(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。Int. Cl.[7]
A61K 31/496
A61K 31/421
A61K 31/404

(11) 공개번호 10-2004-0081779
(43) 공개일자 2004년09월22일

(21) 출원번호 10-2004-7012355
(22) 출원일자 2004년08월10일
번역문 제출일자 2004년08월10일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2003/050015
(87) 국제공개번호 WO 2003/068207
(86) 국제출원출원일자 2003년02월11일
(87) 국제공개일자 2003년08월21일

(30) 우선권주장 02076344.7 2002년02월14일 EP(EP)

(71) 출원인 솔베이 파마슈티칼스 비. 브이
네덜란드 위습, 씨. 제이. 반 하우텐란 36

(72) 발명자 브론조바줄리아나비
네덜란드 엔엘-1381 씨피 위습 씨제이 반 하우텐란 36

핀스트라로엘로프더블유
네덜란드 엔엘-1381 씨피 위습 씨제이 반 하우텐란 36

글렌논제프리씨
네덜란드 엔엘-1381 씨피 위습 씨제이 반 하우텐란 36

맥크레아리앤드류씨
네덜란드 엔엘-1381 씨피 위습 씨제이 반 하우텐란 36

반란덴잔
네덜란드 엔엘-1381 씨피 위습 씨제이 반 하우텐란 36

론켄에릭
네덜란드 엔엘-1381 씨피 위습 씨제이 반 하우텐란 36

반샤렌부르그구스타프제이엠
네덜란드 엔엘-1381 씨피 위습 씨제이 반 하우텐란 36

(74) 대리인 이병호

심사청구 : 없음

(54) 세로토닌 및/또는 노르아드레날린 억제 활성을 갖는 부분도파민-D2 수용체 효능제

요약

본 발명은 주 모노아민성(도파민, 세로토닌 및/또는 노르아드레날린) 시스템의 장애에 의해 야기되거나 이러한 시스템의 처치를 통해 치료될 수 있는 정신 및/또는 신경 질환 치료용 약제학적 조성물을 제조하기 위한, 부분 도파민-D_2 수용체 효능 활성 및 세로토닌 및/또는 노르아드레날린 재흡수 억제 활성을 갖는 화합물 또는 화합물의 배합물의 용도에 관한 것이다.

대표도

도 1

색인어

주 모노아민성 시스템, 부분 도파민-D2 수용체 효능 활성, 세로토닌 재흡수 억제 활성, 노르아드레날린 재흡수 억제 활성, 정신 질환, 신경 질환

명세서

본 발명은 주 모노아민성(도파민, 세로토닌 및/또는 노르아드레날린) 시스템의 장애에 의해 야기되거나 이러한 시스템의 처치를 통해 치료될 수 있는 정신 및/또는 신경 질환 치료용 약제학적 조성물을 제조하기 위한, 부분 도파민-D_2 수용체 효능 활성 및 세로토닌 및/또는 노르아드레날린 재흡수 억제 활성을 갖는 화합물 또는 화합물의 배합물의 용도에 관한 것이며, 상기 질환은 정신분열증 및 기타 정신병; 감정 질환, 예를 들면, 양극 I 질환, 양극 II 질환 및 경증 우울증과 같은 단극 우울 질환, 계절성 정서 질환, 산후 우울증, 정서이상 및 주 우울증; 패닉 질환(광장 공포증 유무), 사회 공포증, 강박 장애(OCD, 동반이환 만성 틱 또는 분열성 질환 유무), 외상후 스트레스 질환 및 일반화된 불안 질환(GAD)을 포함하는 불안 질환; 물질 사용 질환(의존성 및 남용과 같은) 및 물질 유도 질환(물질 금단과 같은)을 포함하는 물질 관련 질환, 자폐증 및 레츠(Rett's) 질환을 포함하는 전반적 발달 질환; 집중력 결핍 및 붕괴성 행동 질환, 예를 들면, 주의력 결핍 과잉 행동 질환(ADHD); 병적 도박과 같은 충격 조절 질환; 거식증 및 포식증과 같은 식이 질환; 뚜렛 질환과 같은 틱 질환; 하지불안 증후군; 인지, 기억력의 손상 및/또는 동반이환 정신 질환 및 신경 재활(외상후 뇌 손상)을 특징으로 하는 질환으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

도파민 작용성 뉴론, 특히 흑질선조로의 도파민 작용성 뉴론은 운동 조절의 미세한 조정에 관여한다. 이러한 경로의 퇴화는 신경학적 질환을 초래할 수 있다. 그러나, 뇌에서 도파민은 또한 연변 피질, 편도, 측좌핵, 격막, 후각 결절 및 전두피질을 포함하는 연변계의 일부이다. 따라서, 이들 시스템에서 장애는 지각력 및 특히 정서 행동의 장애와 관련된다.

세로토닌 작용성 및 노르아드레날린 작용성 돌기는 정신 질환에서 장애된 많은 행동 및 정서 상태를 조절한다. 세로토닌 및 노르아드레날린 재흡수 억제제 및 또한 이들 2개의 활성이 배합된 화합물은 우울 및 불안 질환의 치료에 폭넓게 사용된다.

완전 도파민-D_2 수용체 효능제 또는 길항제의 사용과 대조적으로, 부분 도파민-D_2 수용체 효능제의 사용은 환자의 내인성 상태에 따라 순간적으로 자가 조절되는 동적 약물 치료를 제공한다. 따라서, 도파민 시스템의 목적하는 가요성 조절 및 브로모크립틴(환상, 매스꺼움, 구토, 운동 질환, 기립성 저혈압, 졸림)과 같은 완전 도파민-D_2 수용체 효능제 또는 할로페리돌(감정 둔화, 정신 불안, 지발성 운동 질환)과 같은 완전 도파민-D_2 수용체 길항제를 사용하는 치료에 의해 야기되는 많은 부작용의 회피를 제공한다. 이들 많은 부작용으로 인해, 완전 효능제 및 길항제는 우울 및 불안 질환의 치료에서 단지 매우 제한된 용도를 갖는다.

부분 도파민-D_2 수용체 효능제는 가요성 조절 및 유익한 부작용 프로파일을 나타내고, 이들은 관련 동물 모델에서 현저한 불안 프로파일을 나타낸다[참조: Drugs of the Future 2001, 26(2): 128-132]. 노르아드레날린 및/또는 세로토닌 재흡수 억제제는 보다 현저한 항우울 프로파일을 갖는다.

본 발명에 이르러, 두 활성을 하나의 약제학적 제제에 배합시키는 경우, 이러한 제제를 사용하여 모든 질환 증상(예: 정신분열증의 양성 및 음성 증상)을 완전히 치료할 수 있고 당해 제제는 도파민 작용성 시스템의 이하-, 과- 또는 변동 활성을 수반하는 정신 질환의 치료에 유용함을 밝혀내었다. 이러한 제제는 또한 정신 에피소드와 배합하여 조병, 불안 또는 우울증으로 고통받는 환자를 치료하는데 사용할 수 있다.

본 발명에 따르는 부분 도파민-D_2 수용체 효능제는 농도 반응 범위에서 시험되는 경우, 매우 높은 농도, 예를 들면, 화합물의 EC_{50} 값의 100배에서도 작용성 cAMP 세포계 분석(이하 기술되는 바와 같음)에서 20% 이상 60% 이하의 활성을 달성하는 화합물이다. 이러한 작용성 도파민-D_2 수용체 분석에서 20% 미만 60% 초과의 활성을 제공하는 화합물은 각각 완전 길항제 및 효능제로서 간주하며, 도파민-D_2 수용체 길항제 및 효능제와 연관된 부작용을 야기하는 경향이 있다. 부분 도파민-D_2 수용체 효능제는 도파민의 내인성 시냅스 톤이 낮은 경우 또는 완전 도파민-D_2 수용 체 길항제의 존재하에 효능제로서 작용하고, 도파민의 내인성 시냅스 톤이 높은 경우 또는 완전 도파민-D_2 수용체 효능제의 존재하에 길항제로서 작용한다. 이는 주로 진폭이 작용하여 낮은 주위 도파민 농도에서 증가된 톤을 보장하고 고농도에서 피크 효과를 제한하는 것을 나타내는 부분 효능제의 존재 및 부재하에 내인성 효능제(예: 도파민)의 다양한 농도 사이에서의 가상 관련을 나타내는 그래프로 도 1에 나타내었다.

완전 효능제와 같이, 부분 도파민-D $_2$ 수용체 효능제는 일반적으로 감작화 시스템에서 활성이다. 이들은 흑색질 치밀 부분에서 일방적 6-하이드록시-도파민(6-OHDA) 병변을 갖는 랫트에서 대측성 전환을 유도한다. MPTP 처리된 통상의 명주원숭이에서, 이들은 운동 증상의 강력하고 오래 지속되는 반전을 생성한다[참조: Drugs of the Future 2001, 26(2): 128-132]. 그러나, 완전 효능제와 대조적으로, 부분 도파민-D $_2$ 효능제는 사실상 비-감작화 시스템에서 덜 활성이며, 이들은 랫트에서 레서핀 유도 저이동을 거의 전환시키지 않는다.

본 발명에 이르러, 한 분자에 부분 도파민-D $_2$ 활성 및 세로토닌 및/또는 노르아드레날린 재흡수 억제 활성을 갖는 화합물 또는 부분 도파민-D $_2$ 활성 및 세로토닌 및/또는 노르아드레날린 재흡수 억제 활성을 갖는 화합물의 배합물로 이루어진 약제학적 제제가 마이크로투석 실험에 의해 입증된 바와 같이 생체내에서 모든 3개의(각각 2개의) 활성을 동시에 나타낸다는 것을 밝혀내었다.

과활성 도파민 작용성 시스템을 수반하는 CNS 질환의 치료에서, 낮은 고유 작용 활성을 갖는 부분 도파민-D $_2$ 수용체 효능 활성을 세로토닌 및/또는 노르아드레날린 재흡수 억제 활성과 배합한 약제학적 제제가 추천된다. 도파민 기능 부전을 수반하는 질환의 경우에서, 본 발명에 따르는 높은 고유 작용 활성을 갖는 부분 도파민-D $_2$ 수용체 효능 활성 및 세로토닌 및/또는 노르아드레날린 재흡수 활성을 배합한 약제학적 제제가 유익한 것으로 여겨진다.

놀랍게도, 본 발명에 이르러, 세로토닌 및/또는 노르아드레날린 재흡수 활성과 배합하여 20% 이상 60% 이하의 고유 작용성 도파민 활성을 배합한 하나 이상의 화합물의 약제학적 제제가 도파민 시스템의 동적 재조절을 필요로 하는 모든 정신 질환의 치료에 유용하다는 것을 발견하였다.

양극 우울증 및 중독과 같은 도파민 신경 전달에서 동적 동요를 특징으로 하는 질환은 특히 약제학적 제제에서 부분 도파민-D $_2$ 수용체 효능제에 의한 도파민 시스템의 가요성 조절로부터 도움이 된다. 이러한 '도파민 직용성 신경 전달 안정화' 활성을 세로토닌 및/또는 노르아드레날린 재흡수 억제 활성과 배합하여 항우울 및 불안 완화 효능을 증진시킬 수 있다.

결론적으로, 본 발명은 항전신, 항우울 및 불안 완화 활성에 예기되는 동물 모델에서 부분 도파민-D $_2$ 수용체 효능 활성을 세로토닌 및/또는 노르아드레날린 재흡수 억제 활성과 배합하여 약제학적 제제의 폭넓은 효능이 많은 동반이환 정신 질환의 치료에 대한 5-HT 및/또는 NA 억제 활성의 항우울 작용과 배합하여 도파민 조 정 신경 전달의 동적 조절에 가능한 용도를 명백하게 나타남을 입증한다.

실시예

본 발명에 따라 사용할 수 있는 화합물의 배합물은 일반명으로 다음을 함유하는 제제이다.

(1) 부분 도파민-D $_2$ 효능제(상기 정의한 바와 같음), 특이 5-HT 재흡수 억제제 및/또는 특이 노르아드레날린 재흡수 억제제.

(2) 부분 도파민-D $_2$ 효능제 및 5-HT 및 노르아드레날린 재흡수 활성을 둘 다 갖는 화합물.

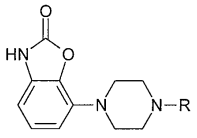
(3) 특이 노르아드레날린 재흡수 억제제와 배합된 또한 특이 5-HT 재흡수 억제제인 부분 도파민-D $_2$ 효능제.

(4) 특이 5-HT 재흡수 억제제와 배합된 또한 특이 노르아드레날린 재흡수 억제제인 부분 도파민-D $_2$ 효능제.

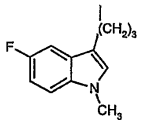
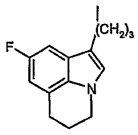
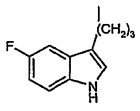
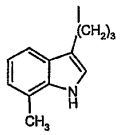
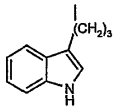
본 발명에 따르는 배합 제제에 사용될 수 있는 화합물의 구체적인 예는 (이로 한정되지 않는) 특이 세로토닌 재흡수 억제제(SSRI): 알라프로클레이트, 시탈로프람, 플루옥세틴, 플루복사민, 리톡세틴, 네파조돈, 파락세틴, 세르트랄린, 트라조돈 및 지멜리딘; 특이 노르알드레날린 재흡수 억제제(SNRI): 아목사핀, 데시프라민, 마프로틸린, 마진돌, 니속세틴, 노미펜신, 노르트립틸린, 프로트립틸린, 레복세틴 및 토목세틴: 배합된 세로토닌 및 노르아드레날린 재흡수 억제 활성을 갖는 화합물: 클로리미프라민, 둘록세틴, 이미프라민, 인다트랄린, 밀나시프란, S-33005, 시부트라민 및 벤라팍신 및 부분 도파민-D $_2$ 효능제: BP 897, 디하이드로에르고크리스틴, 디하이드로에르고타민, 프레클라몰 ((S)-(-)-3-PPP), 테르구리드, 비페프루녹스 및 SLV308(화학식 1, 여기서 R은 CH $_3$ 이다)이다.

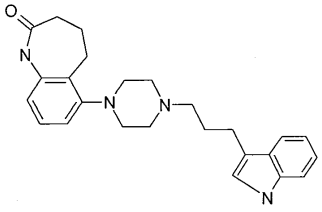
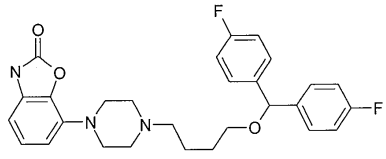
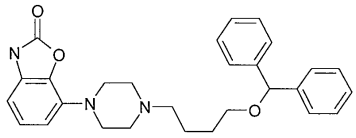
본 발명에 따라 사용할 수 있는 단일 화합물은 부분 도파민-D $_2$ 효능제 및 특이 5-HT 재흡수 억제제 둘 다인 화합물, 예를 들면, 화학식 1의 페닐피페라진 유도체이다.

화학식 1



위의 화학식 1에서,

R은 잔기  (a),  (b),  (c),  (d),  (e) 및 이들의 염으로 이루어진다.

본 발명에 따라 사용할 수 있는 단일 화합물은 또한, 모든 3개의 활성: 부분 도파민-D $_2$ 효능, 5-HT 재흡수 억제 및 NA 재흡수 억제를 갖는 화합물, 예를 들면, 화학식  (실시예 2a),  (실시예 2b) 또는  (실시예 2c)의 페닐피페라진 유도체이다.

본 발명의 화합물이 적합한 산 부가 염을 형성할 수 있는 약리학적으로 허용되는 산은 예를 들면, 염산, 황산, 인산, 질산, 및 유기산, 예를 들면, 시트르산, 푸마르산, 말레산, 타르타르산, 아세트산, 벤조산, p-톨루엔 설폰산, 메탄설폰산 및 나프탈렌 설폰산이다.

화합물 및 이의 산 부가염은 보조 물질, 예를 들면, 액체 및 고체 캐리어 물질을 사용하여 적합한 방법으로 투여하기에 적합한 형태로 제조할 수 있다.

실시예 1a 내지 1e 및 2a 내지 2c는 WO 00EP08190에 기술된 바와 같이 합성할 수 있다.

약리학적 시험

본 발명에 따라 사용할 수 있는 화합물 및 관련 참조 화합물의 고유 활성(ε)을 포함하는 도파민-D $_2$ 수용체에서 시험관내 작용 활성은 포르스콜린-유도 [^{3}H]- cAMP 축적을 억제하는 이들의 능력으로 측정하였다. 세로토닌 및 노르아드레날린 재흡수 억제 활성은 랫트 뇌 시냅토솜에서 측정하였다. 프로토콜은 하기 기술되어 있으며, 수득된 결과는 표 1에 나타내었다.

포르스콜린-유도 [^{3}H]-cAMP 축적의 억제

사람 도파민 D $_{2,L}$ 수용체를 섬유아세포주 CHO-K1 세포에서 클로닝하고, Dr. Grandy(Vollum Institute, Portland, Oregon, USA)로부터 수득하였다. CHO 세포를 10% 열 불활성화 송아지 태아 혈청, 2mM 글루타민, 1mM 피루베이트, 5000units/ml 페니실린, 5000μg/ml 스트렙토마이신 및 200μg/ml가 보충된 둘베코 변형 이글 배지(DMEM) 배양 배지에서 37°C에서 93% 공기/7% CO $_2$ 에서 성장시켰다. 시험 화합물을 사용한 항온 처리를 위해, 24 웰 플레이트에서 성장시킨 융합 배양물을 사용하였다. 각각의 조건 또는 물질은 루틴하게 4회 시험하였다. 세포에 0.5ml 배지/웰 중의 1μCi[^{3}H]-아데닌을 부하하였다. 2시간 후, 배양물을 1mM의 포스포디에스테라제 억제제 이소부틸메틸크산틴(IBMX)을 함유하는 0.5ml PBS로 세척하고, 시험 화합물의 유무하에 1mM IBMX 및 포르스콜린을 함유하는 0.5ml PBS로 20분 동안 항온처리하였다. 흡출 후, 반응을 1ml 트리클로로아세트산 5%(w/v)로 정지시켰다. 세포 추출물로부터 형성된 [^{3}H]-ATP 및 [^{3}H]-cAMP를 문헌[참조: Solomon Y, Landos C, Rodbell M, 1974, A highly sele

ctive adenylyl cyclase assay, Anal Biochem 58:541-548 and Weiss S, Sebben M, Bockaert JJ, 1985, Corticotropin-peptide regulation of intracellular cyclic AMP production in cortical neurons in primary culture, J Neurochem 45:869-874]에 기술된 바와 같이 분석하였다. 0.8ml 추출물을 Dowex(500WX-4 200-400 메쉬) 및 산화알루미늄 컬럼에 통과시키고, 물 및 0.1M 이미다졸(pH=7.5)로 용리시켰다. 용리물을 7ml 인스타-겔과 혼합하고, 방사능을 액체 섬광 계수기로 계수하였다. [^{3}H]-ATP의 [^{3}H]-cAMP로의 전환을 cAMP 및 ATP 분획 둘 다에서 배합된 방사능과 비교하여 cAMP 분획에서 방사능 %로 비율로 나타내고, 기본 활성을 자발 활성에 대하여 보정하기 위해 감하였다.

참조 및 시험 화합물을 모두 100% DMSO 중의 10mM 스톡 용액으로서 수득하고, 최종 농도로 PBS/IBMX에서 희석하였다. 전형적으로, 화합물을 10^{-10} 내지 10^{-5} M의 범위인 농도로 사용하였다. 4회 데이타 계수로부터, 평균을 대조 값(포르스콜린-자극 cAMP 축적, 기본 활성에서 감함)의 %로 나타낸 특정 제2 메신저 축적에서 약물-유도 수용체-조정 효과에 대한 달성치로서 취하였다. 비-선형 곡선 피팅 프로그램 INPLOT 또는 Excel-add-in XL-Fit를 사용하여, 평균 값을 약물 농도(몰)에 대하여 플롯팅하고, S자형 곡선(4개의 파라미터 로지스틱 곡선)을 작성하였다. 최대 포르스콜린-유도 자극 전환은 최대 값으로 취하고, 최대 억제(통상 10^{-6} 또는 10^{-5} M의 약물 농도에서)는 최소 값으로 취하고, 이들 값을 피팅 공정 동안 고정시켰다. 따라서, 포르스콜린-유도 cAMP 축적의 최대로 수득되는 억제의 50%를 야기하 는 화합물의 농도(EC_{50})를 몇 회 실험에 걸쳐 평균화하고, 그래프 및 표에서 평균 pEC_{50} ±SEM으로 나타낸다. 길항제 효능은 고정 효능제 농도 및 특정 길항제 농도로 세포를 공동-항온처리하여 평가된다. 곡선 피팅 방법은 EC_{50} 값을 달성하기 위해 사용된 것과 동일하다. 따라서, IC_{50} 값, 즉 최대 길항의 50%를 달성할 수 있는 농도는 이러한 화합물에 의해 달성할 수 있다. IC_{50} 값을 동일한 실험에서 수득되는 효능제 농도 및 EC_{50} 값에 대하여 이를 보정하는 Cheng-Prussoff 식을 사용하여 보정한다. 따라서, $K_b = IC_{50}/(1+[효능제]/EC_{50,효능제})$이다. 상응하는 pA_2 값은 $-\log(K_b)$이다. 농도-반응 곡선 피팅은 pEC_{50} 값 및 최대 달성가능한 효과[고유 활성 또는 효능(ε)]의 달성을 가능하게 한다. 완전 수용체 효능제는 ε가 1이기고, 완전 수용체 길항제는 ε가 0이며, 부분 수용체 효능제는 중간 고유 활성을 갖는다. 따라서, 부분 도파민 D_2 수용체 효능제의 화합물 선택은 완전히 CHO-$D_{2,L}$ 세포에서 cAMP 축적 및 ε의 평가에 의해 측정된 바와 같은 농도-반응 관련에 의존하며, 목적하는 범위는 0.20 내지 0.60이다.

몇몇 화합물은 cAMP, 예를 들면, 테르구리드, 프레클라몰 ((S)-(-)-3PPP) 및 SLV308의 형성을 단지 부분적으로 억제한다. 이들 화합물을 농도-의존 방법으로 사람 도파민 D_2 수용체를 안정하게 발현하는 CHO 세포에서 시험하고, 이들 화합물 중의 어느 하나도 퀸피롤(100%)과 비교하여 60% 이상으로 cAMP 형성을 감소시키지 않는다. 따라서, 이들 화합물은 부분 효능제로서 확인된다. SLV308은 진실로 부분 효능제이며, 완전 효능제 퀸피롤의 존재하에 또는 도파민 수용체에서 SLV380 자체를 적용시켜 확인된다. 따라서, SLV308은 효과(c-AMP 형성의 억제)를 유도할 수 있는 반면, 농도-의존 방법으로 완전 효능제의 작용을 또한 차단할 수 있다(pEC_{50} 8.0; pA_2 8.4). 도 2에서, 사람 도파민-D_2 수용체에서 SLV 및 기타 참조 화합물의 효과를 나타내었다. 상부 패널은 화합물의 효능제 특성을 예시하고, 따라서, 퀸피롤 및 탈리펙솔은 완전 효능제이며, SLV308 및 테르구리드는 부분 효능제이다. 하부 패널은 참조 효능제 퀸피롤에 대한 길항 효과를 예시한다. 따라서, 할로페리돌은 D_2 수용체에서 완전 길항제이며, SLV308 및 테르구리드는 최대 생물학적 효과의 단지 절반을 차단하는 '부분 길항제'로서 밝혀졌다. 효능 및 길항은 평형 상태이다.

[^{3}H]-세로토닌 재흡수의 시험관내 작용 억제

수컷 랫트(Wistar Hsd/Cpb: WU; 175-200g)를 참수시키고, 대뇌 반구를 빠르게 제거하고, P2-시냅토솜 분획을 제조하였다. 시냅토솜을 시험 화합물의 유무하에 15분 동안 37°C에서 모노아민 옥시다제 억제제 파르길린(7μM)을 함유하는 배지에서 예비 항온처리하였다. 후속적으로, 시냅토솜을 10분 동안 [^{3}H]-세로토닌(0.2mM 최종 농도)으로 노출시켰다.

[^{3}H]-세로토닌 흡수를 수거기로 여과하여 정지하고, 비-혼입 방사능을 강력한 세척 프로그램에 의해 제거하였다. 시냅토솜을 갖는 필터플레이트를 탈수시키고, 존재하는 [^{3}H]-세로토닌의 양을 베타플레이트 액체 섬광 계수에 의해 측정하였다. [^{3}H]-세로토닌의 흡수에 대한 억제 효과를 pIC_{50} 값, 즉 방사능 표지된 신경 전달자 흡수의 최대 억제의 절반을 달성하는 농도의 네가티브 대수로서 표현하였다. 표 2에 주어진 pIC_{50} 값은 2회 수행된 2 내지 9개의 실험의 평균 값이다. DMSO에 용해된 10^{-2} M 시험 화합물을 크렙스 링거 완충액에 10^{-8} 내지 10^{-5} M의 시험 농도로 희석하였다. 추가의 실험 설명(예: 완충액 조성)은 문헌[참조: J.T. Coyle and S.H. Snyder, 1969, Catecholamine uptake by synaptosomes in homogenates of rat brain; stereospecificity in different areas, J. Pharmacol. Exp. Ther. 170, 221-231]에 기술되어 있다.

[^{3}H]-노르아드레날린 재흡수의 시험관내 작용 억제

수컷 랫트(Wistar Hsd/Cpb: WU; 175-200g)를 참수시키고, 대뇌 반구를 빠르게 제거하고, 조 시냅토솜 분획을 제조하였다. 시냅토솜을 시험 화합물의 유무하에 10분 동안 37°C에서 모노아민 옥시다제 억제제 파르길린(7μM)을 함유하는 배지에서 예비 항온처리하였다. 후속적으로, 시냅토솜을 15분 동안 [^{3}H]-노르아드레날 린(0.4mM 최종 농도)으로 노출시켰다.

[^{3}H]-노르아드레날린 흡수를 수거기로 여과하여 정지하고, 비-혼입 방사능을 강력한 세척 프로그램에 의해 제거하였다. 시냅토솜을 갖는 필터플레이트를 탈수시키고, 존재하는 [^{3}H]-노르아드레날린의 양을 베타플레이트 액체 섬광 계수에 의해 측정하였다. [^{3}H]-노르아드레날린의 흡수에 대한 억제 효과를 pIC_{50} 값, 즉 방사능 표지된 신경전달자 흡수의 최대 억제의 절반을 달성하는 농도의 네가티브 대수로서 표현하였다. 표 2에 주어진 pIC_{50} 값은 2회 수행된 2 내지 9개의 실험의 평균 값이다. DMSO에 용해된 10^{-2} M 시험 화합물을 크렙스 링거 완충액에 10^{-8} 내지 10^{-5} M의 시험 농도로 희석하였다. 추가의 실험 설명(예: 완충액 조성)은 문헌[참조: J.T. Coyle and S.H. Snyder, 1969, Catecholamine uptake by synaptosomes in homogenates of rat brain; stereospecificity in different areas, J. Pharmacol. Exp. Ther. 170, 221-231]에 기술되어 있다.

[표 1]

		cAMP 축적		5-HT 흡수	NA 흡수
화합물 부류	화합물	pEC_{50} *	ε *	pIC_{50}	pIC_{50}
완전 도파민-D_2 효능제	퀸피롤	7.0	1.00	<5.0	<5.0
완전 도파민-D_2 효능제	탈리펙솔	7.4	1.00	<5.0	<5.0
부분 도파민-D_2 효능제	테르구리드	9.4	0.38	<5.0	<5.0
부분 도파민-D_2 효능제	프레클라몰	6.4	0.36	<5.0	5.3
부분 도파민-D_2 효능제	비페프루녹스	7.8	0.20	4.8	4.6
부분 도파민-D_2 효능제	SLV308	7.5	0.55	<5.0	<5.0
특이 5-HT 재흡수 억제제	플루복사민	<6.0	0.10	6.9	5.3
특이 5-HT 재흡수 억제제	플루옥세틴			5.9	5.0
특이 5-HT 재흡수 억제제	파록세틴	<6.0	0.36	7.4	<5.0
특이 NA 재흡수 억제제	DMI	<6.0	0.12	5.2	7.1
특이 NA 재흡수 억제제	레복세틴	<6.0	0.09	5.0	7.2
혼합 5-HT/NA 재흡수 억제제	밀나시프란	<6.0	0.21	6.6	5.5
부분 D_2 효능제 + SRI	실시예 1a	<6.0	0.27	6.9	<5.0
부분 D_2 효능제 + SRI	실시예 1b		0.27	<5.0	5.2
부분 D_2 효능제 + SRI	실시예 1c	6.8	0.53	7.6	<5.0
부분 D_2 효능제 + SRI	실시예 1d	>9.0	0.56	6.4	<5.0
부분 D_2 효능제 + SRI	실시예 1e	>9.0	0.60	6.6	<5.0
부분 D_2 효능제 + SRI + NRI	실시예 2a	6.0	0.24	6.3	5.3
부분 D_2 효능제 + SRI + NRI	실시예 2b	8.5	0.62	6.0	5.7
부분 D_2 효능제 + SRI + NRI	실시예 2c	8.8	0.79	5.1	5.4

* pEC_{50} : 최대로 달성할 수 있는 효과의 절반이 특정 약물에 대하여 수득되는 농도의 -log. 이의 고유 활성, * ε는 완전 효능제, 예를 들면, 퀸피롤에 의해 달성되는 완전 효능(ε =1)의 분수로 표현됨.

마이크로투석은 자유롭게 움직이는 깨어 있는 동물에서 이산 뇌 영역에서 뇌 세포외 공간에서 신경전달자 및 이의 대사산물에서 변화 통찰을 허락한다. 신경전달자의 세포외 수준은 이들 뇌 영역에서 신경 활성(신경전달자 방출)을 반영하고, 선택적 수용체 효능제 및 길항제, 흡수 억제제 등에 의해 영향받을 수 있다. 도파민, 세로토닌 및 노르아드레날린 수준에 대한 본 발명의 화합물(의 혼합물)의 생체내 효과는 하기 주어진 프로토콜에 따라 마이크로투석에 의해 결정되었다.

생체내 마이크로투석에 의해 도파민 및 세로토닌 측정

처치: 280 내지 300g의 수컷 위스타 랫트를 할로세인-마취(NO_2/O_2 2:1 중의 1.5% 할로세인)에 의해 마취시켰다. 항균제 및 진통제를 처치 전(Baytril, 150㎕/랫트, 근육내) 및 처리 후(Temgesic, 0.005 내지 0.01mg/kg, 근육내, 희석하지 않음/랫트) 투여하였다. 정위 프레임에 위치시킨 다음, 두개골을 드러내고, 투석물 도파민 및 세로토닌 수준의 측정을 요하는 동물에서 1mm 시추공을 측좌핵(양귀간 점(mm)으로부터 대등: 전방-후방 +10.5, 중간측면 -2.1 및 복배방향 -6.5, 8° 각도에서(경질막으로부터)) 위의 뼈를 통해 드릴링하였다. 다른 동물에서, 두개골을 드러내고, 투석물 노르아드레날린 수준의 측정을 요하는 동물에서 1mm 시추공을 측좌핵(브레그마(mm)로부터 대등: 전방-후방 +3.2, 중간측면 -0.6 및 복배방향 -1.5, 0° 각도에서(경질막으로부터)) 위의 뼈를 통해 드릴링하였다. 보다 작은 시추공을 제조하고, 3개의 스크류를 두개골내에 삽입하였다. 두개내 가이드 캐뉼라(CMA, Carnegie)를 팁이 측좌핵 또는 전전두 피질 바로 위에 위치할 때까지 홀을 통해 아래로 내렸다. 스크류와 함께 가이드를 치과용 시멘트를 사용하여 뼈 및 봉합된 주위 피부에 접합시켰다. 동물을 마이크로투석 실험 전에 6일 이상 동안 회복시켰다.

마이크로투석 실험: 실험 1일째에 마이크로투석 프로브(CMA 12, 0.5mm 외경, Stockholm, Sweden)를 가이드 캐뉼라를 통해 측좌핵(2mm 멤브레인 길이) 또는 전전두 피질(4mm 멤브레인 길이)로 삽입한다. 프로브의 입구를 균형을 맞춘 암 상에서 액체-스위블(이중 채널, Instech, UK)을 통해 시린지 펌프(Harvard, 10 채널)로 저 용적 튜빙(F.E.B-튜빙, 1.2㎕/10cm, Carnegie)을 사용하여 연결한다. 시린지 펌프는 투석액(147mM NaCl, 4mM KCl, 1.2mM $CaCl_2$ 및 0.7mM $MgCl_2$)을 2㎕/mim의 일정 유동으로 전달한다. 프로브의 출구는 액체 스위블을 통해 CMA 140 분획 수집기로 저 용적 튜빙을 사용하여 연결한다. 튜빙은 동물의 목 주위의 칼라에 적합한 스위블로부터 클립 아래로 통하는 스테인레스 스틸 와이어에 의해 지지된다. 도파민, 세로토닌 및 노르아드레날린 수준은 프로브 삽입후 16시간 안정하며, 이후 투석 샘플링을 개시한다. 샘플을 화합물의 산화를 방지하기 위해 HCOOH/시스테인 용액(0.02M/0.2 w/v%) 50㎕을 함유하는 바이알 중에서 20분 간격(40㎕ 용적)에서 2㎕/min의 유량에서 수거한다. 5개의 샘플의 기준선 기간에 이어, 약물을 전신 투여 하고, 적어도 추가의 8개의 샘플을 수거한다. 모든 샘플을 드라이 아이스 상에서 수거전 저장하고, 하기 기술되는 전기 화학적 검출과 커플링된 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)에 의해 분석하기 전에 -80°C에서 동결한다.

투석물 도파민 및 세로토닌의 분석: 샘플을 컬럼 오븐(Mistral; Spark, The Netherlands)으로 45°C로 조절된 역상 컬럼(Supelcosyl LC-8DB, 25cm x 4.6mm, 5㎛ 입자 직경, Supelco) 및 냉각 장치(10°C)가 장착된 Gilson(모델 231-401 또는 232-401) 또는 HP1100 자동 주입기를 사용하여 분석한다. 펌프(Hewlett Packard, 모델 1050 또는 HP1100)를 1ml/min의 유동으로 작동한다. 이동상(mM)은 50 HAc/NaAc(3:1), 1.46 HSA, 0.27 EDTA 및 16% (v/v) 메탄올로 이루어진다. 최종 pH는 1N NaOH를 사용하여 4.9로 조절한다. 도파민 및 세로토닌을 유리 카본 작동 전극(VT-03, Antec, Leiden, The Netherlands)이 장착된 EGamp;G(모델 400, Princeton Applied Research) 조절기를 사용하여 전기화학적으로 검출한다. 전위를 Ag/AgCl 참조 전극에 대하여 600mV로 설정한다. 출력을 피크 높이 값을 측정하는 Hyperchem ™ (Hewlett-Packard Inc.)이 장착된 컴퓨터로 기록한다. 계산(pg/20min)을 도파민 및 세로토닌의 공지된 양을 함유하는 분석된 표준 용액의 피크 높이 값을 사용하여 수행한다.

투석물 도파민 및 노르아드레날린의 분석: 샘플을 컬럼 오븐(Mistral; Spark, The Netherlands)으로 25°C로 조절된 역상 컬럼(Supelcosyl LC-18DB, 150mm x 4.6mm, dp = 3㎛, Supelco) 및 냉각 장치(10°C)가 장착된 Gilson(모델 231-401 또는 232-401) 또는 HP1100 자동 주입기를 사용하여 분석한다. 펌프(Hewlett Packard, 모델 1050 또는 HP1100)를 1ml/min의 유동으로 작동한다. 기본 이동상은 50mM NaAc 및 0.27mM EDTA로 이루어진다. 1-옥탄설폰산(NOS) 및 메탄올의 최종 농도 및 최종 pH(HAc로 조절)는 실험하에 상이한 뇌 영역에 따라 변한다. 화합물을 유리 카본 작동 전극(VT-03, Antec, Leiden, The Netherlands)이 장착된 EGamp;G(모델 400, Princeton Applied Research) 조절기를 사용하여 전기화학적으로 검출한다. 전위를 Hyref 참조 전극에 대하여 450mV로 설정한다. 출력을 피크 높이 값에 대하여 농도(pg/20min)를 계산하는 Hewlett Packard Chemstation으로 분석하고, 기록한다. 계산을 화합물의 공지된 양을 함유하는 분석된 표준 용액의 피크 높이 값을 사용하여 수행한다(외부 표준 방법).

수득된 결과는 표 2에 나타내었다.

[표 2]

화합물 부류	화합물	[도파민]	[세로토닌]	[노르아드레날린]
		ED_{75} mg/kg	ED_{150} mg/kg	ED_{150} mg/kg
완전 도파민-D_2 효능제	퀸피롤	*0.04*	*>3*	
완전 도파민-D_2 효능제	탈리펙솔	**<0.1**	**>10**	
부분 도파민-D_2 효능제	테르구리드	**>10**	**>10**	

부분 도파민-D $_2$ 효능제	프레클라몰	*14.46*	*>30*	
부분 도파민-D $_2$ 효능제	비페프루녹스	*>10*	*>10* [1]	
부분 도파민-D $_2$ 효능제	SLV308	*0.04*	*0.45* [1]	**0.53**
특이 5-HT 재흡수 억제제	플루복사민	**>30** [2]	**1.28**	
특이 5-HT 재흡수 억제제	파록세틴	**>10**	**<10**	
특이 NA 재흡수 억제제	DMI	**>3**	**>3**	**1.64**
특이 NA 재흡수 억제제	레복세틴	**>3**	**>3**	**<3.0**
혼합 5-HT/NA 재흡수 억제제	밀나시프란	**>30**	**5.5**	**2.41**
배합 부분 D $_2$ 효능제 + SRI	SLV308 + 플루복사민	**6.41**	**>10**	
배합 부분 D $_2$ 효능제 + NRI	SLV308 + 레복세틴	**<0.3**	**0.77** [1]	**<0.3**
배합 부분 D $_2$ 효능제 + SRI + NRI	SLV308 + 밀나시프란	**<3.0**	**>3.0**	**<3.0**
부분 D $_2$ 효능제 + SRI	실시예 **1a**	**8.14**	**2.52**	
부분 D $_2$ 효능제 + SRI	실시예 **1c**	**3.92**	**14.79**	
부분 D $_2$ 효능제 + SRI + NRI	실시예 **2a**	**>30** [2]	**5.44**	**<1.0**

표 2는 자유롭게 움직이는 깨어 있는 랫트의 측좌핵에서 투석물 도파민 및 세로토닌 수준 및 전전두 피질에서 노르아드레날린 수준에 대한 완전 및 부분 D $_2$ 효능제 단독 및 세로토닌 재흡수 억제제(SRI) 또는 노르아드레날린 재흡수 억제제(NRI)와의 배합물의 효과를 나타낸 것이다. 굵은 값은 경구 투여이며, 이탤릭체 값은 복강내 투여이다. [1] : ED $_{75}$; [2] : ED $_{150}$.

(57) 청구의 범위

청구항 1.
도파민, 세로토닌 및/또는 노르아드레날린 시스템의 장애에 의해 야기되거나 이러한 시스템의 처치를 통해 치료될 수 있는 질환 치료용 약제학적 조성물을 제조하기 위한, 부분 도파민-D $_2$ 수용체 효능 활성 및 세로토닌 및/또는 노르아드레날린 재흡수 억제 활성을 갖는 화합물 또는 이들 화합물의 배합물의 용도.

청구항 2.
제1항에 있어서, 화합물 또는 화합물의 배합물이 부분 도파민-D $_2$ 수용체 효능 활성 및 세로토닌 재흡수 억제 활성을 가짐을 특징으로 하는, 도파민 및 세로토닌 시스템의 장애에 의해 야기되거나 이러한 시스템의 처치를 통해 치료될 수 있는 질환 치료용 약제학적 조성물을 제조하기 위한 용도.

청구항 3.
제1항에 있어서, 화합물 또는 화합물의 배합물이 부분 도파민-D $_2$ 수용체 효능 활성 및 노르아드레날린 재흡수 억제 활성을 가짐을 특징으로 하는, 도파민 및 노르아드레날린 시스템의 장애에 의해 야기되거나 이러한 시스템의 처치를 통해 치료될 수 있는 질환 치료용 약제학적 조성물을 제조하기 위한 용도.

청구항 4.
제1항에 있어서, 화합물이 한 분자에 배합된 부분 도파민-D $_2$ 수용체 효능 활성 및 세로토닌 및/또는 노르아드레날린 재흡수 억제 활성을 가짐을 특징으로 하는 용도.

청구항 5.
제1항에 있어서, 화합물의 배합물이 부분 도파민-D_2 수용체 효능 활성 및 세로토닌 및/또는 노르아드레날린 재흡수 억제 활성을 가짐을 특징으로 하는 용도.

청구항 6.
제2항에 있어서, 화합물이 한 분자에 배합된 부분 도파민-D_2 수용체 효능 활성 및 세로토닌 재흡수 억제 활성을 가짐을 특징으로 하는 용도.

청구항 7.
제2항에 있어서, 화합물의 배합물이 부분 도파민-D_2 수용체 효능 활성 및 세로토닌 재흡수 억제 활성을 가짐을 특징으로 하는 용도.

청구항 8.
제3항에 있어서, 화합물이 한 분자에 배합된 부분 도파민-D_2 수용체 효능 활성 및 노르아드레날린 재흡수 억제 활성을 가짐을 특징으로 하는 용도.

청구항 9.
제3항에 있어서, 화합물의 배합물이 부분 도파민-D_2 수용체 효능 활성 및 노르아드레날린 재흡수 억제 활성을 가짐을 특징으로 하는 용도.

청구항 10.
제1항 내지 제9항 중의 어느 한 항에 있어서, 조성물이 주 모노아민성(도파 민, 세로토닌 및/또는 노르아드레날린) 시스템의 장애에 의해 야기되거나 이러한 시스템의 처치를 통해 치료될 수 있는 정신 및/또는 신경 질환 치료를 위해 사용되고, 질환이 정신분열증 및 기타 정신병; 감정 질환, 예를 들면, 양극 I 질환, 양극 II 질환 및 경증 우울증과 같은 단극 우울 질환, 계절성 정서 질환, 산후 우울증, 정서이상 및 주 우울증; 패닉 질환(광장 공포증 유무), 사회 공포증, 강박장애(OCD, 동반이환 만성 틱 또는 분열성 질환 유무), 외상후 스트레스 질환 및 일반화된 불안 질환(GAD)을 포함하는 불안 질환; 물질 사용 질환(의존성 및 남용과 같은) 및 물질 유도 질환(물질 금단과 같은)을 포함하는 물질 관련 질환; 자폐증 및 레츠(Rett's) 질환을 포함하는 전반적 발달 질환; 집중력 결핍 및 붕괴성 행동 질환, 예를 들면, 주의력 결핍 과잉 행동 질환(ADHD); 병적 도박과 같은 충격 조절 질환; 거식증 및 포식증과 같은 식이 질환; 뚜렛 질환과 같은 틱 질환; 하지불안 증후군; 인지, 기억력의 손상 및/또는 동반이환 정신 질환 및 신경 재활(외상후 뇌 손상)을 특징으로 하는 질환으로 이루어진 그룹으로부터 선택됨을 특징으로 하는 용도.

청구항 11.
제1항 내지 제9항 중의 어느 한 항에 있어서, 조성물이 정신분열증 및 기타 정신병 치료를 위해 사용됨을 특징으로 하는 용도.

청구항 12.
제1항 내지 제9항 중의 어느 한 항에 있어서, 조성물이 감정 질환, 예를 들면, 양극 I 질환 및 양극 II 질환 치료를 위해 사용됨을 특징으로 하는 용도.

청구항 13.
제1항 내지 제9항 중의 어느 한 항에 있어서, 조성물이 경증 우울증과 같은 단극 우울 질환, 계절성 정서 질환, 산후 우울증, 정서이상 및 주 우울증 치료를 위해 사용됨을 특징으로 하는 용도.

청구항 14.
제1항 내지 제9항 중의 어느 한 항에 있어서, 조성물이 패닉 질환(광장 공포증 유무)을 포함하는 불안 질환 치료를 위해 사용됨을 특징으로 하는 용도.

청구항 15.
제1항 내지 제9항 중의 어느 한 항에 있어서, 조성물이 사회 공포증 치료를 위해 사용됨을 특징으로 하는 용도.

청구항 16.
제1항 내지 제9항 중의 어느 한 항에 있어서, 조성물이 강박장애(OCD, 동반이환 만성 틱 또는 분열성 질환 유무) 치료를 위해 사용됨을 특징으로 하는 용도.

청구항 17.

제1항 내지 제9항 중의 어느 한 항에 있어서, 조성물이 외상후 스트레스 질환 치료를 위해 사용됨을 특징으로 하는 용도.

청구항 18.
제1항 내지 제9항 중의 어느 한 항에 있어서, 조성물이 일반화된 불안 질환(GAD) 치료를 위해 사용됨을 특징으로 하는 용도.

청구항 19.
제1항 내지 제9항 중의 어느 한 항에 있어서, 조성물이 물질 사용 질환(의존 성 및 남용과 같은) 및 물질 유도 질환(물질 금단과 같은)을 포함하는 물질 관련 질환 치료를 위해 사용됨을 특징으로 하는 용도.

청구항 20.
제1항 내지 제9항 중의 어느 한 항에 있어서, 조성물이 자폐증 및 레츠 질환을 포함하는 전반적 발달 질환 치료를 위해 사용됨을 특징으로 하는 용도.

청구항 21.
제1항 내지 제9항 중의 어느 한 항에 있어서, 조성물이 집중력 결핍 및 붕괴성 행동 질환, 예를 들면, 주의력 결핍 과잉 행동 질환(ADHD) 치료를 위해 사용됨을 특징으로 하는 용도.

청구항 22.
제1항 내지 제9항 중의 어느 한 항에 있어서, 조성물이 병적 도박과 같은 충격 조절 질환 치료를 위해 사용됨을 특징으로 하는 용도.

청구항 23.
제1항 내지 제9항 중의 어느 한 항에 있어서, 조성물이 거식증 및 포식증과 같은 식이 질환 치료를 위해 사용됨을 특징으로 하는 용도.

청구항 24.
제1항 내지 제9항 중의 어느 한 항에 있어서, 조성물이 뚜렛 질환과 같은 틱 질환 치료를 위해 사용됨을 특징으로 하는 용도.

청구항 25.
제1항 내지 제9항 중의 어느 한 항에 있어서, 조성물이 하지불안 증후군 치 료를 위해 사용됨을 특징으로 하는 용도.

청구항 26.
제1항 내지 제9항 중의 어느 한 항에 있어서, 조성물이 인지, 기억력의 손상 및/또는 동반이환 정신 질환 및 신경 재활(외상후 뇌 손상)을 특징으로 하는 질환 치료를 위해 사용됨을 특징으로 하는 용도.

청구항 27.
부분 도파민-D_2 수용체 효능 활성 및 세로토닌 및/또는 노르아드레날린 재흡수 억제 활성을 갖는 화합물 또는 부분 도파민-D_2 수용체 효능 활성 및 세로토닌 및/또는 노르아드레날린 재흡수 억제 활성을 갖는 화합물의 배합물을 적합한 투여 형태로 제조함을 특징으로 하는, 조성물의 제조방법.

청구항 28.
적합한 투여 형태의 부분 도파민-D_2 수용체 효능 활성 및 세로토닌 및/또는 노르아드레날린 재흡수 억제 활성을 갖는 화합물 또는 부분 도파민-D_2 수용체 효능 활성 및 세로토닌 및/또는 노르아드레날린 재흡수 억제 활성을 갖는 화합물의 배합물을 포함하는 조성물.

청구항 29.
제1항 내지 제26항 중의 어느 한 항에 있어서, 고유 부분 도파민-D_2 수용체 효능 활성이 포르스콜린-유도 [^{3}H]-cAMP 축적의 억제에서 완전 효능제의 20 내지 60%임을 특징으로 하는 용도.

청구항 30.
제1항 내지 제28항 중의 어느 한 항에 있어서, 조성물이 생체내 마이크로투석 실험에서 부분 도파민-D_2 활성 및 세로토닌 및/또는 노르아드레날린 재흡수 억제 활성을 동시에 나타냄을 특징으로 하는 용도.

청구항 31.

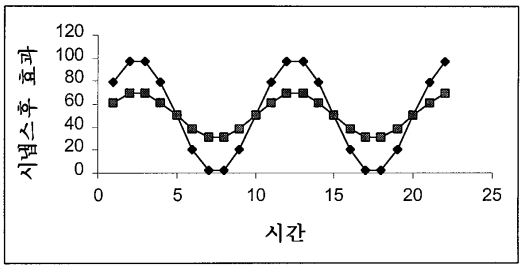
제1항 내지 제28항 중의 어느 한 항에 있어서, 조성물이 생체내 마이크로투석 실험에서 부분 도파민-D $_2$ 활성 및 세로토닌 재흡수 억제 활성을 동시에 나타냄을 특징으로 하는 용도.

청구항 32.

제1항 내지 제28항 중의 어느 한 항에 있어서, 조성물이 생체내 마이크로투석 실험에서 부분 도파민-D $_2$ 활성 및 노르아드레날린 재흡수 억제 활성을 동시에 나타냄을 특징으로 하는 용도.

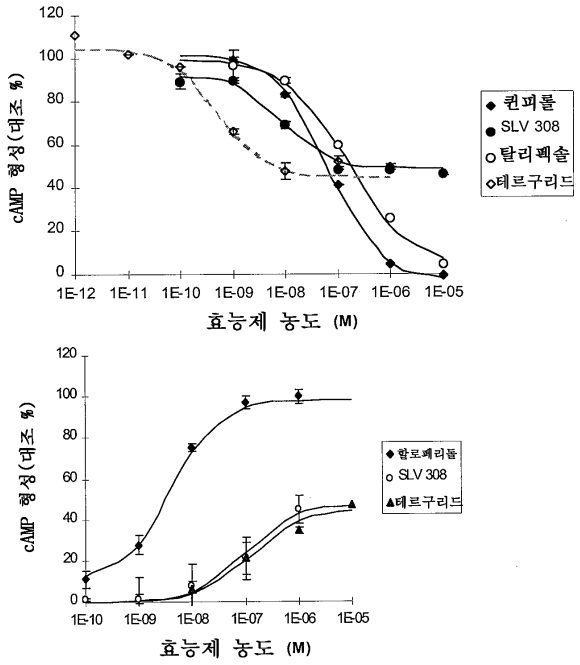
도면

도면1



부분 효능제의 부재(검정 곡선; 위) 및 존재(흐린 곡선; 아래)하에 내인성 효능제(예: 도파민)의 다양한 농도 사이에서의 가상 관련

도면2



도파민 D_2 수용체에서 SLV 308 및 기타 참조 화합물의 효과