



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0061148
 (43) 공개일자 2013년06월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/485 (2006.01) *A61K 31/44* (2006.01)
A61P 9/12 (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2012-7031507
 (22) 출원일자(국제) 2011년04월29일
 심사청구일자 없음
 (85) 번역문제출일자 2012년11월30일
 (86) 국제출원번호 PCT/CN2011/073560
 (87) 국제공개번호 WO 2011/137734
 국제공개일자 2011년11월10일
 (30) 우선권주장
 61/330,540 2010년05월03일 미국(US)

(71) 출원인
티에스에이치 바이오팜 코포레이션 리미티드
 대만 타이페이 시티 11503 난강 디스트릭트 유안
 쿠 스트리트 넘버3-1 3에프-1.
 (72) 발명자
첸 조-웬
 대만 11217 타이페이 시티 쉬파이 로드 섹션 2 넘
 버 201
왕 시-치에
 대만 타이페이 시티 민-추안 이.로드 섹션3
 넘버170 4에프-6
주앙 신-이
 대만 타이페이 시티 민-추안 이.로드 섹션3
 넘버170 4에프-6
 (74) 대리인
유미특허법인

전체 청구항 수 : 총 25 항

(54) 발명의 명칭 **고혈압 치료용 약학 조성물 및 방법**

(57) 요약

텍스트로메토르판은 단독으로 또는 다른 항고혈압제와 조합하여 고혈압을 앓고 있는 개체에서 혈압을 낮추는데 사용된다. 보다 상세하게는, 텍스트로메토르판은 암로디핀과 같은 칼슘 채널 차단제와 상승적으로 작용하여, 부 작용을 거의 또는 전혀 야기하지 않으면서 고혈압 치료를 크게 개선시킨다.

특허청구의 범위

청구항 1

유효량의 텍스트로메토르판 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서의 고혈압 또는 이와 관련된 증상의 치료 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 유효량은 텍스트로메토르판 약 0.1 mg/day 내지 약 500 mg/day인 것을 특징으로 하는 치료 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 약학 조성물은 정맥내 주입에 의해, 경피 전달에 의해, 또는 정제 또는 캡슐제로서 경구로 투여되는 것을 특징으로 하는 치료 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 개체에서 텍스트로메토르판의 반감기를 연장시키는데 유효한 CYP2D6 저해제를 개체에게 투여하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 방법.

청구항 5

유효량의 텍스트로메토르판, 유효량의 칼슘 채널 차단제 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는, 개체에서 고혈압 또는 관련 증상을 치료하기 위한 약학 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 칼슘 채널 차단제는 암로디핀(amlodipine), 베프리딜(bepridil), 클렌티아젠펜(clentiazem), 딜티아젠펜(diltiazem), 펜딜린(fendiline), 갈로파밀(gallopamil), 미베프라딜(mibefradil), 프레닐아민(prenylamine), 세모티아딜(semotiadil), 테로딜린(terodiline), 베라파밀(verapamil), 아라니디핀(aranidipine), 바르니디핀(barnidipine), 베니디핀(benidipine), 킬니디핀(cilnidipine), 에포니디핀(efonidipine), 엘고디핀(elgodipine), 펠로디핀(felodipine), 이스라디핀(isradipine), 락시디핀(lacidipine), 레르카니디핀(lercanidipine), 마니디핀(manidipine), 니카르디핀(nicardipine), 니페디핀(nifedipine), 니바디핀(nilvadipine), 니모디핀(nimodipine), 니솔디핀(nisoldipine), 니트레디핀(nitrendipine), 신나리진(cinnarizine), 플루나리진(flunarizine), 리도플라진(lidoflazine), 로메리진(lomerizine), 벤사이클란(bencyclane), 에타페논(etafenone), 퍼헥실린(perhexiline) 및 플루스피릴렌(fluspirilene)으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 7

제5항에 있어서, 제형(dosage form) 당 텍스트로메토르판 약 0.1 mg 내지 약 500 mg과 칼슘 채널 차단제 약 0.01 mg 내지 약 100 mg을 포함하는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 8

제5항에 있어서, 제형(dosage form) 당 텍스트로메토르판 약 1 mg 내지 약 300 mg과 칼슘 채널 차단제 약 0.5 mg 내지 약 20 mg을 포함하는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 9

유효량의 텍스트로메토르판과 유효량의 칼슘 채널 차단제를 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서의 고혈압 또는 이와 관련된 증상의 치료 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 텍스트로메토르판과 상기 칼슘 채널 차단제는 유효량의 텍스트로메토르판, 유효량의 칼슘 채널 차단제 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물로 투여되는 것을 특징으로 하는 치료 방

법.

청구항 11

제9항에 있어서, 개체에서 텍스트로메토르판의 반감기를 연장시키는데 유효한 CYP2D6 저해제를 개체에게 투여하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 방법.

청구항 12

제9항에 있어서, 상기 칼슘 채널 차단제와 상기 텍스트로메토르판은 칼슘 채널 차단제 : 텍스트로메토르판 1:0.5 내지 1:100의 투여 비율로 투여되는 것을 특징으로 하는 치료 방법.

청구항 13

유효량의 텍스트로메토르판, 유효량의 암로디핀 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는, 개체에서 고혈압 또는 관련 증상을 치료하기 위한 약학 조성물.

청구항 14

제13항에 있어서, 제형(dosage form) 당 텍스트로메토르판 약 0.1 mg 내지 약 500 mg과 암로디핀 약 0.01 mg 내지 약 100 mg을 포함하는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 15

제13항에 있어서, 제형(dosage form) 당 텍스트로메토르판 약 10 mg 내지 약 100 mg과 암로디핀 약 0.5 mg 내지 약 20 mg을 포함하는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 16

제13항에 있어서, 상기 암로디핀은 실질적으로 광학적으로 순수한 (S)-(-)-암로디핀인 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 17

제13항에 있어서, 상기 암로디핀은 (R,S)-암로디핀인 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 18

제13항에 있어서, 암로디핀 : 텍스트로메토르판의 비율이 1:0.5 내지 1:100인 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 19

유효량의 텍스트로메토르판과 유효량의 암로디핀을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서의 고혈압 또는 이와 관련된 증상의 치료 방법.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 텍스트로메토르판과 상기 암로디핀은 유효량의 텍스트로메토르판, 유효량의 암로디핀 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물로 투여되는 것을 특징으로 하는 치료 방법.

청구항 21

제19항에 있어서, 개체에서 텍스트로메토르판의 반감기를 연장시키는데 유효한 CYP2D6 저해제를 개체에게 투여하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 방법.

청구항 22

유효량의 칼슘 채널 차단제, 유효량의 NADPH 산화효소 저해제 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는, 개체에서 고혈압 또는 관련 증상을 치료하기 위한 약학 조성물.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 칼슘 채널 차단제는 암로디핀(amlodipine), 베프리딜(bepidil), 클렌티아젠펜(clentiazem), 딜티아젠펜(diltiazem), 펜딜린(fendiline), 갈로파밀(gallopamil), 미베프라딜(mibefradil), 프레닐아민(prenylamine), 세모티아딜(semotiadil), 테로딜린(terodiline), 베라파밀(verapamil), 아라니디핀(aranidipine), 바르니디핀(barnidipine), 베니디핀(benidipine), 킬니디핀(cilnidipine), 에포니디핀(efonidipine), 엘고디핀(elgodipine), 펠로디핀(felodipine), 이스라디핀(isradipine), 락시디핀(lacidipine), 레르카니디핀(lercanidipine), 마니디핀(manidipine), 니카르디핀(nicardipine), 니페디핀(nifedipine), 니바디핀(nilvadipine), 니모디핀(nimodipine), 니솔디핀(nisoldipine), 니트레디핀(nitrendipine), 신나리진(cinnarizine), 플루나리진(flunarizine), 리도플라진(lidoflazine), 로메리진(lomerizine), 벤사이클란(bencyclane), 에타페논(etafenone), 퍼헥실린(perhexiline) 및 플루스피릴렌(fluspirilene)으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 24

유효량의 칼슘 채널 차단제와 유효량의 NADPH 산화효소 저해제를 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서의 고혈압 또는 이와 관련된 증상의 치료 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 칼슘 채널 차단제와 상기 NADPH 산화효소 저해제는 유효량의 칼슘 채널 차단제, 유효량의 NADPH 산화효소 저해제 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물로 투여되는 것을 특징으로 하는 치료 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 고혈압을 치료하기 위한 약학 조성물과 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 고혈압은 전세계적으로 성인에서 25% 이상으로 발병하는 공중의 건강 문제이다 [1, 2]. 고혈압은 사망의 주요 위험 요인인 것으로 파악되었으며, 장애 보정 소실 년수(disability-adjusted life-year)의 3번째 요인으로 랭킹되어 있다 [1, 3]. 수많은 항고혈압제들이 이용될 수 있지만, 고혈압을 진단, 관리 및 제어하는데 이상적이지 않으며, 전세계 여러 사회들에서의 질병 통제율이 6% 내지 30%에 불과하다 [1]. 항고혈압 치료의 비순응성(nonadherence)은 낮은 혈압(BP) 조절율과 높은 심혈관 장애 발병율과 연관되어 있다 [4-6]. 순응성과 BP 제어를 향상시키기 위해 채택되는 전략은, > 2 클래스의 항고혈압제를 매일 1회 고정 용량 조합(FDC) 요법으로 투여하는 방법이다. 이러한 전략이 심지어 초기 치료 옵션으로서 최신 가이드라인에 기술되어 있다 [7, 8].

[0003] NADPH 산화효소는 최근 고혈압 발병에 기여하는 것으로 확인되었다. Williams et al., 2007, *J. Cardiovasc Pharmacol.*, 50:9-16 및 이의 참고문헌을 참조한다. 이 효소에 대한 특이적인 저해제는 고혈압 질환에 잠재적으로 치료학적으로 유용할 수 있을 것으로 시사되고 있다. 가장 특이적인 저해제인 2중, gp9lds-tat 및 아포시닌(apocynin)이, 동물 고혈압 모델에서 혈압을 강하하는 것으로 확인된 바 있다. 디페닐렌 요오드늄, 아미노에틸 벤젠설포노 플루오라이드, S17834, PR39, 단백질 키나제 C 저해제 및 VAS2870 등의 기타 저해제들은 시험관내 잠재성이 확인되었지만, 생체내 특이성, 약물동력학적 특성 및 고혈압 효능은 미완으로 남아있다. 현재 이용가능한 항고혈압제, 안지오텐신 전환 효소 저해제 및 안지오텐신 수용체 차단제들 역시 NADPH 산화효소의 활성화를 효과적으로 저해한다. 마찬가지로, 콜레스테롤 강하제인 스타틴계 화합물들도 NADPH 산화효소 활성화를 약화시키는 것으로 확인되었다.

[0004] 텍스트로메토르판(DM)은, 우회전성 모르피난으로, 다양한 일반 의약품에 비아편계 기침 억제제로서 널리 사용되고 있다 [17]. DM은 NMDA 수용체 길항제이다. 그러나, 이의 진해 활성의 실제 작용 기전은 불확실하다. 뇌허혈증 및 저혈당성 신경 손상에 대한 동물 모델을 이용한 연구를 통해, DM이 신경보호 활성을 가지고 있다는 것이 입증되었다 [18-23]. DM은 1-메틸-4-페닐-1,2,3,6-테트라하이드로피리딘(MPTP)에 의한 반응성 산소 종(ROS)의 생산 유도를 효과적으로 저해한다. DM의 신경보호 효과는 NADPH 산화효소의 정상 기능에 따른 것이다 [24]. 최근 시험관내 및 생체내 연구에서, DM이 NADPH 산화효소의 직접 저해를 통해 산화 스트레스를 낮추고, 마우스에서 죽상경화증과 신내막 형성을 저해하며, 또한 아포리포단백질 E (apoE)-결핍 마우스의 대동맥과 경동

맥에서 슈퍼옥사이드 발생을 감소시키는 것으로 입증되었다. Liu et al., 2009, *Cardiovascular Research*, 82:161-169. Alvarez Y 등은, 고혈압 랫의 혈관에서 NADP(H)로부터의 슈퍼옥사이드 음이온(O₂⁻)의 생성 증가가 혈관수축 반응을 일으키고, iNOS로부터의 NO 발생 증가를 상쇄하며, 결과적으로 이러한 반응들을 조절하는 것으로 시사하였다 [25].

[0005] 칼슘 채널 차단제 (CCB)는 고혈압에 대한 1차 치료제이다. 이의 효과와 잠재적인 위험성은 몇몇 임상 실험에서 연구되었다 [9-14]. CCB의 고용량 사용은 말초 부종 및 변비 등의 높은 부작용 발생율과 관련되어 있다 [8,11,12].

[0006] 암로디핀은 단일요법으로 처방되는 항고혈압 특성을 가진 CCB이다. 이것은 디하이드로피리딘 칼슘 길항제 시리즈들 중 하나이다. 이 제제는, 관상 동맥 질환 또는 심부전 환자, 또는 심혈관 장애에 대한 다중 위험 인자를 가진 환자 등의, 고위험군 환자들에서도 충분히 허용되는 것으로 확인된 바 있다 [12-16]. 암로디핀은 일반적으로 예를 들어 니페디핀에 비해 약효가 늦게 나타나고 오래 지속된다 (Jensen, H. et al., *J. Hum. Hypertens.*, 42(5): 541-45, 1990). 암로디핀의 대사산물은 확실히 현저한 칼슘 채널 차단 활성을 가지고 있지 않으며, 모 약물의 생물학적 반감기가 대략 35-40 시간이어서, 매일 1회 용량 용법이 가능하다 (Lorimer, A. R., et al., *J. Hum. Hypertens.*, 3(3): 191-96, 1989; Glasser, S. F. et al., *AJH*, 2(3): 154-57, 1989). 이의 차단 능력으로 인해, 평활근의 칼슘 채널이 말초 혈관을 확장시키고, 그로 인해 수축기 혈압과 이완기 혈압 둘다 강해진다. 암로디핀의 라세믹 혼합물은 현재 항고혈압제로서 주로 사용되는데, 항고혈압제로 사용되는 경우 이는 말초 혈관을 확장시켜 수축기 혈압과 이완기 혈압 둘다를 낮춘다. 이러한 항고혈압 효과는 심박동에 유의하거나 지속적인 영향을 상대적으로 미치지 않으면서 나타낸다. 그러나, 인간에게 암로디핀의 라세믹 혼합물을 투여하면, 사지 부종, 두통, 홍조/일과성 열감, 피로, 현기증, 근경련 및 어지러움과 같은 부작용이 유발되는 것으로 확인된 바 있다.

[0007] 고혈압 및 관련 증상을 치료 또는 예방하기 위한 새로운 효과적이고 안전한 방법과 약학 조성물이 필요한 실정이다. 이러한 방법 및 약학 조성물을 본원에 기술한다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0008] (비특허문헌 0001) Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, et al. Global burden of hypertension: Analysis of worldwide data. *Lancet*. 2005;365:217-223.

(비특허문헌 0002) Ong KL, Cheung BM, Man YB, et al. Prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension among United States adults 1999-2004. *Hypertension*. 2007;49:69-75.

(비특허문헌 0003) Ezzati M, Lopez AD, Rodgers A, et al, for the Comparative Risk Assessment Collaborating Group. Selected major risk factors and global and regional burden of disease. *Lancet*. 2002;360:1347-1360.

(비특허문헌 0004) O'Connor PJ. Improving medication adherence: Challenges for physicians, payers, and policy makers. *Arch Intern Med*. 2006;166:1802-1804.

(비특허문헌 0005) Nelson MR, Reid CM, Ryan P, et al. Self-reported adherence with medication and cardiovascular disease outcomes in the Second Australian National Blood Pressure Study (ANBP2). *Med J Aust*. 2006;185:487-489.

(비특허문헌 0006) Mounier-Vehier C, Bernaud C, Cart6 A, et al. Compliance and antihypertensive efficacy of amlodipine compared with nifedipine slow-release. *Am J Hypertens*. 1998;11:478-486.

(비특허문헌 0007) Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al, for the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure; the National Heart, Lung, and Blood Institute; and the National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003;42:1206-1252.

(비특허문헌 0008) Mancia G, De BackerG, Dominiczak A, et al, for the Task Force for the Management

of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension and the European Society of Cardiology. 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2007;28:1462-1536.

(비특허문헌 0009) Staessen JA, Fagard R, Thijs L, et al, for the Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) Trial Investigators. Randomised double-blind comparison of placebo and active treatment for older patients with isolated systolic hypertension. *Lancet*. 1997;350:757-764.

(비특허문헌 0010) Liu L, Wang JG, Gong L, et al, for the Systolic Hypertension in China (Syst-China) Collaborative Group. Comparison of active treatment and placebo in older Chinese patients with isolated systolic hypertension. *J Hypertens*. 1998;16:1823-1829.

(비특허문헌 0011) Brown M J, Palmer CR, Castaigne A, et al. Morbidity and mortality in patients randomised to double-blind treatment with a long-acting calcium-channel blocker or diuretic in the International Nifedipine GITS study: Intervention as a Goal in Hypertension Treatment (INSIGHT) [published correction appears in *Lancet*. 2000;356:514]. *Lancet*. 2000; 356:366-372.

(비특허문헌 0012) Hansson L, Zanchetti A, Carruthers SG, et al, for the HOT Study Group. Effects of intensive blood-pressure lowering and low-dose aspirin in patients with hypertension: Principal results of the Hypertension Optimal Treatment (HOT) randomized trial. *Lancet*. 1998;351:1755-1762.

(비특허문헌 0013) The ALLHAT Officers and Coordinators for the ALLHAT Collaborative Research Group. Major outcomes in high-risk hypertensive patients randomized to angiotensin-converting enzyme inhibitor or calcium channel blocker vs diuretic: The Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). *JAMA*. 2002; 288:2981-2997.

(비특허문헌 0014) Dahlof B, Sever PS, Poulter NR, et al, for the ASCOT Investigators. Prevention of cardiovascular events with an antihypertensive regimen of amlodipine adding perindopril as required versus atenolol adding bendroflumethiazide as required, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial-Blood Pressure Lowering Arm (ASCOT-BPLA): A multicentre randomised controlled trial. *Lancet*. 2005;366:895-906.

(비특허문헌 0015) Packer M, O'Connor CM, Ghali JK, et al, for the Prospective Randomized Amlodipine Survival Evaluation Study Group. Effect of amlodipine on morbidity and mortality in severe chronic heart failure. *N Engl J Med* 1996;335:1107-1114.

(비특허문헌 0016) Julius S, Kjeldsen SE, Weber M, et al, for the VALUE Trial Group. Outcomes in hypertensive patients at high cardiovascular risk treated with regimens based on valsartan or amlodipine: The VALUE randomized trial. *Lancet*. 2004;363:2022-2031.

(비특허문헌 0017) Tortella FC, Pellicano M, and Bowery NG (1989) Dextromethorphan and neuromodulation: old drug coughs up new activities. *Trends Pharmacol Sci* 10:501-507.

(비특허문헌 0018) George CP, Goldberg MP, Choi DW, and Steinberg GK (1988) Dextromethorphan reduces neocortical ischemic neuronal damage in vivo. *Brain Res* 440:375-379.

(비특허문헌 0019) Monyer H and Choi DW (1988) Morphinans attenuate cortical neuronal injury induced by glucose deprivation in vitro. *Brain Res* 446:144-148.

(비특허문헌 0020) Prince DA and Feeser HR (1988) Dextromethorphan protects against cerebral infarction in a rat model of hypoxia-ischemia. *Neurosci Lett* 85:291-296.

(비특허문헌 0021) Steinberg GK, George CP, DeLaPaz R, Shibata DK, and Gross T (1988) Dextromethorphan protects against cerebral injury following transient focal ischemia in rabbits. *Stroke* 19:1112-1118.

(비특허문헌 0022) Britton P, Lu XC, Laskosky MS, and Tortella FC (1997) Dextromethorphan protects against cerebral injury following transient, but not permanent, focal ischemia in rats. *Life Sci*

60:1729-1740.

(비특허문헌 0023) Tortella FC, Britton P, Williams A, Lu XC, and Newman AH (1999) Neuroprotection (focal ischemia) and neurotoxicity (electroencephalographic) studies in rats with AHN649, a 3-amino analog of dextromethorphan and low-affinity N-methyl-Daspartate antagonist. J Pharmacol Exp Ther 291:399-408.

(비특허문헌 0024) Wei Zhang, Tongguang Wang, Liya Qin, Hui-Ming Gao, Belinda Wilson, Syed F. Ali, Wanqin Zhang, Jau-Shyong Hong, And Bin Liu(2004). Neuroprotective effect of dextromethorphan in the MPTP Parkinson's disease model: role of NADPH oxidase1. FASEB 18:589-591.

(비특허문헌 0025) Y Alvarez, AM Briones, R Hernanz, JV Perez-Giron, MJ Alonso and M Salaiques (2008). Role of NADPH oxidase and iNOS in vasoconstrictor responses of vessels from ypertensive and normotensive rats. British Journal of Pharmacology 153, 926-935.

발명의 내용

- [0009] 텍스트로메토르판이 고혈압을 앓고 있는 개체에서 혈압을 낮추는데 유효할 뿐만 아니라 칼슘 채널 차단제와 상승적으로 작용하여 고혈압 치료를 크게 개선시키며, 부작용이 없거나 거의 없다는 것이 확인되었다.
- [0010] 일반적인 일 측면에서, 본 발명의 구현에는 개체에서 고혈압 또는 관련 증상을 치료하는 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 유효량의 텍스트로메토르판과 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 개체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0011] 일반적인 일 측면에서, 본 발명의 구현에는 개체에서 고혈압 또는 관련 증상을 치료하는 방법에 관한 것이다. 본 방법은 유효량의 텍스트로메토르판과 유효량의 칼슘 채널 차단제를 개체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0012] 일반적인 다른 측면에서, 본 발명의 구현에는 유효량의 텍스트로메토르판, 유효량의 칼슘 채널 차단제 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는, 개체에서 고혈압 또는 관련 증상을 치료하기 위한 약학 조성물에 관한 것이다.
- [0013] 바람직한 구현에에서, 본 발명은 유효량의 텍스트로메토르판, 유효량의 암로디핀, 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는, 개체에서 고혈압 또는 관련 증상을 치료하기 위한 약학 조성물에 관한 것이다.
- [0014] 다른 일반적인 측면에서, 본 발명의 구현에는 유효량의 칼슘 채널 차단제, 유효량의 NADPH 산화효소 저해제, 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는, 개체에서 고혈압 또는 관련 증상을 치료하기 위한 약학 조성물에 관한 것이다.
- [0015] 본 발명의 다른 측면들은 암로디핀과 같은 유효량의 칼슘 채널 차단제 및 텍스트로메토르판과 같은 유효량의 NADPH 산화효소 저해제를 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 고혈압 또는 관련 증상을 치료하는 방법에 관한 것이다.
- [0016] 본 발명의 다른 측면, 특징 및 이점은 본 발명의 상세한 설명, 바람직한 구현에 및 첨부된 청구항을 비롯한 하기 기술된 내용으로부터 명확해질 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0017] 전술한 발명의 내용과 하기 본 발명에 대한 상세한 설명은, 첨부된 도면을 참고함으로써 잘 이해될 것이다. 본 발명을 예시하기 위해 현재 바람직한 구현예를 도면에 도시한다. 그러나, 본 발명은 도시된 것과 정확하게 일치하는 계획과 수단으로 한정되지 않는 것으로 이해하여야 한다.

도면에서,

도 1a - 도 1d는, 고혈압, 즉, 자발성 고혈압에 대한 랫 동물 모델 (SHR)에서, 텍스트로메토르판의, 3가지 용량 수준 1 mg/kg/day, 5 mg/kg/day 및 25 mg/kg/day의 혈압 강하 효과를 예시한 것이다:

도 1a: DM 처리 후 수축기 혈압 (SBP) 변화;

도 1b: DM 처리 후 이완기 혈압 (DBP) 변화;

도 1c: DM 처리 후 심박수 (HR) 변화; 및

도 1d: DM 처리 후 평균 혈압 (MBP) 변화;

도 2a - 도 2d는, SHR에서, 암로디핀 (AM)의, 2가지 용량 수준 1 mg/kg/day 및 5 mg/kg/day의 혈압 강하 효과를 예시한 것이다:

도 2a: AM 처리 후 SBP 변화;

도 2b: AM 처리 후 DBP 변화;

도 2c: AM 처리 후 HR 변화; 및

도 2d: AM 처리 후 MBP 변화;

도 3a - 도 3d는 SHR에서의 DM 및 AM 조합의 다양한 용량 수준에서의 혈압 강하 효과를 예시한 것이다:

도 3a: DM + AM 처리 후 SBP 변화;

도 3b: DM + AM 처리 후 DBP 변화;

도 3c: DM + AM 처리 후 HR 변화; 및

도 3d: DM + AM 처리 후 MBP 변화;

도 4a - 도 4d는 SHR에서의 여러가지 치료 요법의 혈압 강하 효과를 혈압 또는 심박수 변화율로 예시한 것이다:

도 4a: 여러가지 치료 요법 후 SBP 변화;

도 4b: 여러가지 치료 요법 후 DBP 변화;

도 4c: 여러가지 치료 요법 후 HR 변화; 및

도 4d: 여러가지 치료 요법 후 MBP 변화;

도 5a 및 도 5b는 SHR에서의 단독 처리 및 조합 처리에 따른 혈당 강하 효과를 SBP 및 DBP의 변화율로 비교 도시한 것이다:

도 5a: DM 1 mg/kg/day 단독 처리, AM 5 mg/kg/day 단독 처리, 및 DM 1 mg/kg/day + AM 5 mg/kg/day 조합 처리 후, SBP 및 DBP의 변화율; 및

도 5b: DM 5 mg/kg/day 단독 처리, AM 5 mg/kg/day 단독 처리, 및 DM 5 mg/kg/day + AM 5 mg/kg/day 조합 처리 후, SBP 및 DBP의 변화율;

도 6은 동물 실험에서 혈압을 측정하고 혈액 샘플을 취한 여러 시간대를 나타낸 플로우 차트이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 본원의 배경기술과 명세서 전체에 걸쳐 다양한 공개문헌들, 논문 및 특허들이 인용 또는 기재되어 있으며; 이들 각각의 참조문헌들은 그 전체가 원용에 의해 본 명세서에 포함된다. 본 명세서에 포함된 문헌, 행위, 물질, 장치 등에 대한 논의 사항은 본 발명에 대한 이해를 제공하기 위한 목적이다. 상기한 논의가 이러한 내용들 전부 또는 임의의 일부가 여기에 기술되거나 청구된 본 발명에 대하여 종래 기술의 일부를 형성한다고 용인하는 것은 아니다.

[0019] 다르게 언급되지 않은 한, 본원에 사용된 모든 기술 용어들과 과학 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야의 당업자에게 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 가진다. 그렇지 않을 경우, 본원에 사용된 일부 용어들은 본원에 기술된 의미를 가진다. 본원에 인용된 모든 특허, 공개된 특허 출원 및 간행물들은 본원에 충분히 기술된 바와 같이 원용에 의해 본 명세서에 포함된다. 본원과 첨부된 청구항에서, 단수형 "하나(a, an 및 the)"는 다른 것으로 명시되지 않은 한 복수의 언급도 포함한다.

[0020] 본원에서, 텍스트로메토르판 또는 암로디핀 등의 화합물의 명칭은, 화합물의, 모든 가능한 기존 이성질체 형태 (예, 광학 이성질체, 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 라세메이트 또는 라세믹 혼합물), 에스테르, 프로드릭, 대사산물 형태, 약제학적으로 허용가능한 염, 약제학적으로 허용가능한 에스테르, 약제학적으로 허용가능한 아미드 및 보호된 유도체를 포괄할 수 있다.

- [0021] 본원에서, "약제학적으로 허용가능한 염(들)"이라는 표현은, 포유류에 약제학적으로 이용하기 안전하고 유효하며, 바람직한 생물학적 활성을 가진, 대상 화합물의 상기한 염을 의미한다. 약제학적으로 허용가능한 염은 명시된 화합물에 존재하는 산성 또는 염기성 그룹의 염을 포함한다. 산성 또는 염기성 그룹은 유기 또는 무기성일 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 산 부가 염은, 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 하이드로아이오다이드, 니트레이트, 설페이트, 비설페이트, 포스페이트, 산 포스페이트, 이소니코티네이트, 아세테이트, 락테이트, 살리실레이트, 시트레이트, 타르트레이트, 판토테네이트, 비타르트레이트, 아스코르베이트, 숙시네이트, 말리에이트, 젠티시네이트, 푸마레이트, 글루코네이트, 글루카로네이트, 사카레이트, 포르메이트, 벤조에이트, 글루타메이트, 메탄설폰네이트, 에탄설폰네이트, 벤젠설폰네이트, p-톨루엔설폰네이트 및 과모에이트 (즉, 1,1'-메틸렌-비스-(2-하이드록시-3-나프토에이트)) 염을 포함하나, 이들로 한정되지 않는다. 적합한 염기 염으로는, 알루미늄, 칼슘, 리튬, 마그네슘, 포타슘, 소듐, 아연 및 디에탄올아민 염을 포함하나, 이들로 한정되지 않는다. 본원에 사용되는 어떤 화합물들은 다양한 아미노산, 예를 들어, 라이신, N,N'-디벤질에틸렌디아민, 클로로프로카인, 콜린, 디에탄올아민, 에틸렌디아민, 메글루민 (N-메틸글루카민), 프로카인, 및 트리스, 및 광범위한 약학적 용도로 현재 사용되며 당해 기술 분야의 당업자에게 잘 알려진 소스, 예컨대 머크 인텍스에 열거된 기타 염과 약제학적으로 허용가능한 염을 형성할 수 있다. 무독성이며, 바람직한 활성을 실질적으로 간섭하지 않는 한, 본원에 기술된 활성 약물의 염을 제조하기 위해, 임의의 적합한 구성 성분을 선택할 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 염에 대한 리뷰로서, BERGE ET AL., 66 J. PHARM. SCI. 1-19 (1977)를 참조하며, 이 문헌은 원용에 의해 본 명세서에 포함된다.
- [0022] 본원에서, "NADPH 산화효소 저해제"는 NADPH 산화효소의 효소 활성을 저해, 감소 또는 경감하는 약물 또는 천연 성분, 즉, 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드 포스페이트-산화효소이다. NADPH 산화효소는 NADPH로부터 전자를 전이시켜, 전자를 산소 분자에 커플링하여, 반응성 산소 종 (ROS)을 발생시킬 수 있는 반응성 유리 라디칼인 슈퍼옥사이드를 발생시킴으로써, 슈퍼옥사이드를 생성시킨다. "NADPH 산화효소 저해제"는 슈퍼옥사이드, 즉 ROS가 개체의 혈관에서 발생하는 것을 예방, 감소 또는 저감하는데 유효하다. 본 발명에서 사용할 수 있는 NADPH 산화효소 저해제의 예로는, 텍스트로메토르판, gp91ds-tat, 아포시닌, 디페닐렌 요오드늄, 아미노에틸 벤젠설폰노 플루오라이드, S17834, PR39, 단백질 키나제 C 저해제, VAS2870, 안지오텐신 전환 효소 저해제, 안지오텐신 수용체 차단제 및 스타틴계 화합물을 포함하나, 이들로 한정되지 않는다.
- [0023] 본원에서, "텍스트로메토르판" 또는 "DM"은, (+)-3-메톡시-N-메틸모르피난으로도 명명되는 (+)-3-메톡시-17-메틸-9 α ,13 α ,14 α -모르피난과 이의 모든 약제학적으로 허용가능한 염을 지칭한다. 예를 들면, 텍스트로메토르판은 유리 산염, 무기 염, 설페이트 염, 하이드로클로라이드 염 및 하이드로브로마이드 염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 약제학적으로 허용가능한 염 형태일 수 있다. 텍스트로메토르판은 하이드로브로마이드 일수화물 염(monohydrated hydrobromide salt)으로서 통상적으로 이용가능하다.
- [0024] 텍스트로메토르판은 우회전성 (d) 거울상이성질체이다. 바람직하게는, 본 발명의 구현예에 따른 약학 조성물은 실질적으로 광학적으로 순수한 텍스트로메토르판을 포함하거나, 또는 DM의 좌회전성 (l) 거울상이성질체가 실질적으로 결여되어 있다.
- [0025] 본원에서, "실질적으로 광학적으로 순수한 텍스트로메토르판" 또는 "좌회전성 (l) 거울상이성질체가 실질적으로 결여된 DM"은, 약학 조성물이 l 거울상이성질체에 비해 DM을 더 높은 비율 또는 퍼센트로 포함한다는 의미이다. 예를 들어, 약학 조성물은, 바람직하게는, DM을 약 90 중량%, 91 중량%, 92 중량%, 93 중량%, 94 중량%, 95 중량%, 96 중량%, 97 중량%, 98 중량%, 99 중량% 또는 100 중량%로 포함하며, 이때 %는 약학 조성물내 DM 및 이의 l 거울상이성질체의 총량을 기준으로 한다.
- [0026] 텍스트로메토르판은 당해 기술 분야에 공지된 방법을 이용하여, 예로 미국 특허 2,676,177에 기술된 바와 같이 합성 및 광학적으로 정제할 수 있으며, 상기 문헌은 원용에 의해 본 명세서에 포함된다. 또한, 이는 다양한 상업적인 소스로부터 구입할 수 있다.
- [0027] 본원에서, "칼슘 채널 차단제" 또는 "CCB"는 칼슘 채널의 칼슘 (Ca²⁺) 전도를 파괴하는 약물 클래스 및 천연 물질을 지칭한다. 이것은 심근 및 혈관에서 전압-게이트 칼슘 채널 (VGCC: voltage-gated calcium channel)을 차단하며, 혈압을 낮춘다. 용어 "칼슘 채널 차단제"는 개체에서 고혈압을 치료하기 위해 사용할 수 있는 임의 클래스의 CCB, 예를 들어, 디하이드로피리딘, 페닐알킬아민, 벤조티아제핀 및 비선택적인 CCB 클래스를 포괄한다. 본 발명에서 사용할 수 CCB의 예로는, 아로디핀(amlodipine), 베프리딜(bepriidil), 클렌티아젠펜(clentiazem), 딜티아젠펜(diltiazem), 펜딜린(fendiline), 갈로파밀(gallopamil), 미베프라딜(mibefradil), 프레닐아민(prenylamine), 세모티아딜(semotiadil), 테로딜린(terodiline), 베라파밀(verapamil), 아라니디핀

(aranidipine), 바르니디핀(barnidipine), 베니디핀(benidipine), 킬니디핀(cilnidipine), 에포니디핀(efonidipine), 엘고디핀(elgodipine), 펠로디핀(felodipine), 이스라디핀(isradipine), 락시디핀(lacidipine), 레르카니디핀(lercanidipine), 마니디핀(manidipine), 니카르디핀(nicardipine), 니페디핀(nifedipine), 니바디핀(nilvadipine), 니모디핀(nimodipine), 니솔디핀(nisoldipine), 니트레디핀(nitrendipine), 신나리진(cinnarizine), 플루나리진(flunarizine), 리도플라진(lidoflazine), 로메리진(lomerizine), 벤사이클란(bencyclane), 에타페논(etafenone), 퍼헥실린(perhexiline) 및 플루스피릴렌(fluspirilene)을 포함하나, 이로 한정되지 않는다.

[0028] 본원에서, "암로디핀" 또는 "AM"은, 화합물 3-에틸 5-메틸 2-[(2-아미노에톡시)메틸]-4-(2-클로로페닐)-1,4-다하이드로-6-메틸피리딘-3,5-디카르복실레이트, 및 화합물의, 모든 광학 이성질체, 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 라세메이트 또는 라세믹 혼합물, 약제학적으로 허용가능한 염 또는 약제학적으로 허용가능한 에스테르를 지칭한다. 예를 들어, 암로디핀은 무기 산 및 유기 산의 약제학적으로 허용가능한 염 형태로 존재할 수 있다. 이러한 산은 아세트산, 벤젠-설포산(베실레이트), 벤조산, 캄퍼설포산, 시트르산, 에탄설포산, 푸마르산, 글루콘산, 글루탐산, 브롬수소산, 염산, 이세티온산, 락트산, 말레산, 말산, 만델산, 메탄설포산, 뮤식산, 니트르산, 파모익산, 판토텐산, 인산, 숙신산, 황산, 주석산, p-톨루엔설포산 등으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특히 바람직하게는, 베실레이트, 브롬수소산, 염산, 인산 및 황산이다 (Campbell, S. F. et al., 미국 특허 4,806,557을 참조함). 또한, 암로디핀은 암로디핀의 약제학적으로 허용가능한 에스테르, 특히 저급 알킬 에스테르일 수 있다.

[0029] 암로디핀은 키랄 화합물이다. 본 발명의 구현예에 따른 약학 조성물은 라세메이트, 즉 (R)-(+)-암로디핀과 (S)-(-)-암로디핀의 1:1 혼합물, 또는 (R)-(+)-암로디핀과 (S)-(-)-암로디핀의 여러가지 비율의 라세믹 혼합물을 포함할 수 있다. 또한, 약학 조성물은 다른 입체이성질체가 실질적으로 결여된, 분리된 (R)-(+)-암로디핀 또는 (S)-(-)-암로디핀을 포함할 수 있다.

[0030] (S)-(-)-암로디핀은 (R)-(+)-암로디핀 보다 더 강력한 칼슘 채널 차단제이다. 즉, 바람직하게는, 본 발명의 구현예에 따른 약학 조성물은 실질적으로 광학적으로 순수한 (S)-(-)-암로디핀을 포함하거나, 또는 실질적으로 (R)-(+)-암로디핀이 결여되어 있다.

[0031] 본원에서, "실질적으로 광학적으로 순수한 (S)-(-)-암로디핀" 또는 "실질적으로 (R)-(+)-암로디핀이 결여된"은, 약학 조성물이 (S)-(-)-암로디핀을 (R)-(+)-암로디핀 보다 높은 비율 또는 퍼센트로 포함한다는 의미이다. 예를 들어, 약학 조성물은, 바람직하게는, (S)-(-)-암로디핀을 약 90 중량%, 91 중량%, 92 중량%, 93 중량%, 94 중량%, 95 중량%, 96 중량%, 97 중량%, 98 중량%, 99 중량% 또는 100 중량%로 포함하며, 이때 %는 약학 조성물 내 (R)-(+)-암로디핀과 (S)-(-)-암로디핀의 총량을 기준으로 한다.

[0032] 암로디핀의 라세믹 혼합물의 화학 합성은 당해 기술 분야에 공지된 방법을 이용하여, 예를 들어 Arrowsmith, J. E. et al., *J. Med. Chem.*, 29: 1696-1702 (1986)에 기술된 바와 같이 수행할 수 있다. 또한, 이것은 다양한 상업적 소스로부터 구입할 수 있다. 라세믹 혼합물로부터 암로디핀 이성질체의 분리는 미국 특허 6,448,275 또는 미국 특허 7,482,464에 예시된 방법 등의 당해 기술 분야에 공지된 방법으로 수행할 수 있다. 이들 문헌의 내용은 인용에 의해 본 명세서에 포함된다.

[0033] 본원에서, 용어 "약학 조성물"은 명시된 성분을 명시된 함량으로 포함하는 산물 또는 조성물, 뿐만 아니라 명시된 성분들을 명시된 함량으로 직접 또는 간접적으로 조합하여 만든 모든 산물을 포괄하는 의미이다.

[0034] 본원에서, 용어 "개체"는 본 발명의 구현예에 따른 화합물 또는 약학 조성물이 투여되거나 투여된, 임의의 동물, 바람직하게는 포유류, 가장 바람직하게는 인간을 의미한다. 용어 "포유류"는 본원에서 모든 포유류를 포괄한다. 포유류의 예로는, 소, 말, 양, 돼지, 고양이, 개, 마우스, 랫, 토끼, 기니아피그, 원숭이, 인간 등을 포함하나, 이로 한정되지 않으며, 더 바람직하게는 인간이다. 바람직하게는, 개체는 고혈압 및 이와 관련된 증상의 치료 또는 예방이 필요하거나, 관찰 또는 실험 대상인 개체이다.

[0035] 본원에서, "고혈압 또는 이와 관련된 증상의 치료"는 높아진 이완기 및/또는 수축기 혈압의 정상화를 제공하는 등의 항고혈압 효과를 도출하며, 그렇게 하여 혈압 상승에 의해 유발되는 한가지 이상의 가능성 있는 증상 또는 다른 혈류 역학적 효과들을 완화하는 것을 의미한다.

[0036] 일 구현예에서, "치료"는 질환 또는 장애, 또는 이의 한가지 이상의 인지가능한 증상의 개선, 예방 또는 반전(reverse), 예컨대 높아진 이완기 및/또는 수축기 혈압의 강하에 의한 고혈압 또는 이와 관련된 증상의 치료를 지칭한다.

- [0037] 다른 구현예에서, "치료"는 포유류에서 또는 포유류가 반드시 증상을 인지하는 것은 아닌 치료 중인 질환 또는 장애와 관련된 한가지 이상의 측정가능한 물리적 파라미터의 개선, 예방 또는 반전, 예컨대 혈관에서의 ROS 감소에 의한 고혈압 또는 이와 관련된 증상의 치료를 지칭한다.
- [0038] 또 다른 구현예에서, "치료"는 질환 또는 장애의 진행을, 물리적으로, 저해 또는 서행, 예를 들어 인지되는 증상의 안정화, 또는 생리적으로, 저해 또는 서행, 예를 들어 물리적인 파라미터의 안정화 또는 둘다를 지칭한다.
- [0039] 또 다른 구현예에서, "치료"는 고혈압 또는 이와 관련된 증상 등의 질환 또는 장애의 개시 지연, 또는 발병 위험성 감소를 지칭한다. 예를 들어, 명시된 약학 조성물은 고혈압 증상이 없거나 매우 낮더라도, 고혈압 소인을 가진 개체에 대한 예방적 조치로서 투여된다.
- [0040] 본원에서, 화합물의 "유효량"이라는 용어는 연구자, 수의사, 의사 또는 기타 임상학자가 추구하는 조직 시스템, 동물 또는 인간에서, 치료 중인 질환 또는 장애의 증상 완화를 포함하여, 생물학적 또는 의학적 반응을 도출하는 화합물의 양을 지칭한다. 바람직한 구현예에서, 화합물의 유효량은 고혈압 또는 이와 관련된 증상을 치료, 치료를 개선 또는 예방학적으로 예방하는데 충분하지만, 화합물의 투여와 관련된 유의한 부작용을 야기하기에는 불충분하다.
- [0041] 본 발명의 구현예에 따른 치료학적 활성 성분의 유효량을 결정하기 위한 방법들은 당해 기술 분야에 공지되어 있다. 아울러, 당해 기술 분야의 당업자가 이해하는 바와 같이, 어떤 특정 개체에 대한 구체적인 용량 수준은 연령, 체중, 일반적인 건강 상태, 성별, 식이, 투여 시기, 투여 경로, 배출율, 조합 투여되는 임의의 부가적인 치료제 및 치료 중인 질환 또는 병태의 중증도에 따라 달라질 것이다. 일반적으로 말해서, 상지에서 언급된 병태의 예방학적 또는 치료학적 치료는, 활성 성분을 약 0.01 mg/kg(체중)/일 내지 약 100 mg/kg(체중)/일, 0.03 mg/kg(체중)/일 내지 약 75 mg/kg(체중)/일, 0.05 mg/kg(체중)/일 내지 약 50 mg/kg(체중)/일, 또는 약 0.1 mg/kg(체중)/일 내지 약 10 mg/kg(체중)/일의 투여량 범위로 투여함으로써 달성될 것으로 예상된다. 바람직하거나 또는 적합한 투여량 범위가 무엇이든, 매일 1회 투여로 투여하거나, 또는 매일 총 투여량을 1일 2, 3 또는 4회로 나누어 투여할 수 있다. 다른 예로서, 투여량은 서방형 또는 조절 방출형 제형으로, 또는 경피 패치로 제공될 수 있는 바와 같이, 실질적으로 지속적인 방식으로 전달되도록 제형화될 수 있다.
- [0042] 용어 "부작용"은 심혈관 효과 (빈맥 및 심장 신축성 소실 포함), 사지 부종, 두통, 현기증, 홍조, 피로, 어지러움, 근경련, 환각, 설사, 열, 요정체, 구토, 발진/소양증을 포함하나, 이로 한정되지 않는다.
- [0043] 텍스트로메토르판은 고혈압을 앓고 있는 개체에서 단독으로도 또는 다른 항고혈압제와 조합하여 혈압을 낮추는데 유효한 것으로 확인되었다. 또한, 텍스트로메토르판, 즉 NADPH 산화효소 저해제 및 암로디핀, 즉 CCB가 고혈압을 앓고 있는 개체에서 혈압을 낮추는데 상승적으로 작용하는 것으로 확인되었다. 이러한 상승적인 효과는 예측되지 않았다. 이에, 본 발명의 발견 사실을 기초로, 고혈압 또는 이와 관련된 증상을 치료하기 위한 새롭고 보다 효과적인 약학 조성물 및 방법이 개발된 것이다.
- [0044] 일반적인 일 측면에서, 본 발명은 개체에서 고혈압 또는 이와 관련된 증상의 치료 방법에 관한 것이다. 본 방법은 유효량의 텍스트로메토르판 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 개체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0045] 본 발명의 구현예에 따른 약학 조성물 및 방법에는 텍스트로메토르판의 임의의 약제학적으로 허용가능한 염이 사용될 수 있다. 바람직한 구현예에서, 실질적으로 광학적으로 순수한 텍스트로메토르판 하이드로브로마이드 등의 실질적으로 광학적으로 순수한 텍스트로메토르판이 본 발명에 사용된다.
- [0046] 대부분의 환자들에서, 텍스트로메토르판은 위장관으로부터 쉽게 흡수되어, 간에서 시토크롬 P450 효소 CYP2D6에 의해 활성이 약한 대사산물인 텍스트로르판으로 변환된다. CYP2D6의 효소 활성 저해는 개체에서 텍스트로메토르판의 안정성을 증가시키며 반감기를 연장시켜, 보다 효과적인 치료와 보다 일관되고 예측가능한 결과가 달성될 것이다.
- [0047] 이에, 본 발명의 구현예에 따른 방법은 개체에게 CYP2D6 저해제를 투여하는 것을 더 포함할 수 있다. 본 발명에 사용할 수 있는 CYP2D6 저해제의 예로는 퀴니딘이 있지만, 이로 한정되지 않는다. CYP2D6 저해제는, 동일한 약학 조성물 형태로 DM과 함께 투여하거나, 또는 DM 및 CYP2D6 저해제의 투여 스케줄이 투여된 CYP2D6 저해제가 개체에서 텍스트로메토르판의 반감기를 연장시키는데 유효하도록 시간적으로 겹치는 한, 다른 약학 조성물 형태로 DM과 개별적으로 투여할 수 있다.
- [0048] 다른 일반적인 측면에서, 본 발명의 구현예는 개체에게 유효량의 텍스트로메토르판과 유효량의 칼슘 채널 차단제 (CCB)를 투여하는 단계를 포함하는 개체에서의 고혈압 또는 이와 관련된 증상의 치료 방법에 관한 것이다.

- [0049] 개체에서 고혈압을 치료하는데 유효한 임의의 CCB, 비제한적인 예로서, 아로디핀, 베프리딜, 클렌티아젠펜, 딜티아젠펜, 펜딜린, 갈로파밀, 미베프라딜, 프레닐아민, 세모티아질, 테로딜린, 베라파밀, 아라니디핀, 바르니디핀, 베니디핀, 킬니디핀, 에포니디핀, 엘고디핀, 펠로디핀, 이스라디핀, 락시디핀, 레르카니디핀, 마니디핀, 니카르디핀, 니페디핀, 닐바디핀, 니모디핀, 니솔디핀, 니텐디핀, 신나리진, 플루나리진, 리도플라진, 로메리진, 벤사이클란, 에타페논, 퍼렉실린 및 플루스피릴렌을 본 발명에 사용할 수 있다.
- [0050] 본 발명의 일 구현예에서, CCB는 아로피딘이다. 아로디핀의, 광학 이성질체, 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 라세메이트 또는 라세믹 혼합물, 약제학적으로 허용가능한 염, 또는 약제학적으로 허용가능한 에스테르 중 임의의 것을 본 발명에 사용할 수 있다.
- [0051] 일 구현예에서, 본 발명에서는 아로디핀의 라세믹 혼합물 또는 (R,S)-아로디핀을 사용한다.
- [0052] 바람직한 구현예에서, 실질적으로 광학적으로 순수한 (S)-(-)-아로디핀, 예를 들어 실질적으로 광학적으로 순수한 (S)-(-)-아로디핀 베실레이트, (S)-(-)-아로디핀 메실레이트 또는 (S)-(-)-아로디핀 말리에이트가 본 발명에 사용된다.
- [0053] 본 발명의 구현예들에 있어서, 텍스트로메토르판 및 CCB는 동일한 약학 조성물로 함께 투여하거나, 또는 DM과 CCB의 투여 스케줄이 시기적으로 겹치는 한, 다른 약학 조성물 형태로 개별 투여할 수 있다.
- [0054] 본 발명의 일 구현예에서, CCB와 DM은 CCB : DM 투여량 비율 1:0.5 내지 1:100, 예를 들어, 1:1, 1:5, 1:10, 1:20, 1:30, 1:40, 1:50, 1:60, 1:70, 1:80, 1:90 또는 1:100으로 동일한 약학 조성물로, 예컨대 CCB와 DM 둘 다를 포함하는 제형으로서 투여되거나, 또는 별개 약학 조성물, 예컨대 CCB 및 DM 각각에 대한 별개 제형으로 투여된다.
- [0055] 본 발명의 다른 일반적인 측면은 유효량의 텍스트로메토르판, 유효량의 칼슘 채널 차단제, 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 개체에서 고혈압 또는 관련 증상을 치료하기 위한 약학 조성물에 관한 것이다.
- [0056] 또한, 본 발명의 구현예는 유효량의 칼슘 채널 차단제, 유효량의 NADPH 산화효소 저해제, 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 개체에서 고혈압 또는 관련 증상을 치료하기 위한 약학 조성물에 관한 것이다.
- [0057] 개체에서 고혈압을 치료하는데 유효한 전술한 바와 같은 임의의 CCB를 본 발명에 사용할 수 있다.
- [0058] 본 발명에 사용할 수 있는 NADPH 산화효소 저해제의 예로는, gp91ds-tat, 아포시닌, 디페닐렌 요오드늄, 아미노에틸 벤젠설포노 플루오라이드, S17834, PR39, 단백질 키나제 C 저해제, VAS2870, 안지오텐신 전환 효소 저해제, 안지오텐신 수용체 차단제, 스타틴계 화합물 및 텍스트로메토르판이 있으나, 이로 한정되지 않는다.
- [0059] 본 발명의 구현예에 따른 약학 조성물은 선택적으로 다른 클래스의 항고혈압제와 같은 다른 치료학적 활성 성분을 포함할 수 있다.
- [0060] 또한, 본 발명의 구현예는 개체에서 고혈압 또는 관련 증상을 치료하는 방법에 관한 것이다. 본 방법은 개체에 텍스트로메토르판과 같은 유효량의 NADPH 산화효소 저해제와 아로디핀과 같은 유효량의 CCB를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0061] NADPH 산화효소 저해제와 CCB는 하나의 약학 조성물로 함께 투여하거나, 거의 동일한 시기에 개별적으로 투여하거나, 또는 별개 투여 스케줄로 별개로 투여할 수 있다. NADPH 산화효소 저해제와 CCB의 투여 스케줄이 시기적으로 겹쳐, 동시에 이루어지도록 하는 것이 필요하다.
- [0062] 본 발명의 구현예에 따른 방법은 선택적으로 다른 클래스의 항고혈압제 등의 다른 치료학적으로 활성인 성분을 개체에게 투여하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0063] 치료학적 활성 성분은, 단독으로 또는 부가적인 치료제와 조합하여 투여하던 간에, 경구, 국소, 비경구로 (피하, 정맥내, 근육내 및 흉골내 주사 또는 주입 투여 기법 포함), 흡입 스프레이 또는 직장 등의 임의의 공제된 투여 경로에 의해, 통상적인 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 제형 또는 약학 조성물로 투여될 수 있으며, 임의의 상기한 제형 또는 약학 조성물은 본 발명의 범위에 포함된다.
- [0064] 경구 투여용으로 고안된 약학 조성물은 환제, 정제, 캡슐제 및 경질 또는 연질 캡슐제 (각각 즉방형, 경시적으로 방출(timed release) 및 서방형(sustained release) 제형) 뿐만 아니라 로젠제 및 분산형 산제 또는 과립제 등의 고체 형태를 포함한다. 경구 투여용으로 고안된 약학 조성물의 액체 형태는 용액제, 시럽제, 엘시르제, 에멀전제 및 수계 또는 오일성 현탁제를 포함한다. 이들 임의의 제형은 약학 조성물의 제조에 대한

당해 기술 분야에 공지된 임의의 방법 또는 컴파운드 기법에 따라 제조할 수 있다. 고체 경구 제형의 제조에 적합하게 활용할 수 있는 약제학적으로 허용가능한 담체로는, 칼슘 카보네이트, 소듐 카보네이트, 락토스, 칼슘 포스페이트 또는 소듐 포스페이트 등의 무활성 희석제; 옥수수 전분 또는 알긴산 등의 과립화제 또는 봉쇄화제; 전분, 젤라틴 또는 아카시아 등의 결합제; 및 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 또는 탈크 등의 윤활제를 포함한다. 필요한 경우에 따라, 경구 투여용으로 고안된 고체 약학 조성물은, 구미를 당기게 하거나 맛있는 조제 물을 제공하기 위해, 하나 이상의 감미제, 향미제, 착색제 또는 보존제를 더 포함할 수 있다.

- [0065] 제형이 정제 또는 환제인 구현예에 있어서, 이는 코팅되지 않거나 코팅될 수 있으며, 코팅되는 경우 임의의 공지 기법으로 코팅할 수 있다. 아울러, 코팅은, 바람직하게 제공되는 경우, 코팅이 정제나 환제의 봉해, 즉 활성 성분의 흡수를 지연시켜, 장기간 지속적인 치료학적 또는 예방학적 효과를 제공할 수 있는 조절 방출형 및/또는 서방형 제형을 제공할 수 있도록, 공지된 기법으로 제형화하거나 적용할 수 있다. 예컨대, 정제 또는 환제는 내부 투약 성분과 외부 투약 성분을 포함할 수 있으며, 후자는 내부 투약 성분 위에 놓여지는 외막 형태이다. 위장에서의 봉해를 견디어 내부 화합물이 실질적으로 손상되지 않은 상태로 십이지장으로 통과하거나 또는 방출을 지연시키도록 제공되는 장 코팅 층(enteric layer)이 2개의 성분을 분리시킬 수 있다. 이러한 장 코팅 층 또는 코팅에, 다수의 폴리머산, 셀락, 세틸 알코올 및 셀룰로스 아세테이트 등의 다양한 물질이 사용될 수 있다. 다른 예에 있어서, 상기한 조절 방출 및/또는 서방성이 바람직한 구현예들에 있어서, 정제, 환제 또는 캡슐제는 임의의 공지된 방법으로 삼투 펌프 제형(osmotic pump dosage form)으로 제형화할 수 있다.
- [0066] 또한, 경구 투여용으로 고안된 약학 조성물은 경질 또는 연질 젤라틴 캡슐제로서 제공될 수 있으며, 이때 활성 성분은, 전자의 경우에는, 칼슘 카보네이트, 칼슘 포스페이트 또는 카올린 등의 무활성 희석제와 혼합되거나, 또는 후자의 경우에는, 프로필렌 글리콜, PEG 및 에탄올 등의 물 또는 혼화성 용매, 또는 땅콩 오일, 액체 파라핀 또는 올리브 오일 등의 오일 매질과 혼합될 수 있다.
- [0067] 활성 성분(들)을 수계 현탁제의 제조에 적합한 부형제들과 혼합하여 포함하는 수계 현탁제를 제조할 수 있다. 상기한 부형제로는, 소듐 카르복시메틸셀룰로스, 메틸셀룰로스, 하이드록시프로필메틸셀룰로스, 소듐 알기네이트, 폴리비닐-피롤리돈, 트라가칸트검 및 아카시아검, 텍스트란, 폴리비닐-피롤리돈 또는 젤라틴 등의 현탁화제; 및 레시틴, 폴리옥시에틸렌 스테아레이트, 헵타데카에틸렌옥시세타놀, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 모노올리레이트 및 폴리에틸렌 소르비탄 모노올리레이트 등의 분산화제 또는 습윤제를 포함한다. 또한, 수계 현탁제는 에틸 또는 n-프로필, p-하이드록시벤조에이트 등의 한가지 이상의 보존제; 한가지 이상의 착색제, 한가지 이상의 향미제 및 한가지 이상의 감미제, 예를 들어 슈크로스, 사카린 또는 아스파르탐을 포함할 수 있다.
- [0068] 오일성 현탁제는, 활성 성분(들)을 면실유, 올리브 오일, 참깨 오일 또는 코코넛 오일 등의 식물성 오일, 또는 액체 파라핀 등의 미네랄 오일에 현탁함으로써, 제형화할 수 있다. 오일성 현탁제는 점증제, 예컨대 밀랍, 경질 파라핀 또는 세틸 알코올을 함유할 수 있다. 전술한 물질 등의 감미제 및 향미제를 첨가하여, 맛있는 경구 조제물을 만들 수 있다. 이러한 오일성 현탁제는 아스코르브산 등의 항산화제를 포함시켜 제조할 수 있다.
- [0069] 경구 투여에 적합한 수계 현탁제를 제조하는데 적합한 분산성 산제 및 과립제는, 모두 상기에 언급된 분산화제, 습윤제, 현탁화제 및 한가지 이상의 보존제와 혼합하여 활성 성분(들)을 제공할 수 있다. 감미제, 향미제 또는 착색제도 필요에 따라 존재할 수 있다.
- [0070] 경구 투여에 적합한 약학 조성물은 또한 수중유 에멀전 형태로 제조할 수 있다. 오일 상은 전술한 바와 같은 식물성 오일 또는 미네랄 오일 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 적합한 유화제는 천연적인 포스파티드, 예를 들어 콩, 레시틴, 소르비탄 모노올리레이트 또는 폴리옥시테일렌 소르비탄 모노올리레이트일 수 있다. 또한, 에멀전은 특정한 감미제 또는 향미제를 포함할 수 있다.
- [0071] 시럽제 및 엘릭서제는 감미제, 예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 소르비톨 또는 슈크로스와 제형화할 수 있다. 이러한 제형은 또한 진통제, 보존제, 향미제 및 착색제를 포함할 수 있다.
- [0072] 약학 조성물은 또한 비경구 투여용으로 고안된 형태로, 즉, 주사 또는 주입에 의해 제공될 수 있다. 주사용 수성 또는 유성 현탁제는 적합하게 멸균되며, 전술한 바와 같이 적합한 분산화제, 습윤제 및 현탁화제를 이용하여 공지된 방법에 따라 제형화할 수 있다. 1,3-부탄디올, 물, 링거액 및 등장성 소듐 클로라이드 등의 비경구적으로 허용가능한 희석제 또는 용매도 이용할 수 있다. 에탄올, 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜 등의 공용매도 이용할 수 있다. 아울러, 주사용액 또는 주입 용액에 용매로서 또는 현탁화 매질로서 통상적으로 무균, 고정유들이 사용되며, 이러한 것으로는 임의 블랜드의 고정유, 예를 들어 임의의 합성 모노- 또는 디글리세라이드를 포함할 수 있다. 또한 올레산과 같은 지방산을 주사용액 또는 주입 용액의 제조에 이용할 수 있다.

- [0073] 또한, 약학 조성물은 좌제 형태로 제시될 수 있다. 좌제는 활성 성분(들) 및 임의의 부가적인 바람직한 치료학적 제제(들)를, 실온에서는 고체이지만 체온에서는 용해되어 활성 성분(들)을 방출시키는, 적합한 무자극성 부형제와 혼합함으로써, 제형화할 수 있다. 적정 물질로는 코코아 버터와 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다.
- [0074] 국소 사용을 위해, 활성 성분(들)을 포함하는 크림, 연고, 겔, 용액 또는 현탁제를 제조할 수 있다. 본원에서, 국소 용도는 구강 세척제 및 가글제를 포함한다. 국소 제형은 공용매, 유화제, 침투 강화제, 보존제, 에몰리언트 등을 포함할 수 있다.
- [0075] 본 발명의 구현예에 따른 활성 성분은 또한 소형 단층형 낭(unilamellar vesicle) 큰 단층형 낭 및 다층형 낭(multilamellar vesicle)과 같은 리포솜 전달 시스템 형태로 약학 조성물에 제공될 수 있다. 리포솜을, 비제한적인 예로서, 포스파티딜콜린, 스펡고마이엘린, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜콜린, 카디오리핀, 포스파티딜세린, 포스파티딜글리세롤, 포스파티드산, 포스파티딜이노시톨, 디아실 트리메틸암모늄 프로판, 디아실 디메틸암모늄 프로판 및 스테아릴아민 등의 양친매성 지질, 트리글리세라이드와 같은 중성 지질 및 이들의 조합을 비롯하여, 다양한 지질로부터 만들 수 있다. 이는 콜레스테롤을 함유하거나 또는 콜레스테롤이 없을 수 있다.
- [0076] 바람직하게는, 본 발명의 구현예에 따른 약학 조성물은 경구 투여용으로 제형화된다. 약학 조성물은 제형으로 편리하게 제시될 수 있으며, 본 발명의 내용에 비추어 약학 분야에 공지된 임의의 방법으로 제조할 수 있다. 일반적으로, 약학 조성물은 활성 성분을 액체 담체 또는 미분화된 고체 담체 또는 둘다와 균일하게 친밀하게 혼합한 다음, 필요에 따라 산물을 바람직한 제시 형태로 형상화함으로써, 제조된다.
- [0077] 제형에 포함되는 치료학적 활성 성분의 양은 치료 중인 환자, 투여 방식 및 바람직한 전달 용량에 따라 결정될 것이다. 대표적인 약학 조성물은 일반적으로 활성 성분을 약 0.01 mg 내지 약 1000 mg, 약 0.1 mg 내지 500 mg, 약 1 mg 내지 약 100 mg 또는 약 10 mg 내지 약 100 mg으로 포함할 것이다.
- [0078] 본 발명의 구현예에서, 환제, 정제, 캡슐제, 경질 또는 연질 캡슐제와 같은 경구 투여용 제형 각각은 DM 등의 NADPH 산화효소 저해제를 약 10 mg 내지 약 100 mg으로 포함한다. 각 제형은 퀴니딘 등의 CYP2D6 저해제를 10 mg 내지 약 100 mg으로 더 포함할 수 있다. 각 제형은 AM 등의 CCB를 약 0.5 mg 내지 약 10 mg으로 추가적으로 포함할 수 있다.
- [0079] 본 발명의 다른 구현예에서, 환제, 정제, 캡슐제, 경질 또는 연질 캡슐제와 같은 경구 투여용 제형 각각은 CCB (예, AM): NADPH 산화효소 저해제 (예, DM)를 1:0.5 내지 1:100, 예를 들어, 1:1, 1:5, 1:10, 1:20, 1:30, 1:40, 1:50, 1:60, 1:70, 1:80, 1:90 또는 1:100의 비율로 포함한다.
- [0080] 경구 약학 조성물을 채택하는 경우, 본 발명에 사용하기 위한 텍스트로메토르판과 같은 NADPH의 적정 투여량 범위는, 매일 총 용량 약 0.1 mg 내지 약 500 mg이며, 오전에 매일 1회 투여 또는 필요에 따라 다중 투여로서 제공된다. 바람직하게는, 약 1 mg 내지 약 300 mg의 투여량 범위는 매일 1회 투여로 또는 필요에 따라 다중 투여로 제공되며, 가장 바람직하게는, 약 10 mg 내지 약 100 mg의 투여량 범위, 또는 약 20 mg 내지 약 50 mg의 투여량 범위가 매일 1회 또는 필요에 따라 다중 투여로 제공된다. 환자는 증상 또는 혈압을 적절하게 만족할만한 수준으로 제어하기 위해 상기 투여량 범위내에서 낮은 수준에서 높게 적정할 수 있다.
- [0081] 경구 약학 조성물을 채택하는 경우, 본 발명에 사용하기 위한 암로디핀 등의 CCB의 적정 투여량 범위는 매일 총 용량 약 0.01 mg 내지 약 100.0 mg이며, 오전에 매일 1회 투여 또는 필요에 따라 다중 투여로서 제공된다. 바람직하게는, 0.5 mg 내지 약 20.0 mg의 투여량 범위가 매일 1회 투여로 또는 필요에 따라 다중 투여로 제공되며, 가장 바람직하게는, 약 0.5 mg 내지 약 10.0 mg의 투여량 범위가 매일 1회 또는 필요에 따라 다중 투여로 제공된다. 환자는 증상 또는 혈압을 적절하게 만족할만한 수준으로 제어하기 위해 상기 투여량 범위내에서 낮은 수준에서 높게 적정할 수 있다.
- [0082] 본 발명은 하기 비제한적인 예를 참조하여 보다 충분히 이해될 것이며, 당해 기술 분야의 당업자라면 하기 실시예가 첨부된 청구항에서 보다 충분히 기술된 본 발명에 대한 예에 불과함을 쉽게 이해할 것이다.
- [0083] **실시예 1**
- [0084] 텍스트로메토르판 및 암로디핀의 단일 요법 및 조합 요법에 대한 동물 실험
- [0085] 텍스트로메토르판과 암로디핀을 단일요법 및 조합 요법으로서 고혈압 동물 모델인 자발성 고혈압 랫에 대한 항고혈압 효과와 허용성을 측정하여 비교하기 위해, 생체내 실험을 수행하였다. 동일한 실험을 다른 NADPH 산화효소 저해제 및 CCB를 이용하여 수행할 수 있다.

[0086] 재료 및 방법

[0087] 동물

[0088] 본 평가는 미국 국립 보건원에서 발행한 실험 동물의 관리와 사용에 대한 지침(NIH 공개번호 85-23, 1996년 개정안)에 따라 수행하며, 현행 대만 재향 종합 병원법에 따른다. 18주령의 정상 혈압의 수컷 Wistar Kyoto (WKY)과 자발적인 고혈압 랫 (SHR)을 본 실험에 사용하였다.

[0089] 무처리 WKY와 SHR을 암로디핀 (1, 5 mg/kg/day) 또는 텍스트로메토르판 (1, 5, 25 mg/kg/day) 및 고정 용량 조합 (AM+DM)을 처리한 SHR과 4주간 이러한 용량의 매트릭스 조합을 이용하여 비교하였다. SHR에 대한 G1~G12와 대조군으로서 WKY에 대한 G0를 비롯하여, 모든 처리군들을 표 1에 열거한다.

[0090] 표 1. 처리군

표 1

처리*	A0	A1	A2
D0	G1	G5	G9
D1	G2	G6	G10
D2	G3	G7	G11
D3	G4	G8	G12

[0092] * A0: 약물 사용 안함; A1: 암로디핀 1 mg/kg/day; 및 A2: 암로디핀 5 mg/kg/day 처리.

[0093] D0: 약물 사용 안함; D1: 텍스트로메토르판 1 mg/kg/day; D2: 텍스트로메토르판 5 mg/kg/day; 및 D3: 텍스트로메토르판 25 mg/kg/day 처리.

[0094] 실험 설계

[0095] 표 1에 기술된 바와 같이, 랫을 하기와 같이 몇개의 실험 그룹으로 나누었다:

[0096] G0: WKY, 대조군 (약물을 사용하지 않은 정상 혈압 랫, n=10)

[0097] G1: SHR (약물을 사용하지 않은 고혈압 랫, n=10)

[0098] G2: SHR + D1 (DM 1 mg/kg/day, n=10)

[0099] G3: SHR + D2 (DM 5 mg/kg/day, n=10)

[0100] G4: SHR + D3 (DM 25 mg/kg/day, n=10)

[0101] G5: SHR + A1 (AM 1 mg/kg/day, n=10)

[0102] G6: SHR + A1+ D1 (AM 1 mg/kg/day + DM 1 mg/kg/day, n=10)

[0103] G7: SHR + A1+ D2 (AM 1 mg/kg/day + DM 5 mg/kg/day, n=10)

[0104] G8: SHR + A1+ D3 (AM 1 mg/kg/day + DM 25 mg/kg/day, n=10)

[0105] G9: SHR + A2 (AM 5 mg/kg/day, n=10)

[0106] G10: SHR + A2+ D1 (AM 5 mg/kg/day + DM 1 mg/kg/day, n=10)

[0107] G11: SHR + A2+ D2 (AM 5 mg/kg/day + DM 5 mg/kg/day, n=10)

[0108] G12: SHR + A2+ D3 (AM 1 mg/kg/day + DM 25 mg/kg/day, n=10)

[0109] 대조군 랫(G0 및 G1)에는 위관영양을 통해 비히클로서 메틸셀룰로스 1% 용액 (1 ml/kg)을 투여하였다. AM와 DM을 1% 메틸셀룰로스 용액에 현탁하고, 1 ml/kg으로 위관영양으로 투여하였다. 화합물들 모두 4주간 투여하였다. 동맥 혈압 측정과 채혈은 처리 전과, 약물 투여 후 2째 및 4째 주에 수행하였다.

[0110] 혈압 측정

[0111] 동맥 혈압을 tail-cuff 방법을 이용하여 자동 혈압계로 의식이 있는 랫에서 측정하였다. 측정 전에, 동물을 가온 챔버(warming chamber) (약 34℃) 안에 30분간 두었다. 수행 목적은 동물을 차분하게 하고, 꼬리 혈관을 팽

창시하기 위한 것이다. 동맥 혈압은 각 동물에서 3번 이상 측정하였다. 혈압의 변화는 기준값에 대한 퍼센트로 나타낸다.

[0112] 생화학

[0113] 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, ALT, AST 및 크레아티닌을 자동 생화학 분석기를 사용하여 측정한다 (Spotchem TM SP 4410 Kyoto Daiichi Kagaku Co. Ltd.).

[0114] 혈청 산화 스트레스 및 염증 마커

[0115] 산화제 시스템은 슈퍼옥사이드 디스뮤타제, 카탈라제 및 글루타티오닌 퍼옥시다제 등의 효소, 알부민, 세룰로플라스민 및 페리틴 등의 거대분자, 아스코르브산, 알파-토코페롤, 베타-카로텐, 환원형 글루티오닌, 요산 및 빌리루빈 등의 소형 분자를 포함한다. 내인성의 식품 유래 항산화제의 총 합이 시스템의 총 산화방지 활성이다. 혈장, 혈청, 뇨, 타액 또는 세포 용해물의 총 산화 방지력 또는 총 산화 방지 상태 (TAS, mmol/L)는 시판되는 키트, 예를 들어 산화 방지 분석 키트 (Cat No. 709001, Cayman) 또는 총 산화 방지 상태(Randox Lab Ltd)를 이용하여 키트 프로토콜에 따라 측정할 수 있으며, 결과는 mmol/L로 표시한다.

[0116] 또한, 혈청 퍼옥시니트레이트 (3-니트로티로신, 3-NT), 8-하이드록시데옥시구아노신 (8-OHdG), 엔도텔린-1 (ET-1), 슈퍼옥사이드 디스뮤타제 (SOD) 및 글루타티온 퍼옥시다제 (GPx) 활성 (IU/g Hb)들도 분석한다.

[0117] 활성 대사산물 NO의 존재 시에 니트로티로신이 만들어진다. 퍼옥시나이트라이드의 생성 등의 다양한 경로들이 니트로티로신 생산을 유도한다. 니트로티로신은 퍼옥시나이트라이드 산화의 안정적인 최종 산물이기 때문에, 이의 혈장 농도 측정이 생체내 NO-의존적인 손상의 마커로서 유용할 수 있다. 니트로티로신 존재는 죽상경화성 플라그, 셀리악병, 류마티스 관절염, 만성 신부전 및 패혈증 쇼크 등의 다양한 염증성 프로세스에서 검출되고 있다. 또한, 니트로티로신은 염증의 마커로서 확인된 바 있다. 정상 혈장에서는 니트로티로신이 낮고 검출 불가능한 수준으로 존재한다. 혈장 및 기타 생물 샘플에서의 니트로티로신의 정량적인 측정은 니트로티로신 ELISA 키트 (Hycult Biotech, HK501) 등의 시판 키트를 이용하여 수행할 수 있다.

[0118] 8-OHdG는 반응성 산소 및 질소 종에 의한 DNA의 산화 손상으로 인해 생성되며, 산화 스트레스에 대한 확정된 마커로서 사용된다. 8-OH-dG 증가는 고혈압 뿐만 아니라 다수의 다른 병태, 예를 들어 암 및 당뇨병과 관련있다. 혈장 및 기타 생물 샘플에서의 8-OHdG의 정량적 측정은 8-하이드록시-2-데옥시 구아노신 EIA 키트 (Cayman, Cat No. 589320 또는 589321) 등의 시판 키트를 이용하여 수행할 수 있다.

[0119] 엔도텔린-1 (ET-1)은, 21개의 아미노산 잔기로 구성된 펩타이드로서, 가장 강력한 공지된 혈관수축제이다. ET-1은 평활근, 섬유모세포에 대해 강력한 효과를 나타내며, 다수의 질환 프로세스, 특히 심혈관 질환에 관여되는 것으로 알려져 있다. 울혈성 심부전, 신부전 및 폐 고혈압에 중요한 것으로 확인된 바 있다. 혈장과 기타 생물 샘플에서의 8-OHdG의 정량적인 측정을 엔도텔린-1 분석 키트 (L) (IBL, Code No. 27165) 등의 시판 키트를 이용하여 수행할 수 있다.

[0120] 또한, 시판되는 효소-연계된 면역흡착 분석 키트 (Quantikine, R&D Systems, USA)를 제조사의 지침에 따라 사용하여 3-NT, 8-OHdG, ET-1을 2 세트 측정할 수 있다.

[0121] 이러한 분석들은 MMP의 여러가지 에피토프에 대한 2가지의 항체를 이용하는 2부위 ELISA 샌드위치 포맷을 기반으로 한다. 96웰 마이크로플레이트에 MMP 항체를 미리 코팅한다. 마이크로플레이트에 혈장 샘플을 첨가하고, 호르세라디쉬 퍼옥시다제가 접합된 검출 항체를 첨가한다. 그런 후, 테트라메틸벤지딘 (TMB) 기질을 사용한다. 황산을 첨가하여 퍼옥사이드-TMB 반응을 정지시키고, 마이크로플레이트 스펙트로포토미터에서 450 nm에서 발색을 측정한다. 즉, 샘플 100 μ l를 워킹 표준 물질을 사용하여 2세트로 분석하고, 마이크로플레이트 리더 (Asys-Hitech, Austria)에서 측정한다. 표준 그래프를 구축한 후, 샘플의 값을 소프트웨어를 사용하여 마이크로플레이트 리더에서 결정한다 (version 3-1, Asys-Hitech, Austria).

[0122] IU/g Hb으로 표시되는 SOD 활성과 GPx 활성을 시판 키트 (Ransod and Ransel, 각각 Randox Lab Ltd, Crumlin, UK)를 이용하여 분석한다.

[0123] 지질 과산화 산물, 즉, 말론디알데하이드 (MDA)는 티오바르비투르산 (TBA) 분석으로 평가한다. 본 분석 혼합물은 혈청 0.1 mL, 0.9% NaCl 0.4 mL, 3% 소듐 도데실설페이트 (SDS) 0.5 mL, 및 TBA 시약 (0.8% TBA 수용액과 아세트산이 동일한 양으로 포함됨) 3 mL로 구성되며, 혼합물을 95°C에서 75분간 가열한 후, 차가운 0.9% NaCl 1 mL을 첨가하고, n-부탄올 5 mL로 추출한다. 이를 4°C에서 730 g에서 15분간 원심분리한 후, 유기층을 1,1,3,3-테트라메톡시프로판올을 외부 표준물질로 사용하여 532 nm에서 스펙트로포토미터를 사용하여 분석한다. 그 결과

는 MDA $\mu\text{mol/L}$ 로 나타낸다.

[0124] 측정 시간대

[0125] 동맥 혈압과 채혈은 처리 전과, 약물 투여 후 2주 및 4주째에 측정한다 (도 6).

[0126] 통계 분석

[0127] 결과는 평균 \pm SD로 표시한다. 분포 정규성을 Lilliefors 테스트를 이용한 Kolmogorov-Smirnov 테스트로 체크하였다. 통계 평가는 분산 분석 (ANOVA)을 이용하여 수행하였고, 사후 비교(post hoc comparison)는 최소 유의차 (LSD) 테스트로 수행하였다. 데이터가 정상 분포에 있지 않는 경우, 통계 평가는 ANOVA (Kruskall-Wallis) 및 Mann-Whitney U 테스트를 이용하여 수행하였다. $p < 0.05$ 일때 유의한 차이인 것으로 간주하였다.

[0128] 표 2는, 랫에 블랭크 처리 (메틸셀룰로스 1% 용액)하기 전과 후에 측정된, 대조군, 즉 WKY 및 SHR의 혈압 측정치를 열거한다. 표 2에 나타낸 바와 같이, 혈압 측정치는 일반적으로 2번 측정시에 동일하게 유지되었다.

[0129] 표 2. 대조군의 혈압 측정치

표 2

[0130]

	WKY	SHR
SBP(처리 전)	126.42	202.82
SBP(처리 후)	124.16	209.76
DBP(처리 전)	91.64	165.48
DBP(처리 후)	94.00	178.90
HR(처리 전)	292.08	401.80
HR(처리 후)	335.04	418.28
MBP(처리 전)	103.00	178.20
MBP(처리 후)	103.96	189.04

[0131] 도 1a-d에 나타낸 바와 같이, DM을 3가지 투여량, 즉 1 mg/kg/day, 5 mg/kg/day 및 25 mg/kg/day로 단독 처리하였을 때, SHR에서 모두 혈압이 낮아지는 결과가 나타났다. 그러나, 명확한 투여량 반응은 관찰되지 않았다.

[0132] 도 2a-d에 나타낸 바와 같이, AM을 2가지 투여량, 즉 1 mg/kg/day 및 5 mg/kg/day로 단독 처리하였을 때, SHR에서 혈압이 낮아지는 결과가 나타났다. 혈압 강하 효과는 AM을 고용량으로 처리시 더 강하였다.

[0133] 도 3a-d에 나타낸 바와 같이, 여러가지 용량 수준으로 조합한 DM 및 AM의 조합 처리시, DM과 AM 각각의 혈압 강화 효과를 급격하게 향상시켰다.

[0134] 도 4a-4d 및 도 5a-5b에서 명확하게 예시되는 바와 같이, 특히 수축기 혈압(SBP)으로 측정된 바와 같은, DM 및 AM의 혈압 강하 효과는, DM과 AM의 단독 효과를 합한 결과 보다 크다. 이는, DM과 AM이 혈당 강하에 상승적으로 작용함을 의미한다.

[0135] 실시예 2

[0136] 내피세포-의존적인 혈관이완 실험

[0137] 고혈압 치료에 있어서의, 텍스트로메토르판의 혈압 강하 효과 또는 칼슘 채널 차단제와의 상승적인 효과의 기전은, 내피세포-의존적인 혈관이완 실험으로 연구하며, 이 실험에서는 약물 반응에 따른 랫 대동맥 환의 등척성 긴장(isometric tension)을 측정한다. 구체적으로, 검사 약물, 예를 들어 텍스트로메토르판, 암로디핀 또는 엑판과 암로디핀의 조합물의, 높은 KCl-유발성 수축 효과를, 예를 들어, 내피세포-의존적인 및 내피세포-독립적인 이완제 작용제인 아세틸콜린 (ACh) 및 소듐 니트로프루시드 (SNP) 각각 또는 1-수용체 작용제 페닐에프린 (PE)에 대한 누적 농도-반응 곡선을 측정함으로써, 평가한다.

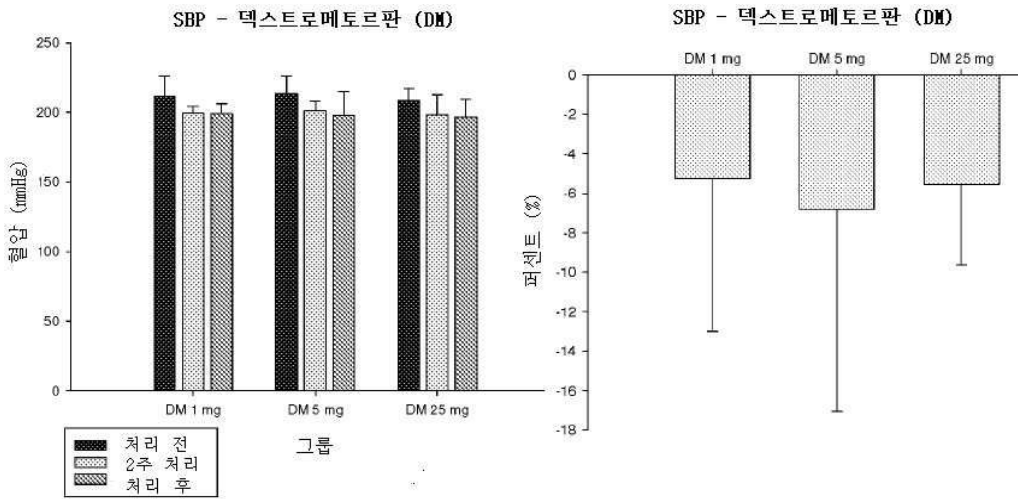
[0138] 대동맥 환 준비

[0139] 랫을 펜토바르비탈(60 mg/체중kg, i.p.)로 마취시키고, 하향 흉부 대동맥을 절단하여, 작은 고리형(폭 3-5 mm)으로 적축하여, 다음과 같은 조성의 정상 크랩 생리식염수가 들어 있는 5 ml 장기 수조에 넣는다: NaCl 118.2mM, KCl 4.7mM, CaCl₂ · 2H₂O 2.5mM, KH₂PO₄ 1.2mM, MgCl₂ 1.2mM, 글루코스 11.7mM, NaHCO₃ 25.0mM 및 EDTA 0.026mM. 수조의 용액을 95% 산소와 5% 이산화탄소로 37°C에서 계속 탈기한다 (pH 7.4).

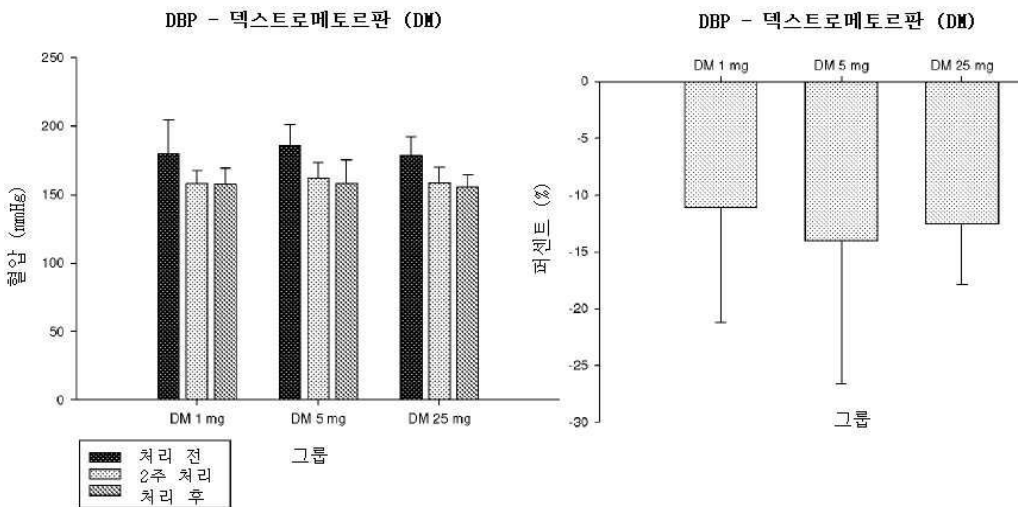
- [0140] 등척성 긴장 (g)은 Mac Lab 기록 시스템과 연결된 힘 변위 변환기(force displacement transducer) (ADI Instruments, Australia)로 측정한다. 그런 후, 대동맥 환을 1 g의 최적 기본 긴장(optimal basal tension)으로 서서히 신장시키고, 45분간 평형화한다. 이 기간 동안, 수조 용액을 15분마다 교체하고, 필요한 경우 기본 톤(basal tone)을 1 g으로 재조정한다.
- [0141] 그런 다음, 대동맥 환을 KCl 용액 (고 농도 K^+ , 80 mM)으로 5분간 10분 간격으로, 2번의 연속적인 동일 수축이 달성될 때까지 - 조직 안정화의 증거 - 반복 자극한다.
- [0142] 약리학 실험
- [0143] 강한 K^+ 반응을 해소(washout)시킨 후, 대동맥환을 20분간 검사 약물, 예를 들어 텍스트로메토르판, 암로디핀 또는 텍스트로메토르판과 암로디핀의 조합물, 또는 비히클 (대조군)과 인큐베이션하고, 내피세포-의존적인 및 내피세포-독립적인 이완제 작용제 아세틸콜린 (ACh, 10^{-10} 내지 10^{-5} M) 및 소듐 니트로프루시드 (SNP, 10^{-11} 내지 10^{-6} M) 각각, 또는 1-수용체 작용제 페닐에프린 (PE, 10^{-10} 내지 10^{-5} M)에 대한 누적적인 농도-반응 곡선을 측정한다. ACh 및 SNP에 대한 이완 반응을 테스트하기 위해, 대동맥환을 PE (1 μ M)로 미리 수축시킨다.
- [0144] 또한, 검사 약물의 농도는 약물의 생리학적으로 달성가능한 혈장 농도를 기초로 선택한다. 검사 약물의 효능과 관련된 기전을 특정화하기 위한 실험에서, 약물 또는 비히클과 인큐베이션하기 전에, 대동맥 환에 다양한 약리학 물질 5분간 노출시킨다.
- [0145] 표시된 경우, 혈관의 내막 표면을 블런트 포셉으로 조심스럽게 문질러, 내피세포를 제거한다. ACh (1 μ M)가 PE로 사전-수축시킨 대동맥 환을 10% 미만으로 이완시키는 경우, 내피세포가 효과적으로 제거된 것으로 간주한다.
- [0146] 검사 약물의 효과에 대한 산화 질소, 프로스타사이클린 및 사이클릭 GMP 이완제 경로의 가능한 역할을 조사하기 위해, N-니트로-L-아르기닌 메틸 에스테르 (L-NAME, 10 μ M) - eNO 저해제, 인도메타신 (10 μ M) - 사이클로옥시게나제 저해제, 및 메틸렌 블루 (10 μ M) - 사이클릭 GMP 저해제 각각의 지속적인 존재 하에 함께 인큐베이션 한 대동맥 환에서 ACh에 대한 농도-반응 곡선을 측정한다.
- [0147] 약물의 효능에 내피세포 유래 과분극화 인자 (EDHF) 또는 포타슘 (K^+) 채널이 기여하는지를 확인하기 위해, KPSS (4.8-20 mM) 중의 KCl 농도를 증가시킴으로써 대동맥 환을 부분적으로 탈분극시킨 후, ACh에 대한 농도-반응 곡선을 수행한다.
- [0148] 통계 분석
- [0149] 등급화된 농도의 PE에 대한 대동맥 환의 수축 반응을 각 조직에서 높은 K^+ 의 최대 수축 효과%로 나타낸다.
- [0150] ACh 또는 SNP의 농도 증가에 따른 혈관이완 효과는 최대 PE (10^{-6} M) 농도의 감소 %로 나타낸다.
- [0151] 각 실험 조건의 농도-반응 곡선을 작성하고, 이로부터, 최대 수축(Cmax) 또는 최대 이완(Rmax) 및 기록된 최대 수축 또는 이완의 50%를 달성하는 검사 약물(-log 몰로 나타냄)의 농도(pEC50) 값들을 도출한다(Prism Version 2.0, GraphPad Software, USA).
- [0152] 당해 기술 분야의 당업자라면, 광의의 본 발명의 사상으로부터 이탈되지 않는 범위내에서 전술한 구현에 변화를 가할 수 있음이 자명할 것이다. 따라서, 본 발명은 개시된 구체적인 구현으로 한정되지 않으며, 첨부된 청구항에 기술된 바에 따른 본 발명의 사상과 범위내에서의 변형을 포괄하는 것으로 이해된다.

도면

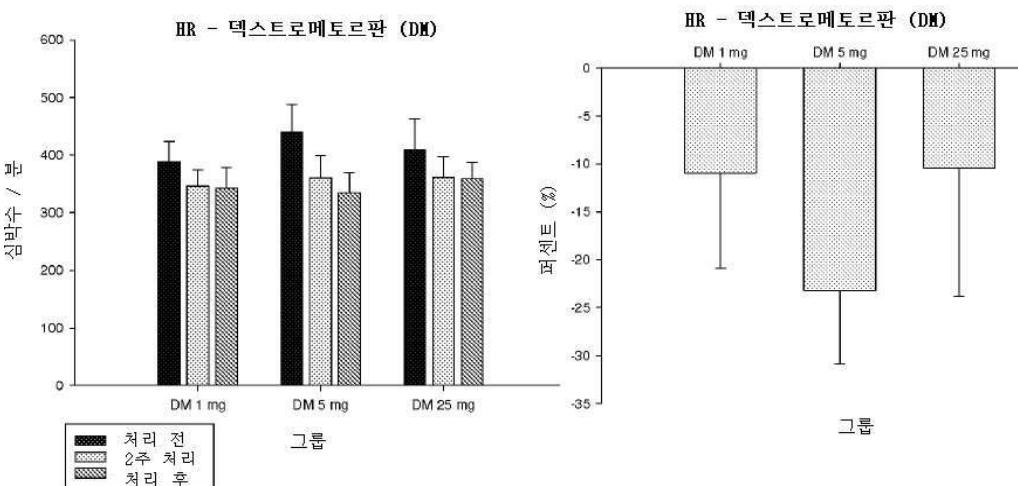
도면1a



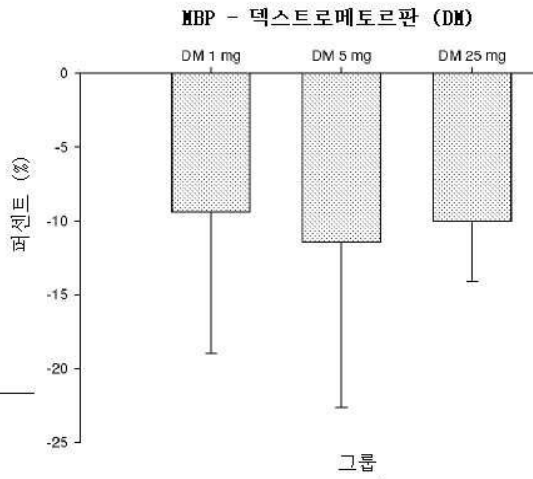
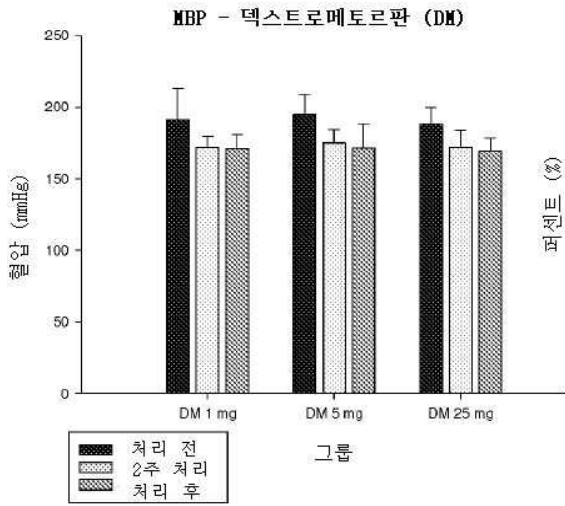
도면1b



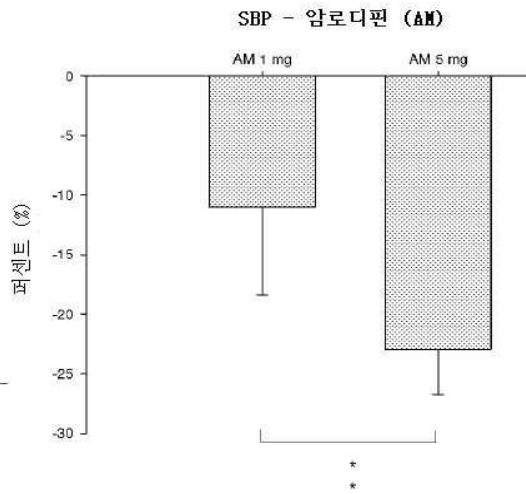
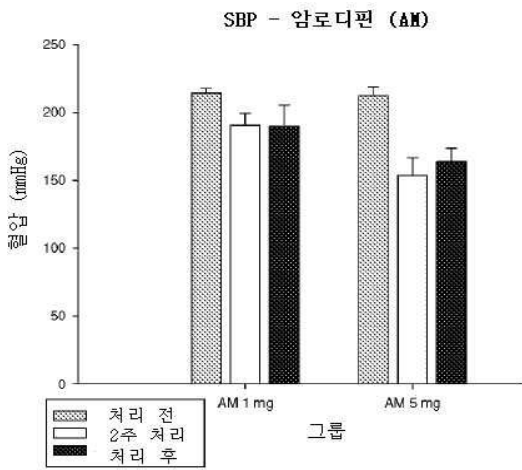
도면1c



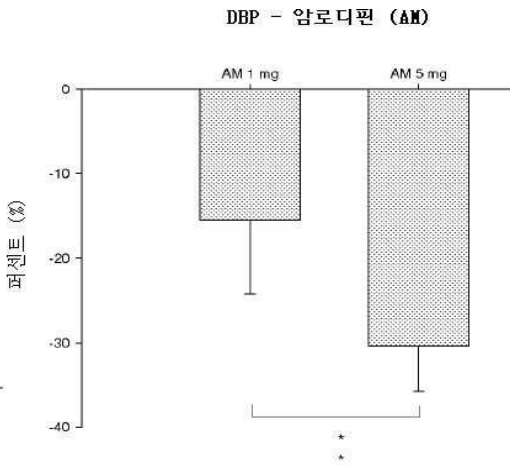
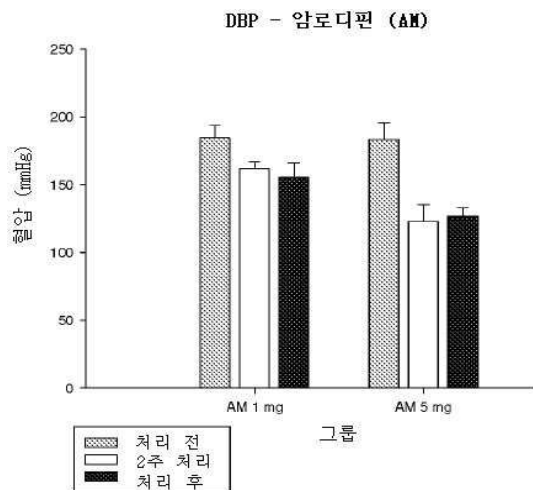
도면1d



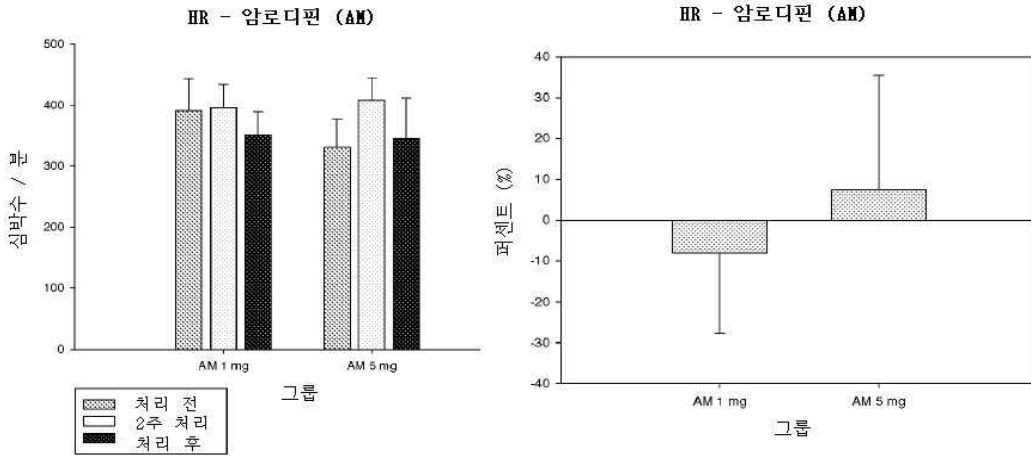
도면2a



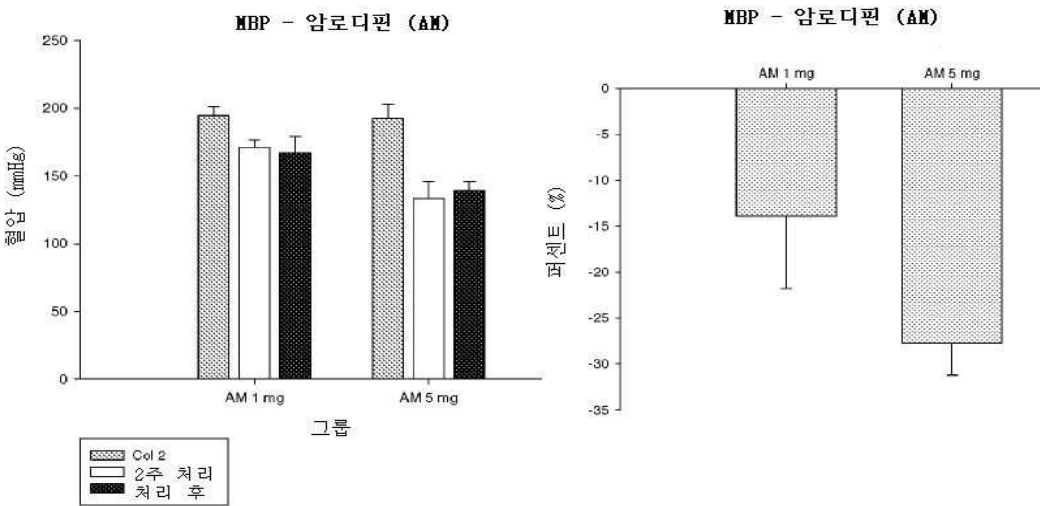
도면2b



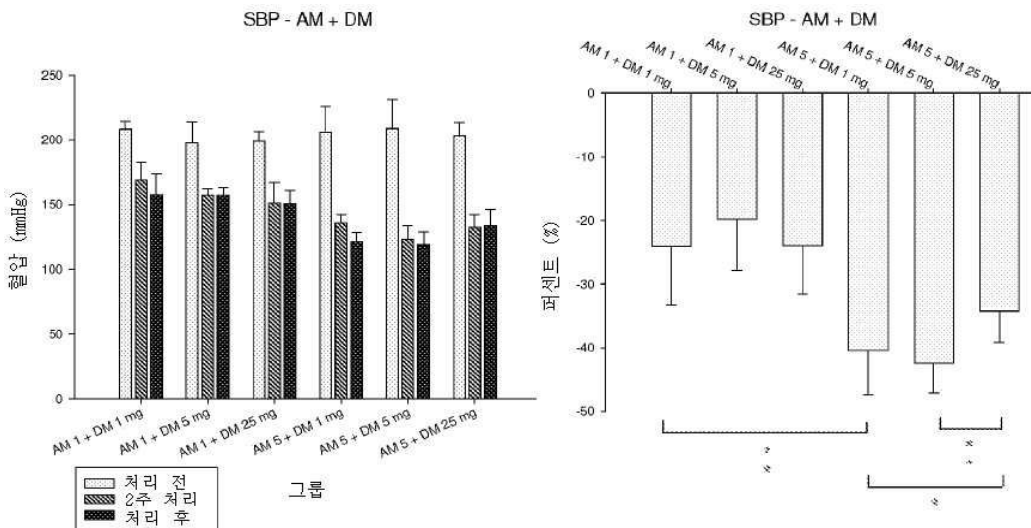
도면2c



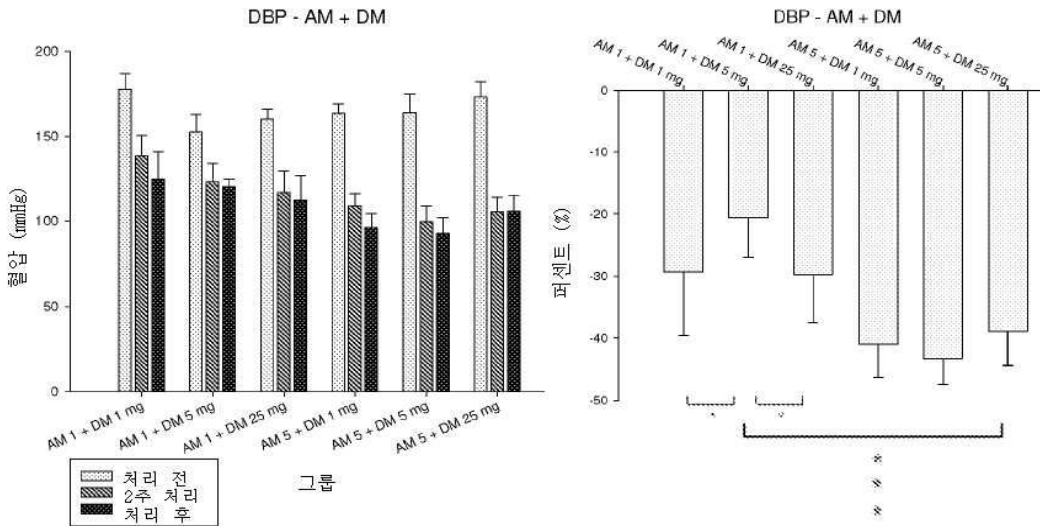
도면2d



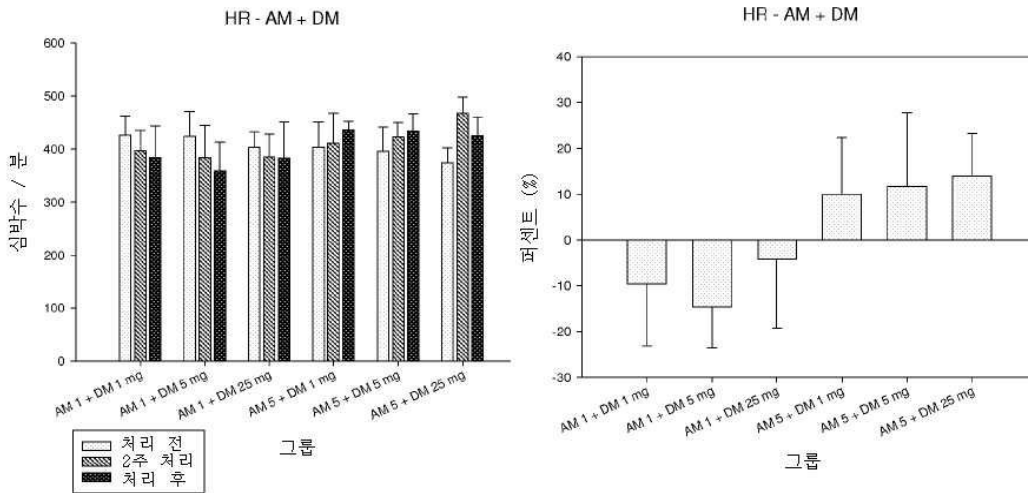
도면3a



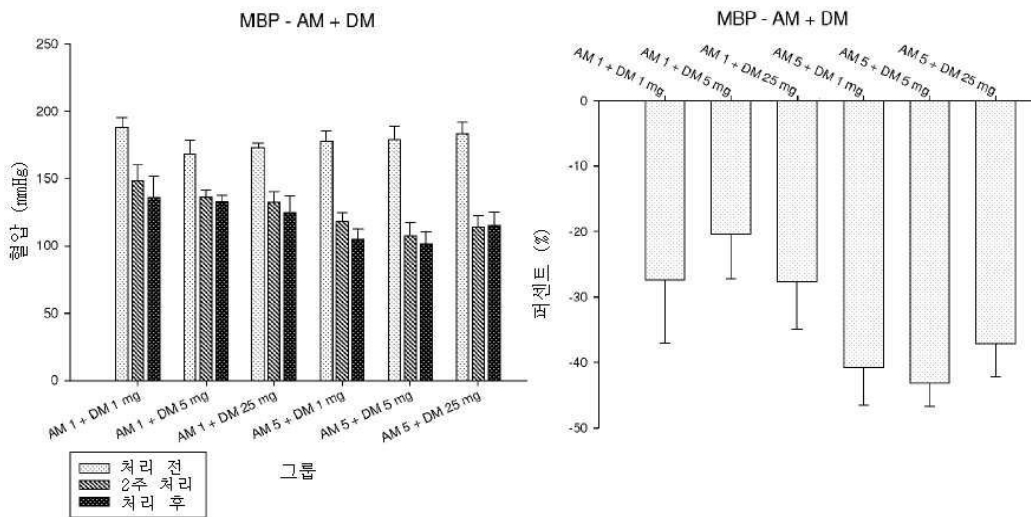
도면3b



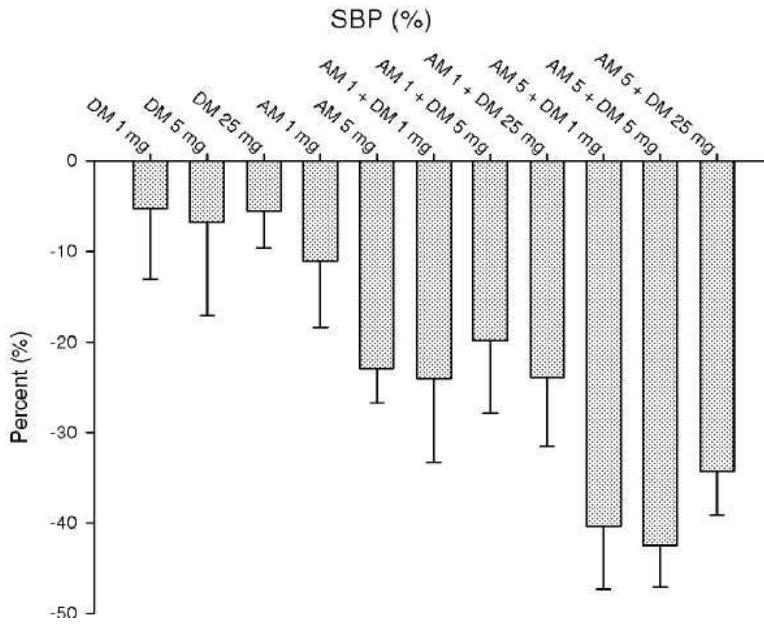
도면3c



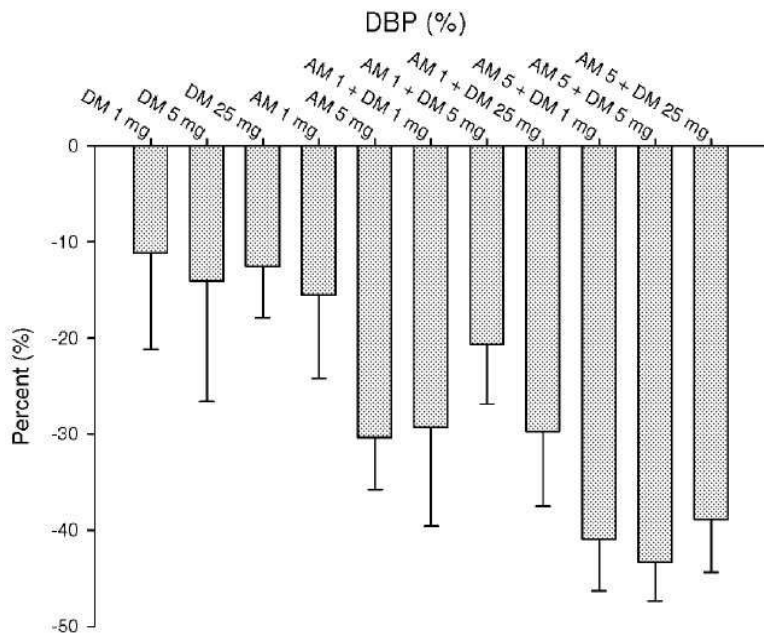
도면3d



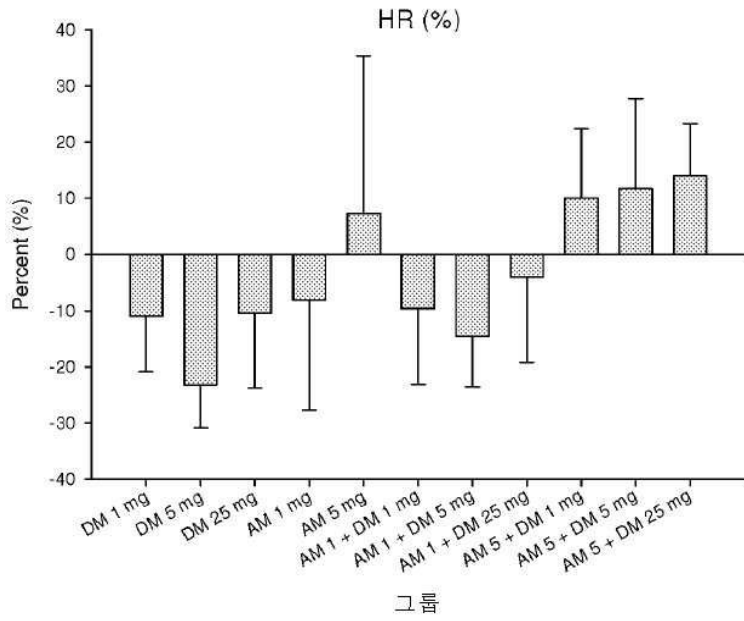
도면4a



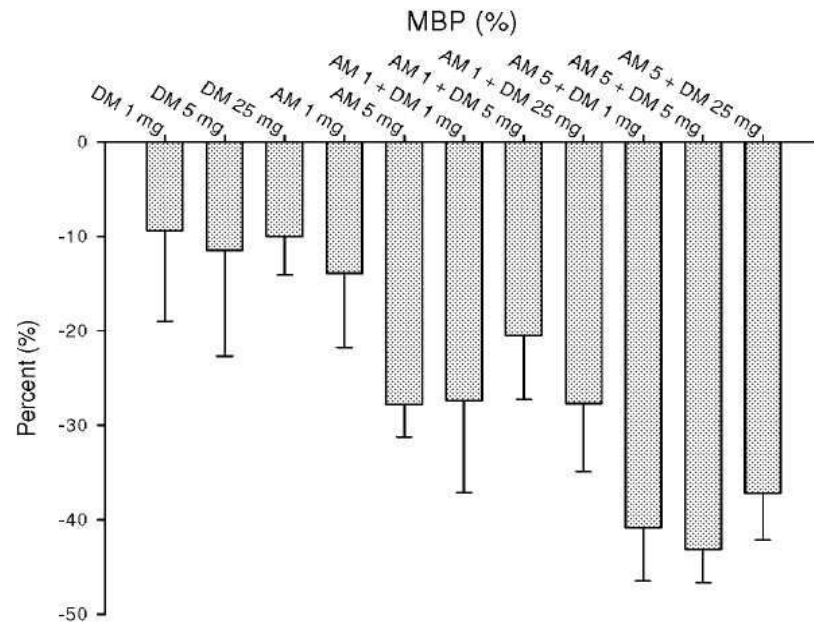
도면4b



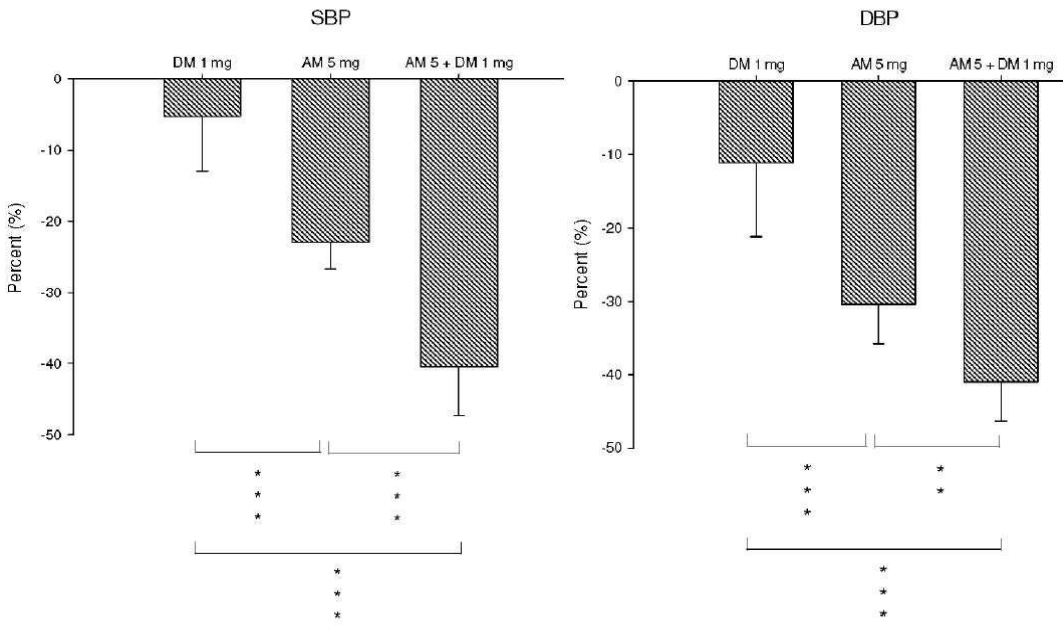
도면4c



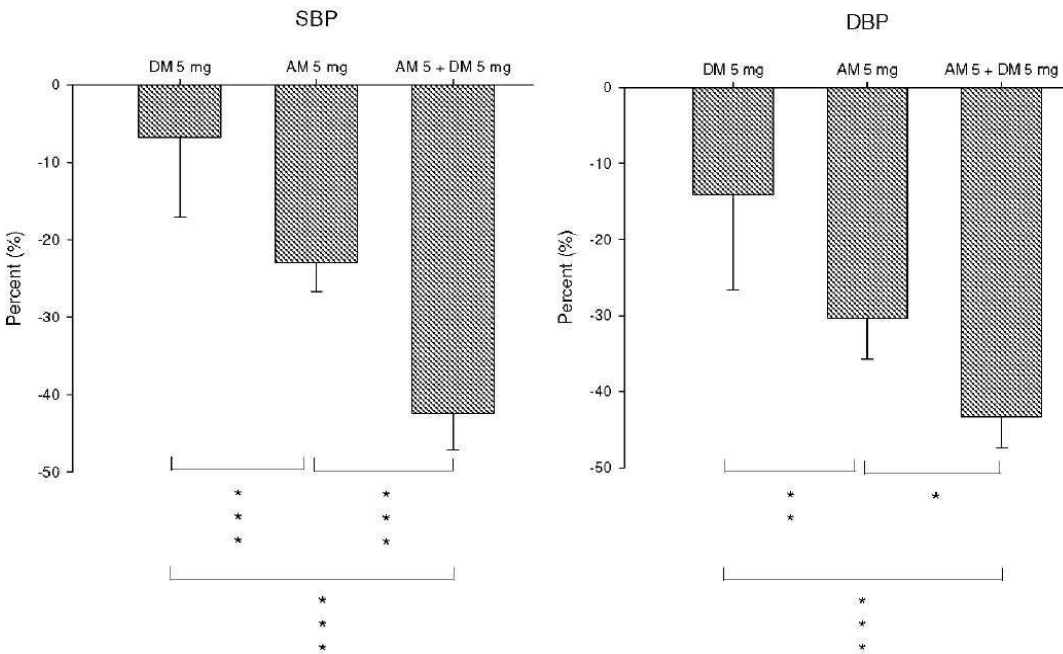
도면4d



도면5a



도면5b



도면6

엔드포인트 (처리 전, 2주째 및 4주째 측정)

- * 혈압
- * 혈청 산화 스트레스 및 염증 마커:
3-NT, 8-OhHdG, MMP, MDA, SOD, GPx, TAS.
- * 생화학:
TC, LDL-C, ALT, AST, 크레아티닌 등

