

PGE₁-ethyl Ester 함유 발기부전 치료용 요도주입 액제의 제조 및 평가

최한곤 · 유봉규 · 이종달 · 김정애 · 권태협 · 우종수 · 용철순[†]

영남대학교 약학대학

(2006년 6월 8일 접수 · 2006년 7월 21일 승인)

Preparation and Evaluation of PGE₁-ethyl Ester Intraurethral Solutions for Erectile Dysfunction

Han-Gon Choi, Bon-Kyu Yoo, Jong-Dal Rhee, Jung-Ae Kim, Tae-Hyub Kwon,
Jong-Soo Woo and Chul Soon Yong[†]

College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyongsan 712-749, Korea

(Received June 8, 2006 · Accepted July 21, 2006)

ABSTRACT – PGE₁-ethyl ester intraurethral solutions were prepared in ethanol/propylene glycol mixture with penetration enhancer and viscosity-enhancing agent. The stability of PGE₁-ethyl ester in intraurethral solution was investigated at various temperature. Simultaneous determination of PGE₁-ethyl ester and PGE₁ was performed using a validated HPLC technique. In pentobarbital anesthetized cats, increase in intracavernous pressure (ICP), increase in penile length and duration of erectile response were determined after intraurethral application of PGE₁-ethyl ester solutions. PGE₁-ethyl ester solutions, when instilled into the eyes of rabbits, produces no noticeable irritation, or slight transient conjunctival irritation. From these results, ocular irritation of this solutions was judged as practically non-irritating. The stability study indicates that the therapeutically effective content in solution is well maintained for 46 weeks or longer when they are stored at 4°C. After intraurethral application of PGE₁-ethyl ester, ICP was increased and penile erection was induced. PGE₁-ethyl ester intraurethral solutions for erectile dysfunction could be developed and evaluated by employing feline erection model.

Key words – PGE₁-ethyl ester, Erectile dysfunction, Intraurethral solution, Feline model

발기부전이란 만족스런 성관계를 가질만큼 충분한 발기를 일으키지 못하거나 이를 유지하지 못하는 상태가 지속되는 상태로 정의된다.¹⁾ 전세계 1억명 이상의 남성이 어느 정도의 발기부전을 가지고 있는 것으로 추정되고 있으며, 국내에서는 200만명 정도의 환자가 있는 것으로 추정되고 있다. 또한 발기부전은 연령증가와 당뇨병, 고혈압과 같은 질병으로 인해 발병이 증가하는 것으로 보고되고 있다.^{2,4)}

Prostaglandin E₁(PGE₁)은 말초혈관확장작용과 혈소판응집 억제작용을 가지고 있어 말초혈관확장제나 발기부전 치료제로 사용되어 왔다. 특히 강력한 말초혈관 확장작용을 나타내므로 발기부전의 치료 및 개선에 많이 응용되어 왔다.^{5,6)} 현재 발기부전 치료제로는 크게 경구제, 음경해면체내 주사제인 Upjohn사의 Caverject®, 요도내 삽입제인 MUSE® 등으로 크게 나눌 수 있는데,⁷⁾ 주사제의 경우 약물투여시 자가 주사의 두려움과 투여시 통증 등으로 인한 부작용 때문에 환자들에게 큰 불편을 초래한다.⁸⁾ 경피제로의 개발은 PGE₁이

화학적으로 불안정할 뿐 아니라 피부를 통한 투과가 빠르지 않기 때문에 매우 어려운 실정이다.^{9,10)} 또한 PGE₁은 물에 불안정하고 산과 염기성에서 신속히 분해되는 특성이 있어 경구 투여가 불가능하다.^{11,12)} 요도좌제의 경우 요도로 투여된 약물이 흡수되어 corpora cavernosa에 전달되므로 전신 부작용이 적어서 고혈압 환자나 당뇨병 환자 등 많은 발기부전환자의 치료에 효과적이다.^{13,14)} 요도좌제는 주사제 투여시 경험하는 두려움이 없어 환자순응도가 높은 편이고, 또한 경피흡수제제로 개발될 경우도 환자의 순응도를 높일 수 있을 것이다.

본 연구의 목적은 이러한 PGE₁의 낮은 피부투과도를 극복하고 주사제의 여러 가지 단점을 보완하여 환자들의 편의를 도모하고자 PGE₁의 프로드럭인 PGE₁-ethyl ester(PGE₁-EE)를 함유한 요도주입 액제를 개발하고자 하였다.

실험 방법

기기 및 시약

본 실험에 사용한 약물인 prostaglandin E₁-ethyl ester

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 053)810-2812, E-mail : csyong@ynu.ac.kr

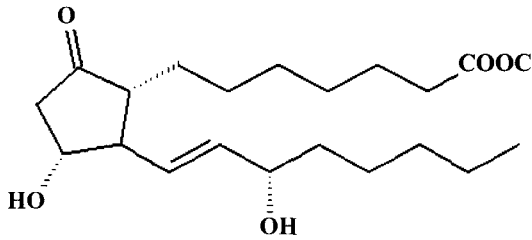


Figure 1-The structure of prostaglandin E₁ (PGE₁).

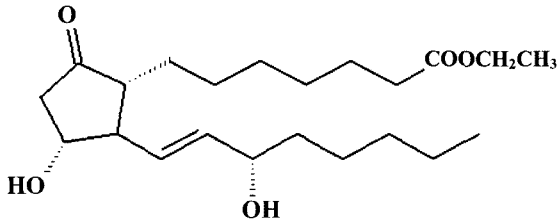


Figure 2-The structure of prostaglandin E₁-ethyl ester (PGE₁-EE).

(Mw=382.53)와 prostaglandin E₁(Mw=354.48)은 Cascade Biochem. Ltd.(U.K.)사에서 구입하였고, 무수 에탄올, 메탄올 및 아세토니트릴은 Riedel deHaen(German)로부터 구입하였다. 이 외의 모든 시약은 특급 또는 일급을 사용하였다. 본 실험에 사용한 HPLC system은 Jasco사(Japan)의 것을 사용하였고, 그 외 기기와 기구로는 자석교반기(Corning, USA), sonicator(Branson, USA), aspirator(Eyela, Japan), 미량원심분리기(Eppendorf 5415C, Germany), pH meter(Orion research Inc., USA), Grass model 7 polygraph(Grass instruments Co. USA), Statum pressure transducer 및 viscometer(Brookfield DV II+, USA) 등을 사용하였다.

요도주입 액제의 제조

지용성이 높은 PGE₁-EE를 용해시키기 위하여 에탄올/프로필렌 글리콜 cosolvent 시스템을 사용하여 제조하였으며, 흡수촉진제로 cineole 및 limonene을 사용하였다. 요도내 주입시 요도 내에서 흘러내림을 방지하기 위하여 점도증진제로 Carbopol 941을 사용하였으며, 단위투여시 PGE₁-EE 50 µg 및 25 µg을 투여할 수 있도록 하여 1회 사용 총 부피가 50 µl가 되도록 제조하였다. PGE₁-EE 요도주입 액제의 조성을 Table I에 나타내었다.

용액의 점도측정

점도는 small sample adapter가 부착된 Brookfield DV II+ 점도계를 사용하여 측정하였다. SC-18과 SC-31 spindle를 사용하였으며, 충분한 시간이 지난 후 측정하였다. 점도

Table I-Formula of PGE₁-EE Intraurethral Solution

Formula (%)	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Cineole	15	10	5	-	-	10
Limonene	-	-	-	-	10	-
Propylene glycol	16.5	19.25	22	24.75	19.25	19.25
Ethanol	16.5	19.25	22	24.75	19.25	19.25
PGE ₁ -EE	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.025
Carbopol 941	2.0	1.5	1.0	0.5	1.5	1.5
Total (mg)	50	50	50	50	50	50

증진제인 Carbopol 941의 양을 1-4%로 변화시키며 실온에서 측정하였다.

PGE₁-EE 및 PGE₁ 동시정량

PGE₁-EE 및 PGE₁의 농도는 Jasco UV detector(UV-975)와 autosampler(MIDAS)가 장착된 Jasco PU-980 HPLC 시스템을 사용하여 동시 정량하였다. 분석조건은 고정상으로 C18 column(Inertsil ODS-2 column, 5 m particle size, 4.6×150 mm)을 사용하고, 검출과장 202 nm에서 분석하였으며, 이동상으로는 acetonitrile/acetate(0.01 M, pH 3.3)=5:55 (v/v)인 용매를 사용하였고, 유속은 1.0 ml/min이었다. 용량 곡선은 1~40 µg/ml 범위 내에서 작성되었으며, 정확도 및 정밀도를 측정하여 validation을 수행하였다.

안정성실험

제제화 연구를 통하여 확립된 최종 제제의 안정성을 평가하여 제품화에 이용하고자 하였다. 요도주입 액제내 PGE₁-EE의 안정성을 알아보기 위하여 제조된 요도주입 액제를 0°C, 25°C, 37°C 및 45°C에서 4달간 보관하면서 PGE₁-EE의 경시변화를 측정한 후 Arrhenius 식을 이용하여 속도정수(k)를 구해 실제 보관온도인 4°C(냉장조건)에서의 shelf-life(t₁₀) 및 half-life(t_{1/2})를 구하였다. 적절한 시간 간격을 두고 취한 시료의 잔존하는 PGE₁-EE 농도 및 PGE₁의 농도를 전술한 HPLC에 의하여 정량하였다.

안점막자극시험

제조한 요도주입 액제의 국소독성을 평가하기 위하여 의약품 등의 독성시험기준(식품의약품안전청 고시 제 1998-116호, 1998, 12, 8) 제 9조에 의거하여 안점막자극시험을 실시하였다. 실험동물은 젊고 건강한 백색토끼(체중 2.0-3.0 kg) 9마리를 사용하였다. 안구 손상 등 각막의 손상여부를 확인하기 위하여 실험 개시 24시간 전에 미리 안검사를 실시하였다. PGE₁-EE 요도주입 액제 50 µl를 토끼 한쪽 눈에 점

안하고, 시험제제를 투여하지 않은 다른 쪽 눈을 대조로 하여 시험물질을 투여 후 1시간 및 1, 2, 3, 4, 7일에 각막, 홍채, 결막의 혼탁이나 출혈, 발적, 배출물 등의 변화를 육안적으로 관찰, 평가하였다.

고양이를 이용한 동물실험

요도주입 액제의 효능인 *in vivo*에서의 발기정도를 평가하기 위하여 고양이를 사용하여 PGE₁-EE 요도주입 액제를 평가하였다.¹⁷⁻²⁰ 2.5-4.0 kg 정도의 성숙한 숫고양이를 펜토바비탈(40 mg/kg, ip)로 마취한 후, 마취가 유지되도록 필요할 때마다 적당량의 펜토바비탈을 투여하였다. 성기를 덮고 있는 피부를 절개하고 PGE₁를 투여할 수 있게 오른쪽 corpus cavernosum에 29G 바늘을 삽입하였다. 왼쪽에는 음경해면체 내압(ICP, mmHg) 측정을 위해 23G 바늘을 삽입하였다. ICP는 Grass model 7 polygraph에 연결된 Statham P23 transducer에 의해 측정하였으며,^{20,21} 음경크기는 자를 이용하여 측정하였다. PGE₁(50 µg)은 음경해면체내압이 정상일 때 29G 바늘을 통하여 투여되었다. 각 실험동물에서, PGE₁-EE 요도주입 액제 50 µl를 tubing을 통해 고양이의 요도로 주입하고, PGE₁-EE 요도주입 액제의 효능은 ICP 증가와 발기팽창의 지속시간, 음경크기(penile length) 등에 의하여 평가하였다. PGE₁(50 µg)을 음경에 주사한 후 효능을 PGE₁-EE 요도주입 액제의 효능과 비교 분석하였다. 모든 실험에서 약물은 ICP가 정상일 때 투여되었다.

결과 및 고찰

분석법의 validation

PGE₁의 peak retention time은 4.5분이었으며, intraday CV(%) 및 RE(%)가 각각 4.97%, 4.10% 이하였으며, interday CV(%) 및 RE(%)는 각각 5.34%, 4.37% 이하이었다. 농도 대비 peak 높이의 비로써 검량선을 작성한 결과 $Y=973.25X+179.43(R^2=0.9994)$ 로써 분석조건은 양호하였다. PGE₁-EE의 peak retention time은 18분이었으며, intraday CV(%) 및 RE(%)가 각각 5.61%, 3.72% 이하였으며, interday CV(%) 및 RE(%)는 각각 6.15%, 4.54% 이하이었다. 농도 대비 peak 높이의 비로써 검량선을 작성한 결과 $Y=423.79X+87.18(R^2=0.9989)$ 로써 분석조건은 양호하였다.

점도

Carbopol 941의 양을 변화시키며 제조한 formula F1, F2, F3 및 F4의 실온에서의 점도를 Table II에 나타내었다. Carbopol 941의 양이 4%이상일 경우 에탄올/프로필렌글리콜

Table II-Viscosity of PGE₁-EE Intraurethral Solution

Formula	Amount of Carbopol 941 (weight %)	Viscosity (cps, at 25°C)
F1	4.0	63.7
F2	3.0	46.9
F3	2.0	23.5
F4	1.0	12.4

Table III-Ocular Irritation of PGE₁-EE Intraurethral Solution (n=9)

Eye tissue	Formula F2						MPS ^{b)}
	1 hr	1 ^{a)}	2	3	4	7	
Cornea	1.23	0	0	0	0	0	80
Iris	0	0	0	0	0	0	10
Conjunctiva	3.15	0.75	0	0	0	0	20
Mean total score	4.38	0.75	0	0	0	0	110

^{a)}day

^{b)}maximum possible score

혼합액에 녹기 어려웠다. 따라서 Carbopol 941의 양을 3%로 정하였으며, 이 농도에서 요도내 적용후 요도내에서 신속하게 흘러나오지 않을 정도의 적절한 점도인 46.9 cps를 나타내었다.

안점막자극실험

의약품 등의 독성시험기준에 준하여 안점막자극실험을 실시하여 요도내 자극성이나 과민성 여부를 조사하여 그 결과를 Table III에 나타내었다. 각막, 홍채, 결막의 손상 정도를 PGE₁-EE 요도주입 액제를 점안후 1시간 및 1, 2, 3, 4, 7일에 조사하였다. 안점막자극 정도는 각막의 혼탁도와 혼탁된 각막의 범위, 홍채반응, 결막의 발적, 결막부종, 배출물 등으로 평가하여 나온 수치를 평균하여 나타내었다. 본 실험의 최종 formula로 확립된 formula F2는 흡수촉진제 cineole 10%, 점증제 Carbopol 941 3%, 에탄올/프로필렌 글리콜 (1:1, v/v) 혼합액 75%로 조성되었으며, 이 제제를 점안하였을 때, 1시간 후에는 일부 토끼에서 혼탁이 분산 혹은 밀집되어 있었으나, 홍채의 말단이 명확히 관찰되었고, 결막의 몇몇 혈관이 충혈되었으나, 하루정도 지난 후에는 거의 대부분이 정상으로 돌아갔다. 이러한 안점막자극실험의 결과로 볼 때, PGE₁-EE 요도주입 액제는 자극이 없거나 일시적인 결막 자극만을 나타내었다. 이 실험 성적에 근거하여 PGE₁-EE 요도주입 액제를 제조하기 위하여 사용된 용매 및 첨가제 등은 자극이 없다고 판단되며, 실제사용에 문제가 없다고 사료된다.

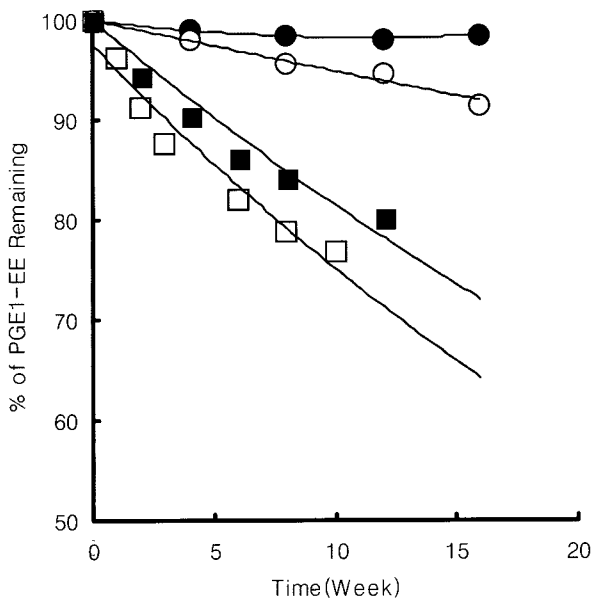


Figure 3—Degradation profiles of PGE₁-EE in formula F₂. Key : ● ; 0°C, ○ ; 25°C, ■ ; 37°C, □ ; 45°C

안정성실험

PGE₁-EE은 온도, 산, 염기조건에 따라 가수분해되어 PGE₁로 전환될 수 있으며, PGE₁은 다른 유도체(PGA₁, PGB₁)으로 변하기 때문에 약리활성을 잃어버리기 쉽다.^{11,12)} 그러므로 요도주입 액제내에서 PGE₁-EE의 안정성을 확인하기 위하여 16주 동안 다음과 같이 실험하였다. 0, 25, 37 및 45°C에서 요도주입 액제내에서 PGE₁-EE의 분해정도를 측정하였으며, 그 결과를 Figure 3에 나타내었다. 요도주입 액제내에서 PGE₁-EE의 분해속도는 온도의 영향을 크게 받았으며, 최종 확립된 formula F2에 함유된 PGE₁-EE는, 0°C에서 16주 동안 매우 작은 양만 분해되었다. 25°C, 37°C 및 45°C에서 PGE₁-EE는 pseudo-first order reaction에 의하여 분해되었으며 그 일차분해속도상수는 각각 1.11×10^{-2} , 4.0×10^{-2} 및 $6.73 \times 10^{-2} \text{ week}^{-1}$ 이었다.

위에서 구한 각각의 온도별 분해상수 값을 근거로 Arrhenius plot²²⁾을 한 결과 Figure 4와 같았으며, 회귀직선의 R값이 0.9911로서 좋은 상관성을 나타내었다. Arrhenius plot에서 요도주입 액제의 반감기($t_{1/2}$) 및 shelf-life(t_{10})를 PGE₁-EE 분해속도상수를 내삽하여 구한 결과를 Table IV에 나타내었다. Shelf life가 4°C에서 F2는 46.8주였다. 따라서 cineole 10% 및 Carbopol 3%를 함유한 에탄올/프로필렌 글리콜 혼합액내에서의 PGE₁-EE의 안정성을 더욱 개선하는 연구가 필요할 것이다. 반면 0°C에서 보관할 경우 shelf-life는 1년 이상이므로 본 제제는 이 온도에서 보관하는 것이 바람직하다고 사료된다.

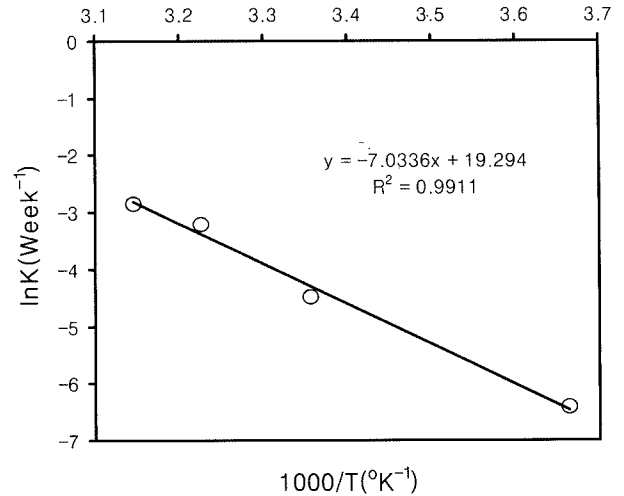


Figure 4—Arrhenius plot of the PGE₁-EE degradation in formula F₂.

Table IV—Degradation Rate Constants, Half-lives and Shelf-lives of PGE₁-EE Intraurethral Solution

Formula	F2		
Temp. (°C)	K (week ⁻¹)	t _{1/2} (week)	t ₁₀ (week)
0°C	1.63×10^{-3}	425.2	64.7
4°C	2.22×10^{-3}	312.2	47.5
25°C	1.11×10^{-2}	62.4	9.5
37°C	4.00×10^{-2}	17.3	2.6
45°C	5.73×10^{-2}	12.1	1.8

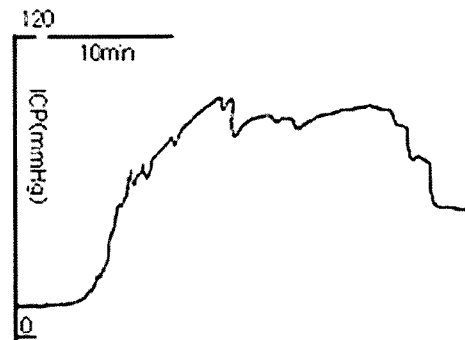


Figure 5—Representative time course change after intracavernosal injection of PGE₁ (50 µg) in cats.

고양이를 이용한 동물실험

PGE₁을 고양이의 음경해면체내에 주사하였을 때 ICP의 변화를 Figure 5에 나타내었다. 고양이의 발기전 ICP는 $18.5 \pm 3.0 \text{ mmHg}$ 이었으며, PGE₁ 50 µg을 주사하면 ICP는 $102.5 \pm 18.3 \text{ mmHg}$ 로 약 5배 증가하였다. 또한 발기팽창 지속시간은 PGE₁ 50 µg 주사시 약 30분 정도를 나타내었다. Figure 6-(1)은 흡수촉진제인 cineole을 15%함유한 formula

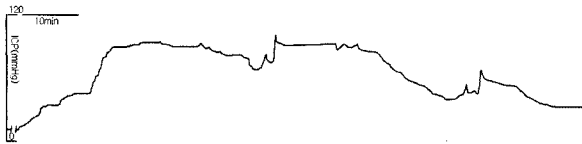


Figure 6-(1)



Figure 6-(2)



Figure 6-(3)



Figure 6-(4)



Figure 6-(5)

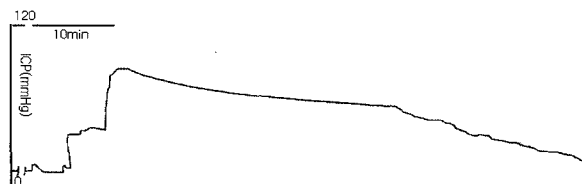


Figure 6-(6)

Figure 6—Representative time course change after intraurethral administration of various formulas in cats.
(1) Formula F1, (2) Formula F2, (3) Formula F3, (4) Formula F4, (5) Formula F5, (6) Formula F6

F1을 적용시 얻은 그래프로 10분 정도 경과 후 ICP가 89.2±21.1 mmHg로 증가하였고 60분 정도 경과 후 감소하는 경향을 나타내었다. Figure 6-(2)는 cineole을 10% 함유한 formula F2 적용 후 얻은 그래프로 formula F1과 유사한 양상을 나타내었다. Figure 6-(3)은 흡수촉진제인 cineole을 5% 함유한 formula F3을 적용시 얻은 그래프로 F1과

F2에 비하여 ICP 증가가 현저하지 않음을 알 수 있다. 이러한 결과에 따라 최종 확립된 요도주입 액제의 cineole의 함량을 10%로 고정하였다. Figure 6-(4)은 흡수촉진제를 함유하지 않은 formula F4를 요도내 적용 후 얻은 결과로 ICP의 증가가 거의 나타나지 않음을 알 수 있었다. Figure 6-(5)는 흡수촉진제로 cineole 대신 limonene을 10% 함유한 formula F5를 적용시 얻은 그래프로 cineole 10%를 함유한 F2에 비하여 ICP 증가를 개선할 수 없었다. Figure 6-(6)은 PGE₁-EE의 함량을 다른 formulas에 비하여 반으로 줄인

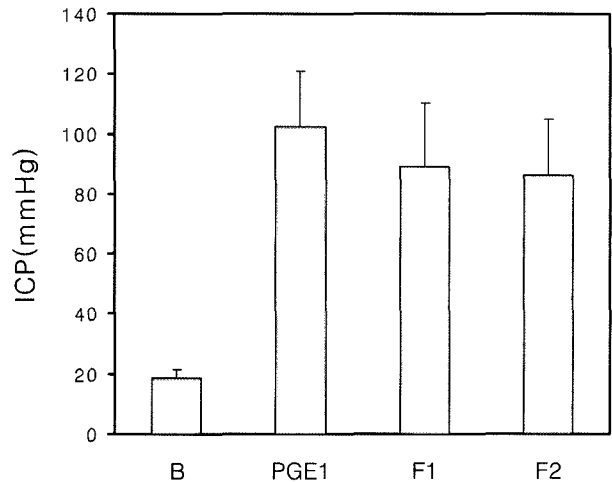


Figure 7—Intracavernosal pressure (ICP) increase after intracavernosal injection of PGE₁ and intraurethral administration of PGE₁-EE solutions in cats (n=3).

B : baseline, I : intracavernosal injection of PGE₁ (50 µg)
F1 : formula F1, F2 : formula F2

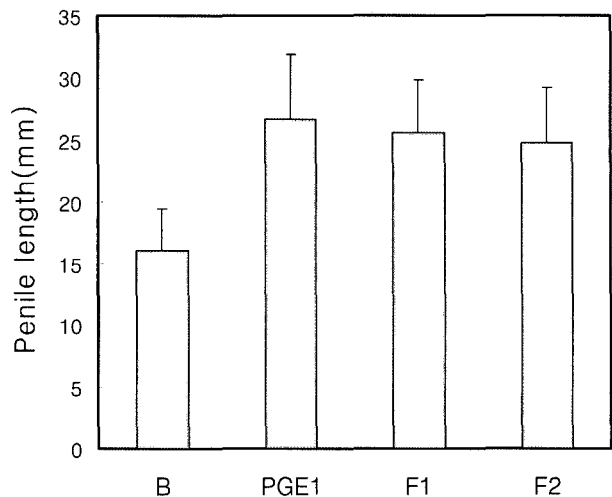


Figure 8—Penile length increase after intracavernosal injection of PGE₁ and intraurethral administration of PGE₁-EE solutions in cats (n=3).

B : baseline, I : intracavernosal injection of PGE₁ (50 µg)
F1 : formula F1, F2 : formula F2

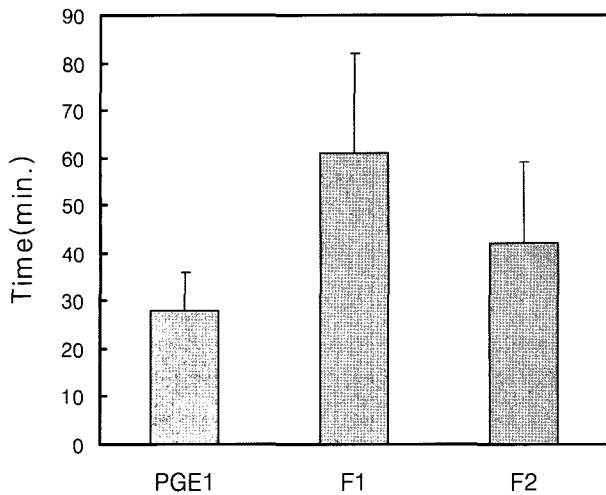


Figure 9—Peak duration after intracavernosal injection of PGE₁ and intraurethral administration of PGE₁-EE solutions in cats (n=3). B : baseline, I : intracavernosal injection of PGE₁ (50 µg) F1 : formula F1, F2 : formula F2

formula F6를 적용 후 얻은 그래프로 F2에 비하여 ICP가 낮게 유지되는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과를 근거로 formula F2를 최종 확립하였다.

F1 및 F2를 요도내 투여시 ICP는 발기전 18.5±3.0 mmHg에서 각각 89.2±21.1 및 86.3±18.5 mmHg로 증가하였으며, PGE₁ 50 µg을 음경해면체내 주사했을 때(102.5±18.3 mmHg)와 근접한 ICP를 나타내었다(Figure 7). 또한 Figure 8에서 보듯이, F1 및 F2를 요도내 투여시 음경크기는 발기전 약 16 mm에서 각각 25 및 26 mm 정도로 증가하였으며, 이것은 PGE₁ 50 µg을 음경해면체내 주사시와 비슷하게 음경크기를 증가시켰다. F1과 F2를 요도내 투여했을 때 발기지속시간을 Figure 9에 나타내었다. F1은 요도투여시 약 60분 정도 발기를 지속시켰으며, F2는 약 40분 정도 지속시켜 PGE₁ 50 µg을 음경해면체에 직접 주사할 경우보다 조금 더 발기가 지속되었다.

결 론

지용성이 큰 PGE₁-EE의 요도주입 액제를 제조하기 위하여 에탄올/프로필렌글리콜 혼합액을 사용하고, 흡수촉진제로 10% cineole을 사용하였으며, 요도주입 액제의 점도를 높이기 위하여 Carbopol 941 3%를 사용하였다. 토끼를 이용하여 국소자극정도를 평가하였으며, 고양이를 이용하여 발기정도를 평가하고 안정성을 평가하였다.

제조된 PGE₁-EE의 요도주입 액제는 3% Carbopol 941 첨가시 적당한 점도(46.9 cps)를 나타내었고, 흡수촉진제로

cineole 10%를 첨가할 경우 효능이 증가되었다. 안점막자극 실험을 통하여 본 실험에 사용된 최종 조성의 제제가 자극이 없음을 확인하였다. 안정성실험결과 최종 확립된 요도주입 액제(formula F2)의 shelf life가 46.8주를 나타내었다. 따라서 요도주입 액제 내에서 PGE₁-EE의 안정성을 개선할 수 있는 방법에 대한 차후 연구가 필요할 것으로 판단되었다.

고양이를 이용한 동물실험에서 요도주입 액제 F2를 요도내로 적용할 경우 PGE₁를 50 µg 음경해면체내에 주사하였을 때와 유사한 ICP 및 음경크기의 증가가 관찰되었으며, 작용지속시간 약간 증가하였다. 따라서 PGE₁-EE의 요도주입 액제는 주사시의 여러 문제점을 줄이면서 환자에게 적용하기 쉬운 제제로 개발될 수 있다고 평가되었다.

감사의 말씀

본 연구는 한국학술진흥재단의 지원(KRF-2004-005-E00003)으로 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

참고문헌

- 1) NIH consensus conference. Development panel on impotence: impotence, *JAMA*, 270, 83-90 (1993).
- 2) R. E. Nellans, L. R. Ellis and D. Kramer-Levien, Pharmacological erection: diagnosis and treatment applications in 69 patients, *J. Urol.*, 138, 52-54 (1987).
- 3) P. Halter, Trends in urology, *Med. Device Diagn. Industry*, 12, 52-54 (1990).
- 4) J. R. White and R. K. Campbell, Drug induced male sexual dysfunction. U.S. Pharmacist Diabetes Supplement. Complications, November, 44-47 (1990).
- 5) H. Porst, The rationale for prostaglandin E₁ in erectile failure: a survey of worldwide experience, *J. Urol.*, 155, 802-815 (1996).
- 6) O. I. Linet and F. G. Orrinc, Efficacy and safety of intracavernosal alprostadil in men with erectile dysfunction, *N. Engl. J. Med.*, 334, 873-877 (1996).
- 7) L. Garcia-Reboll, J. P. Mulhall and I. Goldstein, Drugs for the treatment of impotence, *Drugs & Aging*, 11, 140-151 (1997).
- 8) E. D. Kim and K. T. Mcvary, Topical prostaglandin E₁ for the treatment of erectile dysfunction, *J. Urol.*, 153, 1828-1830 (1995).
- 9) H. Wendel and F. J. Braun, Transdermal prostaglandin composition, US Patent 5,380,760, 1995.
- 10) M.-T. Sheu, L.-H. Lin, B. W. Spur, P. Y.-K. Wong and H.-S. Chiang, Investigation of the percutaneous penetration of prostaglandin E₁ and its ethyl ester, *J. Control. Rel.*, 55, 153-160 (1998).
- 11) R. G. Stehle and T. O. Oesterling, Stability of prostaglandin

- E₁ and dinoprostone(prostaglandin E₂) under strongly acidic and basic condition, *J. Pharm. Sci.*, **66**, 1590-1595 (1977).
- 12) D. C. Monkhouse, L. Van Campen and A. J. Aguiar, Kinetics of dehydration and isomerization of prostaglandins E₁ and E₂, *J. Pharm. Sci.*, **62**, 576-580 (1973).
- 13) H. Padma-Nathan, W. J. Hellstrom, F. E. Kaiser, R. F. Labasky, T. F. Lue, W. E. Nolten, P. C. Norwood, C. A. Peterson, R. Shabsigh, P. Y. Tam, V. A. Place and A. Gesundheit, Treatment of men with erectile dysfunction with transurethral alprostadil. Medicated Urethral System for Erection(MUSE) Study Group, *N. Engl. J. Med.*, **336**, 1-7 (1997).
- 14) G. Williams, C.-C. Abbou, E. T. Amar, P. Desvaux, T. A. Flam, G. A. B. Lycklama à Nijeholt, S. F. Lynch, R. J. Morgan, S. C. Muller, H. Porst, J. P. Pryor, P. Ryan, U. K. F. Witzsch, M. M. Hall, V. A. Place, A. P. Spivack and N. Gesundheit, Efficacy and safety of transurethral alprostadil therapy in men with erectile dysfunction. *Brit. J. Urol.*, **81**, 889-894 (1998).
- 15) A. Babar, H. M. Fares and F. M. Plakogiannis, *In vitro* release of testosterone from suppository bases and *in vivo* absorption studies in human males, *J. Pharm. Sci.*, **83**, 389-391 (1993).
- 16) N. Aoyagi, N. Kaniwa and M. Uchiyama, Inter-laboratory reproducibility of release tests for suppositories, *Drug. Develop. Ind. Pharm.*, **21**, 176-183 (1995).
- 17) W. J. G. Hellstrom, R. Wang, P. J. Kadowitz and F. R. Domer, Potassium channel agonists cause penile erection in cats, *Int. J. Impot. Res.*, **53**, 1365-1372 (1992).
- 18) R. Wang, F. R. Domer, S. C. Sika, P. J. Kadowitz and W. J. Hellstrom, Nitric oxide mediates penile erection in cats, *J. Urol.*, **151**, 234-237 (1994).
- 19) H. C. Champion, R. Wang, W. J. Hellstrom and P. J. Kadowitz, Nociceptin, a novel endogenous ligand for the ORL1 receptor, has potent erectile activity in the cat, *Am. J. Physiol.*, **273**, E214-E219 (1997).
- 20) H. C. Champion, R. Wang, J. A. Santiago, W. A. Murphy, D. H. Coy, P. J. Kadowitz and W. J. G. Hellstrom, Comparison of responses to adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide in the feline erection model, *J. Androl.*, **18**, 513-521 (1997).
- 21) H. C. Champion, T. J. Bivalacqua, R. Wang, P. J. Kadowitz, L. K. Keefer, J. E. Saavedra, J. A. Hrabie, P. C. Doherty and W. J. G. Hellstrom, Induction of penile erection by intracavernosal and transurethral administration of novel nitric oxide donors in the cat, *J. Urol.*, **161**, 2013-2019 (1999).
- 22) J. T. Carstensen, *Drug stability, principles and practices*, second edition, Marcel Dekker, Inc., New York. 35-48, 1995.