
(72) 발명자	
(74) 대리인	이상섭, 김승호, 나영환

심사청구 : 없음

(54) 약학 제 품

요약

본 발명은 고도로 선택적인 포스포디에스테라제(PDE) 효소 억제제 및 이들 억제제를 약학 물품의 제조에 사용하는 방법에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 약 1 mg 내지 약 20 mg 단위 투여량으로 약학 제 품 내에 함유되어 있는 경우 성 기능 부전의 치료에 유용한 시클릭 구아노신 3',5'-모노포스페이트 특이 적 포스포디에스테라제 타입 5(PDE5)의 유효한 억제제에 관한 것이다. 본 명세서에서 설명된 제품은 그 특징이 선택적 PDE5 억제에 있으므로, PDE5의 억제가 요구되는 치료 분야에 이점을 제공하면서 다른 포 스포디에스테라제 효소의 억제로부터 발생하는 유해한 부작용을 최소화하거나 또는 제거한다.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 출원은 1999년 4월 30일에 출원된 가(假) 특허 출원 제60/132,036호의 우선권을 주장하는 것이다.

본 발명은 고도로 선택적인 포스포디에스테라제(PDE) 효소 억제제 및 이들 억제제를 약학 제품의 제조에 사용하는 방법에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 약학 제 품 내에 함유되어 있는 경우 성 기능 부전 의 치료에 유용한 시클릭 구아노신 3',5'-모노포스페이트 특이적 포스포디에스테라제 타입 5(PDE5)의 유효한 억제제에 관한 것이다. 본 명세서에서 설명된 제품은 그 특징이 선택적 PDE5 억제에 있으므로, PDE5의 억제가 요구되는 치료 분야에 이점을 제공하면서 다른 포스포디에스테라제 효소의 억제로부터 발 생하는 유해한 부작용을 최소화하거나 또는 제거한다.

시클릭 구아노신 3',5'-모노포스페이트 특이적 포스포디에스테라제(cGMP-특이적 PDE) 억제제의 생화학 적, 생리학 적, 그리고 임상적 효과는 평활근, 신장, 지혈, 염증 및/또는 내분비 기능의 조절이 요구되는 다양한 질환 상태에서 상기 억제제의 유용성을 시사해준다. 타입 5 cGMP-특이적 포스포디에스테라제(PDE5)는 혈관의 평활근 내 주요 cGMP 가수분해 효소이고 음경 해면체에서 그 발현이 보고되고 있다[태허 등의 문헌[J. Urol., 149: 285A(1993)] 참조]. 따라서, PDE5는 성 기능 부전의 치료 에 매력적인 대상이다[머레이의 문헌[DN & P 6(3): 150~56(1993)] 참조].

PDE5 억제제를 제공하는 약학 제품은 현재 구입할 수 있으며, 상품명 비아그라(VIAGRA)(등록 상표)로 시 판되고 있다. 비아그라(등록 상표) 내의 활성 성분은 실데나필(sildenafil)이다. 이 제품은 실데나필의 25 mg, 50 mg 및 100 mg 정제와 포장 삼입물을 포함하는 제품으로서 시판되고 있다. 포장 삼입물은 실데 나필이 기타 공지된 포스포디에스테라제보다 PDE5에 대하여 보다 강력한 억제제라는 것을 알려준다(PDE1 억제 효과면에서는 80 배 이상이고, PDE2, PDE3 및 PDE4 억제 효과면에서는 1,000 배 이상임). PDE5에

대한 실데나필의 IC_{50} 은 3 nM로서 보고되어 있고{문헌[Drugs of the Future, 22(2), pp. 128~143(1997)] 참조}, 그리고 3.9 nM로서 보고되어 있다{볼렐 등의 문헌[Int. J. of Impotence Res., 8, pp. 47~52(1996)] 참조}. 실데나필은, PDE3에 대한 선택성에 비하여 PDE5에 대한 선택성이 4,000 배이고, PDE6에 대한 선택성에 비하여 PDE5에 대한 선택성은 10 배에 불과한 것으로 설명되고 있다. PDE6에 대한 선택성의 상대적인 부족은 색각과 관련된 이상에 원인이 있다고 하는 학설이 있다.

실데나필이 상당한 상업적 성공을 얻었지만, 안면 조홍(10% 발생율)을 비롯한 그 유의적인 유해한 부작용 때문에 기대에 못미치고 있다. 그 유해한 부작용으로 인해, 시각 이상 또는 고혈압증 환자에 있어서, 그리고 가장 중요하게는 유기 질산염을 사용하는 개체에게까지 실데나필의 사용이 제한되고 있다{웰즈 등의 문헌[Amer. J. of Cardiology, 83(5A), pp. 21(C)~28(C)(1999)] 참조}.

유기 질산염을 복용하는 환자에게 실데나필을 사용하는 것은 임상적으로 유의적인 혈압 강하를 일으켜 환자를 위험에 빠뜨릴 수 있는 것으로 알려져 있다. 따라서, 실데나필에 대한 포장 라벨에서는, 유기 질산염(예, 니트로글리세린, 이소소르비드 모노니트레이트, 이소소르비드 디니트레이트, 에리트리톨 테트라니트레이트) 및 임의의 형태의 다른 산화질소 공여체와 함께 규칙적으로 간헐적으로 실데나필을 사용하는 것을 엄격히 금지하고 있는데, 그 이유는 실데나필이 질산염의 저혈압성 작용을 상승시키기 때문이다{C.R. 콘티 등의 문헌[Amer. J. of Cardiology, 83(5A), pp. 29C~34C(1999)] 참조}. 따라서, 실데나필의 이용 가능성에도 불구하고, 성 기능 부전을 치료하는데 유용한 개선된 약학 제품을 확인하고자 하는 요구가 여전히 지속되고 있다.

본 발명은 포장 삼입물, 용기, 및 약 1 mg/투여 형태 내지 약 20 mg/투여 형태 사이에 존재하는 단위 투여량의 선택적 PDE5 억제제를 포함하는 경구 투여 형태를 포함하는 인간 약학 용도용 제품을 제공한다. 본 발명의 유익한 효과는 임상 연구에서, 그리고 후술하는 판정 기준을 충족하는 선택적 PDE5 억제제는 시각 이상에 대한 경고 사항과 같이 PDE5 억제제 제품의 경우에 일반적으로 요구되는 금기 사항 없이도 약 1 mg/투여 형태 내지 약 20 mg/투여 형태의 효과적인 경구 투여가 가능하다는 발견을 통해서 관찰되었다. 본 발명의 선택적 PDE5 억제제는,

- 1) 특정한 PDE5 억제제의 경우 PDE6에 비하여 PDE5 억제에 대한 IC_{50} 값이 100 배 이상 차이가 나고(즉, PDE5에 대한 IC_{50} 값이 PDE6에 대한 IC_{50} 값보다 100 배 이상 더 작다),
- 2) PDE1c에 비하여 PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 1,000배 이상 차이가 나며,
- 3) IC_{50} 값이 10 nM 미만이다.

중요하게도, 또한 임상 연구는 감염되기 쉬운 개체에게 있어서 조홍을 일으키는 경향을 감소시키는 효과적인 제품을 제공할 수 있는 것으로 밝혀졌다. 가장 놀랍게도, 또한 제품은 투여시 PDE5 억제제와 유기 질산염의 조합 효과와 관련된 부작용을 임상적으로 비유의적인 수준으로 제공할 수 있다. 따라서, PDE5 억제제를 함유하는 제품에 일단 필요하다고 생각되는 금기 사항은, 상기 정의한 선택적 PDE5 억제제를 본 발명에서 개시하고 있는 바와 같이 사용하는 경우에는 불필요하다. 따라서, 본 발명은 질산염 치료가 요구되는 개체와 같이 심혈관 질환을 갖고 있는 개체, 성 기능 부전의 치료를 개시하기 전 3 개월 이상 심근 경색을 앓고 있는 개체, 및 뉴욕 심장 협회(NYHA)가 정의하고 있는 1급 울혈성 심부전을 앓고 있는 개체 또는 시각 이상 개체를 비롯하여 기존에 치료 불가능하거나 또는 허용할 수 없는 부작용으로 고통을 받고 있는 개체의 성 기능 부전에 대한 효과적인 치료법을 제공한다.

발명이 이루고자하는 기술적 과제

본 발명은 포장 삼입물, 용기, 및 투여 형태 당 선택적 PDE5 억제제를 약 1 mg 내지 약 20 mg 함유하는 경구 투여 형태를 포함하는 인간 약학 용도용 제품을 제공한다.

또한, 본 발명은 선택적 PDE5 억제제를 약 1 mg 내지 약 20 mg, 필요할 경우 최고 20 mg/일의 총투여량으로 함유하는 경구 투여 형태를 치료가 필요한 환자에게 투여하는 단계를 포함하여 PDE5의 억제가 요구되는 증상을 치료하는 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 성 기능 부전을 치료하기 위하여 선택적 PDE5 억제제를 약 1 mg 내지 약 20 mg의 투여량으로 포함하는 경구 투여 형태를 사용하는 방법을 제공한다.

본 발명의 방법 및 물품에 의해 치료할 수 있는 특이적 증상으로는 남성 발기 부전 및 여성 성 기능 부전, 특히 여성 성적 각성 장애로도 공지된 여성 각성 장애를 들 수 있으며, 이에 국한되는 것은 아니다.

특히, 본 발명은

(a) i) PDE6에 비하여 PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 100 배 이상 차이가 나고, ii) PDE1c에 비하여 PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 1000 배 이상 차이가 나며, iii) IC_{50} 값이 10 nM 미만이고, iv) 약 1 mg 내지 약 20 mg 단위 경구 투여량으로도 효과적일 정도의 충분한 생체 이용율을 갖고 있는 선택적 PDE5 억제제를 약 1 mg 내지 약 20 mg 포함하는 경구 투여 형태,

(b) PDE5 억제제가 성 기능 부전의 치료를 필요로 하는 환자에서 그 성 기능 부전을 치료하는데 유용하고, 유기 질산염의 투여와 관련된 금기 사항이 없다는 것을 알려주는 포장 삼입물, 및

(c) 용기

를 포함하는 인간 약학 제품을 제공한다.

또한, 본 발명은

(a) i) PDE6에 비하여 PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 100 배 이상 차이가 나고, ii) PDE1c에 비하여

PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 1000 배 이상의 차이가 나며, iii) IC_{50} 값이 10 nM 미만이고, iv) 약 1 mg 내지 약 20 mg 단위 경구 투여량으로도 효과적일 정도의 충분한 생체 이용율을 갖고 있는 선택적 PDE5 억제제를 약 1 mg 내지 약 20 mg 포함하는 경구 투여 형태,

(b) PDE5 억제제가 성 기능 부전의 치료를 필요로 하는 환자에 있어서, 그리고 유기 질산염을 사용하는 환자에 있어서 그 성 기능 부전을 치료하는데 유용하다는 것을 알려주는 포장 삽입물, 및

(c) 용기

를 포함하는 인간 약학 제품을 제공한다.

또한, 본 발명은

(a) i) PDE6에 비하여 PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 100 배 이상 차이가 나고, ii) PDE1c에 비하여 PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 1000 배 이상 차이가 나며, iii) IC_{50} 값이 10 nM 미만이고, iv) 약 1 mg 내지 약 20 mg 단위 경구 투여량으로도 효과적일 정도의 충분한 생체 이용율을 갖고 있는 선택적 PDE5 억제제를 약 1 mg 내지 약 20 mg 포함하는 경구 투여 형태,

(b) PDE5 억제제가 성 기능 부전의 치료를 필요로 하는 환자에 있어서, 그리고 망막 질환, 조홍 성향, 시각 이상 성향, 성 기능 부전의 치료를 개시하기 전 약 90 일 이상 심근 경색, 1급 울혈성 심부전, 및 이들의 합병증으로 이루어진 군 중에서 선택되는 증상을 앓고 있는 환자에 있어서 그 성 기능 부전을 치료하는데 유용하다는 것을 알려주는 포장 삽입물, 및

(c) 용기

를 포함하는 인간 약학 제품을 제공한다.

발명의 구성 및 작용

본 명세서에서 개시되고 설명된 본 발명의 목적을 위한 용어 및 약어를 정의하면 다음과 같다.

'용기'라는 용어는 약학 제품을 보관, 운반, 분배 및/또는 취급하기에 적합한 임의의 저장 및 밀폐 용기를 의미할 수 있다.

' IC_{50} '이라는 용어는 특정한 PDE 효소(예, PDE1c, PDE5 또는 PDE6)를 억제할 수 있는 화합물의 효능에 대한 측정값을 의미한다. IC_{50} 은 단일 투여량-반응 실험에서 50% 효소 억제를 유도하는 화합물의 농도이다. 화합물에 대한 IC_{50} 값을 측정하는 방법은 Y. 첩 등의 문헌[Biochem. Pharmacol., 22, pp. 3090~3108(1973)]에 개괄적으로 기재된 공지의 시험관 내 방법에 의해 용이하게 수행한다.

'포장 삽입물'이라는 용어는 제품을 투여하는 방법과 더불어 의사, 약사 및 환자가 제품의 사용 방법에 관한 정보화된 결정을 내리는데 필요한 안전성 및 효율 데이터를 제공하는 정보를 수반한 제품을 의미한다. 일반적으로 포장 삽입물은 약학 제품의 '라벨'로서 간주되고 있다.

'경구 투여 형태'라는 용어는 경구적으로 투여되는 약학 제품을 언급하는 일반적인 의미로 사용되고 있다. 경구 투여 형태는 액상 제제, 정제, 캡슐제 및 겔캡슐제와 같은 형태를 포함하는 것으로 당업자에게 인식되어 있다.

'선택적 PDE5 억제제'라는 용어는,

1) PDE6의 억제에 대한 IC_{50} 값보다 PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 100 배 이상 더 작고,

2) PDE1c의 억제에 대한 IC_{50} 값보다 PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 1,000 배 이상 더 작으며,

3) PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 10 nM 미만인 PDE5 억제제로서 정의한다. 선택적 PDE5 억제제는 화학 구조가 상당히 다양하지만, 본 발명에서 상기 억제제의 용도는 화학적 구조에 의해 좌우되기보다는 오히려 본 명세서에 개시되어 있는 선택성 및 효능 파라미터에 의해 좌우된다.

'시각 이상'이라는 용어는 PDE6 억제에 의해 발생된다고 여겨지는 청색-녹색 시각에 의해 특징지어지는 비정상적인 시각을 의미한다.

'조홍'이라는 용어는 약물 소화에 의해 발생되고, 보통 안면 및 목 위의 온기가 수반되며, 경우에 따라서는 발한이 수반되는 혈관 확장으로 인한 안면 및 목의 발작적 홍조(episodic redness)를 의미한다.

'유리 약물'이라는 용어는 중합체 공동 침전물 중에 긴밀하게 매립되어 있지 않은 약물의 고형 입자를 의미한다.

전술한 바와 같이, 본 발명은 포장 삽입물, 용기, 및 단위 투여 형태 당 선택적 PDE5 억제제를 약 1 mg 내지 약 20 mg 포함하는 투여 형태를 포함하는 인간 약학 용도용 제품에 관한 것이다. 본 발명에 유용한 선택적 PDE5 억제제는,

1) PDE6에 비하여 PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 100 배 이상의 차이가 나고,

2) PDE1c에 비하여 PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 1,000 배 이상 차이가 나며,

3) IC_{50} 값이 10 nM 미만인 PDE5 억제제이며, 약 1 mg 내지 약 20 mg의 단위 투여량으로도 효과적일 정도의 충분한 생체 이용율을 가질 수 있다.

차이는 IC_{50} 값의 PDE6/PDE5 비율로서, 즉 PDE6에 대한 IC_{50} 값 대 PDE5에 대한 IC_{50} 값의 비율(PDE6/PDE5)로서 표시되며, 100 이상인 것이 바람직하고, 300 이상인 것이 보다 바람직하며, 500 이상인 것이 가장 바람직하다.

마찬가지로, PDE5에 대한 IC_{50} 값에 대해 PDE1c에 대한 IC_{50} 값의 비율(PDE1c/PDE5)은 1000 이상이다. PDE5 억제제는 PDE5에 대한 IC_{50} 값과 PDE1c에 대한 IC_{50} 값 사이의 차이가 3,000 배 이상인 것이 바람직하고, PDE5에 대한 IC_{50} 값과 PDE1c에 대한 IC_{50} 값의 차이가 5,000 배 이상인 것이 보다 바람직하다. PDE5에 대한 IC_{50} 값에 의해 표시되는 억제제의 효능은 10 nM 미만인데, 5 nM 미만인 것이 바람직하며, 2 nM 미만인 것이 보다 바람직하고, 1 nM 미만인 것이 가장 바람직하다.

포장 삽입물은 약학 제품을 투여하는 방법과 더불어 의사, 약사 및 환자가 제품의 사용 방법에 관한 정보화된 결정을 내리는데 필요한 안전성 및 효능 데이터를 기재한 설명서를 제공한다. 일반적으로 포장 삽입물은 약학 제품의 '라벨'로서 간주되고 있다. 본 발명의 제품에 함유되는 포장 삽입물은 선택적 PDE5 억제제가 PDE5의 억제가 요구되는 증상의 치료에 유용하다는 것을 지시해 보여 준다. 또한, 포장 삽입물은 하나 이상의 약 1 mg 내지 약 20 mg 단위 투여 형태를, 필요한 경우 최고 20 mg/일의 총투여량으로 투여할 수 있다는 지시 사항을 제공한다. 투여되는 투여량은, 필요한 경우 1 일 1 회 투여되는 투여 형태가 약 5 mg/일 내지 약 20 mg/일인 것이 바람직하고, 약 5 mg/일 내지 약 15 mg/일인 것이 보다 바람직하며, 약 5 mg 내지 약 10 mg인 것이 가장 바람직하다.

치료하고자 하는 증상은 성 기능 부전(남성 발기 부전 및 여성 성 기능 부전, 보다 바람직하게는 여성 각성 장애(FAD)를 포함함)를 포함하는 것이 바람직하다. 치료하고자 하는 증상은 남성 발기 부전인 것이 보다 바람직하다.

중요하게도, 포장 삽입물은 망막 질환, 예를 들면 당뇨병성 망막증 또는 색소성 망막염일 앓고 있는 환자에게서, 또는 유기 질산염을 사용하는 환자에게서 성 기능 부전을 치료할 수 있는 제품의 사용 방법을 지원하고 있다. 따라서, 포장 삽입물은 이러한 증상들과 관련이 있는 금기 사항, 특히 유기 질산염을 함유하는 투여 형태의 투여와 관련이 있는 금기 사항을 없애는 것이 바람직하다. 또한, 포장 삽입물은 망막 질환, 특히 색소성 망막염과 관련이 있고 시각 이상 성향을 갖고 있는 개체와 관련이 있는 임의의 주의 사항 또는 경고 사항을 없애는 것이 보다 바람직하다. 또한, 포장 삽입물은 투여 형태로 투여되는 환자의 조혈 발생율이 2% 이하인 것이 바람직하고, 1% 이하인 것이 보다 바람직하며, 0.5% 이하인 것이 가장 바람직한 것으로 보고하고 있다. 이러한 조혈 발생율은 본 발명이 PDE5 억제제를 함유하는 종래의 약학 제품보다 현저하게 개선되었다는 것을 입증해 보여 준다.

본 발명의 제품에 사용되는 용기는 약학 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 것들이다. 일반적으로, 용기는 발포 팩, 호일 팩킷, 두껍 또는 마개를 수반하는 유리 또는 플라스틱 병, 또는 환자 또는 약사가 사용하기에 적합한 기타 물품이다. 용기는 1 개 내지 1000 개의 고체 투여 형태를 수용할 수 있는 크기로 만든 것이 바람직하고, 1 개 내지 500 개의 고체 투여 형태를 수용할 수 있는 것이 보다 바람직하며, 5 개 내지 30 개의 고체 투여 형태를 수용할 수 있는 것이 가장 바람직하다.

경구 투여 형태는, 예를 들면 액상 제제, 정제, 캡셀제, 및 껌캡셀제와 같은 형태를 포함하는 것으로서 당업자에게 인식되어 있다. 투여 형태는 선택적 PDE5 억제제를 약 1 mg 내지 약 20 mg 포함하는 고체 투여 형태, 특히 정제인 것이 바람직하다. 경구 용도에 약학적으로 허용 가능한 모든 부형제는 그러한 투여 형태를 제조하는데 적합하다. 적합한 약학 투여 형태로는, 예를 들어 본 명세서에서 참고 인용하고 있는 미국 특허 제5,985,326호(버틀러)에 설명된 공동 침전물 형태를 들 수 있다. 바람직한 실시양태에 있어서, 본 발명의 단위 투여 형태는 고형 PDE5 억제제가 없는 공동 침전물 형태이지만, 유리 약물로서 고형 PDE5 억제제를 어느 정도 함유한다.

정제는 락토오스, 미결정질 셀룰로오스, 전분, 탄산칼슘, 스테아르산 마그네슘, 스테아르산, 탈크, 및 콜로이드성 이산화규소와 같이 일반적으로 안전한 것으로서 여겨지는 약학 부형제를 포함하는 것이 바람직하고, 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., 미국 펜실베이니아주 이스턴 소재의 맥 퍼블리싱 컴퍼니(1990)]에 설명된 표준 약학 제조 기법에 의해 제조한다. 이러한 기법의 예로는 필름 코팅 단계를 사용하거나 또는 사용하지 않고 건조 단계, 미분쇄 단계 및 압축 단계를 수행하여 정제를 성형하는 습식 과립화법, 필름 코팅 단계를 사용하거나 또는 사용하지 않고 미분쇄 단계 및 압축 단계를 수행하여 정제를 성형하는 건식 과립화법, 필름 코팅 단계를 사용하거나 또는 사용하지 않고 압축 단계를 수행하여 정제를 성형하는 건식 혼합법, 주조 성형 단계를 수행하여 정제를 성형하는 기법, 습식 과립화 단계, 건조 단계 및 충전 단계를 수행하여 젤라틴 캡셀제 성형하는 기법, 건식 혼합 단계 및 충전 단계를 수행하여 젤라틴 캡셀제를 성형하는 기법, 또는 현탁액 및 용액의 충전 단계를 수행하여 젤라틴 캡셀제를 성형하는 기법을 들 수 있다. 일반적으로, 고체 투여 형태는 표면 상에 오목화되거나 각인되어 있는 식별 마크를 갖는다.

본 발명은, 상세한 실험 및 임상 시험과, PDE5 억제제에서 나타나는 것으로 여겨지는 종래의 부작용이 특이적 특성, 즉 하기 요약된 특성을 갖고 있는 선택적 PDE5 억제제의 선택에 의해 임상적으로 비유의적인 수준까지 감소될 수 있다는 예상치 못한 관찰 결과를 기본으로 한다. 상기 선택적 PDE5 억제제는,

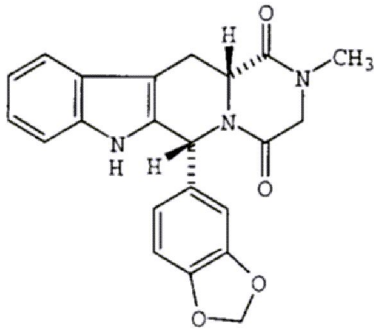
- 1) PDE6에 비하여 PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 100 배 이상의 차이가 나고,
- 2) PDE1c에 비하여 PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 1,000 배 이상 차이가 나며,
- 3) PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 10 nM 미만이다.

이러한 예상치 못한 관찰 결과는, 경구 투여할 경우, 피할 수 없다고 여겨지는 종래의 바람직하지 못한 부작용을 최소화시키는 선택적 PDE5 억제제를 약 1 mg 내지 약 20 mg 단위 투여 형태로 함유하는 제품의 개발을 가능하게 하였다. 이러한 부작용들로는 PDE5 억제제를 단독으로 또는 유기 질산염과 함께 투여하

는 경우, 안면 조홍, 시각 이상, 및 유의적인 혈압 강하를 들 수 있다. 또한, 약 1 mg 내지 약 20 mg 단위 투여 형태로 투여되는 본 발명의 PDE5 억제제가 PDE6에 미치는 최저한의 작용은 당뇨병성 망막증 또는 색소성 망막염과 같은 망막 질환을 앓고 있는 환자에게 선택적 PDE5 억제제의 투여를 허용할 수 있게 한다.

이러한 하나의 선택적 PDE5 억제제, 즉 (6R-트랜스)-6-(1,3-벤조디옥솔-5-일)-2,3,6,7,12,12a-헥사히드로-2-메틸피라지노[1',2':1,6]피리도[3,4-b]인돌-1,4-디온, 또다른 명칭의 (6R, 12aR)-2,3,6,7,12,12a-헥사히드로-2-메틸-6-(3,4-메틸렌-디옥시페닐)피라지노[2',1:6,1]피라디도[3,4-b]인돌-1,4-디온은 미국 특허 제5,859,006호(다우간)에 개시되어 있으며, 하기 화학식 1로 표시된다.

화학식 1

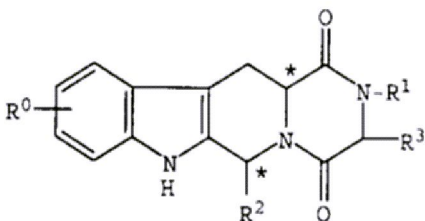


화학식 (1)의 화합물은, 유기 질산염과 함께 투여하는 경우, 심장 수축기성 혈압에 최소한의 영향을 발揮한다는 것이 인간 임상 연구에서 입증되었다. 이와 대조적으로, 실데나필은 질산염과 함께 투여하는 경우 플라시보에 비해 심장 수축기성 혈압이 4 배 이상 저하되는데, 이것은 비아그라(등록 상표) 삽입물 내의 금기 사항 및 특정한 환자에 대한 경고 사항을 기재하도록 유도한다.

선택적 PDE5 억제제는 화학 구조에 있어서 상당히 다양하지만, 본 발명에서 정의하고 있는 선택적 PDE5 억제제의 용도는 특정한 화학 구조에 의해 좌우되는 것이 아니라 오히려 본 명세서에서 요약된 결정적인 파라미터에 의해 좌우된다. 그러나, 요구되는 효능 및 선택성을 갖고 있는 바람직한 화합물은 각각이 본 명세서에서 참고 인용되어 있는 미국 특허 제5,859,006호(다우간), 미국 특허 제5,981,527호(다우간), 및 미국 특허 제6,001,847호(다우간)에 설명된 것들 중에서 본 명세서에 설명하고 있는 시험들로 용이하게 확인할 수 있다.

미국 특허 제5,859,006호(다우간) 및 미국 특허 제5,981,527호(다우간)의 바람직한 화합물은 하기 화학식(2)로 표시되는 화합물, 이것의 염 및 이들의 용매화물이다.

화학식 2

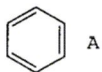


상기 식 중,

R^0 은 수소, 할로겐 및 $(C_1 \sim C_6)$ 알킬로 이루어진 군 중에서 선택하고,

R^1 은 수소, $(C_1 \sim C_6)$ 알킬, $(C_2 \sim C_6)$ 알케닐, $(C_2 \sim C_6)$ 알키닐, 할로 $(C_1 \sim C_6)$ 알킬, $(C_3 \sim C_8)$ 시클로알킬, $(C_3 \sim C_8)$ 시클로알킬 $(C_1 \sim C_3)$ 알킬, 아릴 $(C_1 \sim C_3)$ 알킬[여기서, 아릴은 페닐이거나 또는 할로겐, $(C_1 \sim C_6)$ 알킬, $(C_1 \sim C_6)$ 알콕시, 메틸렌디옥시 및 이들의 혼합물로 이루어진 군 중에서 선택되는 1~3 개의 치환체에 의해 치환된 페닐임], 및 헤테로아릴 $(C_1 \sim C_3)$ 알킬[여기서, 헤테로아릴은 티에닐, 푸릴 또는 피리딜이고, 이들 각각은 할로겐, $(C_1 \sim C_6)$ 알킬, $(C_1 \sim C_6)$ 알콕시 및 이들의 혼합물로 이루어진 군 중에서 선택되는 1~3 개의 치환체에 의해 임의로 치환됨]로 이루어진 군 중에서 선택되며,

R^2 은 벤젠, 티오펜, 푸란 및 피리딘 중에서 선택되는 임의로 치환된 모노시클릭 방향족 고리 또는 벤젠 고리 탄소 원자 중 하나를 통해 나머지 분자에 결합되어 있는 임의로 치환된 비시클릭(bicyclic) 고리



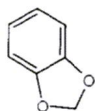
를 나타내고, 여기서 융합된 고리 A는 5원 또는 6원 고리로서, 포화되거나 또는 부분적으로 또는 완전히 불포화되어 있으며, 탄소 원자와 산소, 황 및 질소로 이루어진 군 중에서 선택되는 임의의 1 개 또는 2 개의 헤테로 원자를 포함하고,

R^3 은 수소 또는 $(C_1 \sim C_3)$ 알킬을 나타내거나 또는 R^1 과 R^3 은 함께 3원 또는 4원 알킬 또는 알케닐 사슬을 나타낸다.

다른 바람직한 화합물은

R^0 은 수소, 할로겐 또는 $(C_1 \sim C_6)$ 알킬이고,

R^1 은 수소 또는 $(C_1 \sim C_6)$ 알킬이며,



R^2 는 비시클릭 고리 로, 할로겐 및 $(C_1 \sim C_3)$ 알킬 중에서 선택되는 1개 또는 2 개의 기에 의해 임의로 치환될 수 있고,

R^3 은 수소 또는 $(C_1 \sim C_3)$ 알킬

인 것인 화학식(2)로 표시되는 것들이다.

하기 표 1은, 본 명세서에 설명된 절차에 의해 측정된 바와 같이, 미국 특허 제5,859,006호에 개시되어 있는 대표적인 선택적 PDE5 억제제에 대한 PDE5 IC_{50} 값 및 PDE6 IC_{50} 값을 예시하고 있다.

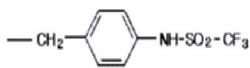
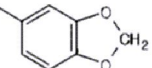
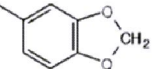
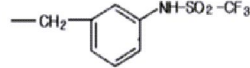
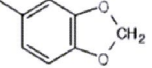
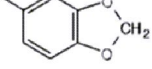
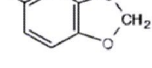
[표 1]


화합물	PDE5 IC_{50} (nM)	PDE6 IC_{50} (mM)	PDE6/PDE5
1	5	663	133
2	2	937	469
3	2	420	210
4	5	729	146
5	2.5	3400	1360


상기 표 1의 화합물 5는 화학식(1)을 가지며, 또한 PDE1c에 대한 IC_{50} 이 10,000이고 PDE1c/PDE5의 비율이 4,000임을 입증해 보여 준다.

상기 표 1의 화합물 1 내지 화합물 5의 구조는 R^1 , R^2 및 R^3 이 각각 하기 표 2와 같이 표시되는 것인 화학식(2)와 같다.

[표 2]

화합물	R ⁰	R ¹	R ²	R ³
1	H			H
2	H	CH ₃		H
3	H			H
4	H	H		CH ₃
5	H	CH ₃		F

상기 표 1의 데이터는 식 중 R¹이 수소 또는 (C₁~C₆)알킬이고 R²가  A이며, R³이 수소인

화학식(1)의 화합물이 특히 바람직하다는 것을 보여 준다. A는  인것이 바람직하다.

바람직한 화합물로는,

(6R, 12aR)-2,3,6,7, 12, 12a-헥사히드로-2-메틸-6-(3,4-메틸렌디옥시페닐)피라지노[2', 1':6, 1]피리도[3,4-b]인돌-1,4-디온과

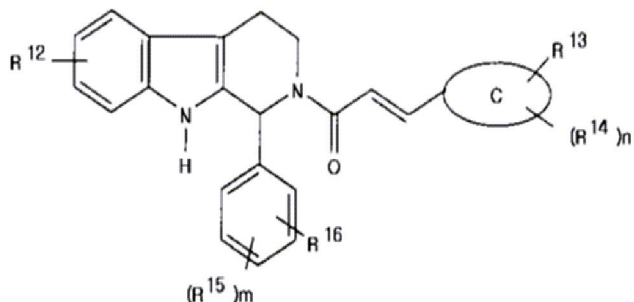
(3S,6R, 12aR)-2,3,6,7, 12, 12a-헥사히드로-2,3-디메틸-6-(3,4-메틸렌디옥시페닐)피라지노[2', 1':6, 1]피리도[3,4-b]인돌-1,4-디온,

그리고 이들의 생리학적으로 허용 가능한 염 및 용매화물(예, 수화물)이 있다.

본 발명에 유용한 다른 화합물의 예로는 본 명세서에서 참고 인용하고 있는 미국 특허 제6,001,847호(다우간)와 WO 97/43287호에 개시된 것들이 있다.

본 발명에 유용한 또다른 화합물의 예로는 그 개시 내용이 본 명세서에 구체적으로 참고 인용되어 있는 것으로서 '화학 화합물'이라는 명칭으로 출원되어 있는 PCT 출원 PCT/EP98/06050호(A, 밤브런 및 F. 걸리버트)에 개시된 것들이 있다. 이러한 부류의 화합물로는 하기 화학식(3)의 화합물, 이것의 염 또는 이들의 용매화물(예, 수화물)을 들 수 있다.

화학식 3



상기 식 중,

C는 산소, 질소 및 황으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 헤테로 원자를 함유하는 5원 또는 6원 헤테로아릴기를 나타내고,

R¹²는 수소 또는 할로겐을 나타내며,

R¹³은

수소,

니트로(NO_2),

트리플루오로메틸,

트리플루오로메톡시,

할로겐,

시아노(CN),

산소, 질소 및 황으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 헤테로 원자를 함유하고 있고 $\text{C}(=\text{O})\text{OR}^a$ 또는 $(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ 알킬에 의해 임의로 치환되어 있는 5원 또는 6원 헤테로시클릭기,

OR^h 에 의해 임의로 치환된 $(\text{C}_1\sim\text{C}_6)$ 알킬,

$(\text{C}_1\sim\text{C}_3)$ 알콕시,

$\text{C}(=\text{O})\text{R}^h$,

$\text{OC}(=\text{O})\text{OR}^h$,

$\text{C}(=\text{O})\text{OR}^h$,

$(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ 알킬렌Het,

$(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ 알킬렌 $\text{C}(=\text{O})\text{OR}^h$,

$\text{O}(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ 알킬렌 $\text{C}(=\text{O})\text{OR}^h$,

$(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ 알킬렌 $\text{O}(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ 알킬렌 $\text{C}(=\text{O})\text{OR}^h$,

$\text{C}(=\text{O})\text{NR}^i\text{SO}_2\text{R}^j$,

$\text{C}(=\text{O})(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ 알킬렌Het,

$(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ 알킬렌 NR^hR^i ,

$(\text{C}_2\sim\text{C}_6)$ 알킬렌 NR^hR^i ,

$\text{C}(=\text{O})\text{NR}^h\text{R}^i$,

$\text{C}(=\text{O})\text{NR}^h\text{R}^i$,

$\text{C}(=\text{O})\text{NR}^h(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ 알킬렌 OR^i ,

$\text{C}(=\text{O})\text{NR}^h(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ 알킬렌Het,

OR^i ,

$\text{O}(\text{C}_2\sim\text{C}_4)$ 알킬렌 NR^hR^i ,

$\text{O}(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ 알킬렌 $\text{CH}(\text{OR}^h)\text{CH}_2\text{NR}^h\text{R}^i$,

$\text{O}(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ 알킬렌Het,

$\text{O}(\text{C}_2\sim\text{C}_4)$ 알킬렌 OR^h ,

$\text{O}(\text{C}_2\sim\text{C}_4)$ 알킬렌 $\text{NR}^h\text{C}(=\text{O})\text{OR}^h$,

NR^hR^i ,

$\text{NR}^h(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ 알킬렌 NR^hR^i ,

$\text{NR}^h\text{C}(=\text{O})\text{R}^i$,

$\text{NR}^h\text{C}(=\text{O})\text{NR}^h\text{R}^i$,

$N[SO_2(C_1 \sim C_4)\text{알킬}]_2$,

$NR^h[SO_2(C_1 \sim C_4)\text{알킬}]$,

$SO_2NR^hR^i$, 및

OSO_2 트리플루오로메틸

로 이루어진 군 중에서 선택되며,

R^{14} 는 수소, 할로겐, OR^h , $(C_1 \sim C_6)\text{알킬}$, NO_2 및 NR^hR^i 로 이루어진 군 중에서 선택되거나 또는

R^{13} 과 R^{14} 는 함께 결합하여 하나 이상의 헤테로 원자를 임의로 함유하고 있는 5원 또는 6원 고리 중의 3원 또는 4원 알킬렌 또는 알케닐렌 사슬 성분을 형성하고,

R^{15} 는 수소, 할로겐, NO_2 , 트리플루오로메톡시, $(C_1 \sim C_6)\text{알킬}$, $O(C_1 \sim C_6)\text{알킬}$, 및 $C(=O)OR^h$ 로 이루어진 군 중에서 선택되며,

R^{16} 은 수소가거나 또는

R^{15} 와 R^{16} 은 함께 결합하여 하나 이상의 헤테로 원자를 임의로 함유하고 있는 5원 또는 6원 고리 중의 3원 또는 4원 알킬렌 또는 알케닐렌 사슬 성분을 형성하고,

Het는 산소, 질소 및 황으로 이루어진 군 중에서 선택되는 하나 이상의 헤테로 원자를 함유하는 5원 또는 6원 헤테로시클릭기를 나타내며, $(C_1 \sim C_4)\text{알킬}$ 에 의해 임의로 치환되고,

R^h 와 R^i 는 동일하거나 상이할 수 있으며, 각각 수소 및 $(C_1 \sim C_6)\text{알킬}$ 중에서 선택되고,

R^j 는 페닐 또는 $(C_4 \sim C_6)\text{시클로알킬}$ 을 나타내며, 여기서 페닐 또는 $(C_4 \sim C_6)\text{시클로알킬}$ 은 하나 이상의 할로겐 원자, 하나 이상의 $C(=O)OR^h$, 또는 하나 이상의 OR^h 에 의해 임의로 치환되고,

n 은 정수 1, 2 또는 3이며,

m 은 정수 1 또는 2이다.

제제

인간 PDE5 제제

인간 PDE5의 재조합 제조는, 본 명세서에서 참고 인용하고 있는 미국 특허 제5,702,936호의 실시예 7에 설명된 바와 같이 수행하였는데, 단 예외로 V. 프라이스 등의 문헌[Methods in Enzymology, 1985, pp. 308~318(1990)]에 설명된 기본 ADH2 플라스미드로부터 유도되는 사용된 효모 형질 전환 벡터는 ADH1 프로모터 및 터미네이터 서열보다는 오히려 효모 ADH2 프로모터 및 터미네이터 서열을 함유하였고, 사카로 마이세스 세레비시아제(Saccharomyces cerevisiae) 숙주는 수탁 번호 ATCC 74465로 미국 모식균 배양 수집소(미국 버지니아주 만나사스 소재)에 1998년 8월 31일에 기탁한 프로테아제 결핍 균주 BJ2-54이었다. 형질 전환된 숙주 세포를 미량의 금속 및 비타민을 함유하는 2X SC-leu 배지(pH 6.2)에서 성장시켰다. 24시간 후, 글리세롤을 함유하는 YEP 배지를 첨가하여 최종 농도 2X YEP/3% 글리세롤로 만들었다. 약 24시간 후, 세포를 수집하고 세척한 다음 -70°C 에 보관하였다.

세포 펠릿(29 g)을 동량 부피의 용해용 버퍼(25 mM Tris-Cl(pH 8), 5 mM $MgCl_2$, 0.25 mM 디티오프레이트, 1 mM 벤즈아미딘, 및 10 μM $ZnSO_4$)로 얼음 상에서 해동시켰다. 세포를 N_2 를 사용하는 마이크로 유동화기에서 20,000 psi로 용해시켰다. 용해물을 원심분리하고 0.45 μm 일회용 필터를 통해 여과시켰다. 여과액을 Q 세파로스 패스트 플로우(Sepharose Fast Flow)(파마시아)의 150 mL 컬럼에 가하였다. 컬럼을 버퍼 A(20 mM Bis-Tris 프로판(pH 6.8), 1 mM $MgCl_2$, 0.25 mM 디티오프레이트, 10 μM $ZnSO_4$) 1.5 부피로 세척하고 버퍼 A 중의 125 mM NaCl의 한 단계 구배로 용출시킨 다음, 버퍼 A 중의 125 mM~1000 mM NaCl의 선형 구배로 용출시켰다.

선형 구배로부터 얻은 활성 분획을 버퍼 B(20 mM Bis-Tris 프로판(pH 6.8), 1 mM $MgCl_2$, 0.25 mM 디티오프레이트, 10 μM $ZnSO_4$, 및 250 mM KCl) 중의 180 mL 히드록시아파타이트 컬럼에 가하였다. 적재한 후, 컬럼을 2 부피의 버퍼 B로 세척하고, 버퍼 B 중의 0~125 mM 인산칼륨의 선형 구배로 용출시켰다. 활성 분획을 풀(pool)로 모으고 60% 황산암모늄으로 침전시킨 다음, 버퍼 C(20 mM Bis-Tris 프로판(pH 6.8), 125 mM NaCl, 0.5 mM 디티오프레이트, 및 10 μM $ZnSO_4$) 중에 재현탁시켰다. 풀을 세파크릴(Sephacryl) S-300 HR의 140 mL 컬럼에 가하고 버퍼 C로 용출시켰다. 활성 분획을 회색시켜 50% 글리세롤로 만들고 -20°C 에서 보관하였다. 형성된 침전물은 SDS-PAGE에 의하면 약 85%의 순도를 나타내었다.

PDE 활성에 대한 측정 검사

PDE의 활성은 해당 기술 분야의 표준 측정 검사에 의해 측정할 수 있다. 예를 들면, 모든 PDE의 특이적 활성은 다음과 같이 측정할 수 있다. 약용탄 분리 기법을 이용하는 PDE 측정 검사는 라프네이 등의 문헌[The Journal of Biological Chemistry, 271: pp. 796~806(1996)]에 설명된 바와 같이 주로 수행하

었다. 이 측정 검사에서, PDE5 활성은 존재하는 PDE5 활성량에 비례하여 [32 P]cGMP를 [32 P]5'GMP로 전환시킨다. 이어서, [32 P]5'GMP를 사독 5'-뉴클로티다제의 작용에 의해 정량적으로 유리 [32 P] 인산염과 비표지화된 아데노신으로 전환시킨다. 따라서, 유리된 [32 P] 인산염의 양은 효소 활성에 비례한다. 측정 검사는 40 mM Tris-Cl(pH 8.0), 1 μ M ZnSO₄, 5 mM MgCl₂ 및 0.1 mg/mL 소 혈청 알부민을 함유하는 100 μ L 반응 혼합물(최종 농도)로 30°C에서 수행한다. PDE5는 기질의 < 30% 총 가수분해를 생성시키는 정량으로 존재한다(선형 측정 검사 조건). 측정 검사는 기질(1 mM [32 P]cGMP)을 첨가하여 개시하고 그 혼합물을 12 분 동안 항온 처리한다. 이어서, 크로탈루스 아트로크(*Crotalus atrox*) 독액 75 μ g을 첨가하고 항온 처리를 3 분 이상 동안 계속한다(총 15 분). 반응은 활성탄(0.1M NaH₂PO₄(pH 4) 중의 25 mg/mL 현탁액) 200 mL를 첨가하여 중지시킨다. 원심분리(3 분 동안 750 xg)하여 활성탄을 침전시킨 후, 상청액의 샘플을 취하여 섬광 계수기에서 방사 활성을 측정하고 PDE5 활성을 계산한다. 제제는 약 3 μ mole cGMP가 1 mg 단백질에 대하여 1 분 당 가수분해되는 특이적 활성을 나타내었다.

소 PDE6 제제

소 PDE6은 INSERM U338(스트라스버그)로 N. 버옥스 박사에게 의해 제공받았다. 소 망막은 버옥스 등의 문헌[FEBS Letters, 12(6), pp. 325~328(1971)]에 설명된 바와 같이 제조하였고, 또한 문헌 A. 시타라마야 등의 문헌[Exp. Eye Res., 25, pp. 163~169(1977)]을 참조하였다. 요약하면, 달리 특별한 언급이 없는 한, 모든 조작을 상온에서, 그리고 흐릿한 적색광에서 수행하였다. 눈을 도살한 후 최고 4 시간 동안 상온에서, 그리고 어둠속에서 방치하였다.

소 망막의 외부 분절(ROS)의 제제는, 쉬치 등의 문헌[J. Biol. Chem., 224: 529(1969)]에 설명된 바와 같이 주로 수행하였다. 전형적인 실험에서는, 35 개의 소 망막을 35 mL의 0.066 M 인산염 완충제(pH 7.0, 수크로오스 40% 함유)와 함께 유발에서 분쇄시킨 다음, 포터 균질화기에서 균질화시켰다(20 회 상하 스트로크). 현탁액을 25,000 xg으로 20 분 동안 원심분리시켰다. 펠릿을 7.5 mL의 0.006 M 인산염 완충제(수크로오스 40% 함유) 중에 균질화시키고, 인산염 완충제(수크로오스를 전혀 함유하지 않음) 7.5 mL 하에 주의하여 층상화시켰다. 원심분리를 진동 회전자에서 45,000 xg로 20 분 동안 수행하였는데, 그 결과 바닥부에서는 검정색의 펠릿이 생성되었고, 또한 0.066 M 인산염—40% 수크로오스/0.066 M 인산염(미정제 ROS)의 계면에는 적색 띠가 형성되었다. 계면에 존재하는 적색 물질의 띠를 제거하고, 인산 완충제로 희석시킨 다음, 회전시켜 펠릿으로 만들고, 전술한 바와 같이 완충된 40% 수크로오스 중에 재분배시켰다. 이러한 절차를 펠릿이 더 이상 형성되지 않을 때까지 2 회 내지 3 회 반복하였다. 정제된 ROS를 인산염 완충제 중에서 세척하고, 최종 25,000 xg으로 20 분 동안 회전시켜 펠릿으로 만들었다. 이어서, 모든 물질을 사용할 때까지 냉동 상태로 보관하였다.

저장성(hypotonic) 추출물은, 분리된 ROS를 10 mM Tris-Cl(pH 7.5), 1 mM EDTA 및 1 mM 디티오에리트릴 중에 현탁시킨 다음, 100,000 xg으로 30 분 동안 원심분리시키므로써 제조하였다.

제제는 약 35 nmol cGMP가 1 mg 단백질에 대하여 1분 당 가수분해되는 특이적 활성을 갖는 것으로 보고되었다.

스포돔테라 푸지페르다(*Spodoptera fugiperda*) 세포(sf9)로부터 유래한 PDE1c 제제

세포 펠릿(5 g)을 용해용 버퍼(50 mM MOPS(pH 7.4), 10 μ M ZnSO₄, 0.1 mM CaCl₂, 1 mM DTT, 2 mM 벤즈아미딘 HCl, 5 μ g/ml 페프스타틴, 5 μ g/ml 루펩틴 및 5 μ g/ml 아프로테닌) 20 mL를 사용하여 얼음 상에서 해동시켰다. 세포를 프렌치 압력 셀(SLM-Aminco)에 통과시키고 동시에 온도를 10°C 이하로 유지시키므로써 용해시켰다. 형성된 세포 균등액을 타입 T145 회전자를 사용하는 벡크만(Beckman) 초원심분리기에서 36,000 rpm으로 4°C에서 45 분 동안 원심분리시켰다. 상청액을 버리고, 형성된 펠릿을 가용화 버퍼(1 M NaCl, 0.1 M MgCl₂, 1 mM CaCl₂, 20 μ g/ml 칼모둘린, 및 1% 설포베타인 SB12(Z3-12)를 함유하는 용해용 버퍼) 40 mL로 재현탁시키고, 마이크로팁을 구비한 비브라 셀(Vibra Cell) 튜너를 사용하여 3 x 30 초 동안 초음파 처리하였다. 이를 냉각용 분쇄된 얼음/염 믹스에서 수행하였다. 초음파 처리를 수행한 후, 혼합물을 30 분 동안 4°C에서 서서히 혼합시켜 막 결합된 단백질을 완전히 가용화시켰다. 이 혼합물을 타입 T145 회전자를 사용하는 벡크만 초원심분리기에서 36,000 rpm으로 45 분 동안 원심분리시켰다. 상청액을 10 μ g/ml 칼페인 억제제 I 및 II를 함유하는 용해용 버퍼로 희석시켰다. 침전된 단백질을 벡크만 JA-10 회전자에서 9,000 rpm으로 20 분 동안 원심분리시켰다. 이어서, 회수한 상청액을 미메틱 블루 에이피 아가로스 크로마토그래피(Mimetic Blue AP Agarose Chromatography)로 처리하였다.

미메틱 블루 에이피 아가로스 컬럼을 작동시키기 위해서는, 먼저 수지를 1% 폴리비닐 피롤리돈(즉, 분자량 40,000)의 10 층 부피를 가하여 비특이적 결합 부위를 차단하므로써 은폐시켰다. 느슨하게 결합된 PVP-40을 2M NaCl과 10 mM 시트르산나트륨(pH 3.4)의 10 층 부피로 세척하므로써 제거하였다. 가용화된 PDE1c 샘플을 첨가하기 전에, 컬럼을 컬럼 버퍼 A(50 mM MOPS(pH 7.4), 10 μ M ZnSO₄, 5 mM MgCl₂, 0.1 mM CaCl₂, 1 mM DTT, 2 mM 벤즈아미딘 HCl을 함유함)의 5 층 부피로 평형화시켰다.

가용화된 샘플을, 총 샘플이 12 시간 내에 4 회 내지 5 회 가해지도록 재순환시키면서 유속 2 mL/분으로 컬럼에 가하였다. 적재를 마친 후, 컬럼을 컬럼 버퍼 A의 10 컬럼 부피로 세척한 다음, 컬럼 버퍼 B(20 mM 5'-AMP를 함유하는 컬럼 버퍼 A)의 5 컬럼 부피로 세척하고, 이어서 컬럼 버퍼 C(50 mM MOPS(pH 7.4), 10 μ M ZnSO₄, 0.1 mM CaCl₂, 1 mM 디티오트레이톨 및 2 mM 벤즈아미딘 HCl을 함유함)의 5 컬럼 부피로 세척하였다. 효소를 3 개의 연속 풀 내로 용출시켰다. 제1 풀은 1 mM cAMP를 함유하는 컬럼 버퍼 C를 사용한 5 층 부피 세척액으로부터 유래한 효소로 이루어졌다. 제2 풀은 1 M NaCl을 함유하는 컬럼 버퍼 C를 사용한 10 층 부피 세척액으로부터 유래한 효소로 이루어졌다. 최종 제 3 풀은 1 M NaCl과 20 mM cAMP를 함유하는 컬럼 버퍼 C를 사용한 5 층 부피 세척액으로부터 유래하는 효소로 이루어졌다.

효소의 활성 풀을 수집하고, 시클릭 뉴클레오티드를 통상적인 겔 여과 크로마토그래피 또는 히드록시

아파타이트 수지 상에서 수행하는 크로마토그래피를 통해 제거하였다. 시클릭 뉴클레오티드를 제거한 다음, 효소 풀을 25 mM MOPS(pH 7.4), 10 μ M ZnSO₄, 500 mM NaCl, 1 mM CaCl₂, 1 mM 디티오프레이톨, 1 mM 벤즈아미딘 HCl를 함유하는 투석용 버퍼에 투석시킨 다음, 50% 글리세롤을 함유하는 투석용 버퍼에 투석시켰다. 효소를 드라이 아이스로 신속하게 냉동시키고, -70°C에서 보관하였다.

형성된 침전물은 SDS-PAGE에 의하면 순도가 약 \geq 90%이었다. 이들 제제는 약 0.1 μ mol 내지 약 1.0 μ mol cAMP가 1 mg 단백질에 대하여 1 분 당 가수분해되는 특이적 활성을 나타내었다.

IC₅₀ 값 측정

PDE5 및/또는 PDE1c 및 PDE6의 경쟁적인 효소 억제제의 효능을 평가하는데 있어 중요한 파라미터는 억제 상수, 즉 K_i이다. 이 파라미터는 50% 효소 억제를 발생시키는 억제제 농도인 IC₅₀을 하기 조건 하에 단일 투여량-반응 실험에서 측정함으로써 근사적으로 구할 수 있다.

억제제의 농도가 항상 효소의 농도보다 훨씬 많으므로, 유리된 억제제 농도(알려지지 않은 농도)는 총 억제제 농도(알려진 농도)에 의해 근사적으로 구해진다.

억제제 농도의 안정한 범위는 선택된다(즉, K_i보다 몇 배 이상 더 크거나 K_i보다 몇 배 이상 더 작은 억제제 농도가 실험에서 존재한다). 전형적으로, 억제제 농도는 10 nM 내지 약 10 μ M의 범위에 이른다.

효소의 농도 및 기질의 농도는, 기질이 20% 미만으로 억제제의 부재(이것은, 예를 들면 기질의 최대 가수분해를 10% 내지 15%로 제공함) 하에서 소모되도록 선택하므로, 효소 활성은 측정 검사 전반에 걸쳐 거의 일정하다.

기질의 농도는 마이클 상수(K_m) 1/10 미만이다. 이러한 조건들 하에서, IC₅₀은 K_i에 아주 근사적으로 구할 수 있다. 이는 2 가지 파라미터가 관계하는 쉥-프루소프(Cheng-Prusoff) 방정식 $IC_{50}=K_i(1+S/K_m)[S/K_m]$ 이 낮은 경우 ($1+S/K_m$)은 약 10이 됨]때문이다.

IC₅₀ 값은 효소 억제제 상호 작용의 적합한 모델에 데이터를 대입함으로써 얻은 데이터 점수로부터 평가한다. 이러한 상호 작용은 억제제와 기질의 단순한 경쟁을 수반하는 것으로 알려져 있는 경우, 2 개의 파라미터 모델은 $Y = A/(1+X/B)$ 로 나타낼 수 있는데, 여기서 Y는 억제제 농도 X에서 측정된 효소 활성이고, A는 억제제의 부재 하에서의 활성이며, B는 IC₅₀이다[Y. 쉥 등의 문헌[Biochem. Pharmacol., 22: 3099~3108] 참조].

상기 설명한 PDE5 및 PDE6 제제의 효소 활성에 미치는 본 발명 억제제의 작용은, 스케일 기준으로 할 경우 원칙적으로 서로 다르지만 IC₅₀ 값에 의하면 실질적으로 동일한 결과를 제공하는 2가지 측정 검사 중 어느 하나로 평가하였다. 양 측정 검사는 웰즈 등의 문헌[Biochem. Biophys. Acta, 384: 430(1975)]의 절차의 변형 절차를 수반하였다. 제1 측정 검사는 50 mM Tris(pH 7.5), 3 mM Mg 아세테이트, 1 mM EDTA, 50 μ g/ml 사독 뉴클레오티다제 및 50 nM [³H]-cGMP(아마섬)을 함유하는 200 μ l의 총부피 중에서 수행하였다. 본 발명의 화합물을 검정량 내에 2%로 존재하는 최종 DMSO 중에 용해시켰다. 검정량을 30°C에서 30 분 동안 항온 처리하고, 10 mM Tris(pH 7.5), 10 mM EDTA, 10 mM 테오픈린, 0.1 mM 아데노신, 및 0.1 mM 구아노신을 첨가함으로써 중지시켰다. 혼합물을 0.5 mL QAE 세파덱스 컬럼에 적재하고, 0.1 M 포름메이트(pH 7.4) 2 mL로 용출시켰다. 용출된 방사성 활성을 옵티페이스 하이세이프(Optiphase Hifsafe) 3에서 섬광 계수법으로 측정하였다.

제2 마이크로 평판 PDE 측정 검사는 다중 스크린 평판과 복합 진공기를 사용하여 진행하였다. 검정량(1000 μ l)는 50 mM Tris(pH 7.5), 5 mM Mg 아세테이트, 1 mM EDTA 및 250 μ g/mL 사독 뉴클레오티다제를 함유하였다. 이 반응 혼합물의 다른 성분은 전술한 바와 같다. 항온 처리의 종료시, 검정량의 총 부피를 QAE 세파덱스 마이크로컬럼 평판 상에 여과에 의해 적재하였다. 50 μ l 분획량을 전술한 바와 같이 섬광 계수법에 의해 분석하기 위하여 유리된 방사능 활성을 물 200 μ l로 용출시켰다.

이하의 실시예들은 특허 청구된 본 발명의 제제를 추가로 예시하기 위해 제공한 것이다. 본 발명의 영역은 하기 실시예로만 이루어지는 것으로 이해해서는 안된다.

실시예 1

화합식(1)의 화합물은 미국 특허 제5,859,006호에 설명된 바와 같이 제조하고 습식 과립화법을 사용하여 정제로 제제화시켰다. 포비돈을 물에 용해시켜 10% 용액을 만들었다. 활성 화합물, 미결정질 셀룰로오스, 크로스카멜로오스 나트륨, 및 라우릴 황산나트륨을 고전단 혼합기에 첨가하고, 2 분 동안 혼합하였다. 이 분말을 과립화를 완성시키는데 요구되는 포비돈 용액과 물로 습식 과립화시켰다. 형성된 혼합물을 건조시 손실량이 2.5 % 이하가 될 때까지 유동층 건조기에서 70°C \pm 5°C의 유입 공기로 건조시켰다. 과립을 적당한 스크린(또는 체)를 구비한 코밀(Comil)에 통과시키고 적당한 혼합기에 첨가하였다. 초과성 과립의 크로스카멜로오스 나트륨 및 라우릴 황산나트륨 및 콜로이드성 무수 실리카를 적당한 체(500 미크론)에 통과시키고 혼합기에 첨가하여 5 분 동안 혼합하였다. 스테아르산 마그네슘을 첨가하고 2 분 동안 혼합하였다. 이 혼합물을 9 mm 둥근 표준 오목형 공구를 사용하여 250 mg의 표적 압축물(중량)로 압축하였다.

중핵 정제를, 정제 중량이 약 8 mg 더 증량할 때까지 50°C ~ 70°C의 유입 공기를 사용하는 액셀라 코타(Accela Cota)(또는 유사한 코팅 팬)을 사용하여 오파드라이(Opadry) OY-S-7322의 수성 현탁액으로 코팅하였다. 오파드라이 OY-S-7322는 메틸하이드록시프로필셀룰로오스(ph. Eur.), 이산화티탄(ph. Eur.), 트리아세틴 USP를 함유한다. 오파드라이는 각 정제의 중량을 약 258 mg으로 증가시킨다. 정제 당 도포되는 필름 코트의 양은 공정 효율에 좌우되는 언급된 것보다 더 작을 수 있다.

정제를 발포 팩 내로 충전하고, 화합물의 안정성 및 효율을 설명하고 있는 포장 삽입물을 추가하였다.

[표 3]

화합물	제제 (mg/정제)	
선택적 PDE5 억제제 ¹⁾	1	5
히드록시프로필셀룰로오스 프탈레이트	1	5
미결정질 셀룰로오스	221.87	213.87
크로스카멜로오스 나트륨	5.00	5.00
라우릴 황산나트륨	2.50	2.50
셀페이트 포비돈 K30	9.38	9.38
정제수, USP(세척용 물)	적당량	적당량
크로스카멜로오스 나트륨	5.00	5.00
라우릴 황산나트륨	2.50	2.50
콜로이드성 무수 실리카	0.50	0.50
스테아르산 마그네슘	1.25	1.25
전체 중 중핵 합계	250.00	250.00
(필름 코트 오파드라이 OY-S-7322)	약 8 mg	약 8 mg
¹⁾ 화학식(1)의 화합물		

실시예 2

하기 표 4의 제제는 화학식(1)로 표시되는 화합물을 10 mg 함유하는 최종 투여 형태를 제조하는데 사용하였다.

[표 4]

성분	양(mg)
과립화	
선택적 PDE5 억제제 ¹⁾	10.00
락토오스 모노히드레이트	153.80
락토오스 모노히드레이트(분무 건조된 상태)	25.00
히드록시프로필셀룰로오스	4.00
크로스카멜로오스 나트륨	9.00
히드록시프로필셀룰로오스(EF)	1.75
라우릴 황산나트륨	0.70
	35.00
그밖의 분말	
미결정질 셀룰로오스(입상-102)	37.50
크로스카멜로오스 나트륨	7.00
스테아르산 마그네슘(식물성)	1.25
	총량 250 mg
필름 코트(약) 11.25	

정제수, USP는 정제를 제조하는데 사용하였다. 물은 처리 동안 제거하였지만, 미량으로 최종 생성물 중에 여전히 남아 있었다.

정제는 습식 과립화 방법을 사용하여 제조하였다. 이 방법을 단계별로 설명하면 다음과 같다. 과립화시키고자 하는 약물과 부형제를 확실하게 체로 선별하였다. 선택적 PDE5 억제제를 락토오스 모노히드레이트(분무 건조된 상태), 히드록시프로필셀룰로오스, 크로스카멜로오스 나트륨 및 락토오스 모노히드레이트와 건식 혼합하였다. 이 형성된 분말 혼합물을 히드록시프로필셀룰로오스와 라우릴 황산나트륨의 수용액으로 파우렉스(Powrex) 또는 다른 적합한 고전단 과립화기를 사용하여 과립화시켰다. 물은 더 첨가하여 소정의 종점에 도달하게 할 수 있었다. 미분쇄기를 사용하여 습식 과립을 잘게 부수어 건조 과정을 용이하게 할 수 있었다. 습식 과립을 유동층 건조기 또는 건조용 오븐 중 어느 하나를 사용하여 건조시켰다. 일단 물질을 건조시킨 후에는, 크기 분류시켜 크기가 큰 모든 응집체를 제거할 수 있었다. 미결정질 셀룰로오스, 크로스카멜로오스 나트륨 및 스테아르산 마그네슘을 확실하게 체로 선별하여 건조되어

있는 크기 분류된 과립에 첨가하였다. 이들 부형제 및 건조된 과립을 균질해질 때까지 텀블링 빈, 리본 혼합기, 또는 기타 다른 적합한 혼합 장비를 사용하여 혼합하였다. 혼합 과정은 2 단계로 분리할 수 있었다. 1 단계 동안에는 미결정질 셀룰로오스, 크로스카멜로오스 나트륨 및 건조된 과립을 혼합기에 첨가하여 혼합한 다음, 2 단계 동안에는 상기 과립에 스테아르산 마그네슘을 첨가하였다.

이어서, 혼합된 과립을 로터리식 압축 기계를 사용하여 압축함으로써 정제를 만들었다. 중핵 정제를 코팅 팬(예, 약셀라 코타)에서 적당한 색상 혼합물의 수성 현탁액으로 필름 코팅하였다. 코팅된 정제는 정제 취급 특성을 개선시키기 위해 탈크로 가볍게 분말을 살포할 수 있었다.

정제를 플라스틱 용기(30 개의 정제/용기)에 충전하고, 화합물의 안전성 및 효율을 설명하고 있는 포장 삽입물을 추가하였다.

실시예 3

하기 표 5의 제제는 화학식(1)로 표시되는 화합물을 5 mg 포함하는 최종 완성된 투여 제형을 제조하는데 사용하였다.

[표 5]

성분	양(mg)
과립화	
선택적 PDE5 억제제 ¹⁾	2.50
락토오스 모노하이드레이트	79.395
락토오스 모노하이드레이트(분무 건조된 상태)	12.50
히드록시프로필셀룰로오스	2.00
크로스카멜로오스 나트륨	4.50
히드록시프로필셀룰로오스(FF)	0.875
라우릴 황산나트륨	0.35
그밖의 분말	
미결정질 셀룰로오스(입상-102)	18.75
크로스카멜로오스 나트륨	3.50
스테아르산 마그네슘(식물성)	0.63
	총량 125 mg
필름 코트(약) 6.875	

실시예 3의 투여 형태는 실시예 2의 투여 형태의 경우와 동일한 방식으로 제조하였다.

실시예 4

[표 6]

용액 캡셀제		
성분	mg/캡셀제	백분율(%)
선택적 PDE5 억제제 ¹⁾	10	2
PEG 400 NF	490	98
총전 중량	500	100

젤라틴 캡셀은, 예비 용해된 약물 제제의 정확한 충전 부피를 캡셀의 부분적으로 밀봉된 동공 내로 펌핑 하므로써 정확하게 충전하였다. 약물 용액 제제의 충전량을 주입한 직후에는, 캡셀을 열로 완전히 밀봉 하였다.

이어서, 캡셀을 플라스틱 용기 내에 충전하고 포장 삽입물을 추가하였다.

실시예 5

본 연구는, 건강한 남성 지원자에게 미치는 선택적 PDE5 억제제 연구용 약물(즉, 화학식(1)의 화합물)과 부작용성 질산염의 동시적인 투여의 혈류 동태학적 작용을 평가하는 것으로서, 임의적이고 이중 무작위 적이며 플라시보 대조예가 구비되어 있는 2 가지 방식의 교차 설계된 임상 약리학적 약물의 상호 작용 연구였다. 본 연구에서는, 환자에게 연구용 약물을 10 mg의 투여량으로 또는 플라시보로 매일 7 일 동안 투여하였다. 6 일째 또는 7 일째에는 경사진 테이블 위에서 양와위 자세를 취하면서 환자에게 설하 내로 니트로글리세린(0.4 mg)을 투여하였다. 연구용 약물을 투여한 후, 3 시간이 경과한 다음 니트로글리세린(0.4 mg)을 투여하고, 모든 환자에게는 상기 니트로글리세린이 완전히 용해될 때까지 니

트로글리세린 정제를 환자들의 혀 아래에 유지하고 있도록 하였다. 환자에게는 혈압 및 심박동수를 측정하기 위해 총 30 분 동안 5 분 마다 70° 로 머리를 들어 기울게 하였다. 본 연구에 참가한 22명의 건강한 남성 환자(19 세 내지 60 세) 중에는 중단하는 환자가 전혀 없었다.

본 연구의 예비 분석에서는, 연구용 약물이 우수한 내성을 나타내었으며, 심각할 정도의 유해한 부작용이 전혀 없었다. 실험실 안전성 평가 또는 12-유도 ECG에서 연구용 약물과 관련한 변화는 전혀 없었다. 가장 일반적인 유해한 부작용은 두통, 소화 불량 및 배부통이었다. 본 연구는 모든 환자에게 있어서 평균 심장 수축기성 혈압에 미치는 최소 효과, 니트로글리세린에 의해 유도된 평균 최고 심장 수축기성 혈압의 감소에 미치는 최소 효과 및 니트로글리세린 유도된 최고 심장 수축기성 혈압의 감소에 미치는 최소 효과를 입증하였다.

실시예 6

2 가지의 임의적이고 이중 무작위적이며 플라시보 대조구가 구비되어 있는 연구에서는, 가장 환경에서 성 접촉 및 성교를 위한 요구시 치료 투여와 1 일 투여 방법에 부합하는 투여량 범위에 있는 화학식(1)의 화합물을 치료가 필요한 환자에게 투여하였다. 입증된 바에 의하면, 화학식(1)의 화합물은 투여량 5 mg 내지 20 mg이 효율적이었고, 조홍이 전혀 없었으며, 시각 이상에 관한 보고도 전혀 없었다. 밝혀진 바에 의하면, 화학식(1)의 화합물은 투여량 10 mg이 충분한 효능을 나타내었고, 최소한의 부작용을 갖는 것으로 입증되었다(조홍이 전혀 없었으며, 청색 시각에 관한 보고도 전혀 없었다).

발기 기능은 발기 기능에 관한 국제 인덱스(IIEF){로젠 등의 문헌[Urology, 49, pp. 822~830(1997)] 참조}, 성교 시도 일지, 및 전반적인 성적 만족감 질문에 의해 평가하였다. 화학식(1)의 화합물은 모든 종료 시점에서 평가된 바와 같이 발기 기능을 현저하게 개선시켰다. 양쪽 '요구시' 투여 및 1 일 투여 섭생법에 있어서, 화학식(1)의 화합물은 1 mg 내지 20 mg의 투여량으로 발기 기능을 현저하게 개선시켰다.

실시예 7

제3의 임상 연구는 남성 발기 부전을 가진 환자에게 '요구시' 투여되는 화학식(1)의 화합물(연구용 약물)을 사용하는 것으로 임의적이고 이중 무작위적이며 플라시보 대조구가 구비되어 있는 연구였다. 연구용 약물을 남성 발기 부전(ED)의 치료시에는 8 주 기간에 걸쳐 투여하였다. 발기 부전(ED)은 만족스러운 성 행위 능력을 허용하는데 적당한 발기를 달성 및/또는 유지할 수 없는 지속적인 무능력으로서 정의한다. '요구시' 투여 방법은 기대되는 성적 활동을 하기 전에 연구용 약물을 간헐적으로 투여하는 방법으로서 정의한다.

연구 집단을 미미한 발기 부전 내지 심한 발기 부전을 갖고 있는 연령 18세 이상의 212명의 남성으로 구성하였다. 연구용 약물을 미국 특허 제5,985,326호(버틀러)에 따라 제조한 공동 침전물의 정제로서 경구 투여하였다. 연구용 약물을 '요구시' 그리고 24 시간 당 1 회 넘지 않게 하여 2 mg, 5 mg, 10 mg 및 25 mg의 투여량으로 투여하였다. 모든 질산염, 아졸 항진균제(예, 케토코나졸 또는 이트라코나졸), 와파린, 에리트로마이신 또는 항안드로젠을 사용한 치료는 연구 동안 어떠한 시간에도 허용하지 않았다. ED를 치료하는데 사용되는 기타 승인된 약물 또는 실험용 약물, 치료법 또는 장치는 절대 허용하지 않았다. 41 명 환자에게는 플라시보를 투여하였다.

2 가지의 제1차 효능 변수는, 발기 부전에 관한 국제 인덱스(IIEF)에 의해 측정된 바와 같이, 성교 동안 상대방을 통찰할 수 있는 환자의 능력과 발기를 유지할 수 있는 환자의 능력이었다. IIEF 상의 질문 사항은 15 개의 질문을 함유하고, 발기 기능에 관하여 신뢰할 수 있는 간단한 측정 수단이다[R.C. 로젠 등의 문헌[Urology, 49, pp. 822~830(1997)] 참조].

제2의 효능 변수는 발기 기능, 오르가즘 기능, 성욕, 성교 만족감 및 전반적인 만족감에 대한 IIEF 도메인 점수; 섹슈얼 인카운터 프로파일(SEP) 일지에 의해 모두 측정되는 바와 같이, 발기를 달성할 수 있는 환자의 능력, 환자의 페니스를 환자 파트너의 질 내로 삽입할 수 있는 능력, 사정을 통한 성교의 완성, 환자의 발기 정도에 의한 만족감 및 전반적인 만족감; 및 치료 기간의 종료시 질문하는 전반적인 평가 질문이었다. SEP는 연구 과정 동안 각 성적 상대자를 기록하는 일지 도구이다.

본 연구의 안정성 분석은 모든 등록된 환자를 포함하였으며, 보고된 모든 유해한 부작용, 및 임상 실험값의 변화, 활력 신호, 물리적 검사 결과, 및 전기 심전도 결과를 평가하므로써 분석 평가하였다.

종료시, 환자들의 통찰 능력(IIEF 질문 3)을 '거의 항상 또는 항상'으로 평가한 환자가, 플라시보 군의 경우에는 17.5%이고, 2 mg 군에서는 38.1%이며, 5 mg 군에서는 48.8%이고, 10 mg 군에서는 51.2%이며, 25 mg 군에서는 83.7%이었다. 통계적으로 비교한 바에 의하면, 플라시보와 연구용 약물의 모든 투여 함량 간의 통찰 능력에서 변화의 차이가 현저하게 나타났다.

종료시, 성교 동안 발기를 유지할 수 있는 환자들의 능력(IIEF 질문 4)을 '거의 항상 또는 항상'으로 평가한 환자가, 플라시보 군의 경우에는 10.0%이고, 2 mg 군에서는 19.5%이며, 5 mg 군에서는 32.6%이고, 10 mg 군에서는 39.0%이며, 25 mg 군에서는 69.0 mg이었다. 통계적으로 비교한 바에 의하면, 플라시보와 연구용 약물의 3 개의 높은 투여 함량 간의 통찰 능력에서 변화의 차이가 현저하게 나타났다.

전반적으로, 입증된 바에 의하면 본 연구는 '요구시' 복용한 연구용 약물의 4 가지 모든 투여량, 즉 2 mg, 5 mg, 10 mg 및 25 mg이 IIEF에 의해, 성공적인 성교의 빈도수를 평가하는 환자의 일지에 의해, 그리고 전반적인 평가에 의해 평가하는 바와 같이 발기 부전을 갖고 있는 남성의 성적 행위 능력에 있어서 플라시보에 비하여 상당한 개선을 나타내었다. 이러한 개선은 모두 발기 부전의 심한 정도를 나타내는 환자를 포함하는 광범위한 연구 집단에서 입증되었다. 가장 큰 유해한 부작용은 심한 정도가 경미하거나 또는 적당하였다. 중요하게도, 색상 시각 방해와 관련된 유해한 부작용은 모든 환자에게 있어 보고된 바가 전혀 없었다.

임상 연구로부터 얻은 종합적인 결과에 따르면, 화학식(1)로 표시되는 화합물의 투여는, 하기 표 7에 예

시되어 있는 바와 같이, 남성 발기 부전을 효과적으로 치료한다는 것을 보여 주었다.

[표 7]

IIEF 발기 기능 도메인(기준선으로부터 변화)			
단위 투여량	n	평균 \pm SD	p
플라시보	131	0.8 \pm 5.3	
2 mg	75	3.9 \pm 6.1	<0.001
5 mg	79	6.6 \pm 7.1	<0.001
10 mg	135	7.9 \pm 6.7	<0.001
25 mg	132	9.4 \pm 7.0	<0.001
50 mg	52	9.8 \pm 5.5	<0.001
100 mg	49	8.4 \pm 6.1	<0.001
n은 환자 수이고, SD는 표준 편차이다.			

그러나, 또한 종합적인 임상 연구로부터, 치료시 응급 상태의 유해한 부작용의 발생율(%)은, 하기 표 8에서 예시되는 바와 같이, 화학식(1)의 화합물의 단위 투여량을 증가시킴에 따라 증가한다는 것이 관찰되었다.

[표 8]

치료시 응급 상태의 유해한 부작용 발생율(%)							
단위 투여량(mg)							
유해한 부작용	플라시보	2 mg	5 mg	10 mg	25 mg	50 mg	100 mg
두통	10	12	10	23	29	34	46
소화 불량	6	3	14	13	19	20	25
배부통	5	3	3	15	18	24	22
근육통	3	0	3	9	16	20	29
비염	3	7	3	4	4	0	2
결막염	1	0	1	1	0	2	5
눈꺼풀 부종	0	0	0	1	1	2	3
조홍	0	0	0	<1	0	3	7
시각 이상	0	0	0	0	0	0	0

상기 표 8은 25 mg 내지 100 mg 단위 투여량에서 유해한 부작용이 증가한다는 것을 보여 준다. 따라서, ED의 치료에 있어서 효능이 25 mg 내지 100 mg 단위 투여량에서 관찰되었다고 할지라도, 25 mg 내지 100 mg에서 관찰되는 유해한 부작용은 고려해야 한다.

본 발명에 있어서, 약 1 mg 내지 약 20 mg의 단위 투여량, 바람직하게는 약 2 mg 내지 약 20 mg의 단위 투여량, 보다 바람직하게는 5 mg 내지 약 20 mg의 단위 투여량, 가장 바람직하게는 약 5 mg 내지 약 15 mg의 단위 투여량은 24 시간 당 최고 20 mg으로 투여하였는데, 이들 투여량은 효과적으로 ED를 치료하고 유해한 부작용의 발생을 최소화하거나 제거하였다. 중요하게도, 시각 이상은 전혀 보고되지 않았고, 조홍은 기본적으로 제거되었다. 놀랍게도, 환자에게 최소한의 유해한 부작용을 갖도록 화학식(1)로 표시되는 화합물의 단위 투여량을 약 1 mg 내지 약 20 mg으로 사용하여 개체의 ED를 치료하는 것 이외에도, 질산염의 치료를 수행하는 개체도 본 발명의 방법 및 조성물에 의해 치료할 수 있다.

이상의 명세서에서는 본 발명의 원칙, 바람직한 실시양태 및 실시 방법을 설명하였다. 그러나, 본 발명은 본 명세서에 의해 보호를 받는 데 있지 개시된 특정 형태에 의해 제한받지 않은 것으로 해석해야 한다. 왜냐하면, 이들 형태는 한정적이기 보다는 예시적인 것이기 때문이다. 따라서, 당업자라면 본 발명의 기술적 사상에 벗어나지 않고 본 발명을 변형 또는 변화시킬 수 있다.

발명의 효과

본 발명은 유해한 부작용을 발생시키는 일이 없이 성 기능 부전을 치료하는데 유효한 PDE5 억제제, 이들을 함유하는 약학 조성물 및 이들을 약학 제품의 제조에 사용하는 방법을 제공한다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

(a) i) PDE6에 비하여 PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 100 배 이상 차이가 나고, ii) PDE1c에 비하여 PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 1000 배 이상 차이가 나며, iii) PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 10 nM 미만이고, iv) 약 1 mg 내지 약 20 mg 단위 경구 투여량으로도 효과적일 정도의 충분한 생체 이용율을 갖고 있는 선택적 PDE5 억제제를 약 1 mg 내지 약 20 mg 포함하는 경구 투여 형태,

(b) PDE5 억제제가 성 기능 부전의 치료를 필요로 하는 환자에 있어서 그 성 기능 부전을 치료하는데 유용하고, 유기 질산염의 투여와 관련된 금기 사항이 없다는 것을 알려주는 포장 삽입물, 및

(c) 용기

를 포함하는 인간 약학 제품.

청구항 2

(a) i) PDE6에 비하여 PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 100 배 이상 차이가 나고, ii) PDE1c에 비하여 PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 1000 배 이상 차이가 나며, iii) IC_{50} 값이 10 nM 미만이고, iv) 약 1 mg 내지 약 20 mg 단위 경구 투여량으로도 효과적일 정도의 충분한 생체 이용율을 갖고 있는 선택적 PDE5 억제제를 약 1 mg 내지 약 20 mg 포함하는 경구 투여 형태,

(b) PDE5 억제제가 성 기능 부전의 치료를 필요로 하는 환자에 있어서, 그리고 유기 질산염을 사용하는 환자에 있어서 그 성 기능 부전을 치료하는데 유용하다는 것을 알려주는 포장 삽입물, 및

(c) 용기

를 포함하는 인간 약학 제품.

청구항 3

(a) i) PDE6에 비하여 PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 100 배 이상 차이가 나고, ii) PDE1c에 비하여 PDE5의 억제에 대한 IC_{50} 값이 1000 배 이상 차이가 나며, iii) IC_{50} 값이 10 nM 미만이고, iv) 약 1 mg 내지 약 20 mg 단위 경구 투여량으로도 효과적일 정도의 충분한 생체 이용율을 갖고 있는 선택적 PDE5 억제제를 약 1 mg 내지 약 20 mg 포함하는 경구 투여 형태,

(b) PDE5 억제제가 성 기능 부전의 치료를 필요로 하는 환자에 있어서, 그리고 망막 질환, 조홍 성향, 시각 이상 성향, 성 기능 부전의 치료를 개시하기 전 약 90 일 이상의 심근 경색, 1급 울혈성 심부전, 및 이들의 합병증으로 이루어진 군 중에서 선택되는 증상을 앓고 있는 환자에 있어서 그 성 기능 부전을 치료하는데 유용하다는 것을 알려주는 포장 삽입물, 및

(c) 용기

를 포함하는 인간 약학 제품.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 망막 질환은 당뇨병성 망막증 또는 색소성 망막염인 것인 제품.

청구항 5

제3항에 있어서, 상기 포장 삽입물은 조홍의 발병율이 치료된 환자의 2% 미만이라는 것을 알려주는 것인 제품.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 경구 투여 형태는 선택적 PDE5 억제제를 약 5 mg, 약 10 mg 또는 약 20 mg 포함하는 것인 제품.

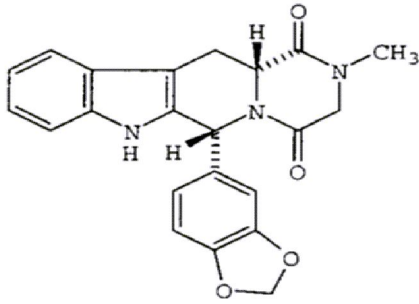
청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 하나의 항에 있어서, 포장 삽입물은 24 시간 당 선택적 PDE5 억제제의 최고 투여량이 약 20 mg이라는 것을 알려주는 것인 제품.

청구항 8

제1항 내지 제5항 중 어느 하나의 항에 있어서, 선택적 PDE5 억제제가 하기 화학식(1)을 갖는 것인 제품:

화학식 1



청구항 9

실질적으로 본 명세서에서 기재한 바와 같은 제품.

청구항 10

본 명세서에서 설명한 선택적 PDE5 억제제를 활성 성분으로 포함하는, 시각 이상 성향이 있는 환자의 성 기능 부전을 치료하는 데 적합한 약학 제제.

청구항 11

본 명세서에서 설명한 선택적 PDE5 억제제를 활성 성분으로 포함하는, 유기 질산염으로 치료를 받고 있는 환자의 성 기능 부전을 치료하는데 적합한 약학 제제.

청구항 12

본 명세서에서 설명한 선택적 PDE5 억제제를 활성 성분으로 포함하는, 조흥 성향이 있는 환자의 성 기능 부전을 치료하는데 적합한 약학 제제.

청구항 13

본 명세서에서 설명한 선택적 PDE5 억제제를 활성 성분으로 포함하는, 망막 질환을 앓고 있는 환자의 성 기능 부전을 치료하는데 적합한 약학 제제.

청구항 14

본 명세서에서 설명한 선택적 PDE5 억제제를 활성 성분으로 포함하는, 성 기능 부전의 치료를 개시하기 전 약 90일 이상 동안 심근 경색을 앓고 있거나 또는 1급 울혈성 심부전을 앓고 있는 환자의 성 기능 부전을 치료하는데 적합한 약학 제제.

청구항 15

제1항 내지 제5항 중 어느 하나의 항에 기재된 제품을 사용하는 단계를 포함하여 성 기능 부전을 치료하는 방법.