

김두규

심사관 : 이재정

(54) 단위 제형

요약

본 발명은 선택성이 매우 큰 포스포디에스테라제(PDE) 효소 억제제 및 약제의 제조에 사용하기 위한 이것의 용도에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 약 1 mg~약 20 mg의 단위 용량으로 약제로 혼입할 경우 성기능 장애의 치료에 유용한 시클릭 구아노신 3',5'-모노포스페이트 특이적 포스포디에스테라제 유형 5(PDE5)의 강력한 억제제에 관한 것이다.

명세서

기술분야

관련 출원에 대한 상호 참조

본 출원은 1999년 4월 30일에 출원한 가특허 출원 제60/132,036호에 대해 우선권을 주장한다.

본 발명은 선택성이 매우 큰 포스포디에스테라제(PDE) 효소 억제제 및 약제 단위 제형에 사용하기 위한 이것의 용도에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 약제로 혼입할 경우 성기능 장애의 치료에 유용한 시클릭 구아노신 3',5'-모노포스페이트 특이적 포스포디에스테라제 유형 5(PDE5)의 강력한 억제제에 관한 것이다. 본 발명에서 설명하는 단위 제형은 선택적 PDE5 억제제를 특징으로 하고, 이에 따라 PDE5의 억제가 요구되는 치료 부위에, 다른 포스포디에스테라제 효소의 억제로부터 발생하는 유해한 부작용을 최소화 또는 제거하면서 이익을 제공한다.

배경기술

시클릭 구아노신 3',5'-모노포스페이트 특이적 포스포디에스테라제(cGMP-특이적 PDE) 억제제의 생화학적, 생리적 및 임상적 효과는 평활근, 신장, 지혈, 염증 및/또는 내분비 기능의 조절이 요구되는 다양한 질병 상태에서 이들이 유용함을 제시한다. 유형 5 cGMP-특이적 포스포디에스테라제(PDE5)는 혈관 평활근의 주요 cGMP 가수분해 효소이며, 음경 해면체에서 발견된다는 것이 보고되어 있다(Taher 등의 문헌[*J. Urol.*, 149, pp. 285A(1993)] 참조). 따라서, PDE5는 성기능 장애의 치료에 있어서 흥미로운 대상이다(Murray의 문헌[*DN&P*6(3), pp. 150-56(1993)] 참조).

PDE5 억제제를 제공하는 약제는 현재 입수가 가능하며, 상표명 비아그라(등록상표명)로 시판되고 있다. 비아그라(등록상표명)의 활성 성분은 실테나필이다. 이 약제는 25 mg, 50 mg 및 100 mg의 실테나필 정제와 패키지 삽입물을 포함하는 제품으로 시판된다. 패키지 삽입물은 실테나필이 다른 공지된 포스포디에스테라제보다 더욱 강력한(PDE1 억제제의 80배 이상, PDE2, PDE3 및 PDE4 억제제의 1,000배 이상) PDE5 억제제임을 설명한다. PDE5에 대한 실테나필의 IC₅₀은 3 nM

[*Drugs of the Future*, 22(2), pp. 138-143(1997)] 및 3.9 nM(Boolel 등의 문헌[*Int. J. of Impotence*, 8, pp. 47-52 (1996)]로 보고되었다. 실테나필은 PDE3보다 PDE5에 대해 4,000배의 선택성을 가지며, PDE6보다 PDE5에 대해 단지 10배의 선택성을 갖는다고 기술되어 있다. PDE6에 대한 선택성이 상대적으로 적은 것은 색각 능력과 관련된 이상의 기초가 된다고 이론화되어 있다.

실테나필이 막대한 상업적 성공을 거두었지만, 안면 조홍(발생률 10%)을 비롯한 상당히 유해한 부작용으로 인해 기대에 미치지 못하였다. 이러한 유해 부작용은 시력 이상 환자, 고혈압을 앓는 환자와, 가장 중요하게는 유기 질산염을 사용하는 사람이 실테나필을 사용하는 것을 제한한다(Welds 등의 문헌[*Amer. J. of Cardiology*, 83(5A), pp. 21(C)-28(C)(1999)] 참조).

유기 질산염을 복용하는 환자에게 실테나필을 사용하면 혈압을 임상적으로 유의적인 수준으로 저하시켜 환자를 위험한 상태로 몰아갈 수 있다. 따라서, 실테나필의 패키지 라벨이 임의의 형태의 유기 질산염(예를 들어, 니트로글리세린, 이소소르

비드 모노니트레이트, 이소소르비드 니트레이트, 에틸트리틸 테트라니트레이트) 및 기타 산화질소 공여체를 정기적 또는 간헐적으로 병용하는 것에 대해 엄격한 금기를 제시하고 있는 이유는, 실데나필이 질산염의 혈압강하 효과를 증강시키기 때문이다. 이에 대해서는 C.R. Conti 등의 문헌[Amer. J. of Cardiology, 83(5A), pp. 29C-34C(1999)]을 참조할 수 있다. 따라서, 실데나필의 유용성에도 불구하고, 성기능 장애를 치료하는 데 유용한 개선된 약제를 동정할 필요성이 있다.

Daugan의 미국 특허 제5,859,006호는 cGMP-특이적 PDE, 즉 PDE5의 강력한 억제제인 특정 테트라시클릭 유도체를 개시한다. 미국 특허 제5,859,006호에 개시된 화합물의 IC₅₀은 1 nM~10 μM인 것으로 보고되어 있다. 이러한 화합물의 경구 투여량은 표준 성인 환자(70 kg)의 경우 1일에 0.58 mg이다. 따라서, 단위 제형(정제 또는 캡슐)은 0.2~400 mg의 활성 화합물인 것으로 보고되어 있다. 미국 특허 제5,859,006호에 개시된 화합물에 기인한 심각한 유해 부작용은 개시되어 있지 않다.

발명의 상세한 설명

본 발명자들은 그러한 테트라시클릭 유도체 중 하나인 (6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-헥사히드로-2-메틸-6-(3,4-메틸렌 디옥시페닐)-피라지노[2',1':6,1]피리도[3,4-b]인돌-1,4-디온, 또는 (6R-트랜스)-6-(1,3-벤조디옥솔-5-일)-2,3,6,7,12,12a-헥사히드로-2-메틸피라지노-[1',2':1,6]피리도[3,4-b]인돌-1,4-디온으로 명명되기도 하고, 본 명세서에서는 화합물 I로 칭해지는 이 화합물을, 현재 시판되는 PDE5 억제제인 실데나필과 관련된 부작용 없이 효과적인 치료를 제공하는 단위 용량으로 투여할 수 있음을 발견하였다. 본 발명 이전에는 이러한 부작용은 PDE5 억제제의 고유 현상인 것으로 간주되었다.

중요한 것은, 본 발명자들이 임상 실험을 통해 감수성이 있는 사람에게서 조홍(flushing)을 유발하는 경향이 감소된 효과적인 약제를 제공할 수 있다는 것 역시 발견하였다는 것이다. 가장 놀라운 점은, 또한 이 약제를 투여하면 PDE5 억제제와 유기 질산염의 복합적 효과와 관련된 부작용이 임상적으로 미미한 수준으로 유발된다는 것이다. 따라서, 한 때 PDE5 억제제를 함유하는 약제에 필수적이라고 믿어왔던 금기는 본 명세서에서 개시하는 대로 화합물 I을 약 1 mg~약 20 mg의 단위 용량으로 투여하는 경우 불필요한 사항이 되었다. 따라서, 본 발명은 이전에 치료할 수 없었던 사람이나, 심각한 부작용을 앓던 사람, 예를 들어 질산염 요법을 요하는 사람에서와 같이 심혈관 질환을 앓는 사람, 성기능 장애 치료 시작 석달 이상 전에 심근 경색을 앓았던 사람 및 유형 1 충혈성 심장 발작을 앓는 사람 또는 시력 이상이 있는 사람의 효과적인 성기능 장애 치료법을 제공한다.

본 발명은 화합물 I을 단위 제형으로 제공한다. 즉, 본 발명은 약 1 mg~약 20 mg의 화합물 I을 포함하는 경구 투여에 적합한 약제 단위 제형을 제공한다.

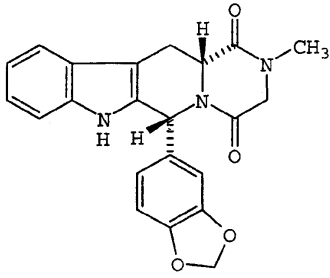
발명의 개요

본 발명은 약 1 mg~약 20 mg의 (6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-헥사히드로-2-메틸-6-(3,4-메틸렌 디옥시페닐)-피라지노[2',1':6,1]피리도[3,4-b]인돌-1,4-디온을 경구 투여에 적합한 단위 제형으로 포함하는, 사람에게 약학적 용도로 사용하기 위한 약제의 제형을 제공한다.

본 발명은 또한 선택적 PDE5 억제제 약 1 mg~약 20 mg을 함유하는 경구용 제형을 이를 필요로 하는 환자에게 필요할 때 1일 총 투여량 20 mg 이하로 투여하는 것을 포함하는 PDE5의 억제가 요구되는 상태를 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 선택적 PDE5를 약 1 mg~약 20 mg의 용량으로 포함하는 경구용 제형을 성기능 장애의 치료에 사용하는 용도를 제공한다.

본 발명에 의해 치료될 수 있는 특수한 상태로는 남성의 발기 부전 및 여성의 성기능 장애, 특히 여성의 성적 흥분 장애로도 알려진 여성의 흥분 장애를 들 수 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.

특히, 본 발명은 하기 화학식의 화합물 약 1 mg~약 20 mg을 포함하는, 경구 투여에 적합한 단위 제형인 약제 단위 용량 조성물 및 이 약제 단위 용량 조성물을 이용한 성기능 장애의 치료 방법에 관한 것이다.



상세한 설명

본 명세서에서 개시하고 설명한 본 발명의 목적을 위해, 아래의 용어 및 약어는 다음과 같이 정의된다.

"용기"란 약제를 보관, 운송, 분배 및/또는 취급하기에 적합한 임의의 용기 및 마개를 의미한다.

"IC₅₀"이란 특정 PDE 효소(예를 들어, PDE1c, PDE5 또는 PDE6)를 억제하는 화합물의 능력의 척도이다. IC₅₀은 단일 용량-반응 실험에서 50% 효소 억제율을 유도하는 화합물의 농도이다. 화합물의 IC₅₀ 값의 측정은 Y. Cheng 등의 문헌 [*Biochem. Pharmacol.*, 22, pp. 3099-3108(1973)]에 개괄적으로 기술된 공지된 시험관내 방법을 이용하여 쉽게 수행할 수 있다.

"패키지 삽입물"이란 약제를 투여하는 방법의 설명과 함께, 의사, 약사 및 환자가 이 약제의 사용과 관련하여 정보에 입각한 결정을 하도록 하는 데 필요한 안전성 및 효능 데이터를 제공하는 약제에 첨부되는 정보를 의미한다. 패키지 삽입물은 일반적으로 약제의 "라벨"로서 간주된다.

"경구용 제형"이란 일반적으로 경구 투여되는 약제를 일컫는 의미로 사용된다. 경구용 제형은 액상 제제, 정제, 캡슐 및 껍질과 같은 형태를 포함하는 것으로 당업자에게 공지되어 있다.

"시력 이상"이란 PDE6 억제에 의해 유발되는 것으로 생각되는 청색-녹색 시력을 특징으로 하는 비정상적인 시력을 의미한다.

"조홍"이란 약제의 복용으로 유발되는 혈관 확장에 기인하는 안면과 목의 에피소드적 홍조를 말하는 것으로, 일반적으로 안면 및 목 전체에 걸쳐 열기가 수반되며, 때로는 발한이 수반되기도 한다.

"유리형 약제"란 중합체 공침물에 친밀하게 매립되지 않은 고형의 약제 입자를 의미한다.

본 발명에서 청구하는 제형은 패키지 삽입물, 용기 및 약 1 mg~약 20 mg의 화합물 I을 함유하는 제형을 포함하는, 사람에게 약학적 용도로 사용하기 위한 제품으로서 포장되는 것이 바람직하다.

패키지 삽입물은 약제를 투여하는 방법의 설명과 함께, 의사, 약사 및 환자가 이 약제의 사용과 관련하여 정보에 입각한 결정을 하도록 하는 데 필요한 안전성 및 효능 데이터를 제공한다. 패키지 삽입물은 일반적으로 약제의 "라벨"로서 간주된다. 제품에 포함된 패키지 삽입물은 화합물 I이 PDE5의 억제제가 요구되는 상태의 치료에 유용하다는 것을 표시한다. 패키지 삽입물은 또한 약 1 mg~약 20 mg의 단위 제형을 필요할 때 1개 이상, 1일 최대 총 투여량 20 mg 이하로 투여하는 지침을 제공한다. 1일 투여량은 약 5~20 mg인 것이 바람직하고, 약 5~약 15 mg인 것이 보다 바람직하다. 10 mg의 제형을 1일 1회 투여하는 것이 가장 바람직하다.

바람직한 치료 대상 상태로는 성기능 장애(남성 발기 부전 및 여성 성기능 장애, 보다 바람직하게는 여성 흥분 장애(FAD)를 포함함)를 들 수 있다. 바람직한 치료 대상 상태는 남성 발기 부전이다.

중요한 점은, 본 패키지 삽입물은 망막 질환을 앓는 환자의 성기능 장애, 예를 들어 당뇨병성 망막증 또는 색소성 망막염을 앓고 있는 환자, 또는 유기 질산염을 사용하고 있는 환자의 성기능 장애를 치료하기 위한 약제의 용도를 지지한다는 것이다. 따라서, 패키지 삽입물은 바람직하게 이러한 상태와 관련된 금기, 특히 제형을 유기 질산염과 함께 투여하는 것에 대한 금기를 포함하지 않는다. 보다 바람직하게, 패키지 삽입물은 또한 망막 질환, 특히 색소성 망막염과 관련된 어떠한 주의나

경고, 그리고 시력 이상 경향이 있는 사람과 관련된 어떠한 주의나 경고도 포함하지 않는다. 바람직하게는, 패키지 삽입물은 또한 이 제형을 투여한 환자의 2% 이하, 바람직하게는 1% 이하, 가장 바람직하게는 0.5% 이하의 조홍 발생률을 보고한다. 조홍 발생률은 PDE5 억제제를 함유하는 이전의 약제보다 현저한 개선을 나타낸다.

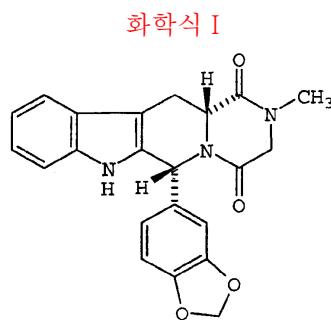
제품에 사용되는 용기는 제약 업계에 통상적인 것이다. 일반적으로, 용기는 블리스터 팩, 포일 팩, 유리 또는 플라스틱 병 및 부수적인 캡 또는 마개, 또는 환자나 약사가 사용하기에 적합한 기타의 제품이다. 바람직하게는, 용기는 1~1000개의 고체 제형, 보다 바람직하게는 1~500개의 고체 제형, 가장 바람직하게는 5~30개의 고체 제형을 수용할 수 있는 크기로 만든다.

경구용 제형은 당업자에게 알려져 있으며, 예를 들면 액상 제제, 정제, 캡슐 및 껍질과 같은 형태가 있다. 제형은 고체 제형, 특히 약 1 mg~약 20 mg의 화합물 I을 포함하는 정제가 바람직하다. 경구용의 임의의 약학적으로 허용 가능한 부형제가 이러한 제형의 제조에 적합하다. 적합한 약제의 제형의 예로는, 예를 들어 Bulter의 미국 특허 5,985,326호에 기술된 공침물 형태가 있으며, 이 특허 문헌은 본 명세서에서 참고 인용한다. 바람직한 구체예에서, 본 발명의 단위 제형은 공침물 형태의 화합물 I이 없는 고체이며, 오히려 유리형 약제 형태로서 고체 화합물 I을 함유한다.

바람직하게는, 정제는 락토스, 미정질 셀룰로스, 전분, 탄산칼슘, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산, 탈크 및 콜로이드성 이산화규소와 같은 일반적으로 안전하다고 인식되는 약학 부형제를 포함하고, 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA(1990)]에 기술된 바와 같은 표준 제약 기법을 이용하여 제조한다. 이러한 기법의 예로는 습식 과립화한 후 건조 및 분쇄하고, 막 코팅을 하거나 하지 않고 정제로 압축하는 기법; 건식 과립화한 후 분쇄하고 막 코팅을 하거나 하지 않고 정제로 압축하는 기법; 건조 블렌딩한 후 막 코팅을 하거나 하지 않고 정제로 압축하는 기법; 정제로 주입성형하는 기법; 습식 과립화한 후 건조하고 젤라틴 캡슐로의 충전하는 기법; 건조 블렌드를 젤라틴 캡슐로 충전하는 기법; 또는 현탁액 및 용액을 젤라틴 캡슐로 충전하는 기법을 들 수 있다. 일반적으로 고체 제형의 표면에는 음각 엠보스 또는 각인된 식별 마크가 있다.

본 발명은 세밀한 실험 및 임상 시험과, 이전에는 PDE5 억제제의 지표로 간주되었던 부작용이 화합물 및 단위 용량의 선택에 의해 임상적으로 미미한 수준으로 감소될 수 있다는 예기치 않은 관찰에 기초한다. 이러한 뜻밖의 관찰은 화합물 I을 단위 제형당 약 1 mg~약 20 mg 포함하고, 경구 투여시 이전에는 피할 수 없는 것으로 생각되었던 바람직하지 않은 부작용을 최소화하는 단위 제형의 개발을 가능하게 하였다. 상기 부작용으로는 화합물 I을 단독으로 또는 유기 질산염과 함께 투여할 때 발생하는 안면 조홍, 시력 이상 및 심한 혈압 감소가 있다. 약 1 mg~약 20 mg의 단위 제형으로 투여되는 화합물 I이 PDE6에 미치는 효과는 극미하기 때문에 이는 또한 당뇨병성 망막증 또는 색소성 망막염과 같은 망막 질환을 앓고 있는 환자에게 선택적 PDE5 억제제의 투여를 가능하게 한다.

화합물 I의 구조식은 다음과 같다.



인체 임상 시험에서 상기 화학식 I의 화합물은 유기 질산염과 함께 투여 시 수축 혈압에 최소한의 영향을 미친다는 것이 입증되었다. 대조적으로, 실데나필은 위약에 비해 수축 혈압을 4배 이상 감소시키는데, 이는 비아그라(등록상표명) 삽입물에 특정 환자에 대한 경고와 금기를 포함하게 한다.

아래 표는 본 명세서에서 설명하는 절차에 의해 측정된 화학식 I의 화합물에 대한 PDE5와 PDE6의 IC₅₀ 값을 기재한 것이다.

화합물	PDE5 IC ₅₀ (nM)	PDE6 IC ₅₀ (nM)	PDE6/PDE5
I	2.5	3400	1360

화학식 I의 화합물은 또한 PDE1c에 대한 IC₅₀ 값이 10,000이고, PDE1c/PDE5의 비가 4,000이다.

제제

사람 PDE5 제제

사람 PDE5의 재조합체 제조는 미국 특허 제5,702,936호(본 명세서에서 참고 인용함)의 실시예 7에 기술된 것과 실질적으로 동일하게 수행하였으나, 단 이용된 효모 형질전환 벡터가 V. Price 등의 문헌[*Methods in Enzymology*, 1985, pp. 308-318(1990)]에 기재된 기본 ADH2 플라스미드에서 유래한 것이고, 효모 ADH1 프로모터와 종결 서열이 아니라, 효모 ADH2 프로모터와 종결 서열을 삽입하였으며, 사카로마이세스 세레비지에(*Saccharomyces cerevisiae*) 숙주가 1998년 8월 31일에 수탁번호 ATCC 74465로 미국 모식균 수집소(미국 버지니아주 매너서스 소재)에 기탁된 프로테제-결핍 균주 BJ2-54라는 점이 상이하다. 형질전환된 숙주 세포는 미량의 금속 및 비타민을 함유하는 pH 6.2의 2x SC-leu 배지에서 배양하였다. 24시간 후, 글리세롤을 함유하는 YEP 배지를 최종 농도가 2x YEP/3% 글리세롤이 되게 첨가하였다. 약 24시간 후, 세포를 회수하여 세척한 후 -70°C에 보관하였다.

세포 펠릿(29 g)을 동부피의 용해 완충액(25 mM Tris-Cl(pH 8), 5 mM MgCl₂, 0.25 mM 디티오프라이톨, 1 mM 벤자미딘 및 10 μM ZnSO₄)으로 얼음 위에서 해동시켰다. 세포를 마이크로플루이다이저에서 20,000 psi로 N₂를 이용하여 용해시켰다. 용해물을 원심분리하고 0.45 μm의 1회용 필터에 통과시켜 여과하였다. 여과물을 150 ml의 Q 세파로스 패스트 플로우(파마시아) 컬럼에 적용하였다. 이 컬럼을 1.5배 부피의 완충액 A(20 mM Bis-Tris 프로판(pH 6.8), 1 mM MgCl₂, 0.25 mM 디티오프라이톨 및 10 μM ZnSO₄)로 세정하고, 완충액 A 중의 125 mM NaCl의 단계 농도 구배로 용출시킨 뒤, 완충액 A 중의 125~1000 mM NaCl의 직선 농도 구배로 용출시켰다.

직선 농도 구배로부터 얻은 활성 분획을 완충액 B(20 mM Bis-Tris 프로판(pH 6.8), 1 mM MgCl₂, 0.25 mM 디티오프라이톨, 10 μM ZnSO₄ 및 250 mM KCl) 중의 180 ml의 세라믹 히드록시아파타이트 컬럼에 적용하였다. 로딩한 후, 컬럼을 2배 부피의 완충액 B로 세정하고, 완충액 B 중의 0~125 mM의 인산칼륨의 직선 농도 구배로 용출시켰다. 활성 분획을 모아서 60% 황산암모늄으로 침전시키고 완충액 C(20 mM Bis-Tris 프로판(pH 6.8), 125 mM NaCl, 0.5 mM 디티오프라이톨 및 10 μM ZnSO₄)에 재현탁시켰다. 이 집합체(pool)를 140 ml의 세파크릴 S-300 HR 컬럼에 적용하고 완충액 C로 용출시켰다. 활성 분획을 50% 글리세롤로 희석시키고 -20°C에서 보관하였다. 이렇게 얻은 제제는 SDS-PAGE에 의하면 순도가 약 85%였다.

PDE 활성 분석

PDE5의 활성은 당업계의 표준 분석으로 측정할 수 있다. 예를 들면, 임의의 PDE의 비활성은 다음과 같이 측정할 수 있다. 활성탄 분리 기법을 이용하는 PDE 분석은 Loughney 등의 문헌[*The Journal of Biological Chemistry*, 271:796-806 (1996)]에 기술된 것과 실질적으로 동일하게 수행하였다. 이 분석에서는 PDE5 활성은 존재하는 PDE5 활성의 양에 비례하여 [³²P]cGMP를 [³²P]5'GMP로 전환시킨다. 그 후, [³²P]5'GMP는 뱀 독액의 5'-뉴클레오티다제의 작용에 의해 유리 [³²P] 포스페이트 및 비표지된 아데노신으로 정량적으로 전환된다. 따라서, 유리된 [³²P] 포스페이트의 양은 효소 활성에 비례한다. 이 분석은 40 mM Tris-Cl(pH 8.0), 1 M ZnSO₄, 5 mM MgCl₂ 및 0.1 mg/ml의 소 혈청 알부민을 함유하는(최종 농도) 반응 혼합물 100 μl 중에서 30°C에서 수행한다. PDE5는 기질의 총 가수분해가 < 30%가 되도록 하는 양으로 존재한다(직선 분석 조건). 이 분석은 기질(1 mM [³²P]cGMP)의 첨가로 개시시키고, 혼합물을 12분 동안 항온처리한다. 그 뒤, 75 μg의 크로탈러스 아트록스(*Crotalus atrox*) 독액을 첨가하고, 3분 더 항온처리한다(총 15분). 반응은 활성탄(0.1 M NaH₂PO₄(pH 4) 중의 25 mg/ml 현탁액) 200 ml를 첨가하여 중단시킨다. 원심분리(750 x g에서 3분간)하여 활성탄을 침전시킨 후, 상청액 시료를 취하여 신틸레이션 카운터에서 방사능을 측정하고 PDE5 활성을 계산한다. 이 제제의 비활성은 단 백질 1 mg당 분당 가수분해 cGMP 약 3 μmole이었다.

소 PDE6 제제

소 PDE6는 스트라스버그 소재의 INSERM U338의 N. Virmaux 박사가 제공하였다. 소 망막은 Virmaux 등의 문헌[*FEBS Letters*, 12(6), pp. 325-328(1971)] 및 A. Sitaramayya 등의 문헌[*Exp. Eye Res.*, 25, pp. 163-169(1977)]에 기재한 대로 준비하였다. 간단히 설명하면, 다른 언급이 없다면, 모든 조작은 저온 및 암적색광 아래에서 수행하였다. 안구를 분쇄한 후 저온 및 암광에서 4시간 이하 동안 두었다.

소 망막 외절(ROS)의 준비는 기본적으로 Schichi 등의 문헌[*J. Biol. Chem.*, 224:529(1969)]에 기술된 절차를 따라 수행하였다. 일반적인 실험에서는, 35개의 소 망막을 40% 이하로 수크로스가 첨가된, 0.066 M 포스페이트 완충액(pH 7.0) 35 ml로 막자사발에서 분쇄한 후, 포터(Potter) 균질기에서 균질화하였다(20회의 상하 스트로크). 이 현탁액을 25,000 x g에서 20분간 원심분리하였다. 펠릿을 0.006 M 포스페이트 완충액(수크로스 40% 용액) 7.5 ml에서 균질화하고, 포스페이트 완충액(수크로스 비함유) 7.5 ml 중에서 조심스럽게 층을 만들었다. 원심분리는 스윙-아웃 로터에서 45,000 x g로 20분간 수행하여 펠릿을 만들었는데, 이것은 바닥에서 흑색의 띠, 그리고 0.066 M 포스페이트 -- 40% 수크로스/0.066 M 포스페이트 계면에서 적색의 띠(미정제 ROS)를 나타내었다. 계면의 적색 물질을 분리하여 포스페이트 완충액으로 희석시키고 회전 침강시켜 펠릿으로 만들고, 전술한 바와 같이 완충된 40% 수크로스에 재분배시켰다. 이 절차를 펠릿이 형성되지 않을 때까지 2회 또는 3회 반복하였다. 정제된 ROS를 포스페이트 완충액으로 세정하고, 마지막으로 25,000 x g에서 20분간 회전 침강시켜 펠릿을 만들었다. 그 후, 모든 물질은 사용하기 전까지 동결시킨 상태로 보관하였다.

저장성 추출물은 분리된 ROS를 10 mM Tris-Cl(pH 7.5), 1 mM EDTA 및 1 mM 디티오에리트릴에 현탁시킨 다음, 100,000 x g에서 30분간 원심분리하여 제조하였다.

이 제제는 비활성이 단백질 1 mg당 분당 가수분해 cGMP 약 35 nmole이었다.

스포도프테라 푸지페르다(*Spodoptera fugiperda*) 세포(Sf9) 유래의 PDE1c 제제

세포 펠릿(5 g)을 용해 완충액(50 mM MOPS(pH 7.4), 10 μ M ZnSO₄, 0.1 mM CaCl₂, 1 mM DTT, 2 mM 벤자미딘 HCl, 펩스타틴, 루펨틴 및 아프로테닌 각 5 μ g/ml) 20 ml로 얼음 위에서 해동시켰다. 온도를 10°C 이하로 유지하면서 세포를 프렌치 압력 셀(SLM-아민코)에 통과시켜 용해시켰다. 이렇게 얻은 세포 균질물을 유형 TI45 로터를 이용하는 벡만(Beckman) 초원심분리기 내 4°C에서 36,000 rpm으로 45분간 원심분리하였다. 상청액을 버리고, 생성된 펠릿을 마이크로팁을 구비한 바이브라셀(VibraCell) 튜너를 이용하여 3 x 30초간 초음파 분쇄하여 가용화 완충액(1 M NaCl, 0.1 M MgCl₂, 1 mM CaCl₂, 20 μ g/ml 칼모듈린 및 1% 설포베타인 SB12(Z3-12)를 함유하는 용해 완충액) 40 ml로 재현탁시켰다. 이는 냉각을 위해 분쇄한 얼음/염 혼합물에서 수행하였다. 초음파 분쇄 후, 혼합물을 4°C에서 30분간 저속으로 혼합하여 막 결합 단백질의 가용화를 완료하였다. 이 혼합물을 유형 TI45 로터를 이용하는 벡만 초원심분리기에서 36,000 rpm으로 45분간 원심분리하였다. 상청액을 10 μ g/ml의 칼파인 억제제 I 및 II를 함유하는 용해 완충액으로 희석시켰다. 침전된 단백질을 벡만 JA-10 로터에서 9,000 rpm으로 20분간 원심분리하였다. 이어서, 회수된 상청액을 미메틱 블루 AP 아가로스 크로마토그래피에 적용하였다.

미메틱 블루 AP 아가로스 컬럼을 작동시키기 위해, 먼저 수지를 베드 부피의 10배의 1% 폴리비닐피롤리딘(즉, 분자량 40,000)을 가하여 비특이적인 결합 부위를 차단함으로써 보호하였다. 약하게 결합된 PVP-40은 베드 부피의 10배의 2 M NaCl 및 10 mM 시트르산나트륨(pH 3.4)으로 세정하여 제거하였다. 가용화된 PDE1c3 시료를 첨가하기 전에 컬럼을 컬럼 베드 부피의 5배의 컬럼 완충액 A(50 mM MOPS(pH 7.4), 10 μ M ZnSO₄, 5 mM MgCl₂, 0.1 mM CaCl₂, 1 mM DTT, 2 mM 벤자미딘 HCl)로 평형화시켰다.

가용화된 시료를 2 ml/분의 유량으로 컬럼에 적용하였으며, 총 시료가 12시간에 4~5회 적용되도록 재순환시켰다. 로딩을 완료한 후, 컬럼을 컬럼 부피의 10배의 컬럼 완충액 A로 세정한 뒤, 컬럼 부피의 5배의 컬럼 완충액 B(20 mM 5'-AMP를 함유하는 컬럼 완충액 A)로 세정한 다음, 컬럼 부피의 5배의 컬럼 완충액 C(50 mM MOPS(pH 7.4), 10 μ M ZnSO₄, 0.1 mM CaCl₂, 1 mM 디티오트레이틀 및 2 mM 벤즈아미딘 HCl)로 세정하였다. 효소를 3개의 연속 집합체로 용출시켰다. 제 1 집합체는 1 mM cAMP를 함유하는 컬럼 베드 부피의 5배의 컬럼 완충액 C로 세정한 효소로 구성되었다. 제 2 집합체는 1 M NaCl을 함유하는 베드 부피의 10배의 컬럼 완충액 C로 세정한 효소로 구성되었다. 마지막 집합체는 1 M NaCl 및 20 mM cAMP를 함유하는 베드 부피의 5배의 컬럼 완충액 C로 세정한 효소로 구성되었다.

활성 효소 집합체를 모아서 통상적인 겔 여과 크로마토그래피 또는 히드록시-아파타이트 수지 상의 크로마토그래피를 통해 시클릭 뉴클레오티드를 제거하였다. 시클릭 뉴클레오티드를 제거한 후, 효소 집합체를 25 mM MOPS(pH 7.4), 10 μ M

ZnSO₄, 500 mM NaCl, 1 mM CaCl₂, 1 mM 디티오프레이탈, 1 mM 벤자미딘 HCl을 함유하는 투석 완충액에 대하여 투석한 다음, 50% 글리세롤을 함유하는 투석 완충액에 대하여 투석하였다. 이 효소는 드라이아이스를 이용하여 급속 냉각시켜 -70°C에서 보관하였다.

이렇게 얻은 제제는 SDS-PAGE에 의하면 순도가 약 > 90%였다. 이들 제제의 비활성은 단백질 1 mg당 분당 가수분해 cAMP 약 0.1~1.0 μmol이었다.

IC₅₀ 측정

PDE5 및/또는 PDE1c 및 PDE6의 경쟁적 효소 억제제의 능력을 평가하는 데 유용한 매개변수는 억제 상수, 즉 K_i이다. 이 매개변수는 IC₅₀을 측정함으로써 근사값을 알 수 있는데, IC₅₀은 아래의 조건 하에 단일 용량-반응 실험에서 50% 효소 억제율을 유도하는 억제제 농도이다.

억제제의 농도는 항상 효소의 농도보다 훨씬 더 높아서, 유리 억제제 농도(미지 농도)는 총 억제제 농도(기지 농도)와 거의 같다.

억제제 농도의 적절한 범위를 선택한다(즉, K_i보다 최소한 몇 배 이상 및 몇 배 이하의 억제제 농도가 실험에 이용된다). 일반적으로, 억제제 농도는 10 nM~10 μM이다.

효소 및 기질의 농도는 억제제 부재 하에 기질의 20% 미만이 소모되도록 선택하여(예를 들어 최대 기질 가수분해가 10~15%가 되도록 한다), 효소 활성이 분석 전반에 걸쳐 거의 일정하도록 한다.

기질의 농도는 미카엘리스(Michaelis) 상수(K_m)의 1/10보다 적다. 이러한 조건 하에서, IC₅₀은 K_i와 거의 근접하게 된다. 이는 이러한 2 가지 매개변수와 관련된 쉹-프루소프(Cheng-Prusoff) 식에 의한 것이다: IC₅₀ = K_i(1 + S/K_m), S/K_m의 값이 작을 때 (1 + S/K_m)은 약 1에 근접한다.

IC₅₀ 값은 데이터를 효소 억제제 상호작용의 적절한 모델에 대입하여 데이터 포인트로부터 추정한다. 이러한 상호작용은 억제제와 기질과의 단순한 경쟁과 관련이 있는 것으로 알려져 있으며, 2-매개변수 모델을 이용할 수 있다.

$$Y = A/(1 + x/B)$$

상기 식에서, Y는 억제제 농도 x에서 측정된 효소 활성이고, A는 억제제 부재 하의 활성이며, B는 IC₅₀이다. 이에 대해서는, Y. Cheng 등의 문헌[Biochem. Pharmacol., 22:3099-3108(1973)]을 참조할 수 있다.

전술한 바와 같이, 본 발명의 억제제가 PDE5 및 PDE6 제제의 효소 활성에 미치는 영향은 규모 면에서 서로 근본적으로 상이하지만, IC₅₀ 값의 경우 실질적으로 동일한 결과를 나타내는 2종의 분석 중 어느 하나를 통해 평가하였다. 양 분석은 Wells 등의 문헌[Biochem. Biophys. Acta, 384:430(1975)]의 절차를 변형한 것이다. 제1 분석은 50 mM Tris(pH 7.5), 3 mM Mg 아세테이트, 1 mM EDTA, 50 μg/ml 뱀 독액 뉴클레오티다제 및 50 nM [³H]-cGMP(아머삼)를 함유하는 총 부피 200 μl로 수행하였다. 본 발명의 화합물을 분석에서 최종 농도 2%로 존재하는 DMSO에 용해시켰다. 이 분석물을 30°C에서 30분간 항온처리하고, 10 mM Tris(pH 7.5), 10 mM EDTA, 10 mM 테오필린, 0.1 mM 아데노신 및 0.1 mM 구아노신을 함유하는 800 μl를 첨가하여 반응을 중단시켰다. 이 혼합물을 0.5 ml의 QAE 세파텍스 컬럼 상에 로딩하여 0.1 M 포름산염(pH 7.4)으로 용출시켰다. 용출된 혼합물의 방사능은 옵티페이스 하이세이프(Optiphase Hisafe) 3에서 신틸레이션 카운팅하여 측정하였다.

제2의 마이크로플레이트 PDE 분석은 멀티스크린 플레이트 및 진공 분기관을 이용하여 수행하였다. 분석물(100 μl)은 50 mM Tris(pH 7.5), 5 mM Mg 아세테이트, 1 mM EDTA 및 250 μg/ml의 뱀 독액 뉴클레오티다제를 함유하였다. 반응 혼합물의 다른 성분들은 전술한 바와 같다. 항온처리 후반부에, 총 부피의 분석물을 여과에 의해 QAE 세파텍스 마이크로컬럼 플레이트 상에 로딩하였다. 유리 방사능 활성은 물 200 μl로 용출시켰으며, 이 중 50 μl의 분액을 전술한 바와 같이 신틸레이션 카운팅으로 분석하였다.

하기 실시예는 청구된 발명의 제제를 추가로 설명하기 위해 제시한 것이다. 본 발명의 범위가 단지 하기 실시예만으로 구성된다고 간주해서는 안된다.

실시예

실시예 1

화합물 I은 미국 특허 제5,859,006호에 기술된 대로 제조하였고, 습식 과립화를 이용하여 정제로 제형화하였다. 포비돈을 물에 용해시켜 10% 용액을 만들었다. 활성 화합물, 미정질 셀룰로스, 크로스카멜로스 나트륨 및 나트륨 라우릴 설페이트를 고속 전단 혼합기에 첨가하고 2분간 혼합하였다. 분말을, 과립화를 완료하는 데 필요한 만큼의 포비돈 용액 및 과량의 물로 습식 과립화하였다. 이렇게 얻은 혼합물을 유체 베드 건조기에서 70±5℃의 입구 공기로, 건조시 손실량이 2.5% 이하가 될때까지 건조시켰다. 과립을 적절한 스크린(또는 체)을 구비한 코밀(Comil)을 통과시켜서 적절한 혼합기에 첨가하였다. 여분의 과립형 크로스카멜로스 나트륨 및 나트륨 라우릴 설페이트, 및 콜로이드성 무수 실리카를 적절한 체(예를 들어, 500 마이크론)에 통과시킨 다음, 혼합기에 첨가하여 5분간 블렌딩하였다. 여기에 마그네슘 스테아레이트를 첨가하고 2분간 블렌딩하였다. 이 블렌드를 9 mm 원형 표준 오목 공구를 이용하여 중량 250 mg의 원하는 압축물이 되도록 압축하였다.

코어 정제를 50~70℃의 입구 공기를 이용하여 액셀라코타(Accelacota)(또는 유사한 코팅 팬)를 이용하여 오파드라이(Opadry) OY-S-7322의 수성 현탁액으로 정제 중량이 약 8 mg 증가할 때까지 코팅하였다. 오파드라이 OY-S-7322는 메틸히드록시프로필셀룰로스 Ph. Eur., 이산화티탄 Ph. Eur., 트리아세틴 USP를 함유한다. 오파드라이는 각 정제 중량을 약 258 mg로 증가시킨다. 정제당 도포된 막 코트의 양은 공정 효율에 따라 언급한 것보다 적을 수 있다.

정제를 블리스터 팩으로 충전하고 화합물의 안전성과 효능을 설명하는 패키지 삽입물을 첨부하였다.

성분	제형(mg/정제)	
선택적 PDE5 억제제 ⁽¹⁾	1	5
히드록시프로필 메틸셀룰로스 프탈레이트	1	5
미정질 셀룰로스	221.87	213.87
크로스카멜로스 나트륨	5.00	5.00
나트륨 라우릴 설페이트	2.50	2.50
포비돈 K30	9.38	9.38
정제수, USP(관개수)	적량	적량
크로스카멜로스 나트륨	5.00	5.00
나트륨 라우릴 설페이트	2.50	2.50
콜로이드성 무수 실리카	0.50	0.50
마그네슘 스테아레이트	1.25	1.25
총 코어 소계	250.00	250.00
(막 코트 오파드라이 OY-S-7322)	약 8 mg	약 8 mg
⁽¹⁾ 화합물 I		

실시예 2

하기 조성은 화합물 I 10 mg을 함유하는 완성된 제형을 제조하는 데 이용된다.

성분	함량(mg)
과립물	
선택적 PDE5 억제제 ⁽¹⁾	10.00
락토스 일수화물	153.80
락토스 일수화물(분무 건조된 것)	25.00
히드록시프로필셀룰로스	4.00
크로스카멜로스 나트륨	9.00
히드록시프로필셀룰로스(EF)	1.75
나트륨 라우릴 설페이트	0.70

	35.00
외부 분말	
미정질 셀룰로스(과립형-102)	37.50
크로스카멜로스 나트륨	7.00
마그네슘 스테아레이트(식물성)	1.25
	총 250 mg
	막 코트(대략) 11.25

정제수, USP가 정제의 제조에 사용된다. 가공 중에 물을 제거하여, 완성된 약제 중의 잔류수를 최소 수준으로 만든다.

정제는 습식 과립화 공정을 이용하여 제조한다. 이 공정의 단계별 설명은 다음과 같다. 과립화할 약제 및 부형제를 안전 체질한다. 선택적 PDE5 억제제를 락토스 일수화물(분무 건조된 것), 히드록시프로필셀룰로스, 크로스카멜로스 나트륨 및 락토스 일수화물과 함께 건식 블렌딩한다. 이렇게 얻은 분말 블렌드를 히드록시프로필셀룰로스 및 나트륨 라우릴 설페이트의 수용액으로 파우렉스(Powrex) 또는 기타의 적절한 고속 전단 과립화기를 이용하여 과립화한다. 추가분의 물을 첨가하여 원하는 종점에 다다르게 할 수 있다. 습윤 과립물의 덩어리를 제거하고 건조를 용이하게 하기 위해 분쇄기(mill)를 이용할 수 있다. 습윤 과립물은 유동상 건조기 또는 건조 오븐을 이용하여 건조시킨다. 일단 재료가 건조되면, 크기 분류하여 임의의 큰 응집물을 제거할 수 있다. 미정질 셀룰로스, 크로스카멜로스 나트륨 및 마그네슘 스테아레이트를 안전 체질하고 크기 분류된 건조 과립에 첨가한다. 이러한 부형제 및 건조 과립물을 텀블 빈, 리본 혼합기 또는 기타의 적절한 혼합 장치를 이용하여 균일해질 때까지 혼합한다. 혼합 공정은 두 단계로 분리할 수 있다. 제1 단계에서는 미정질 셀룰로스, 카멜로스 셀룰로스 나트륨 및 건조된 과립물을 혼합기에 첨가하여 블렌딩하고, 이어서 이 과립물에 마그네슘 스테아레이트를 첨가하고 제2 혼합 단계를 수행한다.

이 후, 혼합된 과립물을 회전식 압축 기계를 이용하여 정제로 압축한다. 코어 정제를 코팅 팬(예를 들어, Accela Cota) 내에서 적절한 색상의 혼합물의 수성 현탁액으로 막 코팅한다. 코팅된 정제는 탈크를 약간 분사하여 정제 취급성을 개선시킬 수 있다.

정제를 플라스틱 용기에 채우고(30 정제/용기) 화합물의 안전성과 효능을 설명하는 패키지 삽입물을 첨부한다.

실시예 3

하기 조성은 화합물 I 5 mg을 함유하는 완성된 제형을 제조하는 데 이용된다.

성분	함량 (mg)
과립물	
선택적 PDE5 억제제 ⁽¹⁾	2.50
락토스 일수화물	79.395
락토스 일수화물(분무 건조된 것)	12.50
히드록시프로필셀룰로스	2.00
크로스카멜로스 나트륨	4.50
히드록시프로필셀룰로스(EF)	0.875
나트륨 라우릴 설페이트	0.35
외부 분말	
미정질 셀룰로스(과립형-102)	18.75
크로스카멜로스 나트륨	3.50
마그네슘 스테아레이트(식물성)	0.63
	총 125 mg
	막 코트(대략) 6.875

실시예 3의 제형은 실시예 2의 제형과 동일한 방식으로 제조하였다.

실시예 4

성분	용액 캡슐	
	mg/캡슐	비율(%)

선택적 PDE5 억제제 ⁽¹⁾	10	2
PEG400 NF	490	98
총진 중량	500	100

젤라틴 캡슐은 미리 용해시킨 정확한 충전 부피의 약제 제형을 부분적으로 밀봉한 캡슐의 공동에 펌핑함으로써 정확히 충전하였다. 약제 용액 제형을 분사 충전한 직후, 캡슐을 완전히 열 밀봉하였다.

캡슐을 플라스틱 용기에 채워넣고 패키지 삽입물을 첨부하였다.

실시예 5

이 실험은 무작위적이면서 위약 대조군을 사용한, 2중 맹검의 2중 교차 디자인 임상 약제 상호작용 실험으로서, 선택적 PDE5 억제제(즉, 화합물 I)와 단기 작용 질산염을 동시에 투여할 경우 건강한 남성 지원자에게 미치는 혈류 역학적 영향을 평가하기 위한 것이었다. 이 실험에서는 피험자에게 10 mg 용량의 화합물 I 또는 위약을 7일 동안 매일 투여하였다. 6일 또는 7일째, 피험자들을 경사진 테이블 위에 반듯하게 눕혀서 니트로글리세린(0.4 mg)을 설하 투여하였다. 니트로글리세린은 화합물 I을 투여한지 3시간 후에 투여하였으며, 모든 피험자들은 니트로글리세린 정제가 완전히 녹을 때까지 혀 밑에 보유하였다. 피험자들의 머리가 위로 오도록 70°각도로 기울여서 총 30분 동안 매 5분마다 혈압 및 심박수를 측정하였다. 이 실험에 참여한 22명의 건강한 남성 피험자(19세부터 60세) 중 어떠한 사람도 중도에 그만두지 않았다.

이 실험의 예비 분석에서, 화합물 I은 내성이 좋았으며, 심각한 부작용을 나타내지 않았다. 실험적 안전성 평가 또는 12-리드(lead) ECG에서 화합물 I의 변화는 없었다. 가장 흔한 부작용은 두통, 소화 불량 및 배부통이었다. 화합물 I은 평균 수축 혈압 및 니트로글리세린 유도에 의한 평균 최대 수축 혈압의 감소에 최소한의 영향(영향이 있다면)을 미쳤다.

실시예 6

2회의 무작위적이면서 위약 대조군을 사용한 2중 맹검 실험에서는, 가정에서의 성접촉 및 성교를 위해 화합물 I을 이를 필요로 하는 환자에게 매일 투여하는 방식과 필요할 때마다 치료하는 방식 둘 다에 의해 일정 용량 투여하였다. 5~20 mg 용량의 화합물 I은 효능을 나타내었으며, 1% 미만의 조항을 나타내었고, 시력 이상에 대한 보고는 없었다. 10 mg의 화합물 I이 충분한 효능을 나타내고 최소한의 부작용을 나타낸다는 것을 알게 되었다.

국제 발기 기능 지수(IIEF)(Rosen 등의 문헌[Urology, 49, pp. 822-830(1997)] 참조), 성교 시도의 일지 및 전체적인 만족감에 대한 질문에 의해 강화된 발기 기능을 측정하였다. 화합물 I은 "필요시" 투여 및 매일 투여하는 치료법 모두에서, 발기할 수 있고 이를 유지하는 능력을 비롯한 성공적인 성교 시도 비율을 유의적으로 증가시켰다.

실시예 7

제3 임상 실험은 남성 발기 부전 환자에게 화합물 I을 "필요시"마다 투여하는 무작위적이면서 위약 대조군을 사용한 2중 맹검 실험이었다. 남성 발기 부전(ED) 치료시에 8주간에 걸쳐 화합물 I을 투여하였다. 발기 부전(ED)은 만족스러운 성교를 하기에 적절한 정도의 발기가 일어나지 않거나 및/또는 이를 유지할 수 없는 지속적 불능으로서 정의된다. "필요시" 투여는 성교하기 전에 화합물 I을 간헐적으로 투여하는 것으로 정의된다.

실험군은 18세 이상의 212명의 남성으로 구성되며, 이들은 경증에서 중증의 발기 부전 증상이 있었다. 화합물 I을 Butler 등의 미국 특허 제5,985,326호에 따라 제조한 공침물 정제 형태로 경구 투여하였다. 화합물 I은 "필요시"마다 매 24시간을 넘지 않게 2 mg, 5 mg, 10 mg, 25 mg의 용량으로 투여하였다. 질산염, 아졸 항진균제(예를 들어, 케토코나졸 또는 이트라코나졸), 와파린, 에리트로마이신 또는 항안드로젠 모두를 이용하는 치료는 실험 중 어느 시기에도 실시하지 않았다. ED를 치료하는 데 사용되는 다른 승인된 또는 실험적 약제 투여, 치료 또는 장치는 허용하지 않았다. 41명의 피험자에게는 위약을 투여하였다.

두 가지의 주요 효능 변수는 국제 발기 기능 지수(IIEF)로 측정하였을 때 피험자가 파트너에게 음경을 삽입할 수 있는 능력 및 성교 중에 발기를 유지할 수 있는 능력이었다. IIEF 질문서는 14 가지 질문을 포함하는데, 이 질문서는 발기 기능에 대한 간단하면서 신뢰할 만한 척도이다. 이에 대해서는 R.C. Rosen 등의 문헌[Urology, 49, pp. 822-830(1997)]을 참조할 수 있다.

부수적인 효능 변수는 발기 기능, 오르가즘 기능, 성욕, 성교 만족감 및 전체적인 만족감; 환자가 발기할 수 있는 능력, 파트너의 질에 음경을 삽입할 수 있는 능력, 사정에 의한 성교의 완료, 음경의 단단함에 대한 만족감 및 전체적인 만족감에 대한 IIEF 도메인 점수로서, 이들 모두는 성교 프로파일(SEP) 일지로 측정하였으며, 치료 기간 후반부에 전체적인 평가 질문을 하였다. SEP는 실험 진행 중에 매 성교시마다 환자가 기록하는 환자 일지 수단이다.

실험의 안전성 측면 테스트에는 참여한 모든 피험자를 포함시켰으며, 보고된 모든 부작용 및 임상적 실험 값, 활력 징후(vital sign), 신체 검사 결과 및 심전도 결과의 변화를 평가함으로써 평가하였다.

실험 종료점에, 삽입 능력(IIEF 질문 3)에 대해 "거의 항상 또는 항상"으로 평가한 환자들은 다음과 같았다: 위약 군에서 17.5%, 2 mg 군에서 38.1%, 5 mg 군에서 48.8%, 10 mg 군에서 51.2% 및 25 mg 군에서 83.7%. 비교에 의해, 위약을 투여한 군과 화합물 I을 투여한 모든 군에서의 삽입 능력의 변화가 통계적으로 유의적인 차이를 보인다는 것이 확인되었다.

실험 종료점에, 실험 기간 동안 발기 유지 능력(IIEF 질문 4)에 대해 "거의 항상 또는 항상"으로 평가한 환자들은 다음과 같았다: 위약 군에서 10.0%, 2 mg 군에서 19.5%, 5 mg 군에서 32.6%, 10 mg 군에서 39.0% 및 25 mg 군에서 69.0%. 비교에 의해, 위약을 투여한 군과 화합물 I을 보다 많은 양 투여한 3 가지 군에서의 발기 능력의 변화가 통계적으로 유의적인 차이를 보인다는 것이 확인되었다.

이 실험 역시 안전성 평가를 포함시켰다. 치료 응급 부작용은 포스트베이스라인(postbaseline)에서 발생하지만 베이스라인(baseline)에서는 발생하지 않는 상태, 또는 포스트베이스라인에서는 더욱 심해지고 베이스라인에서도 발생하는 상태로 정의하였다. 가장 흔히 보고되는 치료 응급 부작용은 두통, 소화 불량 및 배부통이었다. 치료 응급 부작용의 발생률은 투여량과 관련이 있는 것으로 나타났다.

전체적으로, 이 실험은 4 가지 용량으로 화합물 I을 투여한 모든 군, 즉 2 mg, 5 mg, 10 mg 및 25 mg을 "필요시" 투여하였을 때, IIEF, 성공적인 성교 및 성교의 만족감의 빈도를 평가하는 환자의 일지 및 전체적인 평가로 평가한 결과, 위약에 비해 발기 부전 증상이 있는 남성의 성기능을 유의적으로 개선시켰음을 입증하였다.

임상 실험의 결과를 종합하면, 화합물 I의 투여는 하기 표에 예시된 바와 같이 남성의 발기 부전을 효과적으로 치료할 수 있는 것으로 나타났다.

IIEF 발기 기능 도메인(베이스라인에서의 변화)			
화합물 I의 단위 용량	n	평균±SD	P
위약	131	0.8±5.3	
2 mg	75	3.9±6.1	< .001
5 mg	79	6.6±7.1	< .001
10 mg	135	7.9±6.7	< .001
25 mg	132	9.4±7.0	< .001
50 mg	52	9.8±5.5	< .001
100 mg	49	8.4±6.1	< .001

n은 피험자의 수이며, SD는 표준 편차이다.

그러나, 종합 임상 실험으로부터, 하기 표에 예시되는 바와 같이, 화합물 I의 단위 용량을 증가시키기에 따라 치료 응급 부작용이 증가함이 관찰되었다.

치료 응급 부작용(%)							
화합물 I의 단위 용량(mg)							
증상	위약	2	5	10	25	50	100
두통	10	12	10	23	29	34	46
소화 불량	6	3	14	13	19	20	25
배부통	5	3	3	15	18	24	22
근육통	3	0	3	9	16	20	29
비염	3	7	3	4	4	0	2
결막염	1	0	1	1	0	2	5
안검 부종	0	0	0	1	1	2	3
조홍	0	0	0	<1	0	3	7

시력 이상	0	0	0	0	0	0	0
-------	---	---	---	---	---	---	---

상기 표는 25~100 mg의 단위 용량에서 유해 증상이 증가함을 보여준다. 따라서, ED 치료의 효능이 25~100 mg의 용량에서 관찰되었음에도 불구하고, 25~100 mg 용량에서 관찰되는 유해 증상을 고려하여야 한다.

본 발명에 따르면, 화합물 I을 약 1 mg~약 20 mg, 바람직하게는 약 2 mg~약 20 mg, 보다 바람직하게는 약 5 mg~약 20 mg, 가장 바람직하게는 약 5~약 15 mg의 단위 용량으로, 24시간당 최대 20 mg 이하로 투여하면 ED를 효과적으로 치료함과 동시에 유해한 부작용의 발생을 최소화 또는 제거할 수 있다. 중요한 것은, 시력 이상은 보고되지 않았으며, 조흥도 실질적으로 제거되었다는 것이다. 놀라운 것은, 화합물 I을 약 1 mg~약 20 mg의 단위 용량으로 투여하면 유해 부작용을 최소로 하면서 ED를 치료함은 물론, 질산염 치료를 받고 있는 환자 역시 본 발명의 상기 방법 및 조성물로 ED를 치료할 수 있다는 것이다.

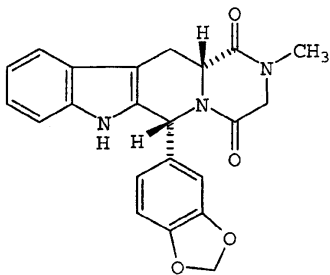
본 발명의 원리, 바람직한 구체예 및 실시 방식은 전술한 명세서에서 설명하였다. 그러나, 본 명세서에서 보호받고자 하는 발명은 개시된 특정 형태에만 국한되는 것으로 간주해서는 안되는데, 개시된 구체예는 제한적인 것이 아니라 예시를 위한 것이기 때문이다. 당업자라면 본 발명의 사상으로부터 벗어나지 않고 변형 및 변화를 실시할 수 있다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

1일 최대 총 용량을 20 mg 이하로 하여 경구 투여하기에 적합한, 하기 화학식 I의 화합물 1~20 mg을 포함하는 성기능 장애 치료용 약제 단위 제형:

화학식 I



청구항 2.

제1항에 있어서, 단위 제형 중에 상기 화합물을 2~20 mg 포함하는 것인 약제 단위 제형.

청구항 3.

제1항에 있어서, 단위 제형 중에 상기 화합물을 5~20 mg 포함하는 것인 약제 단위 제형.

청구항 4.

제2항에 있어서, 단위 제형 중에 상기 화합물을 2.5 mg 포함하는 것인 약제 단위 제형.

청구항 5.

제3항에 있어서, 단위 제형 중에 상기 화합물을 5 mg 포함하는 것인 약제 단위 제형.

청구항 6.

제3항에 있어서, 단위 제형 중에 상기 화합물을 10 mg 포함하는 것인 약제 단위 제형.

청구항 7.

제1항에 있어서, 단위 제형 중에 상기 화합물을 2 mg 포함하는 것인 약제 단위 제형.

청구항 8.

제1항에 있어서, 단위 제형 중에 상기 화합물을 1~5 mg 포함하는 것인 약제 단위 제형.

청구항 9.

제1항에 있어서, 단위 제형 중에 상기 화합물을 20 mg 포함하는 것인 약제 단위 제형.

청구항 10.

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 단위 용량이 액제, 정제, 캡슐 및 겔캡으로 구성된 군에서 선택되는 형태로 존재하는 것인 약제 단위 제형.

청구항 11.

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 단위 용량이 정제 형태로 존재하는 것인 약제 단위 제형.

청구항 12.

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 성기능 장애가 남성 발기 부전인 약제 단위 제형.

청구항 13.

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 성기능 장애가 여성 흥분 장애인 약제 단위 제형.

청구항 14.

삭제

청구항 15.

삭제

청구항 16.

삭제

청구항 17.

삭제

청구항 18.

삭제

청구항 19.

삭제