

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl. ⁶ A61K 31/65 A61P 29/00	(45) 공고일자 (11) 등록번호 (24) 등록일자	2005년11월24일 10-0530683 2005년11월17일
--	-------------------------------------	--

(21) 출원번호	10-1999-7008325	(65) 공개번호	10-2000-0076231
(22) 출원일자	1999년09월13일	(43) 공개일자	2000년12월26일
번역문 제출일자	1999년09월13일		
(86) 국제출원번호	PCT/US1998/003782	(87) 국제공개번호	WO 1998/40079
국제출원일자	1998년02월26일	국제공개일자	1998년09월17일

(81) 지정국

국내특허 : 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아 헤르체고비나, 바르바도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 캐나다, 스위스, 중국, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 에스토니아, 스페인, 핀란드, 영국, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬랜드, 일본, 케냐, 키르기스스탄, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 리베이라, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아공화국, 몽고, 말라위, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 슬로베니아, 슬로바키아, 타지키스탄, 투르크멘, 터키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 우간다, 우즈베키스탄, 베트남, 폴란드, 포르투갈, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 가나, 감비아, 기니 비사우, 시에라리온, 세르비아 앤 몬테네그로, 짐바브웨, 인도네시아,

AP ARIPO특허 : 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다, 가나, 감비아, 짐바브웨,

EA 유라시아특허 : 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기스스탄, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크멘,

EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴, 핀란드,

OA OAPI특허 : 부르키나파소, 베닌, 중앙아프리카, 콩고, 코트디부아르, 카메룬, 가봉, 기니, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고,

(30) 우선권주장 08/816,551 1997년03월13일 미국(US)

(73) 특허권자 더 리서치 파운데이션 오브 스테이트 유니버시티 오브 뉴욕
미국 뉴욕 12201-0009 알바니 피.오.박스 9

(72) 발명자 사이몬샌포드알
미국뉴욕주11790스토니브룩체다스트리트71

로어머엘리자베쓰제이
미국뉴욕주11777포트제퍼슨파인힐로드25

골립로튼엠
미국뉴욕주11787스미스타운휘트니게이트29

라마무르티눈가바람에스

미국뉴욕주11787스미쓰타운리남코트10

(74) 대리인

이병호
김영관
홍동오

심사관 : 이미정

(54) 세린 프로테이나제 억제 활성을 갖는 소수성 테트라사이클린을 포함하는 억제학적 조성물

요약

본 발명은 시스템에 세린 프로테이나제 억제량의 소수성 4-테(디메틸아미노)테트라사이클린을 투여함을 포함하여 생물학적 시스템내 세린 프로테이나제의 활성을 억제하는 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 사람 백혈구 엘라스타제의 활성으로부터 비롯되는 염증 동안의 조직 파괴를 감소시킨다. 상기 방법은 억제 또는 화장 목적을 위해 사용된다.

대표도

도 1

색인어

소수성 테트라사이클린, 세린 프로테이나제 억제 활성, 4-테(디메틸아미노)테트라사이클린, 백혈구 엘라스타제, 매트릭스 메탈로프로테이나제

명세서

본 발명은 국립 치과 연구 협회(NIH)에 의해 수여된 DE 10985 및 R37-DE03987하에 정부 지원으로 이루어졌다. 정부는 본 발명에 있어서 특정 권리를 갖는다.

기술분야

본 발명은 생물학적 시스템에서 세린 프로테이나제 활성을 억제하기 위해 소수성 테트라사이클린을 사용하는 방법에 관한 것이다. 보다 특히, 본 발명은 세린 프로테이나제 백혈구 엘라스타제의 활성으로부터 비롯되는 염증-매개-조직 파괴를 앓는 포유동물을 치료하기 위한 4-테(디메틸아미노)테트라사이클린의 치료학적 용도에 관한 것이다.

배경기술

결합조직의 손상은 염증 반응의 주요 합병증이다. 상기 염증 조직 손상은 예를 들어, 관절성 피진에서의 관절, 폐기종 및 호흡 곤란 증후군에서의 허파, 다발성 기관부전 증후군에서의 신장 및 소화관, 치근막염에서의 잇몸 및 치근막 및 허혈-재관류 증후군에서의 심장 및 뇌에 병리학적 변화를 일으킨다. 백혈구에 의해 분비되는 프로테아제는 염증반응과 관련된 조직 손상에 주요 역할을 하고 있다.

2개 부류의 프로테아제는 염증 조직 손상과 연관되어 있다: 세린 프로테이나제 및 매트릭스 메탈로프로테이나제(MMP's). 세린 프로테이나제는 MMP의 기질 특이성과 기질 결합 방식과는 완전히 상이한 기질 특이성 및 기질 결합 방식을 갖는다.

세린 프로테이나제는 이의 기질 특이성에 따라 3개의 유형으로 분류된다: 트립신형, 키모트립신형 및 엘라스타제형. 세린 프로테이나제 엘라스타제는 P₁ 위치에 소형 지방족 쇠를 갖는 기질(예: Ala, Val)을 선호한다. P₁ 및 P₂등은 기질의 절단 부위 양측면에 있는 프로테아제의 천연 기질상의 그룹이고 통상적으로 S₁, S₂등으로 지정된 효소상의 아부위와 맞물려

있는 것으로 추측된다. 세린 프로테이나제의 작용 방식에는 가수분해 절단을 위해 친핵체로서 작용하는 하이드록실 그룹을 갖는 아미노산 세린이 관여한다. 이와 반대로 매트릭스 메탈로프로테이나제에서는 통상 아연인 금속이 가수분해를 위해 표적 단백질 아미드 카보닐과 배위 결합하여 이를 활성화시킨다. 따라서, 세린 프로테이나제 엘라스타제는 MMP 엘라스타제와는 상이하다.

폐기종 및 호흡 곤란 증후군과 연관된 폐 손상의 기작에 있어서 세린 프로테이나제 엘라스타제의 추정되는 역할 때문에 세린 프로테이나제 엘라스타제(사람 백혈구 엘라스타제 또는 HLE)의 억제제를 개발하는데 많은 노력이 집중되어 왔다.

식물 기원의 펜타사이클릭 트리테르페노이드에 의해 예시되는 비-펩타이드성 천연 산물, 특히 우르줄산에 의한 사람 백혈구 엘라스타제의 억제는 문헌[참조: Q-L Ying et al., "Inhibition of Human Leucocyte Elastase by Ursolic Acid: Evidence for a Binding Site for Pentacyclic Triterpenes", *Biochem. J.* 277, 521 - 526(1991)]에 기술되어 있다.

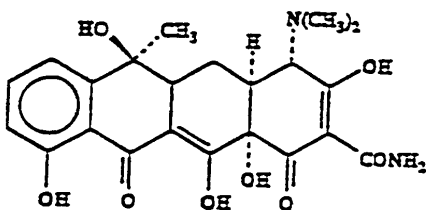
합성 기원의 또 다른 비펩타이드성 사람 백혈구 엘라스타제 억제제, 예를 들어, 4-(메틸설피닐)페닐 2-1-(1-메틸-2-피롤릴)부티레이트 및 관련된 설피이드 및 설피온 유도체는 문헌[참조: R. T. Cunningham, et al., "Synthesis and Evaluation of CE-0266: A New Human Neutrophil Elastase Inhibitor", *Bioorganic Chemistry*, 20, 345 - 355(1992)]에 기술되어 있다. HLE 억제제인 이들 화합물의 추가의 동족체는 문헌[참조: G.P. Kirschenheuter et al., "Synthesis and Characterization of Human Neutrophil Elastase Inhibitors Derived From Aromatic Esters of Phenylalkanoic Acids", in *Proteases, Protease Inhibitors and Protease-Derived Peptides*, Birkhauser Verlag, Basel(1993), pp 71 - 82]에 기술되어 있다. 천연 또는 합성 기원의 이들 비펩타이드성 화합물은 저분자량이고 소수성, 음이온 억제제이다.

HLE의 저분자량 억제제는 바람직하게 중심에 음전하를 갖는 연장된 소수성 도메인을 갖는 것으로 사료된다. X-크리스탈로그래피에 의한 백혈구 엘라스타제의 3차원적 결합 부위에 대한 분석은 상기 효소의 연장된 기질 결합 부위가 주로 소수성 잔기들로 배열되어 있지만 이들 소수성 환경에서 아르기닌 측쇄(직접적인 측매 삼중체의 일부가 아님)가 구조적으로 활성 부위의 구조를 안정화시키는데 기여한다는 것을 지적하고 있다. 억제제로서 작용할 수 있는 펩타이드 및 비펩타이드계 소수성 음이온 화합물 모두는 아르기닌 잔기와 소수성 힘과 정전기적 상호 작용의 조합을 통해 연장된 기질 결합 부위와 결합하는 것으로 추정된다.

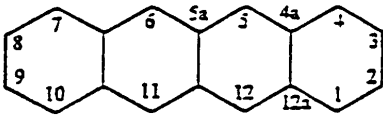
HLE의 비펩타이드성, 소수성-음이온 억제제의 또 다른 예는 지방산, 담즙산 및 피렌 트리설피온산이고 이들 모두는 또한 본 발명자중 한 사람의 연구실에서 연구되었다[참조문헌: S. Simon, et al., "Inhibition of Human Neutrophil Elastase by Polyguanylic Acid and Other Synthetic Polynucleotides," *Adv. Exp. Med. Biol.* 240, 65-74(1988); S.C. Tyagi and S.R. Simon, "Inhibitors Directed to Binding Domains in Neutrophil Elastase," *Biochemistry* 20, 9970-9977(1990); S. Tyagi and S.R. Simon, "Parinaric Acids as Probes of Binding Domains in Neutrophil Elastase," *J. Biol. Chem.* 266, 15185-15191(1991); S. Tyagi and S.R. Simon, "Interaction of Neutrophil Elastase with Hydrophobic Polyanionic Chelators," *Biochem, Cell Biol.* 69, 624-629(1991)]. 이들 화합물은 모두 가역적인 억제제이고 효소와는 어떠한 공유 결합도 형성하지 않는다. 이들은 연장된 기질 결합 부위에 결합하기 때문에 보다 큰 올리고펩타이드 기질 및 엘라스틴과 같은 단백질의 효소적 가수분해에 대한 경쟁 억제제이지만 활성 부위내 측매 삼중체의 바로 인접부위에서만 결합하는 가장 작은 합성 기질에 대한 가수분해에 있어서는 비경쟁 억제제이다.

천연 또는 합성 기원의 이들 비펩타이드성 화합물의 어떠한 것도 테트라사이클린과 유사하지 않다.

테트라사이클린은 특히 초기에 항생제로서 성과를 거둔 널리 공지된 화합물 부류이다. 테트라사이클린 및 스포로사이클린등과 같은 상기 화합물은 다양한 세균 및 또 다른 미생물에 대해 효과적인 광범위 스펙트럼의 항생제이다. 모 화합물인 테트라사이클린은 하기와 같은 일반 구조를 갖는다:



다중 환 핵의 번호 매김 시스템은 하기와 같다:



테트라사이클린 및 5-OH(옥시테트라사이클린, 예를 들어, 테트라마이신TM) 및 7-Cl(클로로테트라사이클린, 예를 들어, 아우레오마이신TM) 유도체는 천연에 존재하고 모두 널리 공지된 항생제이다. 반합성 테트라사이클린은 예를 들어, 독시클린, 미노사이클린 및 메타사이클린을 포함한다. 일반적으로 감염을 치료하는데 효과적인 테트라사이클린 항생제의 사용은 목적하지 않은 부작용을 일으킬 수 있다. 예를 들어, 항생제 테트라사이클린의 장기 투여는 장내 미생물군(flora)과 같은 정상적인 미생물군을 감소시키거나 제거할 수 있고 항생제 내성 미생물의 출현 또는 효모 및 진균류의 과증식을 유발할 수 있다. 전형적으로 이들의 상당한 단점은 이들 화합물의 만성 투여를 요구하는 치료 섭생을 배제한다는 것이다.

천연 테트라사이클린은 구조의 특정 요소가 항생제 특성을 나타내도록 유지되어야 하지만 이의 항생제 특성을 상실시키지 않으면서 변형시킬 수 있다. 한 부류의 화합물은 구조적으로 항생제 테트라사이클린과 연관된 것으로 정의되어 있지만 이의 항생제 활성은 실질적으로 또는 완전히 화학적 변형에 의해 소멸된다. 기본적인 테트라사이클린 구조에 가해질 수 없거나 가해질 수 있는 변형은 문헌[참조: Mitscher, L. A., The Chemistry of the Tetracycline Antibiotics, Marcel Dekker, New York(1978), Ch. 6.]에 보고 되었다. 미서에 따르면, 테트라사이클린 환 시스템의 5 내지 9번 위치는 항생제 특성의 완전한 상실없이 변형될 수 있다. 그러나 환 시스템의 기본 구조의 변화 또는 위치 1번 내지 4번 또는 10번 내지 12번에서의 치환은 일반적으로 항세균 활성이 실질적으로 약화되거나 완전히 상실된 합성 테트라사이클린을 유도한다.

화학적으로 변형된 테트라사이클린(CMT's)은 예를 들어, 4-테(디메틸아미노)테트라사이클린(CMT-1), 테트라사이클리노리트릴(CMT-2), 6-테메틸-6-테옥시-4-테(디메틸아미노)테트라사이클린(CMT-3), 7-클로로-4-테(디메틸아미노)테트라사이클린(CMT-4), 테트라사이클린 피라졸(CMT-5), 4-하이드록시-4-테(디메틸아미노)테트라사이클린(CMT-6), 4-테(디메틸아미노)-12a-테옥시테트라사이클린(CMT-7), 6-테옥시-5a-하이드록시-4-테(디메틸아미노)테트라사이클린(CMT-8), 4-테(디메틸아미노)-12a-테옥시안하이드로테트라사이클린(CMT-9), 4-테(디메틸아미노)미노사이클린(CMT-10)을 포함한다.

저하된 항미생물 활성을 갖는, 변형된 테트라사이클린의 추가의 예는 옥시테트라사이클린 및 클로로테트라사이클린(에피-옥시테트라사이클린 및 에피-클로로테트라사이클린)의 4-에피머를 포함한다.

특정 테트라사이클린은 매트릭스 메탈로프로테이나제를 억제하는 것으로 나타났고 2명의 발명자가 테트라사이클린 항생제 활성과는 무관한 MMP를 억제할 수 있는 일군의 화합물로서 테트라사이클린을 동정하는데 주요 역할을 수행하였다. 미국 특허 제5,459,135호(Golub et al.), 제5,321,017호(Golub et al.), 제5,308,839호(Golub et al.), 제4,935,412호(McNamara et al.), 제4,704,383호(McNamara et al.) 및 제4,666,897호(Golub et al.)은 조직-파괴 질환, 만성 염증 및 콜라겐아제, 젤라틴아제 및 MMP 엘라스타제와 같은 매트릭스 메탈로프로테이나제의 과도한 메탈로프로테이나제 활성과 연관된 또 다른 질환을 치료하기 위한 비-항미생물성 테트라사이클린의 용도를 기술하고 있다.

치근막염이 구강 병원체 감염에 의해 의원성으로 유도되거나, 치근막 인대 위축이 칩장섬의 파괴로 유도되어, 조직 손상 부위에서 MMP 활성이 병리학적으로 상승된 실험 동물을 포함한 일련의 연구에서 매트릭스 메탈로프로테이나제 활성이 테트라사이클린에 의해 억제된다는 것이 밝혀졌다. 항생제 활성을 보유한 반합성 테트라사이클린 및 어떠한 항생제 활성도 갖지 않는 화학적으로 변형된 테트라사이클린을 사용한 이들 동물의 치료는 조직 손상 부위에서 MMP의 농도를 현저히 감소시켰고 동물의 치근막염을 현저히 개선시켰다[문헌참조: K.M. Chang et al., "Local and Systemic Factors in Periodontal Disease Increase Matrix-Degrading Enzyme Activities in Rat Gingiva: Effect of Minocycline Therapy", Research Communications in Molecular Pathology and Pharmacology, 91, 303-318(1996); M.E. Ryan, et al., "Matrix Metalloproteinases and Their Inhibition in Periodontal Treatment", Current Opinion in Periodontology, 3, 85-96(1996)]

그러나, 상호 관련된 일련의 연구에서, 다양하게 변형된 테트라사이클린이 매트릭스 메탈로프로테이나제 엘라스타제의 활성을 억제하는 반면에, 그 당시 특성 화되었던 테트라사이클린은 랫트 PMN 또는 사람 활막의 시험관내 세린 프로테이나제를 억제하지 못하는 것으로 밝혀졌다[문헌참조: L. Golub et al., "Tetracyclines Inhibit Connective Tissue Breakdown:New Therapeutic Implications For an Old Family of Drugs", Crit. Rev. Oral Biol. Med., 2, 297-322(1991) at pp 300 and 301].

메탈로프로테이나제 및 세린 프로테이나제는 함께 작용하여 간질 기질 및 기저 막을 포함한 세포의 매트릭스 성분 대부분을 파괴시킬 수 있다. 이러한 상호 작용에 있어서, 1) 카텝신 G(세린 프로테이나제)는 MMP-8을 활성화시킬 수 있고; 2) 사람 백혈구 엘라스타제(세린 프로테이나제)는 매트릭스 메탈로프로테이나제의 주요 내인성 조직 억제제(TIMP)를 불활성화시킬 수 있고; 3) MMP-8 및 MMP-9는 α_1 -프로테이나제 억제제(α_1 -PI), 사람 백혈구 엘라스타제의 주요 내인성 억제제를 불활성화시킬 수 있다[문헌참조: S.K. Mallya, et al., "Interaction of Matrix Metalloproteinases With Serine Protease Inhibitors," Annals of the New York Academy of Science, 732, 303-314(1994); and A. R. Rinehart, et al., "Human α -Proteinase Inhibitor Binds to Extracellular Matrix In Vitro", Am.J.Respir. Cell Mol. Biol., 9, 666-679(1993)]. 따라서, 프로테아제를 활성화시키고 내인성 억제제를 불활성화시킴으로써, 2개 부류의 프로테이나제가 프로테아제-안티프로테아제 균형을 병리학적 조직 파괴로 치우치게 할 수 있다. 효소가 정상적인 조건하에서 조절되는 동안에 조절 기작이 붕괴되는 경우 세린 프로테이나제 과대 활성화로 특징화되는 다양한 질환 증상이 발생할 수 있다.

예를 들어, α_1 -PI의 내인성 농도가 효과적으로 사람 백혈구 엘라스타제 농도를 중화시킬 수 없는 호흡 곤란 증후군에서 나타날 수 있는 대다수의 호중구의 침윤 조건하에, 프로테아제-안티프로테아제 균형은 내인성 안티엘라스타제의 보호가 HLE 매개된 손상으로부터 보호받기에는 불충분한 쪽으로 치우칠 수 있다.

프로테아제-안티프로테아제 균형을 완전히 회복시킬 수 있는 외인성 프로테이나제 억제제는 지금까지 발견되지 않았다

발명의 요약

따라서, 본 발명은 세린 프로테이나제 억제량의 소수성 테트라사이클린을 생물학적 시스템에 투여함으로써 생물학적 시스템내 세린 프로테이나제의 과대 활성을 억제하는 방법을 제공한다. 바람직한 테트라사이클린은 4-데(디메틸아미노)테트라사이클린, 예를 들어, 6-데옥시-5 α -하이드록시-4-데(디메틸아미노)테트라사이클린 및 특히 6-데메틸-6-데옥시-4-데(디메틸아미노)테트라사이클린이다.

한 양태에서, 6-데메틸-6-데옥시-4-데(디메틸아미노)테트라사이클린은 백혈구 엘라스타제 활성을 억제하는데 충분한 양으로 포유동물에게 투여되고 백혈구 엘라스타제의 활성과 관련된 염증 파괴는 감소된다. 포유동물은 바람직하게 사람이지만 또 다른 동물도 유리하게 치료된다.

본 발명의 방법은 화장용 뿐만 아니라 약제로서 유용하다. 억제제는 프로테아제-안티프로테아제 균형을 회복시키는 치료제로서 상당한 장점을 갖고 있다.

도면의 간단한 설명

도 1은 실시예 1에서 논의되는 바와 같이 11개의 상이한 테트라사이클린에 의한 사람 호중구-매개된 세포의 매트릭스 분해의 억제에 대한 막대 그래프이다. 상기 억제에 대한 투여량 의존관계의 연구는 표 I에 나타난다.

도 2는 실시예 1 및 2에서 논의된 바와 같이 CMT-3(COL-3)에 의한 세포의 매트릭스의 사람 호중구-매개된 및 사람 백혈구 엘라스타제 매개된 분해에 대해 필적할 만한 억제를 설명하는 막대 그래프이다.

도 3a, b 및 도 4a, b는 실시예 2에서 논의된 바와 같이 CMT-3(COL-3)에 의한 사람 백혈구 엘라스타제 아미도 분해 활성 억제에 대한 디스 플롯(도 3a 및 도 4a) 및 코니쉬-보우덴(Cornish-Bowden) 플롯(도 3b 및 도 4b)을 설명한다. X-축 상에 디스 플롯의 교차점 및 상응하는 코니쉬-보우덴 플롯의 기울기는 CMT-3(COL-3)이 올리고펩타이드 색소성 기질 메톡시숙시닐-Ala-Ala-Pro-Val-p-니트로아닐리드에 대한 사람 백혈구 엘라스타제 아미도 분해 활성의 경쟁적 억제제라는 것을 입증한다.

도 5는 실시예 2에서 논의된 바와 같이 독시사이클린의 존재하에 HLE 아미도 분해 활성에 대한 디스 플롯을 설명하고 CMT-3와는 대조적으로 상기 테트라사이클린에 의해 단지 매우 약하게 억제된다는 것을 보여준다.

도 6은 실시예 3의 국부 염증을 유도하기 위해 세균성 리포폴리사카라이드를 잇몸 주사 받은 랫트의 잇몸 조직 추출물내에서 백혈구 엘라스타제 활성을 감소시키기 위해 경구적으로 투여된 CMT-3의 수행능을 설명하는 막대 그래프이다.

발명의 상세한 설명

본 발명의 방법에서, 소수성 테트라사이클린은 효과적인 세린 프로테이나제 엘라스타제 억제 활성을 갖는다.

사람 백혈구 엘라스타제(HLE) 및 카텡신 G는 사람 다형핵성 백혈구(호중구)의 아주르호성(azurophilic) 과립에서 발견되는 세린 프로테이나제이다. 상기 엘라스타제는 때로는 사람 호중구 엘라스타제(HNE)로 언급된다. 천연 기질, 엘라스틴은 테스모신 및 α -이소테스모신 및 또 다른 가교 잔기에 의해 고도로 가교된 유연성 단백질이다. 세린 프로테이나제 엘라스타제는 탄성 섬유, 콜라겐 IV형(혈관의 기저막에 존재), 잇몸 및 평활근에 존재하는 콜라겐 III형, 프로테오글리칸, 피브로넥틴 및 라미닌과 같은 접착 당단백질, TIMP 및 결합 조직 및 간질 유액의 기타 단백질 성분을 분해시킬 수 있다.

세린 프로테이나제 사람 백혈구 엘라스타제(HLE)는 관절염, 치근막 질환, 사구체신염, 급성 폐 질환, 낭포성 섬유증 및, 종양 세포에 의한 세포의 매트릭스로의 침투를 특징으로하는 몇몇 악성 종양과 같은 많은 질환에서 조직 파괴에 대한 효능을 갖는다. HLE 활성은 패혈증 쇼크, 다중 기관 부전(MOF) 및 심근 허혈-재관류 손상에 연루되어 있다. HLE는 또한 폐기종 및 성인 호흡 곤란 증후군(ARDS)과 연관된 폐 손상 기작에 연루되어 있다. 폐 손상은 적어도 부분적으로 프로테아제 및 내인성 안티프로테아제(예: TIMP 및 α_1 -PI)간의 불균형에 의한 것으로 사료된다. 백혈구 엘라스타제를 억제하는 주요 내인성 안티프로테이나제는 α_1 -PI이다.

현재, 화학적으로 변형된 테트라사이클린은 백혈구 엘라스타제 억제 활성을 위해 사용될 수 있는 것으로 밝혀졌다. 테트라사이클린은 소수성 4-데(디메틸아미노)테트라사이클린, 가장 바람직하게는 6-데메틸-6-데옥시-4-데(디메틸아미노)테트라사이클린(CMT-3)이다. HLE의 억제는 상기 효소에 의해 유발되는 직접적인 조직 손상을 감소시킬 뿐만 아니라 또한 TIMP의 농도를 보존함으로써 MMP의 내인성 억제제를 활성 상태로 유지한다.

비-항세균성 테트라사이클린을 사용한 호중구 프로테아제의 억제는 이들 화합물이 시험관내 억제 활성과 일관된 투여량으로 사용되는 경우 세균 감염 부위에서 생성되는 화학주성인자에 반응하여 간질 기질을 투과하여 공격하는 호중구의 능력을 파손시키지는 않기 때문에 몇몇 감지할만한 위험 부위에서 감염에 대한 효과적인 반응을 나타내지 않는다.

특정 CMT, 특히 CMT-3은 현재 실질적인 백혈구 엘라스타제 억제 활성을 나타내는 반면에 미노사이클린, 독시사이클린 및 또 다른 화학적으로 변형된 테트라사이클린은 실질적인 백혈구 엘라스타제 억제 활성을 나타내지 않는 것으로 밝혀졌다.

다양한 테트라사이클린의 활성은, 사람 호중구가 생합성적으로 제조된 완전한 간질 기질성 세포의 매트릭스(ECM)를 분해시키게 되는 염증 조직 손상의 시험관내 검정을 사용하여 조사된다. 호중구는 한 유형의 백혈구(다형핵 백혈구)이다. 이러한 실험 시스템을 통한 연구는 상기 ECM의 호중구 매개된 분해가, 백혈구 엘라스타제의 강력한 억제제일 뿐만 아니라 MMP에 대한 경쟁적 기질인 α_1 -PI를 첨가함으로써 실질적으로 완전히 억제될 수 있다는 것을 보여준다[문헌참조: E.J. Roemer, K.J. Stanton and S.R. Simon, "In Vitro Assay Systems for Inflammatory Cell-Mediated Damage to Interstitial Extracellular Matrix," *In Vitro Toxicol.* 7,75-81(1994); E.J. Roemer, K.J. Stanton, and S.R. Simon, "In Vitro Assay Systems for Cell Interactions With Interstitial Extracellular Matrix," *In Vitro Toxicol.* 7,209-224(1994)]. 이러한 시스템에서 예를들어 30 μ M의 투여량으로 ECM 분해를 억제시키는 테트라사이클린의 능력에 대해 시험하는 경우(실시예 1), CMT-3이 도 1에서 보여지는 바와 같이 호중구-매개된 파괴로부터 ECM을 보호하는데 있어서 또 다른 테트라사이클린 보다 훨씬 우수하다. 상기 시험관내 분석을 사용하는 추가의 투여량 반응 연구에서 25 내지 50 μ M의 투여량으로 호중구 매개된 ECM 분해가 약 50% 억제될 수 있다. 동일한 투여량 범위에서 시험된 또 다른 대부분의 테트라사이클린은 상기 분석을 사용한 호중구-매개된 ECM 분해를 ~20% 이상으로 억제할 수는 없었다.

CMT-3에 의한 HLE의 직접적인 억제는 Ying et al.] 등의 문헌[참조: Q.Ying, A.R. Rinehart, S.R. Simon, and J.C. Cheronis, "Inhibition of Human Leukocyte Elastase by Ursolic Acid: Evidence for a Hydrophobic Binding Site for Pentacyclic Triterpenes," *Biochem.J.* 277,521-526(1991)]에서 기술된 바와 같이 유기 용매 및 세제 농도를 감소시킨, 사람 백혈구 엘라스타제(HLE) 활성의 변형된 검정법 및 색소성 올리고펩타이드 기질인 메톡시숙시닐-Ala-Ala-Pro-Val-p-니트로아닐리드의 아미도 분해의 측정에 의한 사람 백혈구 엘라스타제(HLE) 활성의 통상적인 분석법을 사용하여 측정된다(실시예 2). 상기 올리고펩타이드는 일반적으로 HLE내 연장된 기질 결합 도메인의 첫번째 5개의 아부위에 결합하는 것으로 추정된다. 선행 문헌[참조: Ying et al. *Biochem.J.* 277, 521-526(1991)]에서 또 다른 비펩타이드성 엘라스타제 억제제에 대해 기술된 바와 같은 동일한 방식으로 속도 데이터를 분석하기 위한 디슨 및 코니쉬-보우덴 플롯의 조합을 사용하여 본 발명자는 CMT-3이 도 3a, b 및 4a, b에 설명된 바와 같이 18 내지 40 μ M의 겔보기 K_i 값을 갖는, 메톡시숙시닐-Ala-Ala-Pro-Val-p-니트로아닐리드의 아미도 분해에 있어서 주요 경쟁 억제제라는 것을 밝혔다. 이와는 반대

로, 25 내지 50 μ M의 K_i 값으로 시험관내 MMP-8 활성을 억제할 수 있는 독시사이클린은 도 5의 덕슨 플롯 기울기에 의해 보여지는 바와 같이 300 μ M 이상의 K_i 값을 갖는, HLE에 대해 매우 약한 억제제이다. CMT-3가 생호중구 보다는 정제된 HLE에 의해 매개되는 ECM 분해 검정에서 사용되는 경우 약 25 내지 50 μ M의 겔보기 I_{50} 을 갖는 효과적인 억제제라는 것이 입증된다.

생체내 분석(실시예 3)은 내독소를 투여하여 급성 치근막 염증이 유발되는 랫트에 CMT-3을 투여함으로써, 기질 속시닐-Ala-Ala-Ala-p-니트로아닐리드를 사용한 아미도 분해 분석에 의해 검정된 바와 같이 백혈구 엘라스타제의 활성이 저하된다는 것을 증명한다.

본 발명에 의해 치료될 수 있는 질환은 포유동물 피검체에서 발병한다. 사람 환자는 지금까지 가장 중요한 대상이었지만 예를 들어, 애완동물 동물(예: 개 및 고양이) 및 실험용 동물(예: 랫트 및 마우스) 뿐만 아니라 농장 동물을 포함한 또 다른 동물의 유익을 위해 당해 방법이 수행될 수 있다.

본 발명의 방법은 과도한 사람 백혈구 엘라스타제 활성으로부터 비롯되는 조직 손상, 예를 들어 폐 질환 및 신장 질환을 앓는 환자를 치료하는데 사용될 수 있다. 상기 유형의 폐 질환은 낭포성 섬유증, 폐기종, 복합 외상, 수술 스트레스, 패혈증의 합병증으로서, 또는 다중 기관 부전의 한 증상으로서의 성인 호흡 곤란 증후군; 또한 산, 화학물질, 공업용 및 군사용 독소 및 매연 및 연소된 또 다른 독성 산물과 같은 독물의 흡입으로부터 비롯되는 급성 폐 손상을 포함한다. 상기 유형의 신장 질환은 사구체신염 및 복합 외상 또는 패혈증의 합병증으로서, 또는 다중 기관 부전의 한 증상으로서의 급성 신부전을 포함한다.

또한 상기 방법은 진피-상피 접합부에 호중구의 상당한 침윤으로 인한 진피-상피 접합부의 분리를 초래하는 병변 및 염증 피부 질환을 치료하는데 사용될 수 있다. 상기 증상은 면역 기원(자가면역 또는 약물 반응의 결과)일 수 있거나 세균 독소에 의해 유발될 수 있다(영아의 각질 피부). 백혈구 엘라스타제가 이들 질환에서 진피-상피 접합부의 파괴에 기여하는 것이 거의 확실하다. 진피-상피 접합부의 호중구성 침윤 및 분리가 일어나는, 화학적 미란성 물질(공업용 및 군사용 독소 노출 포함)에 의해 촉발되는 몇몇 병변은 또한 백혈구 엘라스타제와 연루되어, 또한 CMT-3 치료 용법으로 관리되어야 할 대상이다. 또한 안구의 몇몇 병변은 손상된 성분으로서 호중구의 침윤을 가지며 CMT-3와 같이 안티프로테이나제로 보다 효과적으로 치료될 수 있다.

본 발명의 방법은 백혈구 엘라스타제 과대 활성과 연관된 목적하지 않은 결과를 저하시키거나 억제시키는데 효과적인 양으로 테트라사이클린 화합물의 투여를 포함한다. 바람직한 테트라사이클린 화합물은 화학적으로 변형되어 이의 항미생물 성질이 감소되거나 제거된다. 상기 화학적으로 변형된 테트라사이클린은 항미생물성 테트라사이클린보다 고농도로 사용되어, 이들 화합물의 항미생물성 또는 항세균성 양으로 사용될 때 종종 발생하는 이로운 미생물을 무분별하게 죽이는 것과 같은 특성의 단점을 회피하게 된다.

환자에 대한 최대 투여량은 목적하지 않거나 허용될 수 없는 부작용을 일으키지 않는 최대 투여량이다. 예를 들어, 테트라사이클린 화합물은 하루 약 0.1mg/kg 내지 약 24mg/kg, 및 바람직하게 하루 약 2mg/kg 내지 약 18mg/kg의 양으로 투여될 수 있다. 본 발명의 목적을 위해, 부작용은 임상적으로 중요한 항미생물성 또는 항세균성 활성 뿐만 아니라 독성 효과를 포함한다. 예를 들어, 하루 약 50mg/kg 이상의 투여량은 사람을 포함한 대부분의 포유동물에서 부작용을 일으킨다. 여하튼 진료의사는 당업계의 기술 및 지식에 따라 선도되고, 본 발명은 기술된 현상을 성취하는데 효과적인 투여량을 제한없이 포함한다.

본 발명의 방법에 사용하기 위해 바람직한 약제학적 조성물은 당해 기술분야의 진료의사에 의해 이해되는 바와 같은 적합한 약제학적 비히클중에 배합된 테트라사이클린 화합물을 함유한다.

상기된 약제학적 목적을 위해, 본 발명의 테트라사이클린은 임의로 공지된 약제학적으로 허용되는 보조제 또는 담체와 함께 약제학적 제제로 제형화될 수 있다. 이들 제제는 통상적인 화학적 방법에 따라 제조되며 내부적으로 예를 들어, 정제 또는 액체에 의해 경구적으로, 또는 좌제로 투여될 수 있고; 비경구적으로 예를 들어 정맥내, 근육내 또는 피하내로 주사 용제 또는 현탁제로서 투여될 수 있으며; 국소적으로 또는 폐와 기도로의 흡입을 위한 호흡 가능한 범위내에서 비말의 분무 또는 에어로졸의 형태로 투여될 수 있다. 상기 에어로졸은 추가의 치료 효능에 기여할 수 있는 폐의 계면 활성 제제와 같은 비히클을 포함할 수 있다. 시간-방출 또는 조절된 방출 투여를 사용할 수 있다.

약제 또는 화장품 제제는 세린 프로테이나제-억제, 특히 백혈구 엘라스타제-억제 유효량의 테트라사이클린을 포함한다.

또 다른 양태에서, 테트라사이클린은 예를 들어, 피부 크림 및 로션, 화장 용 마스크, 화장용 랩, 화장 처리를 위한 화장용 드레싱 및 샴푸와 같은 화장제에 제제로서 사용될 수 있다. 용어 화장은 신체적 외관을 향상시키거나 개선시키기 위해 의도된 것을 의미한다.

국소 또는 화장품 적용을 위해, 적합한 제형으로는 리포솜, 용제, 현탁제, 에멀전, 크림, 연고, 산제, 도포제, 고약, 에어로졸등을 포함하지만 이에 제한되지 않으며, 경우에 따라 이들은 살균되고/되거나 보조제, 예를 들어, 방부제, 안정화제, 습윤제, 완충제 또는 삼투압에 영향을 주는 염등과 혼합된다.

특정 경우에 활성 화합물의 실질적인 바람직한 양은 제형화될 특정 조성물, 적용 방식, 및 치료될 특정 부위 및 환자에 따라 다양할 수 있는 것으로 평가된다. 투여량은 예를 들어, 제형 및 공지된 제제의 상이한 활성의 통상적인 비교 및 적당한 통상적인 약리학적 또는 화장학적 프로토콜에 의한 통상적인 방법을 사용하여 결정된다.

화장용으로 사용하기 위해 많은 부가의 생적합성 또는 생물학적 불활성 물질이 테트라사이클린과 함께 혼합될 수 있다. 생적합성은 사람 및 사람의 조직에 대한 무독성 또는 무손상을 의미한다. 이들 첨가 물질은 예를 들어, 흡습제, 즉, 물에 친화성을 갖는 물질(예: 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 이소프로판올프로필렌 글리콜), 유기 또는 무기염(예: 4급 암모늄 화합물 및 아연 염), 알콜(예: 벤질 알콜 또는 저급 지방족 알콜), 중합체 라티스, 충전제(예: 실리카 및 탈크), 오일(예: 광유, 캐스터 오일 및 바셀린), 습윤화제 또는 분산제 또는 계면활성제(예: 에틸렌 옥사이드 및 프로필렌 옥사이드의 블록 중합체), 염료, 향제, 색소, 산화아연, 이산화티타늄, 국소 약물(예: 메틸살리실레이트, 니코티네이트, 캡사이신 및 멘톨), 향여드름 약물(예: 벤조일 퍼옥사이드, 레소르시놀 및 레티노산), 국소 항미생물제(예: 실버 설파디아진, 기타 테트라사이클린 및 카파졸린), 피부 보습제(예: 나트륨 피롤리딘 카복실산) 및 UV-A 및/또는 UV-B 흡수 일광차단제(예: p-아미노벤조산(PABA) 또는 2-에틸헥실 4-N,N-디메틸아미노벤조에이트(파디메이트 O))를 포함한다. 또한 보강제, 가스 또는 액체 차단물 또는 치료 영역의 보호를 제공하기 위해 기재가 사용될 수 있다. 기재는 실질적으로 제한되지 않으며 중합체 필름, 금속 박막, 셀룰로스 및 또 다른 천연 또는 합성 물질을 포함한다.

하기 실시예는 추가로 본 발명의 이해를 돕기 위해 제공되고 합리적인 범위하에 본 발명을 제한하지 않는 것으로 의도된다.

실시예

실시예 1

테트라사이클린의 세린 프로테이나제 억제 활성을 문헌[참조: E.J. Roemer, K.J. Stanton, and S.R. Simon, "In Vitro Assay Systems for Inflammatory Cell-Mediated Damage to Interstitial Extracellular Matrix," *In Vitro Toxicol.* 7, 75-81(1994); E.J. Roemer, K.J. Staton, and S.R. Simon, "In Vitro Assay Systems for Cell Interactions With Interstitial Extracellular Matrix," *In Vitro Toxicol.* 7, 209-224(1994)]에 기술된 바와 같이 사람 호중구(생 PMN)가 배양된 R22 랫트 심장 평활근 세포에 의해 생산된, 생합성적으로 제조된 완전한 간질 기질성 세포외 매트릭스(ECM)를 분해하도록 허용되는 염증성 조직 손상의 시험관내 검정을 사용하여 시험한다. 5 μ M 내지 50 μ M에 이르는 농도로 CMT-1 내지 CMT-10으로 명명된 10개의 상이한 화학적으로 변형된 테트라사이클린 (CMT) 및 독시사이클린을 헹크스(Hank's) 완충염 용액(HBSS)중의 2 x 10⁶의 생존 사람 PMN/mL의 현탁액과 동시에 ECM으로 첨가한다. 이들 연구에서, ECM을 대사적으로 ³H-프롤린으로 방사선 라벨링시키고 배양한지 6시간후에 가용화된 수(count)를 측정하며 단독의 PMN과 배양한후에 방출된 수(count)와 비교한다. 5 μ M, 25 μ M 및 50 μ M 농도에 대한 결과는 표 1에 나타내고 30 μ M에 대한 결과는 도 1에 나타낸다.

[표 1]

PMN(+0.5 nM PMA)-매개된 R22-ECM 가수분해에 대한 CMT의 효과(37°C에서 6시간 후 방출된 3H-Pro cpm)

검정	ECM 가수분해(% 대조구)		
	5 μ m	25 μ m	50 μ m
독시사이클린	98	92	84
CMT-1	93	95	90
CMT-2	91	95	100
CMT-3	69	55	50
CMT-4	90	98	130
CMT-5	78	112	102
CMT-6	109	101	97
CMT-7	97	84	100
CMT-8	96	82	57
CMT-9	88	215	190
CMT-10	101	85	80

각주: ECM 가수분해는 대조구가 임의의 억제제 부재하에 100% 표준화된 가수분해인 % 대조구로서 나타낸다

표 1 및 도 1은 CMT-3이 호중구 매개된 ECM 분해를 상당히 억제($\geq 25\text{-}30\mu\text{m}$ 의 농도에서 ~50% 억제)할 수 있고 상기 검정에서 사용되는 모든 투여량에서 ECM 분해를 우수하게 억제할 수 있다는 것을 보여준다. CMT-8 및 CMT-10, 특히 CMT-8은 일부 농도에서 ECM 분해를 억제하는 것으로 나타난다.

도 2는 상기 기술한 바와 같은 동일한 방법을 사용하여 2×10^6 PMN/mL 또는 $10\mu\text{M}$ 정제된 HLE에 의해 매개된 ECM 분해에 대한 상응하는 검정에서 $25\mu\text{M}$ CMT-3(COL-3)의 억제 효능의 비교를 설명한다.

실시예 2

사람 백혈구 엘라스타제(HLE)의 아미도 분해 활성화에 대한 테트라사이클린의 직접적인 억제 효과를 문헌[참조: Ying et al., Biochem. J. 277, 521-526(1991)]에 기술된 바와 같이 DMSO 농도를 2%로 감소시키고 세제 트리톤 X-100의 사용을 배제하는 변형된 방법으로 평가한다. 아미도 분해 검정에 사용되는 96-웰 미세플레이트의 웰상에서 HLE의 시간-의존 흡광도를 회피하기 위해 플레이트를 0.2% 소 혈청 알부민 용액으로 전처리한다. $100\mu\text{M}$ 내지 $300\mu\text{M}$ 의 색소성 올리고펩타이드 기질 메톡시숙시닐-Ala-Ala-Pro-Val-p-니트로아닐리드의 농도 범위를 모든 측정에 사용한다. X-선 크리스탈로 그래피 분석[문헌참조: W. Bode, E. Meyer, and J.C. Powers, "Human Leukocyte and Porcine Pancreatic Elastase: X-Ray Crystal Structures, Mechanism, Substrate Specificity, and Mechanism-Based Inhibitors," Biochemistry 28, 1951 - 1963(1989)]을 기초로 하면, 상기 기질은 HLE의 기질 결합 아부위인 S_1 내지 S_5 에 결합하는 것으로 사료된다. 아미도 분해 활성화의 억제는 디슨[문헌참조: M. Dixon, Biochem. J. 55, 170-171(1953)] 및 코니쉬-보우덴[문헌참조: A Cornish-Bowden, Biochem. J. 137, 143-144(1974)]의 그래픽 방법으로 분석한다. 잉(Ying et al)등에 의해 기술된 바와 같이 X축상에 한점에서, 상이한 기질 농도에서 수득된 디슨 플롯의 교차점은 순수한 비경쟁적 억제제의 기작을 배제하는 반면에 상이한 기질 농도에서 수득된 상응하는 코니쉬-보우덴 플롯은 순수한 경쟁적 억제제와 일치한다. 디슨 플롯이 교차하는 기질 농도는 억제제에 대한 K_i 값이다. CMT-3(COL-3)에 의한 HLE의 억제를 위한 전형적인 디슨 및 코니쉬-보우덴 플롯은 도 3a, b 및 4a, b에서 설명한다. 이들 데이터로부터 CMT-3에 의한 HLE의 아미도 분해 활성화의 억제를 위한 K_i 는 25 내지 $40\mu\text{M}$ 인 것으로 평가된다. 10% 디메틸설폭사이드 및 0.1% 트리톤 X-100의 존재하에 CMT-3의 억제 효능은 현저히 감소하여 소수성 작용이 CMT-3와 HLE의 결합 안정성에 기여한다는 결론을 지지한다.

HLE에 의한 메톡시숙시닐-Ala-Ala-Pro-Val-p-니트로아닐리드의 아미도 분해에 대한 독시사이클린의 억제 활성을 또한 CMT-3에 대해 상기 기술된 바와 같이 2% DMSO 존재 및 세제 부재하에 측정하였다. 독시사이클린에 의한 HLE의 아미도 분해 활성화의 억제에 대한 위한 디슨 플롯의 기울기 분석은 도 5에서 설명된 바와 같이 대략 $300\mu\text{M}$ 의 보다 높은 K_i 값을 나타낸다. HLE의 아미도 가수분해 활성화의 억제제로서 비교적 낮거나 어떠한 효능도 보이지 않는 또 다른 테트라사이클린 유도체는 옥시테트라사이클린 및 이의 4-에피머인 에피-옥시테트라사이클린; 클로로테트라사이클린 및 이의 4-에피머인 에피 클로로테트라사이클린; 무수클로로테트라사이클린; 및 4개의 융합된 환에서 옥소 및 하이드록시 잔기가 피라졸 환으로 대체되는 CMT-5인 화학적으로 변형된 테트라사이클린이다. 독특하게 테트라사이클린의 융합된 환 시스템의 6번 또는 4번 위치중 어느 하나에서 어떠한 치환체도 갖지 않기 때문에 예상치 않게 CMT-3는 시험된 또 다른 어느 테트라사이클린 보다 HLE에 대해 보다 높은 친화성으로 결합할 수 있는 것으로 나타났다.

HLE를 억제하기 위한 CMT-3의 수행능은, 정제된 HLE에 의한 완전한 간질 세포의 매트릭스의 분해가 CMT-3에 의해 억제되는 도 2에서 이미 보여진 바와 같은 아미도 분해 검정에 국한되지 않는다. HLE에 의한 매트릭스 분해의 억제 검정에서 CMT-3의 억제 활성의 효능은 HLE 아미도 분해 활성의 분석에서 결정된 것과 비견할만 하며, 이것은 2가지 유형의 분석에서 억제 기작이 CMT-3가 펩타이드 또는 단백질 기질중 어느 하나의 결합을 차단하는 양상으로 효소에 결합한다는 해석과 일치한다. ECM의 HLE-매개된 분해 검정에서 시험된 기타 테트라사이클린은 CMT-3으로 시험된 것과 상응하는 투여량에서 효과적이지 못하다.

실시예 3

급성 염증 및 호중구 침윤의 동물 모델에서 생체내 백혈구 엘라스타제 활성을 감소시키기 위해 경구적으로 투여된 CMT-3(COL-3)의 수행능은 문헌[참조: K.M. Chang, M.E. Ryan, L.M. Golub, N.S. Ramamurthy, and T.F. McNamara, "Local and Systemic Factors in Periodontal Disease Increase Matrix-Degrading Enzyme Activities in Rat Gingiva: Effect of Minocycline Therapy," Res. Comm. Mol. Path. Pharm. 91, 303-318(1996)]에 기술된 바와 유사한 실험 프로토콜을 사용하여 입증된다. 6일 동안에 격일로 랫트에 상악골 및 하악골 구순의 잇몸에 이. 콜리(E. coli) 리포폴리사카라이드(LPS) 0.01mg을 투여하거나 10 μ l 용적의 식염수 비히클을 주사한다. 또한 2개 세트의 랫트에 6일동안 1ml의 용적으로 매일 CMT-3 2mg 또는 5mg을 경구용 위관으로 투여하고, 또 다른 세트의 랫트에는 단지 2%의 카복시메틸셀룰로즈 비히클을 투여한다. 6일 치료 기간 말기에 동물을 희생시키고 잇몸 조직을 절개한다. 각 실험 그룹으로부터의 조직을 풀(pool)화 시키고 동결 및 해동시키며 유(Yu et al)등의 방법[문헌참조: Z. Yu, N.S. Ramamurthy, M. Leung, K.M. Chang, T.F. McNamara, and L.M. Golub, "Chemically Modified Tetracycline Normalizes Collagen Metabolism in Diabetic Rats," J. Periodont. Res. 28, 420-428(1993)]에 따른 효소 활성의 검정을 위해 추출한다. 백혈구 엘라스타제 활성을 라마무르티(Ramamurthy) 및 골럽(Golub)(1983)의 방법[참조: N.S. Ramamurthy, and L.M. Golub, "Diabetes Increases Collagenase Activity in Extracts of Rat Gingiva and Skin," J. Periodont. Res. 18, 23-30(1983)]에 따라 기질 숙시닐-Ala-Ala-Ala-p-니트로아닐리드를 사용하여 검정한다. 여기서 보고된 발견은 경구적으로 투여된 CMT-3가 LPS 주사한 랫트의 잇몸 추출물에서 백혈구 엘라스타제 활성의 농도를 감소시킬 수 있었다는 것이다. 도 6은, LPS를 주사받고 단독의 비히클로 위관 투여 받거나 식염수를 주사받은 랫트로부터의 잇몸 추출물의 엘라스타제 활성과 비교하여 CMT-3의 2가지 투여량으로 처리된 LPS-주사된 랫트의 잇몸 추출물에서 백혈구 엘라스타제 활성의 감소된 수준을 설명한다. CMT-3의 투여는 LPS 주사받은 랫트의 잇몸 추출물에서 엘라스타제 활성의 수준을, 식염수 용액 단독을 잇몸에 주사 받은 동물에서 검출되는 수준까지 감소시키는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 생체내 CMT-3 투여가 호중구 침윤과 함께 국부적 급성 염증 부위에서 백혈구 엘라스타제 농도를 감소시킬 수 있다는 것을 입증한다.

따라서 현재 본 발명의 바람직한 양태인 것으로 사료되는 것을 기술하면서 당해 분야의 기술자는 본 발명의 취지를 벗어나지 않으면서 변화 및 변형이 이루어질 수 있고 본 발명의 범위내에 속하는 상기 변화 및 변형을 청구하는 것으로 의도된다는 것을 인지할 것이다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

삭제

청구항 2.

삭제

청구항 3.

삭제

청구항 4.

삭제

청구항 5.

삭제

청구항 6.

삭제

청구항 7.

삭제

청구항 8.

백혈구 엘라스타제 억제량의 6-데메틸-6-데옥시-4-데(디메틸아미노)테트라사이클린(CMT-3)을 포함하는, 과도한 백혈구 엘라스타제 활성으로 인한 조직 손상을 치료하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 9.

삭제

청구항 10.

삭제

청구항 11.

삭제

청구항 12.

삭제

청구항 13.

제8항에 있어서, 과도한 백혈구 엘라스타제 활성으로부터 비롯된 조직 손상이 폐 질환인 약제학적 조성물.

청구항 14.

제13항에 있어서, 폐 질환이 낭포성 섬유증, 폐기종, 성인 호흡 곤란 증후군 또는 독물 흡입으로 인한 급성 폐 손상인 약제학적 조성물.

청구항 15.

제14항에 있어서, 호흡 곤란 증후군이 복합 외상, 수술 스트레스, 패혈증의 합병증이거나 다중 기관 부전의 한 증상인 약제학적 조성물.

청구항 16.

제14항에 있어서, 독물이 산, 화학물질, 공업용 독소, 군사용 독소, 매연 또는 연소 독성 산물인 약제학적 조성물.

청구항 17.

제8항에 있어서, 과도한 백혈구 엘라스타제 활성으로부터 비롯된 조직 손상이 신장 질환인 약제학적 조성물.

청구항 18.

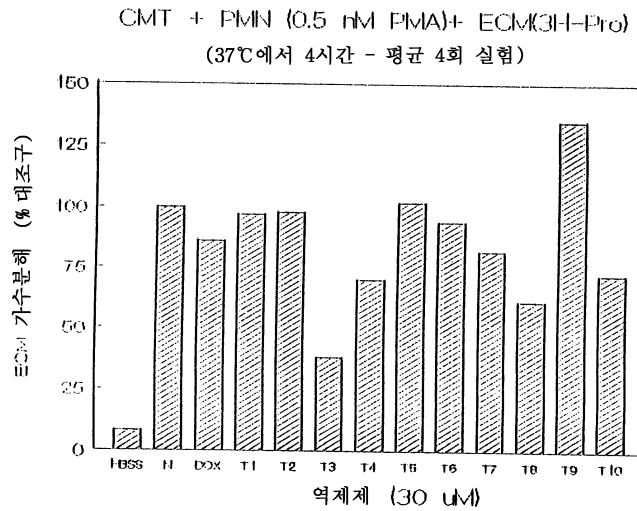
제17항에 있어서, 신장 질환이 사구체신염; 복합 외상 또는 패혈증의 합병증으로서의 급성 신부전; 또는 다중 기관 부전의 한 증상으로서의 급성 신부전인 약제학적 조성물.

청구항 19.

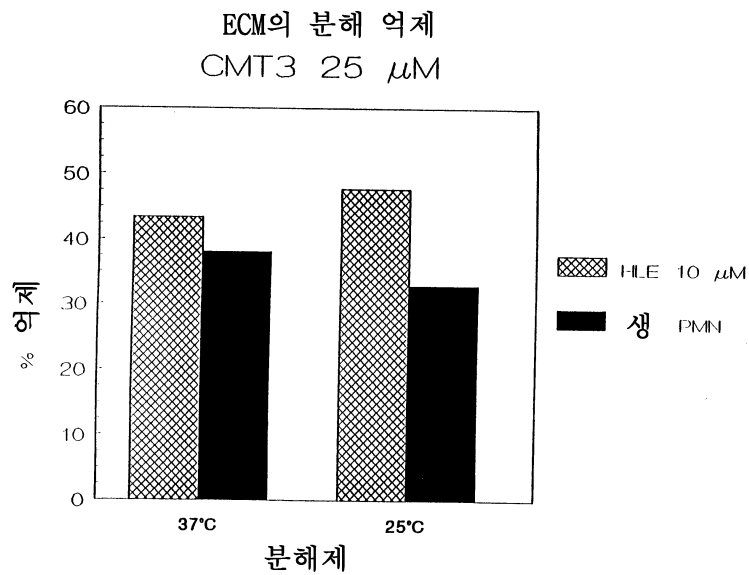
제8항에 있어서, 미용제제(cosmetic preparation)를 추가로 포함하는 약제학적 조성물.

도면

도면1

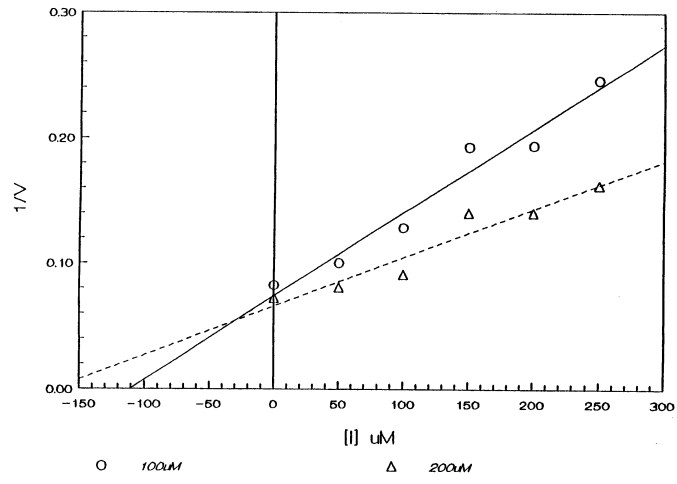


도면2



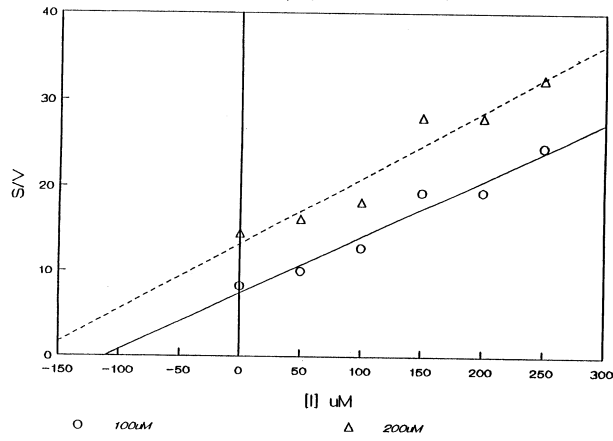
도면3a

HLE에 대한 CMT-3의 억제 효과
딕슨 플롯



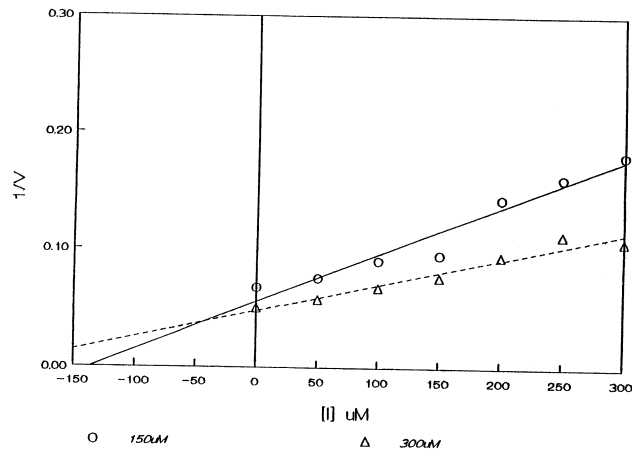
도면3b

HLE에 대한 CMT-3의 억제 효과
코니쉬-보우덴 플롯



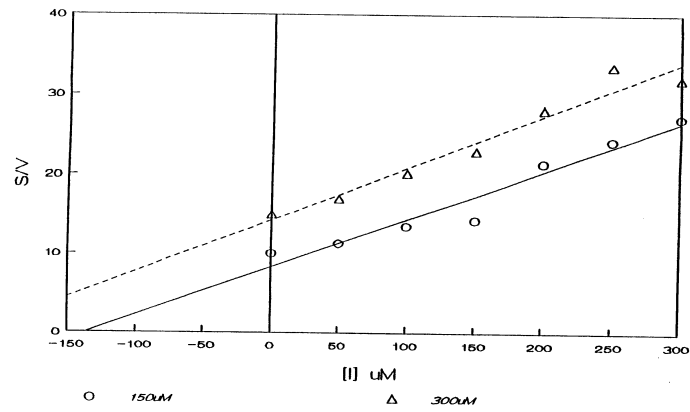
도면4a

HLE에 대한 CMT-3의 억제 효과



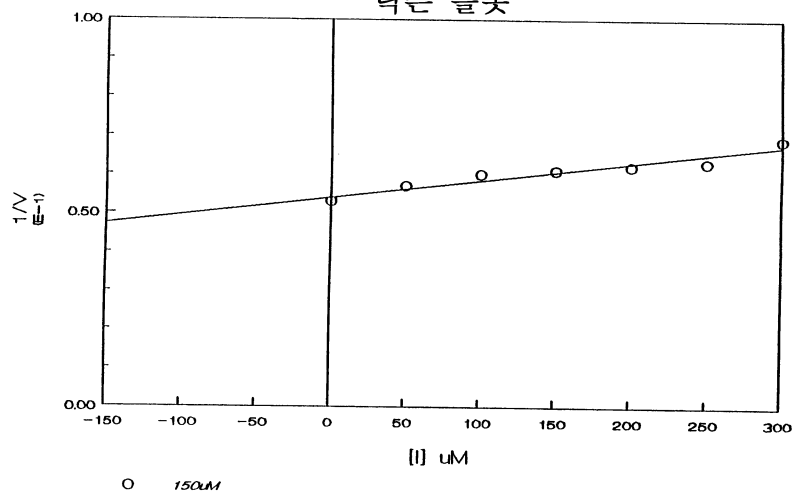
도면4b

HLE에 대한 CMT-3의 억제 효과
코니쉬-보우덴 플롯



도면5

HLE에 대한 독시사이클린의 효과
딕슨 플롯



도면6

치은 엘라스타제 활성에 대한 내독소-유도된
치근막염의 효과
하루 투여량 5 또는 2mg의 CMT-3에 의한 억제

