



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0023057
(43) 공개일자 2018년03월06일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/28 (2006.01) A61K 31/167 (2006.01)
A61K 31/192 (2006.01) A61K 31/216 (2006.01)
A61K 31/616 (2006.01) A61P 13/10 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 9/2866 (2013.01)
A61K 31/167 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2018-7005475(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2012년08월22일
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2014-7018674
원출원일자(국제) 2012년08월22일
심사청구일자 2016년08월18일
- (85) 번역문제출일자 2018년02월23일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2012/051859
- (87) 국제공개번호 WO 2013/103389
국제공개일자 2013년07월11일
- (30) 우선권주장
13/343,349 2012년01월04일 미국(US)
(뒷면에 계속)

- (71) 출원인
웰즐리 파마슈티컬스 엘엘씨
미국, 펜실베니아 18940, 밸리 뷰 드라이브 뉴타운 3
- (72) 발명자
딜, 데이비드, 에이.
미국, 펜실베니아 18940, 뉴타운, 밸리 뷰 드라이브 3
- (74) 대리인
김순용

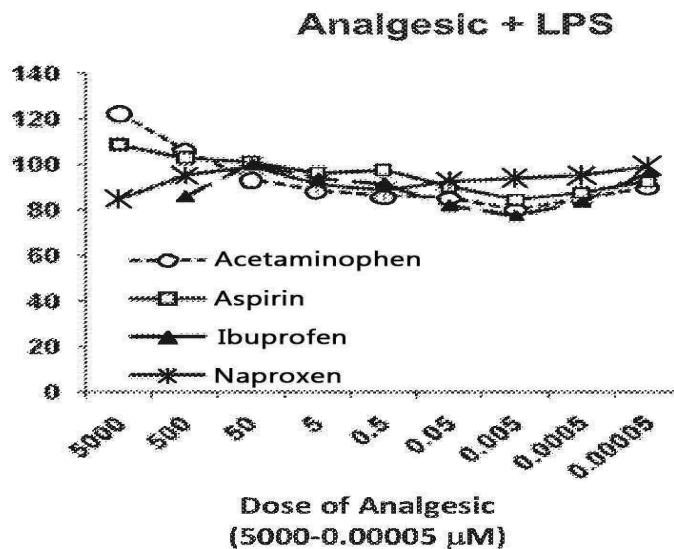
전체 청구항 수 : 총 30 항

(54) 발명의 명칭 **배뇨 빈도를 감소시키기 위한 서방형 제제 및 이의 사용 방법**

(57) 요약

본 발명은 배뇨의 빈도를 감소시키기 위한 방법 및 조성물이 개시된다. 일 방법은 서방형 제제로 제형화된 진통제를 포함하는 약학적 조성물의 유효량을 대상(subject)에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이다. 다른 방법은 다중 활성 성분들을 포함하는 약학적 조성물의 유효량을 대상(subject)에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이다. 또 다른 방법은 이노제의 유효량을 대상(subject)에게 투여한 후, 진통제를 포함하는 약학적 조성물을 투여하는 방법이다.

대표도 - 도1b



(52) CPC특허분류

A61K 31/192 (2013.01)
A61K 31/216 (2013.01)
A61K 31/616 (2013.01)
A61K 9/2846 (2013.01)
A61K 9/288 (2013.01)
A61P 13/10 (2018.01)
A61K 2300/00 (2013.01)

(30) 우선권주장

13/423,949 2012년03월19일 미국(US)
13/487,343 2012년06월04일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

다음을 포함하는, 배뇨 빈도를 감소시키는 방법:

제1 진통제를 포함하는 약학적 조성물의 유효량을 대상(subject)에게 투여하는 단계를 포함하고, 상기 약학적 조성물은 서방형(delayed-release) 제제로 제형화되며, 상기 제1 진통제는 5 mg 내지 2000 mg의 일일 용량으로 경구 투여된다.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 서방형 제제는 히드록시프로필 메틸셀룰로오스 (hydroxypropyl methylcellulose), 메틸셀룰로오스(methylcellulose), 메틸 히드록시에틸셀룰로오스(methyl hydroxyethylcellulose), 히드록시프로필셀룰로오스 (hydroxypropylcellulose), 카르복시메틸셀룰로오스(carboxymethylcellulose), 아크릴레이트 공중합체(acrylate copolymers), 폴리에틸렌 글리콜(polyethylene glycols), 폴리비닐피롤리돈 (polyvinylpyrrolidone), 메타크릴산 공중합체(methacrylic acid copolymer), 셀룰로오스 아세테이트 프탈레이트(cellulose acetate phthalate), 히드록시프로필 메틸셀룰로오스 프탈레이트(hydroxypropyl methylcellulose phthalate), 히드록시프로필 메틸셀룰로오스 아세테이트 숙시네이트(hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate), 폴리비닐 아세테이트 프탈레이트(polyvinyl acetate phthalate), 셸락(shellac), 및 에틸셀룰로오스(ethylcellulose)로 이루어진 군으로부터 선택된 물질을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 3

제 2 항에 있어서, 상기 서방형 제제는 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 디스테아레이트를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 상기 서방형 제제는, 불용성이지만 투과팽윤가능한 하이드로겔 플러그(hydrogel plug)로 마감된 불수용성 캡슐 바디(body)를 포함하고, 상기 플러그는 폴리메타크릴레이트(polymethacrylates), 부식성 압축 중합체(erodible compressed polymers), 응결 용융 중합체(congealed melted polymer) 및 효소적 조절 부식성 중합체(enzymatically controlled erodible polymers)로 이루어진 군으로부터 선택된 물질을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

제 1 항에 있어서, 상기 서방형 제제는 장용성 코팅(enteric coating)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

제 1 항에 있어서, 상기 제1 진통제는 아스피린, 이부프로펜, 나프록센, 및 아세트아미노펜으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 상기 제1 진통제는 50 mg 내지 500 mg의 일일 용량으로 경구 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제 6 항에 있어서, 상기 제1 진통제는 100 mg 내지 500 mg의 일일 용량으로 경구 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

제 7 항에 있어서, 상기 제1 진통제는 250 mg 내지 500 mg의 일일 용량으로 경구 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9

제 1 항에 있어서, 상기 제1 진통제는 250 mg 내지 1000 mg의 일일 용량으로 경구 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 10

제 1 항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 아세트아미노펜아스피린, 이부프로펜, 및 나프록센으로 이루어진 군으로부터 선택된 제2 진통제를 추가적으로 포함하고; 상기 제2 진통제는 상기 제1 진통제와 상이하하며, 상기 제2 진통제는 5 mg 내지 2000 mg의 일일 용량으로 경구 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 11

제 10 항에 있어서, 상기 제2 진통제는 50 mg 내지 500 mg의 일일 용량으로 경구 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 12

제 11 항에 있어서, 상기 제2 진통제는 100 mg 내지 500 mg의 일일 용량으로 경구 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 13

제 12 항에 있어서, 상기 제2 진통제는 250 mg 내지 500 mg의 일일 용량으로 경구 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 14

제 10 항에 있어서, 상기 제2 진통제는 250 mg 내지 1000 mg의 일일 용량으로 경구 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 15

제 1 항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 옥시부티닌, 졸리페나신, 다리페나신 및 아트로핀으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 종 이상의 항무스카린제를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 16

제 1 항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 1 종 이상의 항이뇨제(antidiuretics)를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 17

제 1 항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 1 종 이상의 진경제(spasmolytics)를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 18

제 1 항에 있어서, 상기 방법은 상기 대상에게 이뇨제를 투여하는 단계를 추가적으로 포함하고, 상기 이뇨제는 목표 시간의 최소 8 시간 전에 투여되며, 상기 약학적 조성물은 상기 목표 시간 전 2 시간 내에 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 19

다음을 포함하는, 배뇨 빈도를 감소시키는 방법:

다수의 활성 성분들을 포함하는 약학적 조성물의 유효량을 대상(subject)에게 경구 투여하는 단계를 포함하고, 상기 다수의 활성 성분들은 (1) 1 종 이상의 진통제 및 (2) 1 종 이상의 항무스카린제를 포함하며, 상기 1 종 이상의 진통제는 5 mg 내지 2000 mg의 일일 용량으로 조합하여 투여된다.

청구항 20

제 19 항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 상기 다수의 활성 성분들의 속방형(immediate-release)으로 제형화된 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 21

제 19 항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 2 종의 활성 성분들을 함유하고, 하나는 속방형으로 제형화되며, 나머지 하나는 서방형으로 제형화된 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 22

제 19 항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 2 종의 활성 성분들을 함유하고, 상기 활성 성분 모두가 속방형으로 제형화되거나 또는 서방형으로 제형화된 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 23

제 19 항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 2 종의 활성 성분들을 함유하고, 그 중 하나는 제1 시점에서 지연-방출되는 서방형으로 제형화되고, 나머지 하나는 제2 시점에서 지연-방출되는 서방형으로 제형화된 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 24

제 19 항에 있어서, 상기 1 종 이상의 진통제는 아스피린, 이부프로펜, 나프록센, 및 아세트아미노펜으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 상기 1 종 이상의 항무스카린제는 옥시부티닌, 졸리페나신, 다리페나신 및 아트로핀으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 25

제 19 항에 있어서, 상기 다수의 활성 성분들은 아스피린, 이부프로펜, 나프록센, 및 아세트아미노펜으로 이루어진 군으로부터 선택된 2 종의 진통제로 이루어지는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 26

제 19 항에 있어서, 상기 다수의 활성 성분들은 1 종 이상의 항이뇨제(antidiuretics)를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 27

제 19 항에 있어서, 상기 다수의 활성 성분들은 1 종 이상의 진경제(spasmodics)를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 28

다음을 포함하는 약학적 조성물:

아스피린, 이부프로펜, 나프록센, 및 아세트아미노펜으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 종 이상의 진통제;

1 종 이상의 항이뇨제(antidiuretics); 및

약학적으로 허용가능한 담체,

상기 1 종 이상의 진통제는 서방형으로 제형화된다.

청구항 29

제 28 항의 약학적 조성물.

청구항 30

제 28 항에 있어서, 상기 조성물은 1 종 이상의 진경제(spasmodics)를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 특허출원은 2012년 06월 04일에 미국 특허청에 제출된 미국 특허출원 제 13/487,343 호, 2012년 03월 19일에 미국 특허청에 제출된 미국 특허출원 제 13/423,949 호, 및 2012년 01월 04일에 미국 특허청에 제출된 미국 특허출원 제 13/343,349 호에 대하여 우선권을 주장하며, 상기 특허출원의 개시 사항은 본 명세서에 참조로서 삽입된다.
- [0002] 본 발명은 근육, 특히 방광의 평활근의 수축을 억제하기 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

- [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.
- [0007] 따라서, 방광의 잔뇨량이 100 % 미만인 경우에도 느끼는 배뇨 욕구로 인하여 고통 받는 남성과 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.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 다음을 포함하는, 배뇨 빈도를 감소시키는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 방법은 아스피린, 이부프로펜, 나프록센 소듐염, 및 아세트아미노펜으로 이루어진 군으로부터 선택된 제1 진통제를 포함하는 약학적 조성물의 유효량을 대상(subject)에게 투여하는 단계를 포함하고, 상기 약학적 조성물은 서방형(delayed-release) 제제로 제형화되며, 상기 제1 진통제는 5 mg 내지 2000 mg의 일일 용량으로 경구 투여된다.
- [0009] 다른 구현예에서, 본 방법은 다수의 활성 성분을 포함하는 약학적 조성물의 유효량을 대상(subject)에게 경구 투여하는 단계를 포함하고, 상기 다수의 활성 성분들은 (1) 1 종 이상의 진통제 및/또는 (2) 1 종 이상의 항무스카린제를 포함하며, 상기 1 종 이상의 진통제는 5 mg 내지 2000 mg의 일일 용량으로 조합하여 투여된다. 일부 구현예에서, 상기 1 종 이상의 진통제는 아스피린, 이부프로펜, 나프록센 소듐염, 및 아세트아미노펜으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 상기 1 종 이상의 항무스카린제는 예컨대, 옥시부티딘, 졸리페나신, 다리페나신, 페조테로딘, 틀테로딘, 트로스피움 및 아트로핀을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0010] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 다음을 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다: 아스피린, 이부프로펜, 나프록센, 및 아세트아미노펜으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 종 이상의 진통제; 1 종 이상의 항이노제

(antidiuretics); 및 약학적으로 허용가능한 담체,

[0011] 상기 1 종 이상의 진통제는 서방형으로 제형화된다.

과제의 해결 수단

[0012] 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.

[0013] 본 명세서에서 사용되는 용어 "유효량"은 선택된 결과를 달성하기 위해 필요한 양을 의미한다.

[0014] 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), 살리실레이트, 아스피린, 살리실산, 메틸 살리실레이트, 디플루니살, 살살레이트, 올 살라진, 설파살라진, 파라-아미노페놀 유도체, 아세트아닐라이드, 아세트아미노펜, 페나세틴, 페나메이트, 메페나믹 산, 메클로페나메이트, 소듐 메클로페나메이트, 헥세로아릴 아세트산 유도체, 톨메틴, 케토로락, 디클로페낙, 프로피온산 유도체, 이부프로펜, 나프록센 소듐, 나프록센, 페노프로펜, 케토프로펜, 플루르비프로펜, 옥사프로진; 에놀릭산, 옥시감 유도체, 피록시감, 벨록시감, 테녹시감, 암피록시감, 드록시감, 피복시감, 피라졸론 유도체, 페닐부타존, 옥시펜부타존, 안티피린, 아미노피린, 디피론, 콕시브, 셀레콕시브, 로페콕시브, 나부 메톤, 아파존, 인도메타신, 설린탁, 에토돌락, 이소부틸페닐 프로피온산, 루미 라콕시브, 에토리콕시브, 과레콕시브, 발테콕시브, 티라콕시브, 에토돌락, 다르부페론, 텍스케토프로펜, 아세클로페낙, 리코페론, 브롬페낙, 프라노프로펜, 록소프로펜, 피록시감, 니메실라이드, 시줄리린, 3-포르밀아미노-7-메틸술폰닐아미노-6-페녹시-4H-1-벤조피란-4-온, 벨록시감, 로르녹시감, D-인도부펜, 포페졸락, 암톨메틴, 프라노프로펜, 톨페나믹, 플루르비프로펜, 서프로펜, 옥사프로진, 잘토프로펜, 알미노프로펜, 티아프로페닉 산, 이들의 약학적 염, 이들의 수화물 및 이들의 용매화물.

[0015] 본 명세서에서 사용되는 용어 "콕시브(coxib)" 및 "COX 억제제"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.

[0016] 방광은 두 가지 중요한 기능을 한다: 소변의 저장 및 비우기. 소변의 저장은 낮은 압력에서 발생하는데, 이는 채워지는 단계 동안 배뇨근이 이완하는 것을 의미한다. 방광을 비우는 것은 배뇨근 수축과 요도 괄약근 이완을 필요로 한다. 저장 기능의 장애는 긴급성, 빈도, 절박성 요실금 및 과민성 방광 증후군과 같은 하부 요로 증상의 원인이 될 수 있다. 저장 단계 동안 방광 평활근(배뇨근)의 불수의적 수축으로 인한 과민성 방광 증후군은 일반적으로 잘 보고되지 않은 문제이며, 최근 보고되고 있다.

[0017] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 서방형(delayed-release) 제제로 제형화된 약학적 조성물을 대상(subject)에게 투여하여 배뇨 빈도를 감소시키는 방법에 관한 것이다. 상기 약학적 조성물은 1 종 이상의 진통제를 포함하고, 선택적으로 1 종 이상의 항무스카린제를 포함한다.

[0018] 본 명세서에서 사용되는 용어 "서방형(delayed-release)"은 즉시 분해되지 않고 활성 성분(들)이 체내로 방출되는 약제를 의미한다. 일부 구현예에서, 용어 "서방형"은 약물 투여 후 방출에 있어 지정된 지연이 있는 방출 프로파일을 갖는 약제 제형을 참조하여 사용된다. 일부 구현예에서, 상기 서방형 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 환경으로 전달시키고, 원하는 효과가 나타나도록 한다.

[0019] 본 명세서에서 사용되는 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. 투여 후 지정된 시간에서 박동성 방출 또는 다중 박동성 방출을 제공하도록 제제들을 설계할 수 있다.

[0020] 대부분의 장용성 코팅은 표면에 존재함으로써 작용하여, 위장의 높은 산성 pH에서는 안정하나, 낮은 산성인 pH(상대적으로 보다 염기성)에서는 신속하게 분해된다. 따라서, 장용성 코팅된 알약은 위장(pH ~ 3)의 산성 주스에 용해되지 않으나, 알칼리성 환경(pH 7-9)의 소장에서는 분해된다. 장용성 코팅 물질의 예로는, 메틸 아크릴

레이트-메타크릴산 공중합체, 셀룰로오스 아세테이트 숙시네이트, 히드록시 프로필 메틸 셀룰로오스 프탈레이트, 히드록시 프로필 메틸 셀룰로오스 아세테이트 숙시네이트(하이프로멜로오스 아세테이트 숙시네이트), 폴리비닐 아세테이트 프탈레이트(PVAP), 메틸 메타크릴레이트-메타크릴산 공중합체, 소듐 알지네이트 및 스테아린산을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

- [0021] 일부 구현예에서, 본 약학적 조성물은 서방형으로 제공되도록 제작된 다양한 약물 제제로 경구 투여된다. 경구 투여 형태는, 예를 들면, 정제, 캡슐, 캐 플릿을 포함하고, 또한 캡슐화되거나 캡슐화 되지 않은 다수의 과립, 비드, 분말 또는 펠릿을 포함할 수 있다. 정제 및 캡슐은 가장 용이한 경구 투여 형태를 대표하며, 이 때 고체 약학적 담체를 이용한다.
- [0022] 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.
- [0023] 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 이상 까지 할 수 있다.
- [0024] 서방형 조성물은 단일 단위 용량으로 투여되는 활성제의 총 복용량 100% 를 포함 할 수 있다. 택일적으로, 서방형 조성물은 조합된 방출 프로파일 제제 성분을 포함할 수 있고, 약학적 제제에 의해 전달되는 활성화제(들)의 총 복용량의 약 30-95%를 제공 할 수 있다. 예를 들어, 속방형(immediate-release) 성분은 약학적 제제에 의해 전달되는 활성화제(들)의 총 복용량의 약 5-70%, 또는 약 50%를 제공할 수 있다. 다른 구현예에서, 서방형 성분은 제제에 의해 전달되는 활성화제(들)의 총 복용량의 약 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 또는 95%를 제공한다.
- [0025] 서방형 제제는 일반적으로 활성 성분(들)의 방출을 지연시키는 장벽 코팅을 포함한다. 상기 장벽 코팅은 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.
- [0026] 일부 구현예에서, 상기 서방형 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. 일반적으로, 상기 코팅은 위장의 산성 용액에서 용해되지 않으나, 소장이나 대장 등의 소화 기관의 원위 지역에서는 용해되거나 부식된다. 장용성 중합체 코팅은 일반적으로 투여 후 약 3-4 시간의 지연 시간에 위장이 비워지는 얼마간의 시간까지 활성제의 방출을 방해한다.
- [0027] 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 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 숙시네이트(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 TM 125 및 Marcoat TM 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.

- [0028] 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 =7.0의 최적 pH를 나타낸다.
- [0029] 다른 구현예에서, 장용성 코팅은 1 종 이상의 pH-독립성 중합체를 포함 할 수 있다. 이러한 중합체는 특정시간 이 지난 후 pH와 상관없이 약물의 방출을 제공한다. 본 발명의 목적을 위해, "pH 독립성"은 pH에 의하여 실질적 으로 영향을 받지 않는 특징(예를 들면, 용해)을 갖는 것으로 정의된다. pH 독립성 중합체는 종종 "시간-제어" 또는 "시간-의존" 방출 프로파일의 맥락으로 언급된다.
- [0030] pH를 독립성 중합체는 불수용성 또는 수용성일 수 있다. 예컨대, 불수용성 pH 독립성 중합체는 트리메틸암모니 오에틸 메타크릴레이트 클로라이드의 작은 부분이 있는 중성 메타크릴산 에스테르류(예를 들어, EUDRAGIT RS 및 EUDRAGIT RL); 어떠한 작용기도 없는 중성 에스테르 분산액(예를 들어, EUDRAGIT NE30D 및 EUDRAGIT NE30); 에 틸셀룰로오스, 히드록시 에틸 셀룰로오스, 셀룰로오스 아세테이트 또는 이들의 혼합물 등의 셀룰로오스 중합체 및 기타 pH 독립성 코팅 산물들을 포함하며, 이에 한정되지 않는다. 대표적인 수용성 pH 독립성 중합체는 OPADRY*j*amb가 다.
- [0031] 일부 구현예에서, pH 독립성 중합체는 위장과 소장 모두에서 부식에 저항하는 1 종 이상의 다당류 (polysaccharides)를 포함한다. 이러한 중합체는 폴리사카라이드 코팅제와 같은 생분해성 효소를 함유하는 미생 물이 존재하는 대장 내에서 분해되어 약물 성분들이 조절, 시간-의존적인 방식으로 방출될 수 있다.
- [0032] 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 활성 성분 들의 방출 속도를 감소시킬 수 있다.
- [0033] 일부 구현예에서, "시간-조절" 또는 "시간-의존" 방출 프로파일은 1 종 이상의 활성 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 밀 어내고, 지정된 지연 기간 후에 약물을 방출시키며, 플러그의 위치 및 크기 등에 의해 조절될 수 있다. 상기 캡 술 바디는 소장에 도달할 때까지 그대로 유지되도록 외부에 pH 의존성 장용성 코팅으로 추가적으로 코팅될 수 있다. 적합한 플러그 물질은, 예를 들어, 폴리메타크릴레이트, 부식성 압축 중합체(예컨대, HPMC, 폴리비닐알콜), 응결 용융 중합체 (예컨대, 글리세릴 모노 올레에이트) 및 효소적 조절 부식성 중합체(예컨대, 아밀로오스, 아라비노갈락탄, 키토산, 콘드로이틴 설페이트, 시클로덱스트린, 텍스트란, 구아검, 펙틴 및 자일 란과 같은 폴리사카라이드)를 포함한다.
- [0034] 다른 구현예에서, 캡슐 또는 이중층 정제는 팽창되는 층으로 덮힌 약물-함유 코어, 불용성이지만 반투과성 중합 체 코팅 또는 막인 외부를 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 팽창시키 고 유지하는 팽윤성 친수성 중합체와 같은 1 종 이상의 팽윤 제를 포함한다.
- [0035] 팽윤성 물질의 예로는, 폴리에틸렌 옥사이드(예컨대, POLYOX와 같이 1,000,000 내지 7,000,000 사이의 평균 분 자량을 갖는), 메틸셀룰로오스, 히드 록시프로필 셀룰로오스, 히드록시프로필 메틸셀룰로오스; 폴리(메틸렌 옥 사이드) 폴리(부틸렌 옥사이드)를 포함하나 이에 한정되지 않는 1,000,000 내지 6,000,000 사이의 평균 분자량 을 갖는 폴리알킬렌 옥사이드; 25,000 내지 5,000,000 사이의 평균 분자량을 갖는 폴리(히드록시 알킬 메타크릴 레이트); 글리옥살, 포름알데히드 또는 글루타르알데히드로 가교(cross-linked)된 낮은 아세탈 잔기를 갖고, 200 내지 30,000의 중합도를 갖는 폴리(비닐)알코올; 메틸 셀룰로스, 가교된 한천 및 카르복시메틸 셀룰로오스 의 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 공중합 체를 형성하는 하이드로겔; 450,000 내지 4,000,000의 분자량을 갖는 CARBOPOL 산성 카르복시 중합체; CYANAMER 폴리아크릴아미드; 가교 팽윤성 indenemaleicanhydride 중합체; 80,000 내지 200,000의 분자량을 갖 는 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.

[0036] 장용성 층은 탈크 또는 글리세릴 모노스테아 레이트와 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.

[0037] 다른 구현예에서, 서방형 제제는 투수성의 불용성 필름 코팅을 사용하여 활성 성분 및 삼투제를 둘러싼다. 소화관으로부터 물이 천천히 필름을 통하여 코어 내로 확산되면, 상기 코어는 상기 필름이 과열될 때까지 팽창되고, 이로 인해 활성 성분들이 방출된다. 상기 필름 코팅은 다양한 속도의 물 투과 또는 방출 시간이 허용되도록 조정될 수 있다.

[0038] 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.

[0039] 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 위 배출이 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.

[0040] 삼투성 푸시 층은 반투과성 막을 통한 전달 비히클(vehicle)의 코어로서의 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 메타크릴레이트), 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 검, 및 소듐 스타치 글리콜레이트를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0041] 또 다른 종류의 삼투제는 오스모젠(osmogen)을 포함하며, 이는 물을 흡수할 수 있어 반투과 막에 걸쳐 삼투압 구배에 영향을 미친다. 오스모젠의 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 트산, 글루탐산, p-톨루엔술폰산, 숙신산 및 타르타르산 등의 유기산; 우레아; 및 이들의 혼합물을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0042] 반투막을 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.

- [0043] 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 변경될 수 있다.
- [0044] 다양한 코팅 기술은 활성 성분들을 함유한 과립, 비드, 분말 또는 펠렛, 정제, 캡슐제 또는 이들의 조합에 적용하여 상이하고 뚜렷한 방출 프로파일을 생성할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 약학적 조성물은 단일 코팅층을 포함하는 정제 또는 캡슐 형태이다. 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 다중 코팅층을 포함하는 정제 또는 캡슐 형태이다.
- [0045] 일부 구현예에서, 본 약학적 조성물은 진통제, 항무스카린제, 항이뇨제 및 진경제로 이루어진 군으로부터 선택된 다수의 활성 성분을 포함한다. 진경제의 예로는, 캐리소프로돌, 벤조디아제핀, 바클로펜, 시클로벤자프린, 메탁살론, 메토카르바몰, 클로니딘, 클로니딘 아날로그 및 단트롤렌을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 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 및 진경제로 이루어진 군으로부터 선택되는 1 종 이상의 다른 활성 성분을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 (1) 1 종 또는 2 종의 진통제 및 (2) 1 종 또는 2 종의 항무스카린제를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 (1) 1 종 또는 2 종의 진통제 및 (2) 1 종 또는 2 종의 항이뇨제를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 (1) 1 종 또는 2 종의 진통제 및 (2) 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 항이뇨제를 포함한다.
- [0046] 일 구현예에서, 본 다수의 활성 성분들은 서방형으로 제형화된다. 다른 구현예에서, 본 다수의 활성 성분들은 속방형 및 서방형 모두로 제형화된다(예를 들어, 각 활성 성분의 제1 부분은 속방형으로 제형화되고, 각 활성 성분의 제2 부분은 서방형으로 제형화된다). 또 다른 구현예에서, 다수의 활성 성분의 일부는 속방형으로 제형화되고, 다수의 활성 성분의 일부는 서방형으로 제형화된다(예컨대, 활성 성분 A, B, C가 속방형으로 제형화되고, 활성 성분 C와 D는 서방형으로 제형화된다).
- [0047] 특정 구현예에서, 본 약학적 조성물은 속방형 성분 및 서방형 성분을 포함한다. 상기 속방형 성분은 진통제, 항무스카린제, 항이뇨제 및 진경제로 이루어진 군으로부터 선택된 1 종 이상의 활성 성분들을 포함할 수 있다. 상기 서방형 성분은 진통제, 항무스카린제, 항이뇨제 및 진경제로 이루어진 군으로부터 선택된 1 종 이상의 활성 성분들을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 속방형 성분 및 상기 서방형 성분은 정확하게 동일한 활성 성분을 갖는다. 다른 실시예에서, 상기 속방형 성분 및 상기 서방형 성분은 상이한 활성 성분을 갖는다. 또 다른 실시예에서, 상기 속방형 성분 및 상기 서방형 성분은 1 종 이상의 공통 활성 성분을 갖는다.
- [0048] 일 구현예에서, 본 약학적 조성물은 거의 동시에 즉시 방출되도록 제형화된 2 종의 활성 성분(예를 들면, 2 종의 진통제, 또는 1 종의 진통제와 1 종의 항무스카린제 또는 항이뇨제 또는 진경제의 혼합물)를 포함한다. 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 거의 동시에 서서히 방출되도록 제형화된 2 종의 활성 성분을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 각각 상이한 서방형 프로파일을 제공하는 2 종의 서방형으로 제형화된 2 종의 활성 성분들을 포함한다. 예를 들어, 제1 서방형 성분은 제1 시점에서 제1 활성 성분을 방출하고, 제2 서방형 성분은 제2 시점에서 제2 활성 성분을 방출한다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 하나는 속방형이고 나머지 하나는 서방형으로 제형화된 2 종의 활성 성분을 포함한다.
- [0049] 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 속방형으로 제형화된 2 종의 활성 성분(예를 들면, 2 종의 진통제, 또는 1 종의 진통제와 1 종의 항무스카린제 또는 항이뇨제 또는 진경제의 혼합물), 및 (2) 서방형으로 제형화된 2 종의 활성 성분(예를 들면, 2 종의 진통제, 또는 1 종의 진통제와 1 종의 항무스카린제 또는 항이뇨제 또는 진경제의 혼합물)을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 속방형으로 제형화된 3 종의 활성 성분, 및 (2) 서방형으로 제형화된 3 종의 활성 성분을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 속방형으로 제형화된 4 종의 활성 성분, 및 (2) 서방형으로 제형화된 4 종의 활성 성분을 포함한다. 이들 구현예에서, 상기 속방형 성분 내 활성 성분(들)은 서방형 성분 내 활성 성분(들)과 동일하거나, 서로 상이할 수 있다.
- [0050] 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 포함할 수 있다. 속방형 코팅 물질의 예로는, 젤라틴, 폴리비닐알코올 폴리에틸렌글리콜(PVA-PEG) 공중합체(예컨대, KOLLICOAT) 및 당업자에게 공지된 다양한 기타 물질들을 포

함한다.

- [0051] 속방형 조성물은 단일 단위 용량으로 투여되는 활성제의 총 복용량 100% 를 포함 할 수 있다. 택일적으로, 속방형 조성물은 조합된 방출 프로파일 제제 성분을 포함할 수 있고, 약학적 제제에 의해 전달되는 활성화제(들)의 총 복용량의 약 30-95%를 제공 할 수 있다. 예를 들어, 속방형(immediate-release) 성분은 약학적 제제에 의해 전달되는 활성화제(들)의 총 복용량의 약 5%, 또는 약 10-30%, 또는 약 45-50%를 제공할 수 있다. 활성제(들)의 나머지는 서방형 제제로 전달될 수 있다. 택일적 구현예에서, 상기 속방형 성분은 제제에 의해 전달되는 활성화제(들)의 총 복용량의 약 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 또는 50%를 제공한다. 상기 서방형 성분은 제제에 의해 전달되는 활성화제(들)의 총 복용량의 약 90, 85, 80, 75, 70, 65, 60, 55 또는 50%를 제공한다.
- [0052] 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 제조 될 수 있다.
- [0053] 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.
- [0054] 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 포함 할 수 있다. 중합체 막의 내층과 외층의 각각의 중량뿐만 아니라 외층의 조성물은 원하는 주기 리듬 방출 프로파일을 달성하기 위해 최적화시키고, 이는 *인 비 트로/인 비보* 상관관계를 기반으로 하여 예측된다.
- [0055] 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 서방형 비드의 혼합물을 포함하고, 이에 따라 두 가지-펄스 방출 프로파일을 제공한다. 또 다른 실시예에서, 본 제제는 두 가지 유형의 서방형 비드의 혼합물을 포함한다: 1-3시간의 지연 시간을 나타내는 제1형 및 4-6 시간의 지연 시간을 나타내는 제2형.
- [0056] 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.
- [0057] 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.
- [0058] 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.
- [0059] 바람직하게는, 상기 제제는 수면 방해로 제한하는 방출 프로파일로 설계되며, 일반적으로 대상이 배뇨 욕구 때

문에 깨게 될 때, 상기 제제는 방출된다. 예를 들어, 오후 11시 수면을 시작하고 정상적으로 12:30 AM, 3:00 AM, 및 6:00 AM에 배뇨를 위하여 깨는 대상을 고려한다. 서방형 비히클은 약물을 12:15 AM에 전달하여, 이에 의해 아마도 2-3 시간 동안 배뇨 욕구를 지연시킬 수 있다.

[0060] 본 약학적 조성물은 일일 투여하거나 필요에 따라 투여 할 수 있다. 특정 구현예에서, 본 약학적 조성물은 취침 전에 대상에게 투여된다. 일부 구현예에서, 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 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 약제학적 조성물은 취침 최소 1 시간전에 투여된다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 취침 한 시간 미만전에 투여된다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 취침 직전에 투여된다. 바람직하게는, 본 약학적 조성물은 경구 투여된다.

[0061] 속방형-성분 또는 서방형-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.

[0062] 일반적으로 제안된 바와 같이, 속방형 성분 또는 서방형 성분 내 활성제(들)의 치료학적 유효량은 1 회 이상의 투여로 약 100 µg/kg 체중/일 내지 약 100 mg/kg 체중/일의 범위로 투여된다. 일부 구현예에서, 각 활성제의 일일 투여 범위는 약 100 µg/kg 체중/일 내지 약 50 mg/kg 체중/일, 100 µg/kg 체중/일 내지 약 10 mg/kg 체중/일, 100 µg/kg 체중/일 내지 약 1 mg/kg 체중/일, 100 µg/kg 체중/일 내지 약 10 mg/kg 체중/일, 500 µg/kg 체중/일 내지 약 100 mg/kg 체중/일, 500 µg/kg 체중/일 내지 약 50 mg/kg 체중/일, 500 µg/kg 체중/일 내지 약 5 mg/kg 체중/일, 1 mg/kg 체중/일 내지 약 100 mg/kg 체중/일, 1 mg/kg 체중/일 내지 약 50 mg/kg 체중/일, 1 mg/kg 체중/일 내지 약 10 mg/kg 체중/일, 5 mg/kg 체중/일 내지 약 100 mg/kg 체중/일, 5 mg/kg 체중/일 내지 약 50 mg/kg 체중/일, 10 mg/kg 체중/일 내지 약 100 mg/kg 체중/일, 및 10 mg/kg 체중/일 내지 약 50 mg/kg 체중/일이다.

[0063] 본 명세서에 기재된 활성제(들)은 속방형 성분 또는 서방형 성분 또는 이들의 조합에, 1 mg 내지 2000 mg, 5 mg 내지 2000 mg, 10 mg 내지 2000 mg, 50 mg 내지 2000 mg, 100 mg 내지 2000 mg, 200 mg 내지 2000 mg, 500 mg 내지 2000 mg, 5 mg 내지 1800 mg, 10 mg 내지 1600 mg, 50 mg 내지 1600 mg, 100 mg 내지 1500 mg, 150 mg 내지 1200 mg, 200 mg 내지 1000 mg, 300 mg 내지 800 mg, 325 mg 내지 500 mg, 1 mg 내지 1000 mg, 1 mg 내지 500 mg, 1 mg 내지 200 mg, 5 mg 내지 1000 mg, 5 mg 내지 500 mg, 5 mg 내지 200 mg, 10 mg 내지 1000 mg, 10 mg 내지 500 mg, 10 mg 내지 200 mg, 50 mg 내지 1000 mg, 50 mg 내지 500 mg, 50 mg 내지 200 mg, 100 mg 내지 250 mg, 100 mg 내지 500 mg, 250 mg 내지 1000 mg, 250 mg 내지 500 mg, 500 mg 내지 1000 mg, 500 mg 내지 2000 mg의 범위의 단일 투여량 또는 조합된 투여량으로 경구 투여용으로 포함될 수 있다. 예상한 바와 같이, 투여량은 환자의 상태, 크기, 및 연령에 따라 달라질 수 있다.

[0064] 일부 구현예에서, 본 약학적 조성물은 단일 진통제를 포함한다. 일 구현예에서, 단일 진통제는 아스피린이다. 다른 구현예에서, 단일 진통제는 이부프로펜이다. 또 다른 구현예에서, 단일 진통제는 나프록센 소디움이다. 또 다른 구현예에서, 단일 진통제는 인도메타신이다. 또 다른 구현예에서, 단일 진통제는 나부메톤이다. 또 다른 구현예에서, 단일 진통제는 아세트아미노펜이다.

[0065] 일부 구현예에서, 단일 진통제는 1 mg 내지 2000 mg, 5 mg 내지 2000 mg, 20 mg 내지 2000 mg, 5 mg 내지 1000 mg, 20 mg 내지 1000 mg, 50 mg 내지 500 mg, 100 mg 내지 500 mg, 250 mg 내지 500 mg, 250 mg 내지 1000 mg 또는 500 mg 내지 1000 mg의 일일 투여량으로 정해진다. 특정 구현예에서, 본 약학적 조성물은 단일 진통제로서 아세틸살리실산, 이부프로펜, 나프록센 소디움, 인도메타신, 나부메톤 또는 아세트아미노펜을 포함하고, 상기 진통제는 5 mg 내지 2000 mg, 20 mg 내지 2000 mg, 5 mg 내지 1000 mg, 20 mg 내지 1000 mg, 50 mg 내지 500 mg, 100 mg 내지 500 mg, 250 mg 내지 500 mg, 250 mg 내지 1000 mg 또는 500 mg 내지 1000 mg 범위의 일일 투여량으로 경구투여된다. 일부 구현예에서, 제2 진통제는 1 mg 내지 2000 mg, 5 mg 내지 2000 mg, 20 mg 내지 2000 mg, 5 mg 내지 1000 mg, 20 mg 내지 1000 mg, 50 mg 내지 500 mg, 100 mg 내지 500 mg, 250 mg 내지 500 mg 또는 500 mg 내지 1000 mg의 일일 투여량으로 정해진다.

[0066] 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 진통제의 쌍을 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 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 3:1 범위의 중량비로 혼합되며, 조합된 용량의 범위는 5 mg 내지 2000 mg, 20 mg 내지 2000 mg, 100 mg 내지 2000 mg, 200 mg 내지 2000 mg, 500 mg 내지 2000 mg, 5 mg 내지 1500 mg, 20 mg 내지 1500 mg, 100 mg 내지 1500 mg, 200 mg 내지 1500 mg, 500 mg 내지 1500 mg, 5 mg 내지 1000 mg, 20 mg 내지 1000 mg, 100 mg 내지 1000 mg, 250 mg 내지 500 mg, 250 mg 내지 1000 mg, 250 mg 내지 1500 mg, 500 mg 내지 1000 mg, 500 mg 내지 1500 mg, 1000 mg 내지 1500 mg, 및 1000 mg 내지 2000 mg이다. 일 구현예에서, 한 쌍의 진통제는 1:1의 중량비로 혼합된다.

[0067] 일부 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 1 종 이상의 항무스카린제를 포함한다. 상기 항무스카린제의 예로는, 옥시부티닌, 졸리페나신, 다리페나신, 페조테로딘, 툴테로딘, 트로스피움 및 아트로핀을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 항무스카린제의 일일 용량은 0.01 mg 내지 100 mg, 0.1 mg 내지 100 mg, 1 mg 내지 100 mg, 10 mg 내지 100 mg, 0.01 mg 내지 25 mg, 0.1 mg 내지 25 mg, 1 mg 내지 25 mg, 10 mg 내지 25 mg, 0.01 mg 내지 10 mg, 0.1 mg 내지 10 mg, 1 mg 내지 10 mg, 10 mg 내지 100 mg 및 10 mg 내지 25 mg의 범위이다.

[0068] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 속방형(immediate-release) 제제로 제형화된 약학적 조성물을 대상(subject)에게 투여하여 배뇨 빈도를 감소시키는 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 본 약학적 조성물은 1 종 이상의 진통제 및 1 종 이상의 항무스카린제를 포함한다. 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 1 종 이상의 진통제 및 1 종 이상의 항이뇨제를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 1 종 이상의 진통제, 1 종 이상의 항무스카린제 및 1 종 이상의 항이뇨제를 포함한다.

[0069] 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 1 종 이상의 진경제를 추가적으로 포함한다. 진경제의 예로는, 캐리소프로돌, 벤조디아제핀, 바클로펜, 시클로벤자프린, 메탁살론, 메토카르바몰, 클로니딘, 클로니딘 아날로그 및 단 트롤렌을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 진경제는 1 mg 내지 1000 mg, 1 mg 내지 100 mg, 10 mg 내지 1000 mg, 10 mg 내지 100 mg, 20 mg 내지 1000 mg, 20 mg 내지 800 mg, 20 mg 내지 500 mg, 20 mg 내지 200 mg, 50 mg 내지 1000 mg, 50 mg 내지 800 mg, 50 mg 내지 200 mg, 100 mg 내지 800 mg, 100 mg 내지 500 mg, 200 mg 내지 800 mg, 및 200 mg 내지 500 mg의 일일 용량으로 이용된다. 상기 진경제는 속방형, 서방형 또는 이들의 조합으로 본 약학적 조성물 내에 단독 또는 다른 활성 성분(들)과 함께 제형화될 수 있다.

[0070] 특정 구현예에서, 본 약학적 조성물은 2 종 이상의 진통제를 포함한다. 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 1 종 이상의 진통제 및 1 종 이상의 항무스카린제 및/또는 항이뇨제를 포함한다. 본 약학적 조성물은 정제, 캡슐, 당의정, 분말, 과립, 액체, 젤 또는 에멀전 형태로 제형화 될 수 있다. 상기 액체, 젤 또는 에멀전은 네이키드 형태 또는 캡슐 내 포함되어 대상에게 섭취될 수 있다.

[0071] 특정 구현예에서, 상기 진통제는 살리실레이트, 아스피린, 살리실산, 메틸 살리실레이트, 디플루니살, 살살레이트, 올 살라진, 설과살라진, 파라-아미노페놀 유도체, 아세트아닐라이드, 아세트아미노펜, 페나세틴, 페나메이트, 메페나믹 산, 메클로페나메이트, 소디움 메클로페나메이트, 헤테로아릴 아세트산 유도체, 툴메틴, 케토로락, 디클로페낙, 프로피온산 유도체, 이부프로펜, 나프록센 소디움, 나프록센, 페노프로펜, 케토프로펜, 플루르비프로펜, 옥사프로진; 에놀릭산, 옥시감 유도체, 피록시감, 멜록시감, 테녹시감, 암피록시감, 드록시감, 피복시감, 피라졸론 유도체, 페닐부타존, 옥시펜부타존, 안티피린, 아미노피린, 디피론, 콕시브, 셀레콕시브, 로페콕시브, 나부메톤, 아파존, 인도메타신, 설린탁, 에토돌락, 및 이소부틸페닐 프로피온산으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 상기 항무스카린제는 옥시부티닌, 졸리페나신, 다리페나신, 및 아트로핀으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0072] 몇몇 구현예에서, 본 약학적 조성물은 단일 진통제와 1 종의 항무스카린 제를 포함한다. 일 구현예에서, 단일 진통제는 아스피린이다. 다른 구현예에서, 단일 진통제는 이부프로펜이다. 또 다른 구현예에서, 단일 진통제는 나프록센 소디움이다. 또 다른 구현예에서, 단일 진통제는 인도메타신이다. 또 다른 구현예에서, 단일 진통제는 나부메톤이다. 또 다른 구현예에서, 단일 진통제는 아세트아미노펜이다. 상기 진통제 및 상기 항무스카린제는 상술한 범위의 투여량으로 정해질 수 있다

[0073] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 (1) 1 종 이상의 진통제 및 (2) 1 종 이상의 항이뇨제를 대상(subject)에게 투여하여 야뇨증(nocturia)을 치료하는 방법에 관한 것이다. 특정 구현예에서, 본 항이뇨제(들)은 (1) 바소프레신 분비를 증가; (2) 바소프레신 수용체 활성화를 증가; (3) ANP(atrial natriuretic peptide) 또는 CNP(C-type natriuretic peptide)의 분비를 감소; 또는 (4) ANP 및/또는 CNP 수용체 활성화를 감소시키는

작용을 한다.

- [0074] 항이뇨제의 예로는, ADH(antidiuretic hormone), 안지오텐신 II, 알도스테론, 바소프레신, 바소프레신 유사체 (예를 들면, 테스모프레신, 아르지프레신, 리프레신, 펠리프레신, 오르니프레신, 터리프레신); 바소프레신 수용체 작용제(agonist), ANP(atrial natriuretic peptide) 및 CNP(C-type natriuretic peptide) 수용체(즉, NPR1, NPR2, NPR3) 길항제(antagonist) (예컨대, HS-142-1, 이자틴, [Asu7,23']b-ANP-(7-28)], 아난틴, 스트렙 토미세스 코에루레센스(*Streptomyces coeruleus*)로부터의 사이클릭 펩티드, 및 3G12 모노크로날 항체); 소마 토스타틴 2형 수용체 길항제(예를 들어, 소마토스타틴), 및 이들의 약학적-허용 가능 유도체, 유사체, 염, 수화물 및 용매화물을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0075] 특정 구현예에서, 1 종 이상의 진통제 및 1 종 이상의 항이뇨제는 서방형으로 제형화된다.
- [0076] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 이뇨제를 포함하는 제1 약학적 조성물을 대상(subject)에게 투여한 후 1 종 이상의 진통제를 포함하는 제2 약학적 조성물을 투여하여 야뇨증(nocturia)을 치료하는 방법에 관한 것이다. 상기 제1 약학적 조성물은 투여 6 시간 내 이뇨 효과를 갖도록 용량화 및 제형화되고, 취침 최소 8 시간 전에 투여된다. 상기 제2 약학적 조성물은 취침 전 2 시간 이내에 투여된다.
- [0077] 이뇨제의 예로는, CaCl₂ 및 NH₄Cl과 같은 산성화 염; 암포테리신 B 및 리튬 시트레이트와 같은 아르기닌 바소프레신 수용체 2 길항제; Goldenrod 및 Juniper와 같은 aquaretics; 도파민과 같은 Na-H 교환기 길항제; 아세타졸아미드 및 도르졸아미드와 같은 탄산 탈수 효소 억제제; 부메타니드, 에타크린 산, 푸로 세미드 및 토르세미드와 같은 루프 이뇨제; 포도당 및 만니톨과 같은 삼투성 이뇨제; 아밀로라이드, 스피로노락톤, 트리암테렌, 포타슘 칸레노에이트와 같은 포다슘-스파링 이뇨제; 벤드로플루메티아지드 및 히드로클로로티아지드와 같은 티아지드; 및 카페인, 테오필린 및 테오브로민과 같은 크산틴을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0078] 일부 구현예에서, 상기 제2 약학적 조성물은 1 종 이상의 항무스카린제를 추가적으로 포함한다. 상기 항무스카린제의 예로는, 옥시부티닌, 졸리페나신, 다리페나신, 페조테로딘, 톨테로딘, 트로스피움 및 아트로핀을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 상기 제2 약학적 조성물은 속방형 제제 또는 서방형 제제로 제형화될 수 있다. 일 구현예에서, 상기 제1 약학적 조성물은 속방형으로 제형화되고, 상기 제2 약학적 조성물은 서방형으로 제형화된다.
- [0079] 일부 다른 구현예에서, 상기 제2 약학적 조성물은 1 종 이상의 항이뇨제를 추가적으로 포함한다.
- [0080] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 다수의 활성 성분 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 상기 다수의 활성 성분은 2 종 이상의 진통제를 포함한다. 다른 구현예에서, 다수의 활성 성분은 1 종 이상의 진통제 및 1 종 이상의 항무스카린제를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 다수의 활성 성분은 1 종 이상의 진통제 및 1 종 이상의 항이뇨제를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 다수의 활성 성분은 1 종 이상의 진통제, 1 종 이상의 항이뇨제, 및 1 종 이상의 항무스카린제를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 상기 다수의 활성 성분 중 적어도 하나는 서방형으로 제형화된다.
- [0081] 일부 구현예에서, 본 약학적 조성물은 아세틸살리실산, 이부프로펜, 나프록센 소듐염, 인도메타신, 나부메톤, 아세트아미노펜 및 인도메타신으로 이루어진 군으로부터 선택된 2 종의 진통제를 포함한다. 다른 구현예에서, 본 약학적 조성물은 아세틸살리실산, 이부프로펜, 나프록센 소듐염, 인도메타신, 나부메톤, 아세트아미노펜 및 인도메타신으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 종 이상의 진통제; 및 옥시부티닌, 졸리페나신, 다리페나신, 및 아트로핀으로 이루어진 군으로부터 선택된 항무스카린제를 포함한다.
- [0082] 본 명세서에서 사용되는 "약학적으로 허용가능한 담체"는 임의의 그리고 모든 용매, 분산 매질, 코팅, 향균 및 향진균제, 등장성 및 흡수 지연제, 감미제 등을 포함한다. 상기 약학적으로 허용가능한 담체는 다양한 물질들로부터 제조될 수 있으며, 향미제, 감미제, 특정 치료적 조성물을 제조하기 위해 필요한 완충제와 흡수제와 같은 다양한 물질을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 본 약학적 활성 물질과 함께 처리되는 매체 및 제제의 사용은 당업계에 잘 알려져 있다. 통상적인 매체 또는 제제가 활성 성분과 호환되지 않는 경우를 제외하고, 치료 조성물에서의 사용은 고려된다.
- [0083] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 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 상이

하며, 하기와 같이 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다: 살리실레이트, 아스피린, 살리실산, 메틸 살리실레이트, 디플루니살, 살살레이트, 올 살라진, 설과살라진, 파라-아미노페놀 유도체, 아세트아닐라이드, 아세트아미노펜, 페나세틴, 페나메이트, 메페나믹 산, 메클로페나메이트, 소듐 메클로페나메이트, 헤테로아릴 아세트산 유도체, 톨메틴, 케토로락, 디클로페낙, 프로피온산 유도체, 이부프로펜, 나프록센 소듐, 나프록센, 페노프로펜, 케토프로펜, 플루르비프로펜, 옥사프로진; 에놀릭산, 옥시카프 유도체, 피록시카프, 멜록시카프, 테녹시카프, 암피록시카프, 드록시카프, 피복시카프, 피라졸론 유도체, 페닐부타존, 옥시펜부타존, 안티피린, 아미노피린, 디피론, 콕시브, 셀레콕시브, 로페콕시브, 나부 메톤, 아파존, 인도메타신, 설린달, 에토돌락, 및 이소부틸페닐 프로피온산.

[0084] 일 구현예에서, 상기 제1 진통제는 아세트아미노펜이며, 상기 제2 진통제는 이부프로펜이고, 상기 제3 진통제는 나프록센 소듐이다. 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, 1 종 이상의 제1, 제2 및 제3 진통제는 서방형으로 제형화된다.

도면의 간단한 설명

[0085] 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 µg/ml)와 함께 처리하여 24 시간 동안 배양하였다. 결과들은 CD40⁺CD80⁺ 세포의 평균 상대%로 나타내었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0086] 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.

[0087] 실시예 1: 배뇨 욕구의 억제

[0088] 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.

[0089] 일부는 야간에 이부프로펜을 섭취한 지 몇 주 지나자, 배뇨 충동이 덜 느껴졌던 효과가 더 이상 느껴지지 않았다고 보고하였다. 그러나, 이러한 지원자 들 모두는 복용을 중지한 지 며칠 후 효과가 다시 나타남을 추가적으로 보고하였다.

[0091] 실시예 2: 염증성 및 비-염증성 자극에 대한 대식 세포 반응에 있어서 진통제인 보툴리눔 신경독소(botulinum neurotoxin) 및 항무스카린제(antimuscarinic agent)의 효과

[0092] 실험 설계

[0093] 본 실험은 Cox-2와 프로스타글란딘(PGE, PGH, 등)에 의해 염증성 자극 및 매개되는 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. 상기 반응기는 다음을 포함한다: 염증성 자극제로서 LPS(lipopolysaccharide), 염증성 제제 및 COX2 유도체; 비-염증성 자극제로서 평활근 수축 자극제인 카바콜 또는 아세틸콜린; 양성 대조군으로서, 아세틸콜린 방출 억제제로 알려진 보툴리눔 신경독소 A; 및 사이클로옥시제나아제(cyclooxygenases, 예컨대, 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).

[0094] 상기 진통제는 다음을 포함한다: 아스피린과 같은 살리실레이트; 애드빌, 모트린, 누프린 및 메디프렌과 같은 이소부틸프로판페놀 산 유도체(이부프로펜); 알레베, 아나프록스, 안탈진, 페미낙스 울트라, 플라낙스, 인자,

미들 익스텐디드 릴리프, 날게진, 나포진, 나프레란, 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-아세틸-파라-아미노페놀(APAP) 유도체; 및 셀레코시브.

[0095] 상기 항무스카린제는 다음을 포함한다: 옥시부티딘, 졸리페나신, 다리페나신 및 아트로핀.

[0096] 대식세포를 단기간(1-2 시간) 또는 장기간(24-48 시간) 동안 다음과 같이 자극하였다:

[0097] (1) 다양한 용량의 각각의 진통제 단독.

[0098] (2) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.

[0099] (3) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.

[0100] (4) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.

[0101] (5) 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A 단독.

[0102] (6) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.

[0103] (7) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.

[0104] (8) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.

[0105] (9) 다양한 용량의 각각의 항무스카린제 단독.

[0106] (10) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.

[0107] (11) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.

[0108] (12) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.

[0109] 이후 상기 세포들을 PGH₂, PGE, PGE₂, 프로스타시딘(Prostacyclin), 트롬복산(Thromboxane), IL-1β, IL-6 및 TNF-α 방출, COX2 활성화, cAMP 및 cGMP 생성, IL-1β, IL-6, TNF-α 및 COX2 mRNA 생성, 및 CD80, CD86 및 MHC class II 분자의 표면 발현에 대하여 분석하였다.

[0110] **재료 및 방법**

[0111] **대식세포**

[0112] (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 μg/ml이 첨가된 RPMI 1640 을 함유한 배지에서 배양하였다. 세포를 5% CO₂, 37°C에서 배양하고, 일주일에 한 번씩 계대배양하였다.

[0113] **인 비트로 상 대식세포의 진통제 처리**

[0114] RAW264.7 대식세포를 배양액 100 μl에 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 μg/ml이 첨가된 RPMI 1640)에 용해시키고, 동량으로 연속적 희석하여 원하는 농도로 희석시켰다. LPS 부재하에서 진통제를 처리한 세포에 대한 실험을 위하여, 진통제 용액 50 μl 및 FBS-무첨가 배지 50 μl를 각 웰에 첨가하였다. LPS 존재하에서 진통제를 처리한 세포에 대한 실험을 위하여, 진통제 용액 50 μl 및 FBS-무첨가 배지에 넣은 LPS(*Salmonella typhimurium*으로부터 분리) 50 μl를 각 웰에 첨가하였다. 모든 조건은 중복 시험하였다.

[0115] 24 또는 48 시간 배양 후, 배양 상층액 150 μl을 획득하여, 4°C에서 8,000 rpm으로 2 분 동안 원심분리시켜서 세포 및 데브리스를 제거하고, ELISA에 의한 사이토카인 반응의 분석을 위해 -70°C에 저장하였다. 상기 획득된 세포들에 PBS(Phosphate buffe)500 μl를 첨가하여, 원심 분리(4°C에서 1,500 rpm으로 5 분)하여 세척하였다. 세포의 절반은 액체 질소에 냉동하여 -70°C에서 저장하였다. 나머지 세포는 형광 모노클로날 항체로 염색하고, 유동 세포 계측법(flow cytometry)으로 분석하였다.

[0116] **공동-자극 분자 발현(co-stimulatory molecule expression)의 유동 세포 계측법(Flow cytometry) 분석**

[0117] 유동 세포 계측법 분석의 경우, 대식세포를 FACS 버퍼(2% BSA 및 0.01% NaN₃를 첨가한 PBS) 100 μl에 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 μl를 첨가하여, 원심 분리(4℃에서 1,500 rpm으로 5 분)하여 세척하였다. 두 번째 세척 후, 세포를 FACS 버퍼 200 μl에 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.

[0118] **ELISA를 이용한 사이토카인 반응의 분석**

[0119] 진통제, LPS 단독 또는 LPS와 진통제를 조합하여 처리한 대식세포를 배양한 배양 상층액에 사이토카인-특이 ELISA를 실시하여 IL-1β, 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-1β mAb(R&D Systems 사) 100 μl로 밤새 코팅한 NuncMaxiSorp Immunoplates (Nunc) 상에서 분석을 실시하였다. PBS(웰당 200 μl)로 2회 세척한 후, PBS 3% BSA 200 μl을 각 웰에 첨가하고(블록킹), 상기 플레이트를 실온에서 2 시간 동안 인큐베이션 시켰다. 각 웰당 200 μl를 첨가하여 플레이트를 다시 2회 세척하고, 사이토카인 스탠다드 100 μl 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 mAb(Biosciences 사) 또는 IL-1β mAb(R&D Systems 사) 100 μl로 인큐베이션 한 후, 퍼록시다제-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.

[0120] **COX2 활성 및 cAMP와 cGMP의 생성의 결정**

[0121] 배양된 대식세포의 COX2 활성을 COX2 활성 어세이로 결정하였다. cAMP 및 cGMP의 생성은 cAMP 어세이 및 cGMP 어세이로 결정하였다. 이러한 분석법은 당업계에서 통상적으로 실시된다.

[0122] **결과**

[0123] 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 억제 효과의 작용 결과를 결정하기 위하여 분자들의 발현을 평가하였다.

[0124] 표 2에 나타낸 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 나타낸 바와 같이, CD40 및 CD50 발현에 있어 이러한 억제 효과는 0.05 nM(즉, 0.00005 μM)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

실험 요약

[0125]

	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-1β, 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	

[0127] * ND: not done (독성)

[0128] 표 3은 성인 인간이 경구로 약용량 섭취 후 진통제의 혈청 농도를 측정 한 여러 연구의 결과를 요약한 것이다. 표 3에 나타난 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

[0130] **실시예 3: 염증성 및 비-염증성 자극에 대한 방광 평활근 세포 반응에 있어서 진통제, 보툴리눔 신경 독소 및 항무스카린제의 효과**

[0131] 실험 설계

[0132] 본 실험은 실시예 2에서 결정된 진통제의 최적 용량이 세포 배양 또는 조직 배양된 방광 평활근 세포에 미치는 영향을 특성화하고, 상이한 종류의 진통제가 보다 효율적으로 COX2와 PGE2 반응을 억제하는 시너지 효과를 낼 수 있는지의 여부를 확인하기 위해 설계하였다.

[0133] 상기 반응기, 진통제 및 항무스카린제는 실시예 2에 설명하였다.

[0134] 마우스 방광 평활근 세포의 일차 배양시 단기간(1-2 시간) 또는 장기간(24-48 시간) 동안 다음과 같이 자극하였다:

- [0135] (1) 다양한 용량의 각각의 진통제 단독.
- [0136] (2) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0137] (3) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0138] (4) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0139] (5) 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A 단독.
- [0140] (6) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0141] (7) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0142] (8) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0143] (9) 다양한 용량의 각각의 항무스카린제 단독.
- [0144] (10) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0145] (11) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0146] (12) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.

[0147] 이후 상기 세포들을 PGH₂, PGE, PGE₂, 프로스타신(Prostacyclin), 트롬복산(Thromboxane), IL-1β, IL-6 및 TNF-α 방출, COX2 활성, cAMP 및 cGMP 생성, IL-1β, IL-6, TNF-α 및 COX2 mRNA 생성, 및 CD80, CD86 및 MHC class II 분자의 표면 발현에 대하여 분석하였다.

[0148] 재료 및 방법

[0149] **뮤린 방광 세포의 분리 및 정제**

[0150] 안락사시킨 C57BL/6 마우스(8-12주령)로부터 방광을 분리하고, 효소적 분해 후 퍼콜 그래디언트로 정제하여 세포들을 분리하였다. 요약하면, 마우스 10 마리의 방광을 분해 버퍼(RPMI 1640, 2 % 소태아 혈청, 0.5 mg/ml 콜라게나아제, 30 μg/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 멩치게 한 후, 단핵 세포 정제용 연속적인 20%, 40% 및 75 % 퍼콜 그래디언트를 첨가하였다. 각 실험은 50-60 개의 방광을 사용하였다.

[0151] RPMI 1640로 세척한 후, 방광 세포를 10% 소태아혈청(FBS), 15 mM HEPES, 2 mM의 L-글루타민, 100 U/ml 페니실린 및 스트렙토마이신 100 μg/ml이 첨가된 RPMI 1640에 재현탁하고, 100 μl에 웰당 3x10⁴ 세포 밀도로 clear-

bottom black 96-웰 세포 배양 마이크로배양 플레이트에 분주하였다. 세포를 5% CO₂, 37°C에서 배양하였다.

[0152] **인 비트로 상 세포의 진통제 처리**

[0153] 방광 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.

[0154] 24 시간 배양 후, 배양 상층액 150 μl을 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, 세포들을 인 비트로 상에서 12 시간 동안 자극하여 COX2 반응을 분석하였다.

[0155] **COX2 반응의 분석**

[0156] 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 415 nm(GAPDH 형광)에서 방출되는 형광을 판독하였다. RFU(relative fluorescence unit)로 결정된 총 COX2의 상대적인 수준으로 결과들을 표현하고, 하우스키핑 단백질인 GAPDH에 대하여 표준화시켰다.

[0157] **PGE2 반응의 분석**

[0158] 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 폴리클로날 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 판독하였다. 결과는 PGE2의 평균 pg/ml로 표현하였다.

[0159] **기타 분석**

[0160] 실시예 2에 기재한 바와 같이, PGH₂, PGE, PGE₂, 프로스타시딘(Prostacyclin), 트롬복산(Thromboxane), IL-1β, IL-6 및 TNF-α 방출, cAMP 및 cGMP 생성, IL-1β, IL-6, TNF-α 및 COX2 mRNA 생성, 및 CD80, CD86 및 MHC class II 분자의 표면 발현을 확인하였다.

[0161] 결과

[0162] **진통제는 염증성 자극에 대한 무린 방광 세포의 COX2 반응을 저해한다**

[0163] 진통제가 COX2 반응을 유도 할 수 있는지 여부를 결정하기 위해 5 μM 또는 50 μM의 농도의 다양한 진통제(아세트아미노펜, 아스피린, 이부프로펜 및 나프록센)를 마우스 방광 세포에 실험하였다. 24 시간 배양 후 결과는, 처리된 어떠한 진통제도 인 비트로 상 무린 방광 세포에서 COX2 반응을 유도하지 않은 것으로 나타났다.

[0164] 또한, 인 비트로 상에서 카바콜 또는 LPS 자극에 대한 무린 방광 세포의 COX2 반응에 있어 이러한 진통제의 효과를 실험하였다. 표 1에 나타낸 바와 같이, 실험된 카바콜의 용량은 무린 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 μM 또는 50 μM일 때 나타났다(표 4).

표 4

[0165] 인 비트로 상에서 자극 및 진통제 처리한 무린 방광 세포에 의한 COX2 발현

자극	진통제	총 COX2 수준(Normalized RFUs)
None	None	158 ± 18

Carbachol (mM)	None	149 ± 21
LPS (1µg/ml)	None	420 ± 26
LPS (1µg/ml)	아세트아미노펜 (5 µM)	275 ± 12
LPS (1µg/ml)	아스피린 (5 µM)	240 ± 17
LPS (1µg/ml)	이부프로펜 (5 µM)	253 ± 32
LPS (1µg/ml)	나프록센 (5 µM)	284 ± 11
LPS (1µg/ml)	아세트아미노펜 (50 µM)	243 ± 15
LPS (1µg/ml)	아스피린 (50 µM)	258 ± 21
LPS (1µg/ml)	이부프로펜 (50 µM)	266 ± 19
LPS (1µg/ml)	나프록센 (50 µM)	279 ± 23

[0166] 진통제는 염증성 자극에 대한 뮤린 방광 세포의 PGE2 반응을 저해한다

[0167] 뮤린 방광 세포의 배양 상등액 내 PGE2의 분비를 측정하여 진통제에 의한 뮤린 방광 세포 COX2 수준 변화의 생물학적 중요성을 확인하였다. 표 5에 나타낸 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 µM 또는 50 µM 용량의 진통제로 처리된 세포 반응 간에는 어떠한 차이도 나타나지 않았다.

표 5

[0168] 인 비트로 상에서 자극 및 진통제 처리한 뮤린 방광 세포에 의한 PGE2 분비

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

[0169] 요약하면, 이러한 데이터들은 뮤린 방광 세포에서 5 µM 또는 50 µM의 진통제 단독 처리시 COX2와 PGE2 반응을 유발하지 않는다는 것을 보여준다. 그러나, LPS(1 µg/ml)로 인 비트로 상 자극된 뮤린 방광 세포에서 5 µM 또는 50 µM의 진통제는 COX2와 PGE2 반응을 확연하게 억제하였다. 카바콜(1 mM)로 자극된 뮤린 방광 세포에서 COX2와 PGE2 반응에 대한 진통제의 유의한 효과는 관찰되지 않았다.

[0171] 실시예 4: 방광 평활근 세포의 수축에 대한 진통제, 보툴리눔 신경 독소 및 항 무스카린제의 효과

[0172] 실험 설계

[0173] 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.

[0174] 상기 반응기, 진통제 및 항무스카린제는 실시예 2에 설명하였다.

[0175] 마우스 방광 평활근 세포의 일차 배양시 단기간(1-2 시간) 또는 장기간(24-48 시간) 동안 다음과 같이 자극하였다:

[0176] (1) 다양한 용량의 각각의 진통제 단독.

- [0177] (2) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0178] (3) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0179] (4) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0180] (5) 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A 단독.
- [0181] (6) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0182] (7) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0183] (8) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0184] (9) 다양한 용량의 각각의 항무스카린제 단독.
- [0185] (10) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0186] (11) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0187] (12) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0188] 재료 및 방법
- [0189] 실시예 3에 기재한 바와 같이, 초대 마우스 방광 세포를 분리하였다. 선택된 실험에서, 배양된 방광 조직을 사용하여 Grass polygraph (Quincy Mass, USA)로 방광 평활근 세포 수축을 기록하였다.
- [0191] 실시예 5: 방광 평활근 세포의 COX2 및 PGE2 반응에 대한 경구용 진통제 및 항 무스카린제의 효과
- [0192] 실험 설계
- [0193] 정상 마우스와 과민성 방광 증후군(over active bladder syndrome, OAB)인 마우스에게 아스피린, 나프록센 나트륨, 이부프로펜, 인도신, 나부메톤, 타이레놀, 셀레콕시브, 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 생체외(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, 프로스타시딘, 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.
- [0194] 실험 말미에, 동물을 안락사시키고, 생체의 방광 수축을 Grass polygraph 로 기록하였다. 방광의 일부를 포르말린에 고정시키고, 면역 조직 화학 염색으로 COX2 반응을 분석하였다
- [0196] 실시예 6: 염증성 및 비-염증성 자극에 대한 인간 방광 평활근 세포 반응에 있어서 진통제, 보툴리눔 신경 독소 및 항 무스카린제의 효과
- [0197] 실험 설계
- [0198] 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.
- [0199] 상기 반응기, 진통제 및 항무스카린제는 실시예 2에 설명하였다.
- [0200] 인간 방광 평활근 세포를 단기간(1-2 시간) 또는 장기간(24-48 시간) 동안 다음과 같이 자극하였다:
- [0201] (1) 다양한 용량의 각각의 진통제 단독.
- [0202] (2) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.

- [0203] (3) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0204] (4) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0205] (5) 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A 단독.
- [0206] (6) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0207] (7) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0208] (8) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0209] (9) 다양한 용량의 각각의 항무스카린제 단독.
- [0210] (10) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0211] (11) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0212] (12) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0213] 이후 상기 세포들을 PGH₂, PGE, PGE₂, 프로스타시딘(Prostacyclin), 트롬복산(Thromboxane), IL-1β, IL-6 및 TNF-α 방출, COX2 활성화, cAMP 및 cGMP 생성, IL-1β, IL-6, TNF-α 및 COX2 mRNA 생성, 및 CD80, CD86 및 MHC class II 분자의 표면 발현에 대하여 분석하였다.

[0215] **실시예 7: 인간 방광 평활근 세포의 수축에 대한 진통제, 보툴리눔 신경 독소 및 항 무스카린제의 효과**

[0216] 실험 설계

- [0217] 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.
- [0218] 상기 반응기, 진통제 및 항무스카린제는 실시예 2에 설명하였다.
- [0219] 인간 방광 평활근 세포를 단기간(1-2 시간) 또는 장기간(24-48 시간) 동안 다음과 같이 자극하였다:
- [0220] (1) 다양한 용량의 각각의 진통제 단독.
- [0221] (2) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0222] (3) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0223] (4) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 진통제.
- [0224] (5) 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A 단독.
- [0225] (6) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0226] (7) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0227] (8) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 보툴리눔 신경 독소 A.
- [0228] (9) 다양한 용량의 각각의 항무스카린제 단독.
- [0229] (10) LPS의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0230] (11) 카바콜 또는 아세틸콜린의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0231] (12) AA, DGLA, 또는 EPA의 존재 하에서 다양한 용량의 각각의 항무스카린제.
- [0232] Grass polygraph (Quincy Mass, USA)로 방광 평활근 세포 수축을 기록하였다.

[0234] **실시예 8: 염증성 및 비-염증성 시그널에 대한 정상 인간 방광 평활근 세포 반응에 있어서 진통제의 효과**

[0235] 실험 설계

[0236] **정상 인간 방광 평활근 세포의 배양**

[0237] 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 µg/ml이 첨가된 RPMI 1640을 함유한 배지로 5% CO₂, 37°C에서 세포들을 배양하고, 일주일에 한 번씩 트립신을 처리하여 세포들을 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.

[0238] **인 비트로 상 정상 인간 방광 평활근 세포의 진통제 처리**

[0239] 인간 방광 평활근 세포에 트립신을 처리한 후 웰당 100 µl에 3x10⁴ 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.

[0240] 24 시간 배양 후, 배양 상층액 150 µl을 획득하여, 4°C에서 8,000 rpm으로 2 분 동안 원심분리시켜서 세포 및 데브리스를 제거하고, ELISA에 의한 PGE₂(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.

[0241] **COX2, PGE2 및 사이토카인 반응의 분석**

[0242] 실시예 3에 기재한 바와 같이, COX2 및 PGE₂ 반응을 분석하였다. 실시예 2에 기재한 바와 같이 사이토카인 반응을 분석하였다.

[0243] **결과**

[0244] 진통제는 염증성 및 비-염증성 자극에 대한 정상 인간 방광 평활근 세포의 COX2 반응을 저해한다

[0245] 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

[0246] 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	아세트아미노펜 (50 µM)	437	462
Carbachol 10 ⁻³ M	아스피린 (50 µM)	298	310
Carbachol 10 ⁻³ M	이부프로펜 (50 µM)	312	297
Carbachol 10 ⁻³ M	나프록센 (50 µM)	309	330
Carbachol 10 ⁻³ M	아세트아미노펜 (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 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	아세트아미노펜 (50 μM)	399	509
LPS (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	아스피린 (50 μM)	413	484
LPS (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	이부프로펜 (50 μM)	427	466
LPS (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	나프록센 (50 μM)	409	458

[0247] #테이터는 중복 실험의 평균을 나타낸다. 진통제는 염증성 및 비-염증성 자극에 대한 정상 인간 방광 평활근 세포의 PGE2 반응을 저해한다

[0248] 상술한 COX2 반응의 유도과 일관되게, 카바콜 및 LPS 모두는 정상 인간 방광 평활근 세포에 의한 PGE2의 생성을 유도하였다. 또한, 5 μM 또는 50 μM 용량의 아세트아미노펜, 아스피린, 이부프로펜 및 나프록센은 LPS-유도 PGE2 반응을 억제하는 것으로 나타났다(표 7).

표 7

[0249] 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	아세트아미노펜 (50 μM)	129	104
Carbachol 10 ⁻³ M	아스피린 (50 μM)	76	62
Carbachol 10 ⁻³ M	이부프로펜 (50 μM)	89	59
Carbachol 10 ⁻³ M	나프록센 (50 μM)	84	73
Carbachol 10 ⁻³ M	아세트아미노펜 (50 μM)	77	66
LPS (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	None	1125	998
LPS (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	아세트아미노펜 (5 μM)	817	542
LPS (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	아스피린 (5 μM)	838	598
LPS (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	이부프로펜 (5 μM)	824	527
LPS (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	나프록센 (5 μM)	859	506
LPS (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	아세트아미노펜 (50 μM)	803	540
LPS (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	아스피린 (50 μM)	812	534
LPS (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	이부프로펜 (50 μM)	821	501
LPS (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	나프록센 (50 μM)	819	523

[0250] #테이터는 중복 실험의 평균을 나타낸다.

[0251] 진통제는 염증성 자극에 대한 정상 인간 방광 평활근 세포의 사이토카인 반응을 저해한다

[0252] 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 μM 또는 50 μM 일 때 LPS-유도 반응을 나타내었다.

표 8

[0253] 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 μM)	138	164
Carbachol 10 ⁻³ M	아스피린 (50 μM)	110	142
Carbachol 10 ⁻³ M	이부프로펜 (50 μM)	146	121
Carbachol 10 ⁻³ M	나프록센 (50 μM)	129	137
LPS (10 μg/ml)	None	5725	4107
LPS (10 μg/ml)	아세트아미노펜 (5 μM)	2338	2267
LPS (10 μg/ml)	아스피린 (5 μM)	2479	2187
LPS (10 μg/ml)	이부프로펜 (5 μM)	2733	2288
LPS (10 μg/ml)	나프록센 (5 μM)	2591	2215
LPS (10 μg/ml)	아세트아미노펜 (50 μM)	2184	2056
LPS (10 μg/ml)	아스피린 (50 μM)	2266	2089
LPS (10 μg/ml)	이부프로펜 (50 μM)	2603	1997
LPS (10 μg/ml)	나프록센 (50 μM)	2427	2192

[0254] #데이터는 중복 실험의 평균을 나타낸다.

표 9

[0255] 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 μM)	119	135
Carbachol 10 ⁻³ M	아스피린 (50 μM)	95	146
Carbachol 10 ⁻³ M	이부프로펜 (50 μM)	107	118
Carbachol 10 ⁻³ M	나프록센 (50 μM)	114	127
LPS (10 μg/ml)	None	4838	4383
LPS (10 μg/ml)	아세트아미노펜 (5 μM)	2012	2308
LPS (10 μg/ml)	아스피린 (5 μM)	2199	2089
LPS (10 μg/ml)	이부프로펜 (5 μM)	2063	2173
LPS (10 μg/ml)	나프록센 (5 μM)	2077	2229
LPS (10 μg/ml)	아세트아미노펜 (50 μM)	2018	1983
LPS (10 μg/ml)	아스피린 (50 μM)	1987	2010
LPS (10 μg/ml)	이부프로펜 (50 μM)	2021	1991
LPS (10 μg/ml)	나프록센 (50 μM)	2102	2028

[0256] #데이터는 중복 실험의 평균을 나타낸다.

[0257] 초대 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.

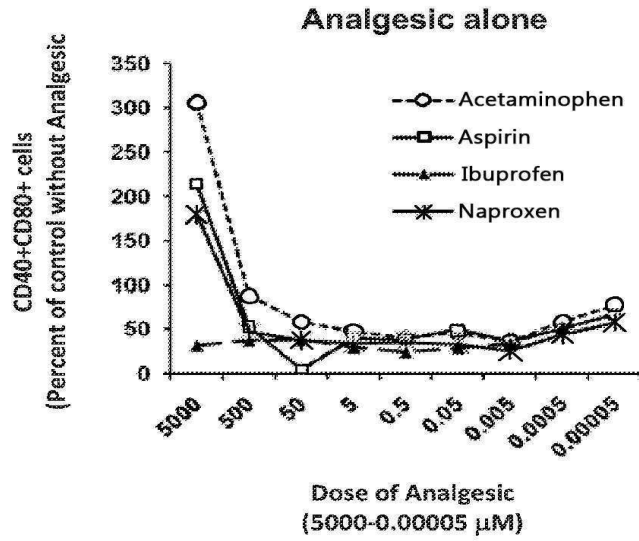
[0258] 상술한 실험은 서방형(delayed-release), 또는 연장-방출형(extended-release), 또는 서방-연장-방출형(delayed-and-extended-release) 제제의 진통제 및/또는 항무스카린제로 반복될 수 있다.

[0259] 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

