



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。 Int. Cl.

C07D 263/14 (2006.01)

A61K 31/421 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

(11) 공개번호 10-2007-0086332

(43) 공개일자 2007년08월27일

(21) 출원번호 10-2007-7013671

(22) 출원일자 2007년06월15일

심사청구일자 없음

번역문 제출일자 2007년06월15일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2005/013046

(87) 국제공개번호 WO 2006/063715

국제출원일자 2005년12월06일

국제공개일자 2006년06월22일

(30) 우선권주장 04029946.3 2004년12월17일 유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인 사노피-아벤티스 도이칠란트 게엠베하
독일 테-65926 프랑크푸르트 암 마인 브뤼닝스트라쎄 50

(72) 발명자 린츠 볼프강
독일 55129 마인츠 옥셀레벤백 54
쉐퍼 슈테판
독일 65835 리데르바흐 프랑크푸르터 알레 8
팔크 유진
독일 60529 프랑크푸르트 펠클링게르백 15
쉐퍼 한스-루트빅
독일 65239 호크하임 슈타인가쎄 7

(74) 대리인 이범래
장훈

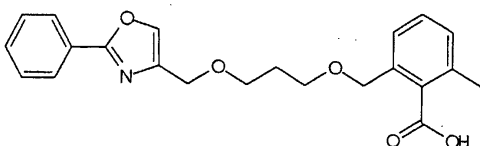
전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 울혈성 심부전 치료용 P P A R 효능제의 용도

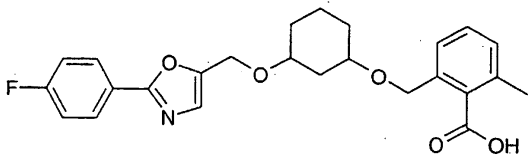
(57) 요약

본 발명은 울혈성 심부전(CHF) 치료를 위한 화학식 I 또는 II의 PPAR 효능제의 용도를 기술한다.

화학식 I



화학식 II

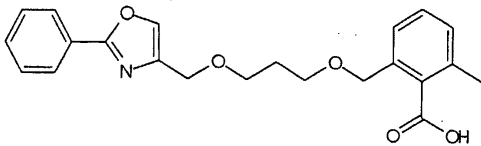


특허청구의 범위

청구항 1.

울혈성 심부전(CHF) 치료용 약제를 제조하기 위한 화학식 I의 화합물, 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 이의 생리학적 작용성 유도체의 용도.

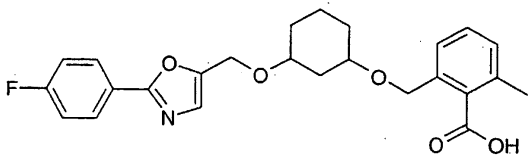
화학식 I



청구항 2.

울혈성 심부전(CHF) 치료용 약제를 제조하기 위한 화학식 II의 화합물, 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 이의 생리학적 작용성 유도체의 용도.

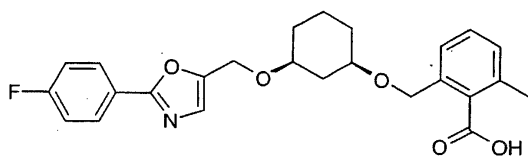
화학식 II



청구항 3.

제2항에 있어서, 화학식 II의 화합물이 화학식 III의 화합물임을 특징으로 하는 용도.

화학식 III



명세서

울혈성 심부전은 심장의 비효과적인 펌핑으로 폐에서 유체의 축적을 초래하는 파괴 질환이다. 전형적인 증상은 짧은 호흡, 압박 엎드리는 경우 호흡 어려움 및 다리 및 발목 붓기를 포함한다. 물리적 체력의 상기 진행성 손상은 궁극적으로는 사망으로 이어질 수 있다. 심부전의 경우 다수의 원인이 있으나, 가장 빈번한 것은 심근 경색(모든 경우의 약 60%), 만성 고혈압(약 25%), 유전적 소인(10%) 및 심근병증, 또는 이들 인자의 조합이다.

환자에서, 중증 CHF는 문헌[참조: the New York Heart Association(NYHA)]에 의해 개발된 분류를 근거로 하여 임상 증상에 따라 분류된다. 환자의 물리적 체력은 NYHA I(증상 없음), NYHA II(적당한 활동 동안 증상), NYHA III(중간 활동 동안 증상) 또는 NYHA IV(휴식시 증상)로 분류한다.

CHF의 진행을 지연시키는 현재의 CHF 치료는 생명을 상당히 연장시킨다. 그럼에도 불구하고, 주어진 NYHA 단계에서, 전반적인 사망률은 주로 NYHA II 또는 III 환자에서 수행된 최근의 대규모 시험에서 매년 평균 15%로 높다. 사망률 이점이 입증된 현재 승인된 CHF 약물(예: 이뇨제, ACE 억제제, β -차단제) 모두의 통상의 단점은 이들의 혈압 저하 효과이다. 많은 환자에서 혈압이 너무 감소하므로, 배합 치료는 종종 불가능하다. 결과적으로, 새로운 작용 메커니즘을 표적으로 하는 또 다른 치료 전략이 CHF의 의학 치료의 추가의 전진을 위해 요구된다.

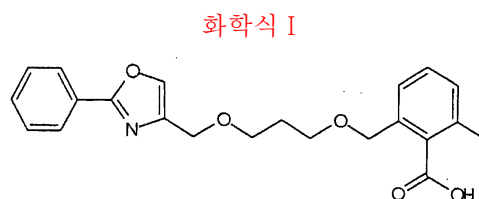
페록시좀 증식제 활성제 수용체(PPAR)는 핵 호르몬 수용체의 부류이며, 이중 2개의 (PPAR α 및 PPAR γ)는 심근 및 맥관을 포함하는 여러 조직에서 발현된다. PPAR의 활성화는 각종 유전자의 발현을 초래하고, 이어서 단백질을 생성한다. PPAR γ 활성제(예: 로지글리타존)은 인슐린 민감성 개선 및 명백한 당뇨병으로의 인슐린 내성의 진행 지연에서의 이들의 효능에 근거하여 유형 2 당뇨병의 치료를 위해 승인되었다(참조: Malinowski and Bolesta Clin. Therapeutics (2000), 22, 1151-1168; Leff and Reed, Curr. Med. Chem. Immunology, Endocrine & Metabolic Agents (2002), 2, 33-47). 또한, 몇몇 PPAR α 활성제인 피브레이트는 혈중 콜레스테롤 수준을 감소시키는 이들의 능력으로 임상에서 사용중이다(참조: Sacks-FM, Am. J. Cardiol. (2001), 88(12A), 14N-18N). 피브레이트와 구조적으로 상이하고 보다 강력한 새로운 PPAR α 활성제는 지질 질환 및 당뇨병에 대하여 임상 개발 중이다(참조: Inoue and Katayama, Current Drug Targets: Cardiovascular & Haematological Disorders (2004), 4, 35-52).

최약 심근에서, 대사 장애는 지방산으로부터 글루코즈 산화로의 시프트에 평행한다. 이러한 효과는 심근에서 에너지 생성 효율이 감소하고, CHF에서 수축 기능의 손실에 기여할 수 있다. 늙은 래트 모델에서 물리적 훈련에 의한 CHF의 개선은 심근에서 PPAR α 의 발현 정규화에 평행한다.

이들의 대사 효과와는 별개로, 심장에서 PPAR 활성제의 직접 효과는 거의 공지되어 있지 않다. 시험관내 신생아 심근세포에서, PPAR α 활성제 페노피브레이트 및 WY14,643 뿐만 아니라 PPAR γ 활성제 로지글리타존은 엔도텔린-1 유도 비대를 예방할 수 있다. 유사하게, PPAR γ 활성제는 분리된 심근세포에서 기계적 긴장에 의해 유도된 비대를 감소시킨다. 동맥 고혈압의 모델에서, PPAR α 및 PPAR γ 활성제는 심장 섬유증을 감소시킬 수 있다. 급성 심근 허혈 및 관류 마우스 모델에서, PPAR α 및 PPAR γ 활성화는 심근 경색 크기를 감소시키는 것으로 보여진다. 심근 경색 후 만성 단계에서, PPAR γ 활성제는 심근 재모델링 및 심부전 증상을 개선시키는 것으로 보여진다(참조: Lianget al. Endocrinology 2003, 144: 4187-4194). 한편, 심부전이 유형 2 당뇨병 환자에서 PPAR γ 효능제에 의해 악화될 수 있다는 증거가 있다.

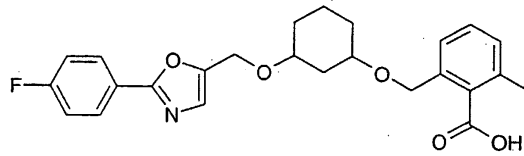
따라서, CHF에서 PPAR γ 활성화의 이점이 논쟁되나, CHF에서 선택적 PPAR α 활성화의 역할에 대한 데이터는 없다.

본 발명의 양태는 울혈성 심부전(CHF) 치료용 약제를 제조하기 위한 화학식 I의 화합물, 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 이의 생리학적 작용성 유도체의 용도이다.



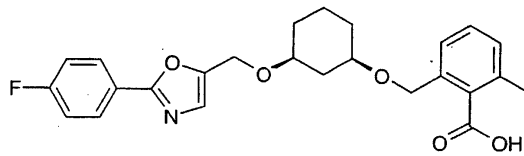
추가 양태는 울혈성 심부전(CHF) 치료용 약제를 제조하기 위한 화학식 II의 화합물, 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 이의 생리학적 작용성 유도체의 용도이다.

화학식 II



바람직한 화학식 II의 화합물은 화학식 III의 화합물이다.

화학식 III



화학식 I의 화합물은 국제 공개공보 제WO 2004/085377호의 실시예 5에 따라 제조할 수 있다. 화학식 II 및 III의 화합물은 국제 공개공보 제WO 03/020269호의 실시예 I 및 II에 따라 제조할 수 있다.

약제학적으로 허용되는 염은 출발 또는 염기 화합물과 비교하여 이의 수 용해도가 우수하므로 의약용으로 적합하다. 이들 염은 약제학적으로 허용되는 음이온 또는 양이온을 가져야 한다. 본 발명의 화합물의 적합한 약제학적으로 허용되는 산 부가염은 무기 산, 예를 들면, 염산, 브롬화수소산, 인산, 메타인산, 질산 및 황산의 염, 및 유기 산, 예를 들면, 아세트산, 벤젠설폰산, 벤조산, 시트르산, 에탄설폰산, 푸마르산, 글루콘산, 글리콜산, 이세티온산, 락트산, 락토비온산, 말레산, 말산, 메탄설폰산, 석신산, p-톨루엔설폰산 및 타르타르산의 염이다. 적합한 약제학적으로 허용되는 염기 염은 암모늄 염, 알칼리 금속 염(예: 나트륨 및 칼륨 염) 및 알칼리 토금속 염(예: 마그네슘 및 칼슘 염)이다.

본 명세서에서 사용된 용어 "생리학적 작용성 유도체"는 본 발명의 화학식 I의 화합물의 생리학적으로 허용되는 유도체, 예를 들면, 포유동물, 예를 들면, 사람에게 투여하는 경우 (직접 또는 간접적으로) 화학식 I, II 또는 III의 화합물 또는 이의 활성 대사물질을 형성할 수 있는 에스테르를 의미한다. 생리학적 작용성 유도체는 또한, 예를 들면, 문헌[참조: H. Okada et al., Chem. Pharm. Bull. 1994, 42, 57-61]에 기술된 바와 같이 본 발명의 화합물의 프로드럭을 포함한다. 이러한 프로드럭은 생체내에서 본 발명의 화합물로 대사될 수 있다. 이들 프로드럭은 그 자체가 활성이거나 아닐 수 있다.

본 발명의 화합물은 각종 다형 형태, 예를 들면, 무정형 및 결정상 다형 형태로 존재할 수 있다. 본 발명의 화합물의 다형 형태 모두는 본 발명의 범위내에 속하고, 본 발명의 추가의 양태이다.

목적하는 생물학적 효과를 달성하기 위해 필요한 화학식 I, II 또는 III의 화합물의 양은 다수의 인자, 예를 들면, 선택된 특정 화합물, 의도된 용도, 투여 형태 및 환자의 임상 상태에 따라 달라진다. 1일 용량은 일반적으로 1일당 약 0.3 내지 100mg/체중 kg(전형적으로는 약 3 내지 50mg/체중 kg), 예를 들면, 약 3 내지 10mg/kg/day이다. 정맥내 용량은 예를 들면, 약 0.3 내지 1.0mg/kg이며, 적합하게는 약 10 내지 100ng/kg/min의 양으로 주입 투여될 수 있다. 이들 목적에 적합한 주입 용액은 예를 들면, ml당 약 0.1ng 내지 10mg, 전형적으로는 약 1ng 내지 10mg 함유할 수 있다. 단일 용량은 예를 들면, 활성 화합물을 약 1mg 내지 10g 함유할 수 있다. 따라서, 주사용 앰플은 예를 들면, 약 1 내지 100mg 함유할 수 있고, 경구 투여될 수 있는 단일 용량 제형, 예를 들면, 캡슐 또는 정제는 예를 들면, 약 1.0 내지 1000mg, 전형적으로는 약 10 내지 600mg 함유할 수 있다. 상기 질환의 치료에서, 화학식 I, II 또는 III의 화합물은 화합물 그 자체로 사용되거나 허용되는 담체와 함께 약제학적 조성물의 형태일 수 있다. 담체는 조성물의 기타 성분과 혼화성이고 환자의 건강에 해롭지 않다는 의미에서 허용된다. 담체는 고체 또는 액체 또는 이들 둘 다일 수 있고, 종종 화합물과 단일 용량, 예를 들면, 활성 화합물 약 0.05 내지 95중량%를 함유할 수 있는 정제로서 제형화된다. 화학식 I의 다른 화합물을 포함하는 기타 약제학적으로 활성인 물질이 존재할 수 있다. 본 발명의 약제학적 조성물은 공지된 약제학적 방법 중의 하나에 의해 제조할 수 있으며, 본질적으로는 성분을 약리학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제와 혼합하는 것으로 이루어질 수 있다.

본 발명의 약제학적 조성물은 가장 적합한 투여 형태가 각각의 경우에 치료할 상태의 성질 및 중증도 및 각각의 경우에 사용된 화학식 I, II 또는 III의 화합물의 성질에 따라 상이하나, 경구(oral), 직장, 국소, 경구(peroral)(예: 설하) 및 비경구(예: 피하, 근육내, 피내 또는 정맥내) 투여를 포함한다. 피복된 제형 및 피복된 서방출 제형은 또한, 본 발명의 범위에 속한다.

산 및 위액-내성 제형이 바람직하다. 적합한 위액 내성 피복물은 셀룰로즈 아세테이트 프탈레이트, 폴리비닐 아세테이트 프탈레이트, 하이드록시프로필메틸셀룰로즈 프탈레이트 및 메타크릴산 및 메틸 메타크릴레이트의 음이온성 중합체를 포함한다.

경구 투여에 적합한 약제학적 화합물은 개별 단위, 예를 들면, 각각 규정된 양의 화학식 I, II 또는 III의 화합물을 함유하는 캡슐, 웨이퍼 또는 정제; 분말 또는 과립, 수성 또는 비수성 액체 중의 용액 또는 현탁액; 또는 수중유 또는 유중수 에멀전 형태일 수 있다. 이들 조성물은 이미 언급한 바와 같이 활성 화합물 및 담체(하나 이상의 추가 성분으로 이루어질 수 있다)를 접촉시키는 단계를 포함하는 적합한 약제학적 방법으로 제조할 수 있다. 조성물은 일반적으로 활성 화합물을 액체 및/또는 미분 고체 담체와 균일하고 균질하게 혼합한 후, 필요한 경우 생성물을 성형하여 제조한다. 따라서, 정제는 예를 들면, 화합물의 분말 또는 과립을 경우에 따라 하나 이상의 추가의 성분과 함께 압축 또는 성형하여 제조할 수 있다. 압축 정제는 화합물을 적합한 기계에서 경우에 따라, 결합제, 활주제, 불활성 희석제 및/또는 하나 이상의 표면 활성/분산제(들)와 혼합한 이유동성 형태, 예를 들면, 분말 또는 과립으로 타정하여 제조할 수 있다. 성형 정제는 분말 형태이고, 불활성 액체 희석제로 습윤시킨 화합물을 적합한 기계에서 성형하여 제조할 수 있다.

경구(설하) 투여에 적합한 약제학적 조성물은 화학식 I, II 또는 III의 화합물을 조미제, 통상적으로 슈크로즈 및 아라비아 검 또는 트라가칸트와 함께 포함하는 정제, 및 불활성 기재, 예를 들면, 젤라틴 및 글리세롤 또는 슈크로즈 및 아라비아 검 중의 화합물을 포함하는 향정을 포함한다.

비경구 투여에 적합한 약제학적 조성물은 의도된 수용자의 혈액과 등장성일 수 있는 화학식 I, II 또는 III의 화합물의 멸균 수성 제제를 포함할 수 있다. 이들 제제는 피하, 근육내 또는 피내 주사에 의해 투여될 수 있으나, 정맥내로 투여될 수 있다. 이들 제제는 화합물을 물과 혼합하고, 생성된 용액을 멸균 및 혈액과 등장성이도록 함으로써 제조할 수 있다. 본 발명의 주사 가능한 조성물은 일반적으로 활성 화합물 약 0.1 내지 5중량%를 포함한다.

직장 투여에 적합한 약제학적 조성물은 단일 용량 좌제의 형태일 수 있다. 이들은 화학식 I의 화합물을 하나 이상의 통상의 고체 담체, 예를 들면, 코코아 버터와 혼합하고 생성된 혼합물을 성형하여 제조할 수 있다.

피부에 국소용으로 적합한 약제학적 조성물은 연고, 크림, 로션, 페이스트, 스프레이, 에어로졸 또는 오일의 형태일 수 있다. 적합한 담체는 예를 들면, 석유 에테르, 라놀린, 폴리에틸렌 글리콜, 알코올 및 이들 물질 2개 이상의 배합물이다. 활성 화합물은 일반적으로 조성물의 약 0.1 내지 15중량%, 예를 들면, 약 0.5 내지 2중량%의 농도로 존재한다.

경피 투여가 또한 가능하다. 경피용으로 적합한 약제학적 조성물은 환자의 표피와 장기 접촉에 적합한 단일 플라스틱의 형태일 수 있다. 이러한 플라스틱은 적합하게는 경우에 따라, 완충되거나 접착제에 용해 및/또는 분산되거나 중합체에 분산된 수용액 중의 활성 화합물을 포함한다. 적합한 활성 화합물 농도는 약 1 내지 35중량%, 또는 약 3 내지 15중량%이다. 활성 성분을 문헌[참조: Pharmaceutical Research, 2(6): 318 (1986)]에 기술된 바와 같이 전기 전달 또는 전리 요법에 의해 방출시킬 수 있다.

CHF 개선에 대한 PPAR γ (로지글리타존) 또는 PPAR α (화학식 I, II 및 III의 화합물)의 특이 활성화의 효과를 시험하기 위해, 심근 경색이 산업 국가에서 CHF에 가장 통상적인 원인이므로 만성 관상 동맥 결찰의 래트 모델을 사용하였다.

본 명세서에서 PPAR α 의 활성화가 울혈성 심부전에 유익한 것으로 여겨진다. 심근 경색과 관련하여, 심장 수축 및 이완 LV 기능-및 따라서 심장 출력-은 화학식 I, II 또는 III의 화합물을 사용한 치료후 개선되나, PPAR γ 활성화제에서는 개선되지 않았다.

PPAR α 의 활성화는 또한 우심실 및 폐 중량의 정상화에 의해 입증된 바와 같이 폐 울혈을 개선시킨다(보다 적은 폐 중량은 심장 기능이 보다 좋다는 것을 지시하고, 높은 폐 중량은 종종 심장의 저하된 기능으로 인한 폐 울혈을 지시한다)(즉, CHF).

선행 연구에서, PPAR α 및 PPAR γ 활성화는 실험관내에서 근육세포 비대를 감소시키고, 미네랄로코르티코이드 의존성 고혈압에서 섬유증을 저하시키고 급성 허혈 관류 모델에서 심근 경색 크기를 제한하는 것으로 보고되었다(상기 참조). 후-심근 경색 심부전에서 이들 3개의 PPAR 서브타입의 활성화의 대립 효과는 따라서 기대되지 않는다. 모순된 발견 이유 중의 하나는 2개의 PPAR 서브타입의 조직 특이적 사차 발현일 수 있다.

약어 및 두문자어

CHF = 울혈성 심부전

LV = 좌심실

MI = 심근 경색

PPAR = 페록시좀 증식제 활성화제 수용체

SEM = 표준 평균 오차

실시에 1: 울혈성 심부전 치료를 위한 화학식 I의 화합물의 용도에 대한 개념 연구 시험

숫컷 위스타르 래트를 온도, 습도 및 광의 표준 조건하에 케이지당 3마리를 하우징하였다. 이들에게 표준 음식물(나트륨 함량 0.2%, Altromin, Lage, Germany) 및 수돗물을 마음껏 제공한다. 만성 심부전을 대동맥으로부터 이의 원점으로 약 2mm 말단에 왼쪽 관상 동맥의 영구 폐쇄에 의해 유도하여 유리 좌심실벽을 크게 경색시켰다. 만성 치료를 심근 경색 생성 일에 개시하고 8주 계속하였다.

시험 말기에, 심장 기능을 분리된 작동 심장 제제(modified Langendorff apparatus, cf. Linz et al., J. Ren. Angiotensin Aldosterone Syst., 2003)를 사용하여 측정하였다. 심장을 NaCl, 118mmol/L; KCl, 4.7mmol/L; CaCl₂, 2.5mmol/L; MgSO₄, 1.6mmol/L; NaHCO₃, 24.9mmol/L; KH₂PO₄, 1.2mmol/L; 글루코즈, 5.5mmol/L; Na-피루베이트, 2.0mmol/L의 산소화(95% O₂, 5% CO₂) 비순환 크랩스-헨셀라이트 용액을 사용하여 Langendorff의 방법에 따라 관류시켰다. 좌 심방을 좌 심이의 절개에 의해 캐놀라이트화하였다. 고정된 관류 압력 60mmHg에서 15분 동안 평형화시킨 후, 심장을 고정 충전 압력 11mmHg에서 작동 모드로 스위칭하였다. 이어서, 후부하 압력을 2분마다 40 내지 140mmHg로 단계별 변화시켰다. 표에서 데이터는 대표적이며 일정한 후부하 압력 80mmHg에 대하여 주어진다. 유동 및 압력 시그널을 500Hz에서 매 2초 평균하여 샘플링하였다. 심장 출력을 신체를 통해 혈액을 펌핑하는 심장의 전체 능력을 측정한다. LV dP/dtmax는 심근 수축성, 즉 심장의 힘 생성 능력의 지표이다. LV dP/dtmin는 심근의 이완 능력의 지표이다. 또한, 폐 중량은 CHF의 간접 사인으로서 폐 울혈의 지표로서 측정하였다.

화학식 I의 화합물을 사용한 치료(차우(chow)로 프레스됨, 20mg/kg/d의 용량)는 심근 경색 일에 개시하였다. 순수한 PPAR γ 효능제 로지글리타존은 추가의 그룹에서 비교로 사용되었다(3mg/kg/day, 차우).

화학식 I의 PPAR α 활성제를 사용한 만성 치료는 심부전의 상이한 측면을 개선하나, PPAR γ (로지글리타존을 사용)의 활성화는 개선시키지 못한다. 또한, 이들 데이터는 울혈성 심부전의 치료에서 화학식 I의 화합물의 유의한 효과에 대한 강한 해석을 제공한다.

[표 1]

시험 조건	폐 중량 g	심장 출력 ml/min	VP dP/dtmax mmHg/s	VP dP/dtmin mmHg/s
Sham(MI 부재, 처리하지 않음)	1.88 \pm 0.10*	37.3 \pm 3.5*	5780 \pm 191*	3527 \pm 217*
MI 플라세보	2.96 \pm 0.40	18.9 \pm 2.9	3748 \pm 176	2119 \pm 75
MI 로지글리타존 3mg/kg/d	3.67 \pm 0.38*	10.2 \pm 3.8*	3491 \pm 147	2081 \pm 65
MI 화합물(I) 20mg/kg/d	1.62 \pm 0.06*	25.8 \pm 4.3*	4614 \pm 253*	2502 \pm 77*

데이터는 평균 \pm sem이다. N은 그룹당 6 내지 12마리이다. *, p<0.05 대 플라세보. 심장 출력 LV dP/dtmax 및 LV dP/dtmin는 후부하 80mmHg(작동 심장)에서 측정하였다.

실시예 2: 만성 심근 경색에서 용량 반응

숫컷 스프라그 다울리 래트를 좌심장 동맥의 만성 결찰로 예비 처리하여 심근 경색(MI) 및 후속의 심부전의 전개를 생성시켰다. 심근 경색 일에 화학식 I의 화합물(차우로 프레스됨, 상이한 1일 용량)을 사용한 처리를 개시하였다. 처리 8주후, 동물을 죽이고, 폐의 중량을 재고, 분리된 심장의 기능을 실시예 1에서 기술한 방법과 동일한 방법으로 작동 심장 모드로 생체 외에서 분석하였다(상기 참조). 이러한 방법은 상이한 측면의 심근 기능을 평가케 한다. 본 실험 시리즈에서 달성된 치료 원리의 효과에 대한 비교를 위해, 이중 ACE/NEP, 또는 바소펩티다제, 억제제(7-(2-아세틸설파닐-3-메틸-부티릴아미노)-6-옥소-1,2,3,4,6,7,8,12b-옥타하이드로-벤조[c]피리도[1,2-a]아제핀-4-카복실산; 국제 공개공보 제WO 02/083671호)(CHF의 치료에 활성인 것으로 공지됨)을 추가의 그룹으로 적용하였다.

화학식 I의 화합물을 사용한 만성 치료는 상이한 측면의 심부전을 개선시킨다. 또한, 이들 데이터는 울혈성 심부전에서 화학식 I의 화합물의 유의한 효과를 입증한다.

[표 2]

시험 조건	폐 중량 g	심장 출력 ml/min	VP dP/dtmax mmHg/s	VP dP/dtmim mmHg/s
Sham(MI 부재, 처리하지 않음)	0.39 ±0.01*	36.0 ±2.7*	5807 ± 192*	2985 ± 109*
MI 플라세보	0.71 ±0.07	7.3 ±1.8	3170 ± 247	2056 ± 138
MI 로지글리타존 3mg/kg/d	0.80 ±0.08	12.5 ±3.3	3280 ± 250	1886 ± 137
MI 화합물(I) 3mg/kg/d	0.54 ±0.08*	21.5 ±5.4*	3665 ± 166*	2353 ± 77*
MI 화합물(I) 10mg/kg/d	0.54 ±0.09*	21.0 ±4.0*	4043 ± 256*	2339 ± 111*
MI 화합물(I) 30mg/kg/d	0.56 ±0.07*	27.2 ±3.5*	3868 ± 172*	2379 ± 120*

데이터는 평균 ±sem이다. N은 그룹당 6 내지 12마리이다. *, p<0.05 대 플라세보. 심장 출력 LV dP/dtmax 및 LV dP/dtmin는 후부하 80mmHg(작동 심장)에서 측정하였다.

실시예 3: 화학식 I의 화합물의 효능 효과

화학식 I의 화합물의 효능 효과를 다음과 같이 국제 공개공보 제WO 03/020269호에 따라 시험하였다. 효능 방법으로 이를 활성화시키는 사람 PPARα에 결합하는 물질의 효능을 분석하기 위해, 본 명세서에서 "PPARα 수용체 세포주"로서 지정된 안정한 형질 감염된 HEK 세포주(HEK=human embryo kidney)를 사용하였다.

PPARα 효능제의 활성을 다음에 기술한 3일 시험으로 측정하였다:

1일: PPARα 수용체 세포주를 다음 첨가제: 10% cs-FCS(송아자 태아 혈청, Hyclone), 항생제(0.5mg/ml의 제오신 [Invitrogen], 0.5mg/ml의 G418[Life Technologies], 1% 페니실린 스트렙토마이신 용액[Life Technologies]) 및 2mM의 L-글루타민(Life Technologies)을 갖는 DMEM 배지(Life Technologies)에서 80% 합류로 배양하였다. 세포 배양 항온처리기에서 표준 세포 배양 병(Becton Dickinson)에서 37°C 및 5% CO₂하에 배양하였다. 80% 합류 세포를 30ml의 PBS(Life Technologies)로 1회 세척하고, 2ml의 트립신 용액(Life Technologies)으로 37°C에서 2분 동안 처리하고, 5ml의 상기 배지에 용해시키고, 세포 카운터로 계수하였다. 500,000개의 세포/ml로 희석한 후, 각각의 경우에 100,000개의 세포를 각각 투명한 플라스틱 병을 갖는 96-웰 마이크로티터 플레이트의 웰(Corning Costar)에 뿌렸다. 플레이트를 세포 항온처리기에서 37°C 및 5% CO₂하에 24시간 동안 항온처리하였다.

2일: 시험할 PPAR α 효능제를 10mM의 농도로 DMSO에 용해시켰다. 이러한 스톡 용액을 5%의 cs-FCS(Hyclone), 2mM의 L-글루타민(Life Technologies) 및 상기 기술한 항생제(제오신, G418, 페니실린 및 스트렙토마이신)를 첨가한 페놀-레드-비함유 DMEM 배지(Life Technologies)으로 희석하였다. 시험 물질을 통상 11개의 상이한 농도(10mM; 3.3mM; 1mM; 0.33mM; 0.1mM; 0.033mM; 0.01mM; 0.0033mM; 0.001mM; 0.00033mM 및 0.0001mM)에서 시험하였다. 보다 강력한 화합물은 1mM 내지 10pM 또는 100nM 내지 1pM의 농도 범위에서 시험하였다. 각각의 웰로부터, 1일에 뿌린 PPAR α 수용체 세포주의 배지를 흡입에 의해 완전 제거하고, 즉시 배지로 희석된 시험 물질을 세포에 첨가하였다. 희석 및 물질의 첨가를 로봇(Beckman Biomek 2000)을 사용하여 수행할 수 있다. 배지로 희석된 시험 물질의 최종 용적은 96-웰 플레이트의 웰당 100 μ l이다. 이러한 분석에서 DMSO 농도는 항상 용매의 세포 독성 효과를 방지하기 위해 0.1% v/v 이하이다. 각각의 플레이트에서 분석을 수행함을 입증하기 위해, 11개의 상이한 농도로 희석한 표준 PPAR α 효능제를 각각의 플레이트에 첨가하였다. 시험 플레이트를 항온처리기에서 37°C 및 5% CO $_2$ 하에 24시간 동안 항온처리하였다.

3일: 시험 물질로 처리한 PPAR α 수용체 세포를 항온처리기로부터 제거하고, 1시간 동안 -20°C에서 동결시켜 세포 용해를 개선시켰다. 플레이트를 해동(실온에서 30분 이상 동안 해동)시킨 후, 50 μ l의 완충액 1(Luc-Screen kit #LS1000, PE Biosystems Tropic)을 각각의 웰에 피펫팅하고, 플레이트를 피펫팅 단위가 장착된 형광 측정 장치(Luminoscan Ascent, LabSystems)로 옮겼다. 측정 장치에서 루시페라제 반응을 50 μ l의 완충액 2(Luc-Screen kit #LS1000, PE Biosystems Tropic)를 각각의 96-웰 플레이트의 웰에 피펫팅하여 개시하였다. 완충액을 각각의 웰에 첨가하는 것을 제조자(LabSystems)의 지시에 따라 정해진 동일한 시간 간격에서 수행하였다. 모든 샘플을 완충액 2 첨가 16분후 정확하게 측정하였다. 측정 시간은 샘플당 10초이다.

화학식 II 및 III의 화합물의 PPAR α 효능 활성 및 화학식 I, II 및 III의 화합물의 PPAR γ 효능 활성은 동일한 방법으로 측정할 수 있다.