

(19)



österreichisches
patentamt

(10)

AT 508 569 A1 2011-02-15

(12)

Österreichische Patentanmeldung

(21) Anmeldenummer: **A 1162/2009**(51) Int. Cl.: **A61K 38/08** (2006.01),
A61P 9/10 (2006.01)(22) Anmeldetag: **23.07.2009**(43) Veröffentlicht am: **15.02.2011**

(73) Patentinhaber:

AFFIRIS AG
A-1030 WIEN (AT)

(54) PHARMACEUTICAL COMPOUND

(57) Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf eine Verbindung, die ein Peptid mit der Aminosäuresequenz

$(X_1)_m (X_2)_n (X_3)_o X_4 X_5 X_6 PX_7$ (Formel I)

umfasst, zur Behandlung und/oder Prävention einer physikalischen Störung, die mit dem reninaktivierten Angiotensin-System in Zusammenhang steht, wobei

X_1 ein Aminosäurerest ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus D, G, A, T, S, Q, E, K, R und H,

X_2 ein Aminosäurerest ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus R, P, M, G, A, S, T, N, Q, D, E, K und H,

X_3 ein Aminosäurerest ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus V, G, H, A, L, I, N, Q, D, E, K und R;

X_4 jedweder Aminosäurerest ist,

X_5 ein Aminosäurerest ist, bei dem es sich nicht um P, F, W handelt,

X_6 ein aromatischer Aminosäurerest ist;

X_7 ein Aminosäurerest ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus F, L, I, P, M, V, A, H, ein nicht saurer Aminosäurerest und ein nicht basischer Aminosäurerest ist, und

wobei m, n und o unabhängig 0 oder 1 sind, mit der Maßgabe, dass m und n 0 sind, wenn o 0 ist, und m 0 ist, wenn n 0 ist, und

wobei das Peptid nicht DRVYIHPF ist, und wobei die Verbindung eine Bindungskapazität in Bezug auf einen Antikörper aufweist, der für DRVYIHPF spezifisch ist.

AT 508 569 A1 2011-02-15

Zusammenfassung:

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf eine Verbindung, die ein Peptid mit der Aminosäuresequenz



umfasst, zur Behandlung und/oder Prävention einer physikalischen Störung, die mit dem reninaktivierten Angiotensin-System in Zusammenhang steht, wobei

X_1 ein Aminosäurerest ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus D, G, A, T, S, Q, E, K, R und H,

X_2 ein Aminosäurerest ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus R, P, M, G, A, S, T, N, Q, D, E, K und H,

X_3 ein Aminosäurerest ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus V, G, H, A, L, I, N, Q, D, E, K und R;

X_4 jedweder Aminosäurerest ist,

X_5 ein Aminosäurerest ist, bei dem es sich nicht um P, F, W handelt,

X_6 ein aromatischer Aminosäurerest ist;

X_7 ein Aminosäurerest ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus F, L, I, P, M, V, A, H, ein nicht saurer Aminosäurerest und ein nicht basischer Aminosäurerest ist, und

wobei m, n und o unabhängig 0 oder 1 sind, mit der Maßgabe, dass m und n 0 sind, wenn o 0 ist, und m 0 ist, wenn n 0 ist, und

wobei das Peptid nicht DRVYIHPF ist, und wobei die Verbindung eine Bindungskapazität in Bezug auf einen Antikörper aufweist, der für DRVYIHPF spezifisch ist.

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf ein Medikament, das auf dem Gebiet der Medizin, Immunologie, Molekularbiologie und Virologie zu verwenden ist, vorzugsweise um physikalische Störungen, die mit dem reninaktivierten Angiotensin-System in Zusammenhang stehen, vorzugsweise Bluthochdruck und mit Bluthochdruck in Zusammenhang stehende, kardiovaskuläre Erkrankungen (KVE), vorzubeugen und/oder zu behandeln.

Kardiovaskuläre Erkrankungen (KVE) sind auf der ganzen Welt die Haupttodesursache. Nach Aussagen der Weltgesundheitsorganisation (WHO) können ungefähr 30 % aller weltweiten Todesfälle KVE zugeschrieben werden. KVE wird durch Störungen des Herzens und der Blutgefäße verursacht und manifestiert sich verschiedenartig. Diese Manifestationen umfassen Myokardinfarkt, Schlaganfall, Herzinsuffizienz und renale Erkrankung im Endstadium. Der am meisten verbreitete Risikofaktor für KVE ist Bluthochdruck. 2000 litten weltweit mehr als ein Viertel der Erwachsenen an Bluthochdruck; werden keine geeigneten Maßnahmen getroffen, so wird diese Zahl kontinuierlich steigen.

Bluthochdruck, der allgemein als hoher Blutdruck bezeichnet wird, wird als chronisch erhöhter Blutdruck mit einem systolischen Blutdruck von über 140 mmHG und/oder einem diastolischen Blutdruck von über 90 mmHG definiert. Die vom „US Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure“ verfassten Richtlinien schlagen vor, dass Personen mit einem systolischen Blutdruck zwischen 120 und 139 mmHG und/oder einem diastolischen Blutdruck zwischen 80 und 89 mmHG als sich im Vorstadium zu Bluthochdruck befindlich angesehen werden sollten und gesundheitsfördernder Veränderungen bedürfen, um KVE vorzubeugen. Aus diesem Grund stellt das Senken des Blutdrucks eine wichtige Strategie zur Vorbeugung von KVE dar. In einem ersten Schritt kann eine Blutdrucksenkung durch Veränderungen des Lebensstils erreicht werden, wobei diese auf die Hauptfaktoren wie ungesunde Ernährung, physikalische Inaktivität und Rauchen abzielen. Die Behandlung von wesentlichem Bluthochdruck bedarf allerdings spezifischer Therapien. Ein Hauptregulator des Blutdrucks ist das Renin-Angiotension-System (RAS), das zu einem beliebten Ziel der therapeutischen Intervention geworden ist. Somit sind Pharmazeutika, die spezifisch auf die Komponenten des RAS wirken, bei der Behandlung von Bluthochdruck zu wichtigen klinischen Werkzeugen geworden.

NACHGEREICHT

Der RAS-Weg („RAS pathway“) ist eine Kaskade, die mit der Spaltung eines Angiotensinogens durch Renin beginnt. Renin ist eine Aspartylprotease, die vorwiegend in den Körnchen von juxtaglomerulären Zellen in der Niere synthetisiert und gespeichert wird und eine hohe Substratspezifität gegenüber Angiotensinogen aufweist. Angiotensinogen wird hauptsächlich von hepatischen Zellen gebildet und konstitutiv in den Kreislauf abgegeben. Es wird am N-Terminus durch Renin gespalten, um das Decapeptid Angiotensin I (Ang I; das 1-10-Peptid) zu erhalten, das schnell in das biologisch aktive Oktapeptid Angiotensin II (Ang II; das 1-8-Peptid) umgewandelt wird. Im Gegensatz zum Ang II scheint Ang I keine biologische Aktivität aufzuweisen und besteht lediglich als Vorläufer für Ang II. Die Spaltung von Ang I wird grundsätzlich, wenn auch nicht ausschließlich durch das angiotensinumwandelnde Enzym (ACE, „angiotensin-converting enzyme“) mediiert. Diese membrangebundene Metalloproteinease wird an der Oberfläche von Endothelzellen exprimiert, wobei die höchsten Konzentrationen am vaskulären Epithel in der Lunge zu finden sind. Darüber hinaus wurde gezeigt, dass ACE-Chymase Ang II produziert. Ang II kann durch Enzyme, beispielsweise Tonin und Kathepsin, auch direkt aus Angiotensinogen produziert werden. Weiters sind andere funktionelle Peptide, die von Ang I und Ang II abgeleitet sind, im Kreislauf anzufinden. Diese werden durch Amino-, Carboxy- oder Endopeptidasen produziert und umfassen Ang (1-9), Ang (1-7), Ang III (das 2-8-Peptid) und Ang IV (das 3-8-Peptid). Eine Carboxypeptidase, die als angiotensinumwandelndes Enzym II (ACE2) bekannt ist, wirkt sowohl auf Ang I als auch auf Ang II. ACE2 produziert Ang 1-9 aus Ang I und Ang 1-7 aus Ang II. Ang 1-9 kann dann durch ACE weiter zu Ang 1-7 umgewandelt werden. Im Gegensatz zu Ang II, das den Blutdruck erhöht und einer der Hauptmediatoren von vaskulärer Remodellierung bei Bluthochdruck zu sein scheint, fördert das Ang-1-7-Peptid die Blutgefäßerweiterung und kann dadurch den potentiell schädlichen Wirkungen von Ang II entgegenwirken. Das Peptid Ang 1-7 wirkt über seinen Rezeptor, das Mas-Onkogen-Produkt (MAS, „mas oncogene product“).

Ang II und Ang 1-7 werden als die Haupt-Effektorpeptide des RAS betrachtet, während Ang III und Ang IV eine etwas geringere Aktivität aufweisen (ungefähr 40 % der Ang-II-Aktivität). Die Wirkungen von Ang II werden vorwiegend von zwei Sieben-Transmembran-Rezeptoren, genannt Ang-II-Rezeptoren, Typ 1 (AT1; Unterty-

pen 1a und 1b) und Typ 2 (AT2), mediiert. Die AT1- und AT2-Untertypen binden Ang II auf ähnliche Weise, weisen jedoch unterschiedliche zelluläre Lokalisierungen auf und sind in verschiedenen Geweben unterschiedlich exprimiert. Der Großteil der hypertensionogenen Ang-II-Wirkungen werden dem AT1-Rezeptor zugeschrieben.

Der ganze Körper von Ang II ist ein wirksamer Vasokonstriktor. In den Nieren verengt es glomeruläre Arteriolen, wodurch der systemische arterielle Blutdruck erhöht und der Blutstrom verringert wird. In der Nebennierenrinde bewirkt es die Freisetzung von Aldosteron, was wiederum eine Reabsorption von mehr Natrium und Wasser der Nierentubuli aus dem Urin verursacht. Es wirkt auch auf das zentrale Nervensystem, indem es den Appetit einer Person auf Salz steigert und ein Durstigkeitsgefühl hervorruft. Darüber hinaus stimuliert Ang II die Freisetzung des anti-diuretischen Hormons (ADH).

Die klassische Rolle der RAS-Komponenten besteht in ihrer Wirkung als endokrine Faktoren zur Erhaltung des Blutdrucks und als Elektrolyt sowie Fluid- bzw. Flüssigkeitsgleichgewicht. Zusätzlich zu diesem zirkulierenden RAS ist in mehreren Geweben eine lokale angiotensinproduzierende Kaskade vorhanden. Das sogenannte Gewebe-RAS kann lokal als parakriner und/oder autokriner Faktor wirken und kann teilweise oder vollständig unabhängig vom zirkulierenden Gegenstück agieren.

Derzeit werden am Markt mehrere Arzneimittel zur Behandlung von Bluthochdruck angeboten. Diese umfassen beispielsweise Diuretika und Calciumkanalblocker und zahlreiche Pharmazeutika, die spezifisch auf Komponenten des RAS abzielen. Die letzteren schließen ACE-Inhibitoren mit ein, die durch Bindung an die wirksame Seite von ACE und durch Stören der Fähigkeit des Enzyms zur Bindung und Spaltung von Substraten davon agieren. Charakteristische Nebenwirkungen von ACE-Inhibitoren sind trockener Husten und „First-Dose“-Hypotonie/angioneurotisches Ödem. Eine weitere Klasse von Pharmazeutika, die auf RAS gerichtet sind, sind Angiotensinrezeptor(AT1)-Blocker (ARBs). ARBs stören gezielt die Funktion von Ang II, indem sie die Bindung von Angiotensin II an den AT1-Rezeptor blockieren. Kürzlich wurde eine neue Verbindung unter der Bezeichnung „Aliskerin“, die auf das RAS gerichtet ist und Renin inhibiert, auf den Markt gebracht.

Obwohl verschiedene Arzneimittel zur Behandlung von Blut-

hochdruck am Markt zur Verfügung stehen, gibt es bislang kein adäquates Mittel zur Behandlung von Bluthochdruck. Der schlechte Gesamtbehandlungserfolg liegt einerseits in der asymptomatischen Natur von Bluthochdruck und andererseits in der Notwendigkeit für eine Langzeitbehandlung mit Medikationen, die zumindest einmal täglich eine Selbstverabreichung erfordern.

Das Interesse an aktiver Immuntherapie als potentielle neue Strategie zur Behandlung von Bluthochdruck und damit in Zusammenhang stehenden Störungen ist in letzter Zeit steigend.

Die Durchführbarkeit einer Impfung gegen Komponenten des RAS zur Behandlung von Bluthochdruck wurde in verschiedenen Tiermodellen gezeigt (Michel-JB et al., Am Heart J. 1989; 117:756). Bei einem der ersten Ansätze wurde gezeigt, dass eine Impfung gegen Renin hinsichtlich der Blutdrucksenkung effektiv sind. Dieser Ansatz wurde in den darauffolgenden Jahren jedoch nicht weiter verfolgt, da die Tiere an autoimmuner Nephritis zu leiden begannen (Michel-JB et al., Circulation. 1990; 81(6):1899-910). Andere Ansätze zielten auf das Induzieren einer Immunantwort gegen Komponenten des RAS, die als Transmembranproteine an der Zelloberfläche exprimiert werden, beispielsweise ACE und AT1R, ab. Mehrere Forschungsgruppen untersuchen eine aktive Immunisierung gegen AT1R. Obwohl einige Studien berichten, dass Antikörper gegen den N-Terminus von AT1R die Entwicklung von Bluthochdruck bei spontan an Bluthochdruck leidenden Ratten verringern können, so zeigten die meisten Ansätze keine signifikante Wirkung auf den Blutdruck. Die Daten bezüglich aktiver Immunisierung gegen ACE sind sehr begrenzt. Ein Bericht beschreibt die Impfung von Kaninchen, jedoch konnten nur bei 1 von 50 Tieren Anti-ACE-Antikörper festgestellt werden (Soffer-RL et al., Fed. Proc. 1983; 42(19):2735-9). Man kann auf keine Berichte über eine aktive Immunisierung gegen Angiotensinogen zurückgreifen, allerdings untersuchten mehrere Studien die Durchführbarkeit einer Impfung gegen Angiotensin I und Angiotensin II.

Eine Impfung mit Ang I, das an Trägerproteinen (beispielsweise Schlüssellochschnellen-Hämocyanin (KLH, „keyhole limpet haemocyanin“) konjugiert ist, führte zur Induktion von starken antigenspezifischen humoralen Immunantworten. Bei experimentellen Bedingungen unter Verwendung von unterschiedlichen Tiermodellen schienen die impfungsinduzierten Antikörper gegen

Angiotensin I funktionell zu sein, da (i) sie zur Bindung von Angiotensin I in der Lage waren, wie eine Western-Blot-Analyse zeigte und (ii) der Blutdruck signifikant gesenkt war, was indiziert, dass die Wirkungen von Angiotensin auf das RAS blockiert waren. (Downham et al., Br J Clin Pharmacol. 2003; 56:505-12). Im Gegensatz dazu wurde bei freiwilligen menschlichen Probanden keine blutdrucksenkende Wirkung festgestellt (Downham et al., 2003). Diese Erkenntnis wurde durch eine Studie mit an Bluthochdruck leidenden Patienten weiter bestätigt, die mit einem 12-Aminosäuren-Analogon von Ang I, das kovalent an KLH gebunden und an Alaun absorbiert war (als PMD3117 bezeichnet), behandelt wurden (Brown et al., Clin. Sci. 2004; 107:167-73). Wichtig ist hier, dass dieses Behandlungsschema gut verträglich war und eine lang anhaltende antigenspezifische, humorale Immunantwort induzierte. Darüber hinaus zeigte diese Behandlung Wirkung auf das Reninsystem, wie durch Veränderungen der Renin- und Aldosteronspiegel detektiert wurde. Eine Impfung mit PMD3117 zeigte im Vergleich zur Placebo-Kontrollgruppe allerdings keinen Einfluss auf den Blutdruck (Brown et al., 2004). Im Gegensatz dazu zeigte eine geringfügig unterschiedliche Weiterentwicklung dieses Ang-I-Vakzins, die von Protherics entwickelt und bei der Alaun durch ein neues Adjuvans ersetzt und mit „Co Vaccine HTTM“ bezeichnet wurde, durchaus Wirkung. Eine Verabreichung dieser neuen Vakzinformulierung führte zu einem 10-fachen Anstieg von Anti-Angiotensin-Antikörpertitern bei vorklinischen Bedingungen, und gesunde menschliche Probanden zeigten Veränderungen des systolischen und diastolischen Blutdrucks. Der Blutdruck war aber nur geringfügig gesenkt, wobei dies nur während Ruhephasen, jedoch nicht während aktiven Phasen der Fall war, was von größerer Bedeutung gewesen wäre.

Weitere Zugänge zur Induktion von Antikörpern, die zur Blockierung des RAS in der Lage waren, bedienten sich von Angiotensin II abgeleiteten Peptiden als Antigene. Im Gegensatz zu einer früheren Studie, bei der eine Injektion von Ang-II-Trägerprotein-Konjugaten nicht in einer Blutdrucksenkung resultierte, führte eine Impfung mit an virusähnliche Partikel (VLP, „virus-like particles“) gebundenem Ang II zur Induktion einer starken anti-angiotensinspezifischen, humoralen Immunantwort, die von einer statistisch signifikanten Senkung des Blutdrucks begleitet war (Ambühl et al., J Hypertension, 2007, 25:63-72). Bei einer kürz-

lich durchgeführten klinischen Studie konnte diese blutdrucksenkende Wirkung allerdings nach Impfung mit an virusähnlichen Partikeln gebundenem Angiotensin II nicht beobachtet werden, was indiziert, dass die durch dieses Peptidvakzin indizierte humorale Immunantwort nicht optimal oder ausreichend sein könnte. Aus diesem Grund herrscht auf diesem Gebiet weiterhin ein Bedarf daran, neue und wirksamere Vakzine bereitzustellen, die auf Angiotensin-Peptide abzielen.

Es ist ein Ziel der vorliegenden Erfindung, eine Medikation zur Verbeugung und Behandlung von Leiden, die mit durch RAS verursachten, erhöhten Angiotensin-II-Spiegeln in Zusammenhang stehen, insbesondere von Bluthochdruck und von mit Bluthochdruck in Zusammenhang stehenden kardiovaskulären Erkrankungen, auf Basis eines Vakzins bereitzustellen.

Es hat sich herausgestellt, dass eine Verbindung, die ein Peptid mit der Aminosäuresequenz



umfasst, das zur Behandlung und/oder Prävention einer physikalischen Störung verwendet werden kann, die mit dem reninaktivierten Angiotensin-System in Zusammenhang steht, wobei

X_1 ein Aminosäurerest ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus D, G, A, T, S, Q, E, K, R und H,

X_2 ein Aminosäurerest ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus R, P, M, G, A, S, T, N, Q, D, E, K und H,

X_3 ein Aminosäurerest ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus V, G, H, A, L, I, N, Q, D, E, K und R;

X_4 jedweder Aminosäurerest ist,

X_5 ein Aminosäurerest ist, bei dem es sich nicht um P, F, W handelt,

X_6 ein aromatischer Aminosäurerest ist;

X_7 ein Aminosäurerest ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus F, L, I, P, M, V, A, H, ein nicht saurer Aminosäurerest und ein nicht basischer Aminosäurerest ist, und

wobei m , n und o unabhängig 0 oder 1 sind, unter der Maßgabe, dass m und n 0 sind, wenn o 0 ist, und m 0 ist, wenn n 0 ist, und

wobei das Peptid nicht DRVYIHPF ist, und wobei die Verbindung eine Bindungskapazität in Bezug auf einen Antikörper auf-

weist, der für DRVYIHPF spezifisch ist.

Gemäß einer besonders bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfasst die Verbindung ein Peptid mit der Aminosäuresequenz



das zur Behandlung und/oder Prävention von physikalischen Störungen verwendet werden kann, die mit dem reninaktivierten Angiotensin-System, vorzugsweise Bluthochdruck, und mit Bluthochdruck in Zusammenhang stehenden Erkrankungen in Zusammenhang stehen, wobei

X_1 ein Aminosäurerest ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus D, G, A, T, S, Q, E, K, R und H,

X_2 ein Aminosäurerest ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus R, P, M, G, A, S, T, N, Q, D, E, K und H,

X_3 ein Aminosäurerest ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus V, G, H, A, L, I, N, Q, D, E, K und R;

X_4 jedweder Aminosäurerest ist,

X_5 ein Aminosäurerest ist, bei dem es sich nicht um P, F, W handelt,

X_6 ein aromatischer Aminosäurerest ist;

X_7 ein Aminosäurerest ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus F, L, I, P, M, V, A, H, ein nicht saurer Aminosäurerest und ein nicht basischer Aminosäurerest ist, und

wobei das Peptid nicht DRVYIHPF ist. Die Verbindung weist vorzugsweise eine Bindungskapazität in Bezug auf einen Antikörper auf, der für DRVYIHPF spezifisch ist.

Die Verbindung der vorliegenden Erfindung ist in der Lage, die Bildung von auf Angiotensin I oder Angiotensin II gerichteten Antikörpern gezielt zu induzieren, wenn sie an ein Trägerprotein (oder an ein T-Zellenepitop enthaltendes Peptid) gebunden ist und einem Säugetier verabreicht wird. Die in Formel I und II angeführten Verbindungen können Antikörper induzieren, die Ang II mit höherer Spezifität als Ang I erkennen. Verbindungen, die ein Peptid mit der Sequenz nach Formel I umfassen und H und L an ihrem C-Terminus $X_1X_2X_3X_4X_5X_6PX_7HL$ (beide Aminosäuren von Ang I abgeleitet) aufweisen, induzieren Antikörper, die Ang I mit höherer Spezifität als Ang II erkennen können. Dies ermöglicht das spezifische Abzielen auf entweder nur eine Spezi-

es von Angiotensin-Peptiden oder auf eine Kombination davon. Aufgrund der Bindung dieser Antikörper an angiotensinogenabgeleitete Peptide kann die Höhe an Angiotensin-Peptiden bei diesen Säugetieren signifikant verringert werden, und somit können diese Immunogene bei einem immuntherapeutischen Ansatz zur Bekämpfung von durch RAS verursachten, erhöhten Spiegeln von Angiotensin II in Zusammenhang stehenden Leiden verwendet werden. Ohne sich auf eine spezielle Theorie der Art der molekularen Wirkung beschränken zu wollen, wirken die Peptidvarianten der vorliegenden Erfindung als Immunogene, die Antikörper, die an mehr als eine Spezies von Angiotensin-Peptiden binden, induzieren können, wodurch alle relevanten Spezies von Angiotensin-Peptiden gleichzeitig blockiert werden. Alternativ dazu können die induzierten Antikörper gezielt an den C-Terminus von Angiotensin II binden. Unter diesen Bedingungen blockieren die induzierten Antikörper die Bindung von Angiotensin II an seinen Rezeptor AT1R.

Die in Formel I angegebenen Aminosäurereste können durch den jeweiligen, oben angegebenen Aminosäurerest ausgetauscht werden. Die durch die Variierung erhaltene Aminosäuresequenz kann einen, zwei, drei, vier, fünf, sechs oder sieben Aminosäurereste umfassen, die mit der ursprünglichen Angiotensin-II-Sequenz (DRVYIHPF) nicht identisch sind. Am meisten bevorzugt kann sich die Formel I von der Angiotensin-II-Sequenz um zumindest einen, vorzugsweise zwei, am meisten bevorzugt drei, Aminosäurereste und um maximal sieben, vorzugsweise maximal sechs, mehr bevorzugt maximal fünf, noch mehr bevorzugt maximal vier, Aminosäurereste unterscheiden.

Das Peptid der vorliegenden Erfindung kann auch fünf, sechs, sieben oder acht Aminosäurereste (X_1 bis X_5 , X_2 bis X_6 , X_3 bis X_7 oder X_4 bis X_8) umfassen.

Die Verbindung gemäß der vorliegenden Erfindung kann ein Peptid mit 5, 6, 7 oder 8 bis 20, vorzugsweise 5, 6, 7 oder 8 bis 15, insbesondere 5, 6, 7, 8 oder 9, Aminosäureresten sein.

Die Verbindung der vorliegenden Erfindung kann auch ein Polypeptid oder ein Protein mit bis zu 300, vorzugsweise bis zu 200, mehr bevorzugt bis zu 150, noch mehr bevorzugt bis zu 100, Aminosäureresten sein.

Die Peptide der vorliegenden Erfindung sind nicht mit dem natürlich vorkommenden Angiotensin II (DRVYIHPF) identisch. Die

Verbindung der vorliegenden Erfindung löst in einem Wirten, der auf Angiotensin-Peptide anspricht, eine immunologische Antwort aus. Die Verbindung kann auch als Kompetitor für Angiotensin II wirken, wobei sie ein Mimikry von Angiotensin II bei In-vitro-Inhibierungsassays (z.B. ELISA-Inhibierungsassay) ist.

Die Verbindungen oder Peptide der vorliegenden Erfindung können durch auf dem Gebiet wohlbekannte chemische Syntheseverfahren synthetisch hergestellt werden, entweder als isoliertes Peptid oder als Teil eines anderen Peptids oder Polypeptids. Alternativ dazu kann die Verbindung/das Peptid in einem Mikroorganismus hergestellt werden, der die Verbindung/das Peptid produziert, die bzw. das dann isoliert und bei Wunsch weiter gereinigt wird. Der Peptidvariant kann in Mikroorganismus wie Bakterien, Hefe oder Pilzen, in eukaryotischen Zellen wie Säugetier- oder Insektenzellen oder in einem rekombinanten Virusvektor wie Adenovirus, Pocken-Virus, Herpes-Virus, Simliki-Forest-Virus, Baculovirus, Bakteriophage, Sindbis-Virus oder Sendai-Virus hergestellt werden. Zur Herstellung der Verbindung/des Peptids geeignete Bakterien umfassen *E. coli*, *B. subtilis* oder jedwede andere Bakterie, die zum Expressieren von Peptiden in der Lage ist. Geeignete Hefearten zum Expressieren der Verbindung/des Peptids schließen *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Candida*, *Pichia pastoris* oder jedwede andere Hefe, die zum Expressieren von Peptiden in der Lage ist, mit ein. Entsprechende Verfahren sind auf dem Gebiet wohlbekannt. Auch Verfahren zum Isolieren und Reinigen von rekombinant hergestellten Peptiden sind auf dem Gebiet wohlbekannt und umfassen beispielsweise Gelfiltration, Affinitätschromatographie, Ionenaustauschchromatographie, etc.

Um das Isolieren der Verbindung/des Peptids zu erleichtern, kann ein Fusionspolypeptid hergestellt werden, wobei die Verbindung/das Peptid translationell an ein heterologes Polypeptid fusioniert (kovalent gebunden) ist, wodurch eine Isolierung durch Affinitätschromatographie möglich wird. Typische heterologe Polypeptide sind His-Tag (z.B. His6; 6-Histidin-Reste), GST-Tag (Glutathion-S-Transferase), etc. Das Fusionspolypeptid erleichtert nicht nur die Reinigung der Verbindung/des Peptids, sondern kann auch den Abbau der Verbindung/des Peptids während der Reinigung verhindern. Ist ein Entfernen des heterologen Polypeptids nach der Reinigung erwünscht, so kann das Fusionspolypeptid an

der Verbindungsstelle zwischen der Verbindung/dem Peptid und dem heterologen Polypeptid eine Spaltungsstelle umfassen. Die Spaltungsstelle besteht aus einer Aminosäuresequenz, die mit einem für die Aminosäuresequenz spezifischen Enzym (z.B. Protease) an dieser Stelle gespalten wird.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist

X₁ G, A oder D,
X₂ G, A, P, M, E, K oder R,
X₃ G, A, H, D oder V,
X₄ S, A, D, P, F oder Y,
X₅ A, D, H, T, S, N oder I,
X₆ Y oder H,
X₇ F, A, V, L, I, P oder M.

Die obengenannten Aminosäurereste sind besonders bevorzugte Substituenten.

Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist

X₁ G, A oder D,
X₂ A, P, M, G, oder R,
X₃ G, A, H, oder V,
X₄ S, A, D oder Y,
X₅ A, D, H, S, N oder I,
X₆ Y oder H,
X₇ F, A, V, L oder I.

Die Peptide der vorliegenden Erfindung können an ihrem N-Terminus eine Kürzung aufweisen, so dass bei diesen Peptiden der erste, zweite und/oder dritte Aminosäurerest fehlt.

Vorzugsweise ist das Peptid aus der Gruppe bestehend aus
GRVYIHPPF, DPVYIHPPF, DMVYIHPPF, DGVYIHPPF, DAVYIHPPF, DRGYIHPPF,
DRAYIHPPF, DRHYIHPPF, DRVAIHPPF, DRVSIHPPF, DRVDIHPPF, DRVYAHPPF,
DRVYNHPPF, DRVYDHPPF, DRVYHHPPF, DRVYSHPPF, DRVYIYPF, DRVYIHPA,
DRVYIHPV, DRVYIHPL, DRVYIHPI, DAAYIHPPF, DRAAIHPPF, DRVAAHPPF, DRA-
YAHPPF, DRAAAHPPF, ARAAIHPPF, ARVAAHPPF, DAAAIHPPF, DAAAAHPPF, DA-
VAAHPPF, DAGYIHPPF, DAHYIHPPF, DPGYIHPPF, DPAYIHPPF, DMGYIHPPF,
DMAYIHPPF, DMHYIHPPF, DGGYIHPPF, DGAYIHPPF, DGHYIHPPF, DPVAIHPPF,
DPVSIHPPF, DMVAIHPPF, DMVSIHPPF, DRGAIHPPF, DRHAIHPPF, DRGYAHPPF,
DRGYDHPPF, DRGYHHPPF, DRGYSHPPF, DRGYNHPPF, DRAYDHPPF, DRAYHHPPF,
DRAYSHPPF, DRAYNHPPF, DRHYAHPPF, DRHYSHPPF, DRHYNHPPF, DRHYDHPPF,
DRHYHHPPF, DRHYIYPF, DRGADHPPF, DRGAHHPPF, DRVAHHPPF, DRHADHPPF,

NACHGEREICHT

Gekürzte Versionen, bei denen der erste N-terminale Aminosäurerest fehlt, sind vorzugsweise aus der Gruppe bestehend aus

PVYIHPF, MVYIHPF, GVIHPF, AVYIHPF, RGYIHPF, RAYIHPF, RHYIHPF, RVAIHPF, RVSHPF, RVDIHPF, RVYAHPF, RVYNHPF, RVYDHPF, RVYHHPF, RVYSHPF, RVYIYPF, RVYIHPA, RVYIHPV, RVYIHP, RVYIHP, AAYIHPF, RAAIHPF, RVAAHPF, RAYAHPF, RAAAHPF, RAAIHPF, RVAAHPF, AAAIHPF, AAAAHPF, AVAAHPF, AGYIHPF, AHYIHPF, PGYIHPF, PAYIHPF, MGYIHPF, MAYIHPF, MHYIHPF, GGYIHPF, GAYIHPF, GHYIHPF, PVAIHPF, PVSHPF, MVAIHPF, MVSHPF, RGAIHPF, RHAIHPF, RGYAHPF, RGYDHPF, RGYHHPF, RGYSHPF, RGYNHPF, RAYDHPF, RAYHHPF, RAYSHPF, RAYNHPF, RHYAHPF, RHYSHPF, RHYNHPF, RHYDHPF, RHYHHPF, RHYIYPF, RGADHPF, RGAHHPF, RVAHHPF, RHADHPF, RGAIHPF, RHSHPF, RHADYPF, PGAIHPF, RHAIHPF, PGSHPF, MGAHPF, MGSHPF, PGYIHPF, MGYIHPF, RGSHPF, PHAIHPF, MHAHPF, PHSHPF und MHSHPF ausgewählt.

Gekürzte Versionen, bei denen die ersten drei N-terminalen Aminosäurereste fehlen, sind vorzugsweise aus der Gruppe bestehend aus AIHPF, SIHPF, DIHPF, YAHPF, YNHPF, YDHPF, YHHPF, YSHPF, YIYPF, YIHPA, YIHPV, YIHPL, YIHPI, AAHPF, ADHPF, AHHPF und ADYPF ausgewählt.

Das Peptid der vorliegenden Erfindung kann darüber hinaus zumindest einen Cysteinrest an seinem N-Terminus umfassen. Dieser Cysteinrest kann als Reaktionsgruppe dienen, um das Peptid und/oder die Verbindung an ein anderes Molekül oder einen anderen Träger zu binden. Beispielsweise kann die Verbindung an

NACHGEREICHT

einen Proteinträger gebunden sein. Der Cysteinrest kann alternativ an den C-Terminus der Verbindung der vorliegenden Erfindung gebunden sein.

Die Verbindung der vorliegenden Erfindung ist vorzugsweise an einen Träger, vorzugsweise einen Proteinträger, gebunden.

Um die Herstellung von für Angiotensin-Peptide spezifischen Antikörpern bei einem Säugetier zu steigern, ist die Verbindung der vorliegenden Erfindung vorzugsweise an einen Träger gebunden.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist der Träger aus der Gruppe bestehend aus Schlüssel-lochschnecken-Hämocyanin (KLH), Tetanustoxoid (TT) oder Diphtherietoxin (DT) oder jedweden anderen Protein oder Peptid, das T-Zellen-Epitope enthält, ausgewählt.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die Verbindung an einen pharmazeutisch akzeptablen Träger, vorzugsweise KLH, Tetanustoxoid, albuminbindendes Protein, Bovines Serumalbumin, einem Dendrimer (MAP; Biol. Chem. 358:581), Peptidlinkern (oder Flankierungsregionen) sowie den in Singh et al., Nat. Biotech. 17 (1999), 1075-1081 (insbesondere jene von Tabelle 1 des Dokuments), und O'Hagan et al., Nature Reviews, Drug Discovery 2 (9) (2003), 727-735 (insbesondere die darin beschriebenen endogenen immunpotenzierenden Verbindungen und Zuführsysteme) beschriebenen Adjuvans-Substanzen oder Mischungen davon gebunden. Die Konjugationschemie (z.B. über heterobifunktionelle Verbindungen, beispielsweise GMBS und natürlich auch andere, wie in "Bioconjugate Techniques", Greg T. Hermanson, beschrieben) kann in diesem Zusammenhang aus Reaktionen ausgewählt sein, die dem Fachmann bekannt sind. Darüber hinaus kann die Vakzinzusammensetzung mit einem Adjuvans, vorzugsweise einer schwachlöslichen Aluminiumzusammensetzung, insbesondere Aluminiumhydroxid, formuliert sein. Natürlich können auch Adjuvantien, wie MF50 Aluminiumphosphat, Calciumphosphat, Cytokine (z.B. IL-2, IL-12, GM-CSF), Saponine (z.B. QS21), MDP-Derivate, CpG-Oligos, LPS, MPL, Polyphosphazene, Emulsionen (z.B. Freund'sche, SAF), Liposome, Virosome, Iscome, Cochleate, PLG-Mikropartikel, Poloxamerpartikel, virusähnliche Partikel, hitzelabiles Enterotoxin (LT), Cholera toxin (CT), mutante Toxine (z.B. LTK63 und LTR72), Mikropartikel und/oder polymerisierte Liposome, verwendet werden.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird die Verbindung an einem Adjuvans, vorzugsweise an Alaun, absorbiert.

Bei einer verwandten Ausführungsform ist die Erfindung zur Prävention oder Behandlung von Erkrankungen, Störungen oder Leiden, die mit RAS in Zusammenhang stehen, einschließlich, jedoch nicht ausschließlich Bluthochdruck, Schlaganfall, Infarkt, Nierenversagen, kongestiver Herzinsuffizienz, Atherosklerose, Gefäßschaden und retinaler Blutung, nützlich. Zusätzlich kann eine Immunisierung unter Verwendung von Peptiden, die von der Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfasst sind, verwendet werden, um atherosklerotische Plaquebildung, Vorkommnisse von arterieller Thrombose und mit vaskulärer Entzündung in Zusammenhang stehende Vorkommnisse zu behandeln oder diesen vorzubeugen.

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein Medikament, das eine erfindungsgemäße Verbindung umfasst.

Das Medikament und die Verbindung der vorliegenden Erfindung können subkutan, intramuskulär und intradermal verabreicht werden (siehe, z.B. "Handbook of Pharmaceutical Manufacturing Formulations", Sarfaraz Niazi, CRC Press Inc, 2004). Je nach Art der Verabreichung kann das Medikament entsprechende Träger, Adjuvantien und/oder Exzipienten umfassen.

Das Medikament gemäß der vorliegenden Erfindung enthält die erfindungsgemäße Verbindung in einer Menge von 0,1 µg bis 10 mg, vorzugsweise 10 ng bis 1 mg, insbesondere 100 ng bis 100 µg oder alternativ beispielsweise 100 fmol bis 10 µmol, vorzugsweise 10 pmol bis 1 µmol, insbesondere 100 pmol bis 100 nmol. Die Verbindung oder das Peptid der vorliegenden Erfindung wird einem Säugetier in einer Menge von vorzugsweise 100 ng bis 1 mg, mehr bevorzugt 1 µg bis 500 µg, noch mehr bevorzugt 10 µg bis 100 µg, insbesondere 20 bis 40 oder 30 µg, pro Dosierung verabreicht. Typischerweise kann das Vakzin auch Hilfssubstanzen enthalten, beispielsweise Puffer, Stabilisatoren, etc.

Ein noch weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf die Verwendung einer erfindungsgemäßen Verbindung zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung und/oder Prävention von physikalischen Störungen, die mit dem reninaktivierten Angiotensin-System in Zusammenhang stehen, vorzugsweise Bluthochdruck und mit Bluthochdruck in Zusammenhang stehende

Erkrankungen.

Die Abkürzungen für die in der vorliegenden Erfindung geoffenbarten Aminosäurereste entsprechen den Empfehlungen der Internationalen Union für reine und angewandte Chemie (IPUAC):

Aminosäure	3-Buchstabencode	1-Buchstabencode
Alanin	Ala	A
Arginin	Arg	R
Asparagin	Asn	N
Asparaginsäure	Asp	D
Cystein	Cys	C
Glutaminsäure	Glu	E
Glutamin	Gln	Q
Glycin	Gly	G
Histidin	His	H
Isoleucin	Ile	I
Leucin	Leu	L
Lysin	Lys	K
Methionin	Met	M
Phenylalanin	Phe	F
Prolin	Pro	P
Serin	Ser	S
Threonin	Thr	T
Tryptophan	Trp	W
Tyrosin	Tyr	Y
Valin	Val	V

Die vorliegende Erfindung wird anhand der folgenden Figuren und Beispiele näher veranschaulicht, ohne jedoch auf diese beschränkt zu sein.

Fig. 1 zeigt die Immunogenität von Peptidvarianten für Position 1 des Ang-II-Peptids CDRVYIHPF.

Fig. 2 zeigt die Immunogenität von Peptidvarianten für Posi-

NACHGEREICHT

tion 2 des Ang-II-Peptids CDRVYIHPF.

Fig. 3 zeigt die Immunogenität von Peptidvarianten für Position 3 des Ang-II-Peptids CDRVYIHPF.

Fig. 4 zeigt die Immunogenität von Peptidvarianten für Position 4 des Ang-II-Peptids CDRVYIHPF.

Fig. 5 zeigt die Immunogenität von Peptidvarianten für Position 5 des Ang-II-Peptids CDRVYIHPF.

Fig. 6 zeigt die Immunogenität von Peptidvarianten für Position 6 des Ang-II-Peptids CDRVYIHPF.

Fig. 7 zeigt die Immunogenität von Peptidvarianten für Position 7 des Ang-II-Peptids CDRVYIHPF.

Fig. 8 zeigt die Immunogenität von Peptidvarianten für Position 8 des Ang-II-Peptids CDRVYIHPF.

Fig. 9 zeigt die Immunogenität von Peptidvarianten, wobei zwei oder mehrere Aminosäuren durch Alanin ersetzt wurden.

Fig. 10 zeigt die Immunogenität von Peptidvarianten, wobei drei Aminosäuren an unterschiedlichen Positionen unter Verwendung von günstigen Aminosäuresubstituenten für diese Positionen ersetzt wurden.

Bei jeder Figur sind die von mit den angegebenen Peptiden immunisierten Tieren stammenden X-Achsen-Seren angeführt. Auf der Y-Achse sind relative Titer von induzierten Seren gezeigt. Von mit Ang II behandelten Tieren abgeleitete Titer wurden als 100 % festgelegt. Die Titer wurden als die Serenverdünnung berechnet, die die halbmaximale Bindung (d.h. $Od_{max}/2$) ergibt. Die weißen Balken zeigen Titer gegen die Peptide, die zur Impfung verwendet wurden, während die schwarzen Balken Titer gegen das Ang-II-Peptid zeigen.

BEISPIELE:

Beispiel 1: *Positionsscannen des Ang-II-Peptids.*

Angiotensin II (Ang II), eine Schlüsselkomponente des blutdruckregulierenden RAS, wurde als Ziel für einen Impfungsansatz zur Behandlung von Bluthochdruck gewählt. Aus diesem Grund wurden Peptide, die zur Induktion einer auf Angiotensin II abzielenden, humoralen Immunantwort in der Lage sind, identifiziert und ausgewählt.

Der Ausdruck „Positionsscannen“ bezieht sich auf eine Technologie, bei der die Aminosäure(AS)-Reste an jeder Position innerhalb einer gewissen Protein- oder Peptidregion systematisch

durch andere AS ersetzt werden. Diese Technologie wird bislang nur für Protein-Protein-Interaktions-Studien, Peptid-Protein-Interaktions-Studien und/oder für Studien über die Funktionalität von Peptid- oder Proteindomänen verwendet bzw. auf diese angewandt. Peptide, die unter Verwendung von mAk ausgewählt wurden, wurden als Mimotope bestimmt, da sich die AS-Sequenz sehr stark von der Ziel-AS-Sequenz unterscheiden kann. Peptide, die unter Verwendung des Positionsscan-Ansatzes ausgewählt werden, sind direkte Derivate der ursprünglichen (d.h. Ziel-) Sequenz und werden somit als „Peptidvarianten“ oder als „VARIOTOPe“ bezeichnet.

Die Positionsscan-Technologie wurde nun auf das Gebiet der Immunologie übertragen und auf dieses angewandt, um geeignete VARIOTOPe für das Oktapeptid Ang II (DRVYIHPF) zu identifizieren. Das Ziel dieses Beispiels lag darin, AS für jede Position, die die Induktion einer auf das Ang-II-Peptid abzielenden, polyklonalen/oligoklonalen humoralen Immunantwort unterstützt oder zumindest nicht stört, zu identifizieren.

Aus diesem Grund wurde in einem ersten Satz von Experimenten jede Position in der Ang-II-Sequenz systematisch durch Aminosäuren mit ähnlichen oder unterschiedlichen Merkmalen ersetzt (s. Tabelle 1 für Position 2). Danach wurden all diese Peptide über ein zusätzliches N-terminales Cystein mit dem Proteinträger Schlüssellockschnecken-Hämocyanin (KLH) chemisch verbunden und Mäusen (BALB/c) gemeinsam mit Alaun als Adjuvans verabreicht. Seren von geimpften Mäusen wurden verwendet, um die Immunogenität der angegebenen Peptide zu analysieren. Für diesen Zweck wurde ein ELISA-Assay auf Peptidbasis verwendet, um Serumtiter gegen das injizierte Peptid (d.h. Ang-II-Peptidvarianten, VARIOTOPe) und um die Bindungsfähigkeit der erhaltenen Seren gegen das Ang-II-Peptid zu definieren.

Tabelle 1. Peptidvarianten durch Aminosäuresubstitution für Position 2

1	2	3	4	5	6	7	8	Position
C	D	R	V	Y	I	H	P	F
								Ang II
C	D	A	V	Y	I	H	P	F
								aliphatisch
								nicht polar
								neutral

NACHGEREICHT

C	D	E	V	Y	I	H	P	F	gegensätzliche Ladung	polar	sauer
C	D	F	V	Y	I	H	P	F	aromatisch	nicht polar	neutral
C	D	H	V	Y	I	H	P	F	aromatisch	polar	basisch
C	D	K	V	Y	I	H	P	F	aliphatisch	polar	basisch
C	D	M	V	Y	I	H	P	F	aliphatisch	nicht polar	neutral
C	D	V	V	Y	I	H	P	F	aliphatisch	nicht polar	neutral
C	D	Y	V	Y	I	H	P	F	aromatisch	polar	neutral
C	D	P	V	Y	I	H	P	F	Ring	nicht polar	neutral

In den Figuren (Fig. 1 bis 8 für Position 1 bis 8) sind die von diesen Experimenten hergeleiteten Ergebnisse gezeigt. Auf der X-Achse sind von mit den angegebenen Peptiden immunisierten Tieren stammende X-Achsen-Seren angeführt. Auf der Y-Achse sind relative Titer von induzierten Seren gezeigt. Von mit Ang II behandelten Tieren abgeleitete Titer wurden als 100 % festgelegt. Die Titer wurden als die Serenverdünnung berechnet, die die halbmaximale Bindung (d.h. $Od_{max}/2$) ergibt. Die weißen Balken zeigen Titer gegen die Peptide, die zur Impfung verwendet wurden, während die schwarzen Balken Titer gegen das Ang-II-Peptid zeigen.

Obwohl alle getesteten Ang-II-Peptidvarianten für Position 1 zur Induktion von Antikörpern, die an das injizierte Peptid gebunden haben (Fig. 1), in der Lage waren, was indiziert, dass der Aminosäurenaustausch ihre Immunogenität nicht vollständig außer Kraft setzte, induzierten manche Peptidvarianten Seren, die signifikant niedrigeren Titer zeigten (Peptidvarianten mit einem aromatischen Aminosäurenaustausch). Im Gegensatz dazu scheint der Peptidvariant mit G an Position 1 die Fähigkeit zu besitzen, Serumtiter gegen das injizierte Peptid zu induzieren, die beinahe zweimal so hoch sind wie von Ang-II-behandelten Tieren stammende Serumtiter. Die Reaktivität gegen Ang II wird durch Verwendung dieser Varianten um ungefähr 50 % erhöht. Seren, die von Peptidvarianten abgeleitet sind, die A, T, E, N, R oder H an erster Position enthalten, unterscheiden sich von Seren, die von Ang-II-Peptid abgeleitet wurden, nicht signifikant. Aromatische oder aliphatische Reste an Position 1, beispielsweise L, F, Y, scheinen zur Induktion einer Ang II erkennenden Immunantwort weniger günstig zu sein.

Aus diesem Grund kann Position I die folgenden AS enthalten:

NACHGEREICHT

- die ursprüngliche AS D,
- die Aminosäuren G, A,
- Aminosäuren, die polar sind, beispielsweise E, N, R, H.

Wie in Fig. 2 dargestellt, erhöhte die Verwendung von Peptiden, bei denen das Arginin an Position 2 durch P oder M ersetzt wurde, zur Immunisierung den Titer und auch die Reaktivität gegenüber Ang II. Peptide mit beispielsweise R- bis A- oder R- bis K-Substitution brachten Seren hervor, die den gleichen Titer wie durch das Ang-II-Peptid induzierte Seren zeigten. Diese Ergebnisse indizieren, dass ein P oder M statt einem R an Position 2 zur Induktion einer humoralen Immunantwort günstiger ist. A und K scheinen beispielsweise genauso gut wie R zu sein.

Position 2 kann die folgenden AS enthalten:

- die ursprüngliche AS R,
- die nicht polaren und neutralen AS P, M und A,
- Aminosäuren, die polar sind, beispielsweise E, H, K;

Position 3 kann die folgenden AS enthalten:

- die ursprüngliche AS V,
- die AS G und H (am günstigsten),
- nicht polare und neutrale AS, beispielsweise A,
- aliphatisch AS, beispielsweise L,
- Aminosäuren, die polar sind, beispielsweise E, H, K.

An Position 4 kann die ursprüngliche AS Y unabhängig von deren Charakteristika durch alle AS substituiert werden.

Die aromatischen AS Y und W und die AS P können die ursprüngliche AS I an Position 5 nicht substituieren. Alle anderen AS können zu diesem Zweck verwendet werden.

Die von den Peptiden, bei denen H an Position 6 durch die angegebenen Aminosäuren ersetzt wurde, abgeleiteten Ergebnisse sind in Fig. 6 gezeigt. Eine Substitution der aromatischen Aminosäure H durch andere aromatische Aminosäuren, beispielsweise W und Y, führte zu Peptiden mit der Fähigkeit zur Induktion von Seren, die Ang II sogar besser als das zur Impfung verwendete Peptid zu erkennen scheinen. Bei Peptiden mit nicht aromatischen Aminosäuresubstitutionen an Position 6 ist die Reaktivität der ausgelösten Seren gegenüber Ang II beträchtlich verringert (bis zu 60 %). Diese Ergebnisse indizieren, dass eine aromatische

Aminosäure an Position 6 platziert werden kann (jedoch nicht F).

Position 6 kann die folgenden AS enthalten:

- die ursprüngliche AS H,
- Aminosäuren, die eine aromatische Seitenkette enthalten, beispielsweise Y, W;

Position 7 kann die folgenden AS enthalten:

- die ursprüngliche AS P,
- alternativ können Aminosäuren enthaltend eine aromatische Seitenkette, beispielsweise F, W, H potentiell verwendet werden;

Position 8 kann die folgenden AS enthalten:

- die ursprüngliche AS F,
- die AS A, L, I, V, P, M.

Beispiel 2: *Kombinierter Austausch von zwei oder mehreren AS-Positionen in der Ang-II-Sequenz unter Verwendung von Alanin.*

Um die Ergebnisse zu bestätigen, die von den ersten In-vivo-Experimenten abgeleitet wurden und bei denen der Positionsscan-Ansatz durchgeführt wurde, und um zu testen, ob kombinierte AS-Austausche an unterschiedlichen Positionen entweder additiv - wenn neutrale oder günstige AS die ursprüngliche AS ersetzen - oder subtraktiv - wenn weniger günstige AS kombiniert werden - sein könnten, wurden zwei oder mehrere Aminosäuren in der Ang-II-Sequenz ersetzt. Zu diesem Zweck wurde in einem nächsten Satz von Experimenten die Aminosäure Alanin verwendet (Tabelle 2). Alanin wurde als austauschgünstige AS für Position 4 (Fig. 4) und als austauschneutrale AS für Position 1, 2, 3, 5 und Position 8 (Fig. 1 bis 3, 5, 8 und 9) definiert. Hinsichtlich der Position 6 und 7 schien der Austausch der ursprünglichen Aminosäuren H bzw. P durch Alanin weniger günstig zu sein (Fig. 6, 7 und 9). Aus diesem Grund kann erwartet werden, dass Peptidvarianten, die Alanin an Position 4 (günstiger Austausch) in Kombination mit 1 bis 3, 5 und 8 (neutraler Austausch) enthalten, Titer gegen Ang II induzieren, die höher sind oder zumindest den gleichen Wert wie Titer aus durch Ang-II-Peptid ausgelösten Seren aufweisen. Peptidvarianten, die Alanin an Position 1 bis 3, 5 und 8 enthalten, sollten zumindest eine Immun-

antwort induzieren, die Ang II gleich gut wie durch Ang-II-Peptid ausgelöste Seren erkennt. Es kann erwartet werden, dass Peptidvarianten mit Alaninaustauschen an Position 6 und 7 (weniger günstige Austauschamino-säure für diese Positionen) Seren mit verringerter Reaktivität gegen Ang II auslösen.

Alle in Tabelle 2 angeführten Peptide waren wiederum über den N-Terminus chemisch mit KLH verknüpft, absorbiert an Alaun und den Versuchstieren (BALB/c-Mäuse) s.c. injiziert. Seren wurden mittels ELISA analysiert und die durch die Peptidvarianten induzierten Antikörperantworten wurden mit jenen verglichen, die durch das ursprüngliche Peptid induziert wurden.

Tabelle 2. Beispiel für Peptidvarianten durch Aminosäuresubstitution.

Sequenz	ausgetauschte Position	ausgetauschte Aminosäure
C-DRVYIHFP		
C-DAAVIHFP	2, 3	R, V
C-DRAAIHFP	3, 4	V, Y
C-DRVAAHFP	4, 5	Y, I
C-DRVYAAPF	5, 6	I, H
C-DRVYIHAA	7, 8	P, F
C-DRAAAHFP	3, 4, 5	V, Y, I
C-DRAYAHFP	3, 5	V, I
C-DRAAAHPA	3, 4, 5, 8	V, Y, I, F
C-DAVYIAPF	2, 6	R, H
C-DAVYIAAF	2, 6, 7	R, H, P
C-DAVYIAAA	2, 6, 7, 8	R, H, P, F

Alle alaninsubstituierten Peptidvarianten waren in der Lage, Antikörper zu induzieren, die an das injizierte Peptid binden, was indiziert, dass der Aminosäurenaustausch deren Immunogenität nicht abschwächte (Fig. 9). Die Titer der durch C-DAVYIAAF induzierten Seren sind jedoch im Vergleich zu den durch andere Antigene induzierte Titer niedriger, was indiziert, dass der kombinierte Austausch der angegebenen AS durch Alanin in Bezug auf die Immunogenität der Peptide weniger günstig ist (Fig. 9).

NACHGEREICHT

Das Analysieren der Reaktivität von durch Peptidvarianten induzierten Seren (Tabelle 2) gegenüber Ang II eröffnete, dass Seren, die durch die folgenden Peptide induziert wurden, verringerte Reaktivität gegenüber Ang II zeigten: C-DRVYAAPF, C-DRVYIHAA, C-DRAAAHAF, C-DAVYIAPF, C-DAVYIAAF, C-DAVYIAAA (Figur 9). Diese Ergebnisse indizieren, dass Ang-II-Peptidvarianten mit zumindest einer Alaninsubstitution an Position 6 oder 7 (Alanin als für diese Positionen nicht günstiger AS-Austausch) Seren induzieren, die verringerte Reaktivität gegenüber Ang II zeigen. Dies stimmt mit den Ergebnissen überein, die durch Experimente unter Anwendung von Positionsscannen erzielt wurden.

Alaninsubstitutionen an Position 1 bis 5 des Ang-II-Moleküls (für jene Positionen wurde A als neutraler oder günstiger AS-Austausch definiert) stören die Reaktivität gegenüber Ang II nicht. Alaninsubstitutionen an diesen Positionen führten zur Induktion von Titern, die höher als die durch Ang II erhaltenen waren. Diese Wirkung wurde insbesondere dann beobachtet, wenn Y an Position 4 durch Alanin ersetzt wurde (Fig. 9).

Die Untersuchung von verschiedenen alaninmodifizierten Ang-II-Epitopen bei Wistar-Ratten zeigte ähnliche Ergebnisse. Dies indiziert, dass die Ergebnisse nicht auf Mäuse beschränkt sind, sondern auch auf andere Spezies übertragen werden können.

Beispiel 3: Kombination von günstigen AS an unterschiedlichen Positionen zur Auswahl von Angiotensin-VARIOTOPen.

Bei den folgenden Experimenten wurden AS-Kombinationen von günstigen und/oder neutralen AS für jede Position untersucht. Wie in Fig. 10 ersichtlich, führen Aminosäurenaustausche an unterschiedlichen Positionen unter Verwendung von günstigen Aminosäuren, die während der Experimente unter Anwendung von Positionsscannen ausgewählt wurden, zur Bildung von VARIOTOPen, die zur Induktion von humoralen Immunantworten auf Angiotensin II in der Lage sind, wobei diese Immunantworten mit der durch Angiotensin II induzierten Antwort vergleichbar oder stärker waren.

Patentansprüche:

1. Verbindung, die ein Peptid mit der Aminosäuresequenz



umfasst, zur Behandlung und/oder Prävention einer physikalischen Störung, die mit dem reninaktivierten Angiotensin-System in Zusammenhang steht, wobei

X_1 ein Aminosäurerest ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus D, G, A, T, S, Q, E, K, R und H,

X_2 ein Aminosäurerest ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus R, P, M, G, A, S, T, N, Q, D, E, K und H,

X_3 ein Aminosäurerest ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus V, G, H, A, L, I, N, Q, D, E, K und R;

X_4 jedweder Aminosäurerest ist,

X_5 ein Aminosäurerest ist, bei dem es sich nicht um P, F, W handelt,

X_6 ein aromatischer Aminosäurerest ist;

X_7 ein Aminosäurerest ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus F, L, I, P, M, V, A, H, ein nicht saurer Aminosäurerest und ein nicht basischer Aminosäurerest ist, und

wobei m, n und o unabhängig 0 oder 1 sind, mit der Maßgabe, dass m und n 0 sind, wenn o 0 ist, und m 0 ist, wenn n 0 ist, und

wobei das Peptid nicht DRVYIHPF ist, und wobei die Verbindung eine Bindungskapazität in Bezug auf einen Antikörper aufweist, der für DRVYIHPF spezifisch ist.

2. Verbindung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass X_1 G, A oder D ist,

X_2 G, A, P, M, E, K oder R ist,

X_3 G, A, H, D oder V ist,

X_4 S, A, D, P, F oder Y ist,

X_5 A, D, H, T, S, N oder I ist,

X_6 Y oder H ist,

X_7 F, A, V, L, I, P oder M ist.

3. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass X_1 G, A oder D ist, X_2 A, P, M, G, oder R ist, X_3 G, A, H,

NACHGEREICHT

oder V ist, X₄ S, A, D oder Y ist, X₅ A, D, H, S, N oder I ist, X₆ Y oder H ist, X₇ F, A, V, L oder I ist.

4. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass das Peptid aus der Gruppe bestehend aus GRVYIHPPF, DPVYIHPPF, DMVYIHPPF, DGVYIHPPF, DAVYIHPPF, DRGYIHPPF, DRAYIHPPF, DRHYIHPPF, DRVAIHPPF, DRVSIHPPF, DRVDIHPPF, DRVYAHPPF, DRVYNHPPF, DRVYDHPPF, DRVYHHPPF, DRVYSHPPF, DRVYIYPPF, DRVYIHPPA, DRVYIHPV, DRVYIHPL, DRVYIHPI, DAAYIHPPF, DRAAIHPPF, DRVAAHPPF, DRAYAHPPF, DRAAAHPPF, ARAAIHPPF, ARVAAHPPF, DAAAIHPPF, DAAAAHPPF, DAVAAHPPF, DAGYIHPPF, DAHYIHPPF, DPGYIHPPF, DPAYIHPPF, DMGYIHPPF, DMAYIHPPF, DMHYIHPPF, DGGYIHPPF, DGAYIHPPF, DGHYIHPPF, DPVAIHPPF, DPVSIHPPF, DMVAIHPPF, DMVSIHPPF, DRGAIHPPF, DRHAIHPPF, DRGYAHPPF, DRGYDHPPF, DRGYHHPPF, DRGYSHPPF, DRGYNHPPF, DRAYDHPPF, DRAYHHPPF, DRAYSHPPF, DRAYNHPPF, DRHYAHPPF, DRHYSHPPF, DRHYNHPPF, DRHYDHPPF, DRHYHHPPF, DRHYIYPPF, DRGADHPPF, DRGAHHPPF, DRVAHHPPF, DRHADHPPF, GRGAIHPPF, GRHSIHPPF, GRHADYPPF, DPGAIHPPF, GRHAIHPPF, DPGSIHPPF, DMGAIHPPF, DMGSIHPPF, GPGYIHPPF, GMGYIHPPF, GPGSIHPPF, GMGSIHPPF, DRGSIHPPF, DPHAIHPPF, DMHAIHPPF, GPHAIHPPF, GMHAIHPPF, GPHSIHPPF, GMHSIHPPF, PVIHPPF, MVYIHPPF, GVIHPPF, AVYIHPPF, RGYIHPPF, RAYIHPPF, RHYIHPPF, RVAIHPPF, RVSIHPPF, RVDIHPPF, RVYAHPPF, RVYNHPPF, RVYDHPPF, RVYHHPPF, RVYSHPPF, RVYIYPPF, RVYIHPPA, RVYIHPV, RVYIHPL, RVYIHPI, AAYIHPPF, RAAIHPPF, RVAAHPPF, RAYAHPPF, RAAAHPPF, RAAIHPPF, RVAAHPPF, AAAIHPPF, AAAAHPPF, AVAAHPPF, AGYIHPPF, AHYIHPPF, PGYIHPPF, PAYIHPPF, MGYIHPPF, MAYIHPPF, MHYIHPPF, GGYIHPPF, GAYIHPPF, GHYIHPPF, PVAIHPPF, PVSIHPPF, MVAIHPPF, MVSIHPPF, RGAIHPPF, RHAIHPPF, RGYAHPPF, RGYDHPPF, RGYHHPPF, RGYSHPPF, RGYNHPPF, RAYDHPPF, RAYHHPPF, RAYSHPPF, RAYNHPPF, RHYAHPPF, RHYSHPPF, RHYNHPPF, RHYDHPPF, RHYHHPPF, RHYIYPPF, RGADHPPF, RGAHHPPF, RVAHHPPF, RHADHPPF, RGAIHPPF, RHSIHPPF, RHADYPPF, PGAIHPPF, RHAIHPPF, PGSIHPPF, MGAIHPPF, MGSIHPPF, PGYIHPPF, MGYIHPPF, RGSIHPPF, PHAIHPPF, MHAIHPPF, PHSIHPPF, MHSIHPPF, GYIHPPF, AYIHPPF, HYIHPPF, VAIHPPF, VSIHPPF, VDIHPPF, VYAHPPF, VYNHPPF, VYDHPPF, VYHHPPF, VYSHPPF, VYIYPPF, VYIHPPA, VYIHPV, VYIHPL, VYIHPI, AAIHPPF, VAAHPPF, AYAHPPF, AAAHPPF, HYIHPPF, VSIHPPF, GAIHPPF, HAIHPPF, GYAHPPF, GYDHPPF, GYHHPPF, GYSHPPF, GYNHPPF, AYDHPPF, AYHHPPF, AYSHPPF, AYNHPPF, HYAHPPF, HYSHPPF, HYNHPPF, HYDHPPF, HYHHPPF, HYIYPPF, GADHPPF, GAHHPPF, VAHHPPF, HADHPPF, GAIHPPF, HSIHPPF, HADYPPF, GSIHPPF, HAIHPPF, AIHPPF, SIHPPF, DIHPPF, YAHPPF, YNHPPF, YDHPPF, YHHPPF, YSHPPF, YIYPPF, YIHPPA, YIHPV, YIHPL, YIHPI, AAHPPF, ADHPPF, AHHPF und ADYPPF ausgewählt ist.

NACHGEREICHT
NACHGE

5. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass zumindest ein Cysteinrest an den N-Terminus der Aminosäuresequenz von Formel I gebunden ist.

6. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass sie an einen Träger, vorzugsweise einen Proteinträger, gebunden ist.

7. Verbindung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass der Träger aus der Gruppe bestehend aus Schlüssellocknapfschnecken-Hämocyanin (KLH, „keyhole limpet haemocyanin“), Tetanustoxoid (TT) oder Diphtherietoxin (DT) ausgewählt ist.

8. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass sie an einem Adjuvans, vorzugsweise an Alaun, adsorbiert ist.

9. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass die mit dem reninaktivierten Angiotensin-System in Zusammenhang stehende physikalische Störung aus der Gruppe bestehend aus Bluthochdruck, Schlaganfall, Infarkt, Nierenversagen, kongestiver Herzinsuffizienz, Atherosklerose, Gefäßschaden und retinaler Blutung ausgewählt ist.

10. Medikament, das eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 9 umfasst.

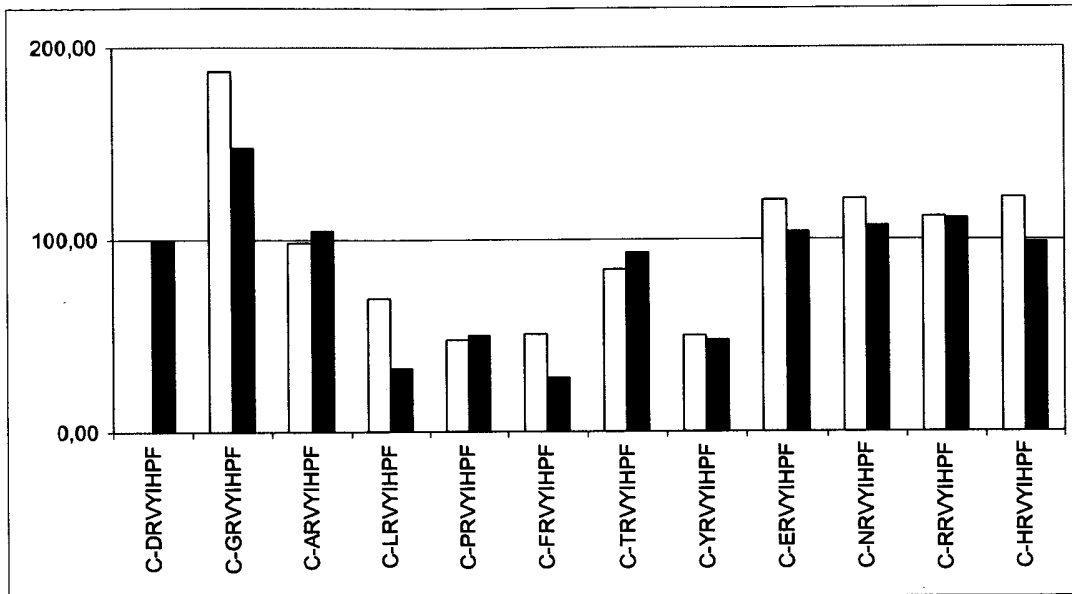
11. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 9 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung und/oder Prävention von physikalischen Störungen, die mit dem reninaktivierten Angiotensin-System in Zusammenhang stehen, vorzugsweise Bluthochdruck und mit Bluthochdruck in Zusammenhang stehende Erkrankungen.

009517

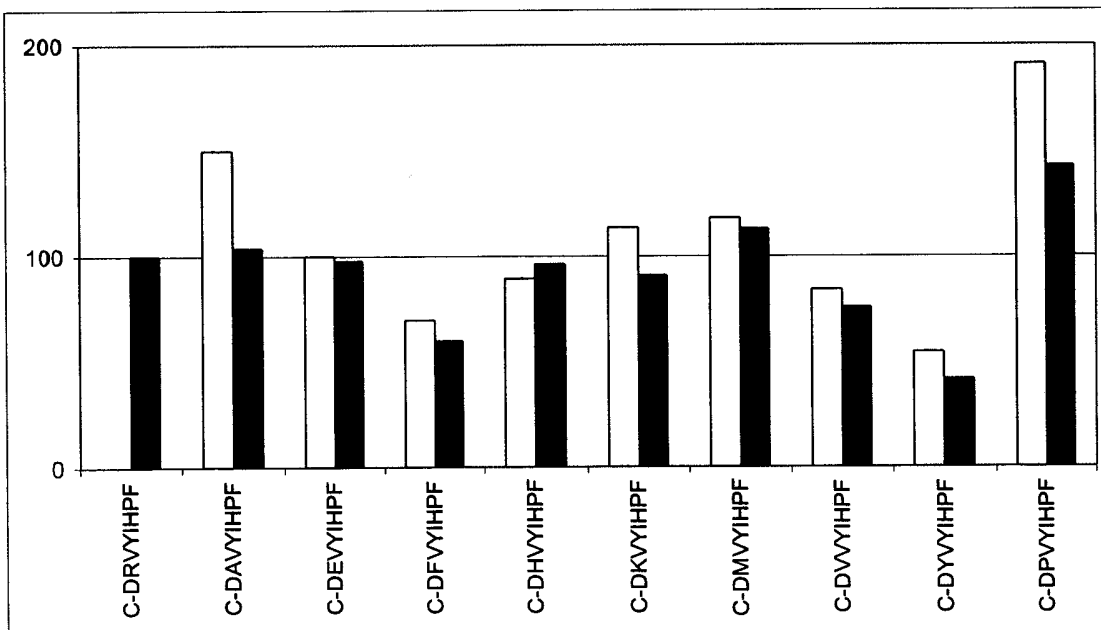
14

1/5

Figur 1



Figur 2

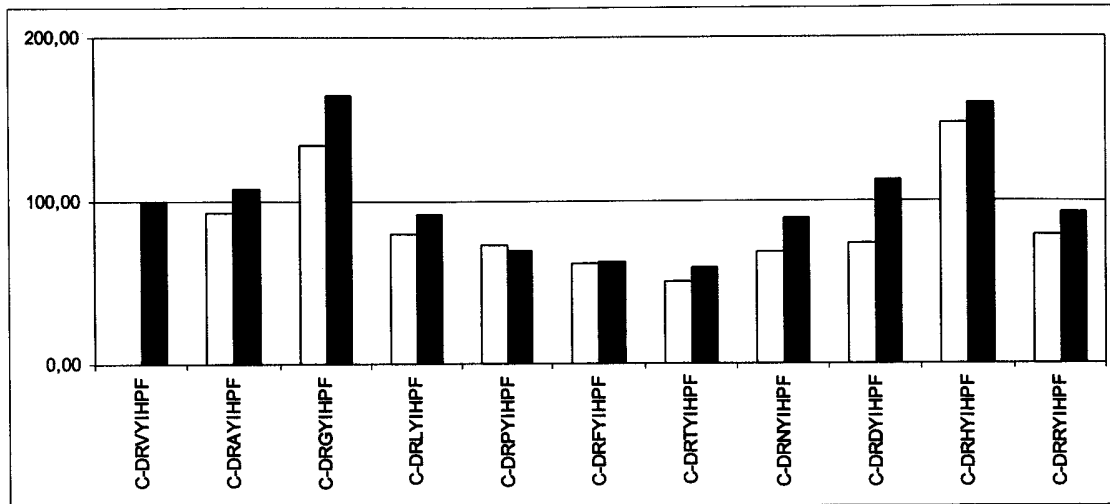


NACHGEREICHT

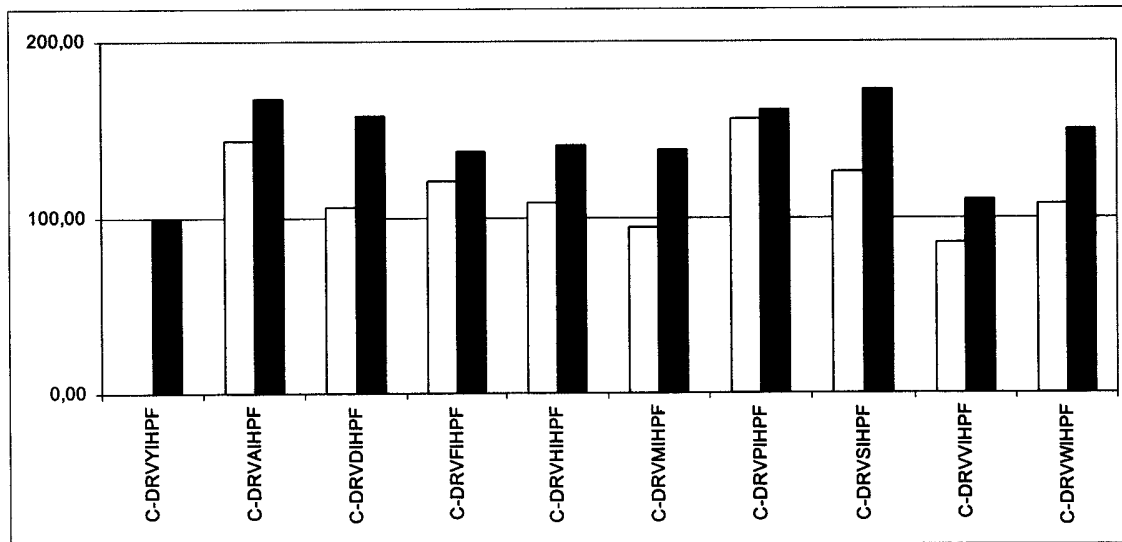
009517

2/5

Figur 3



Figur 4

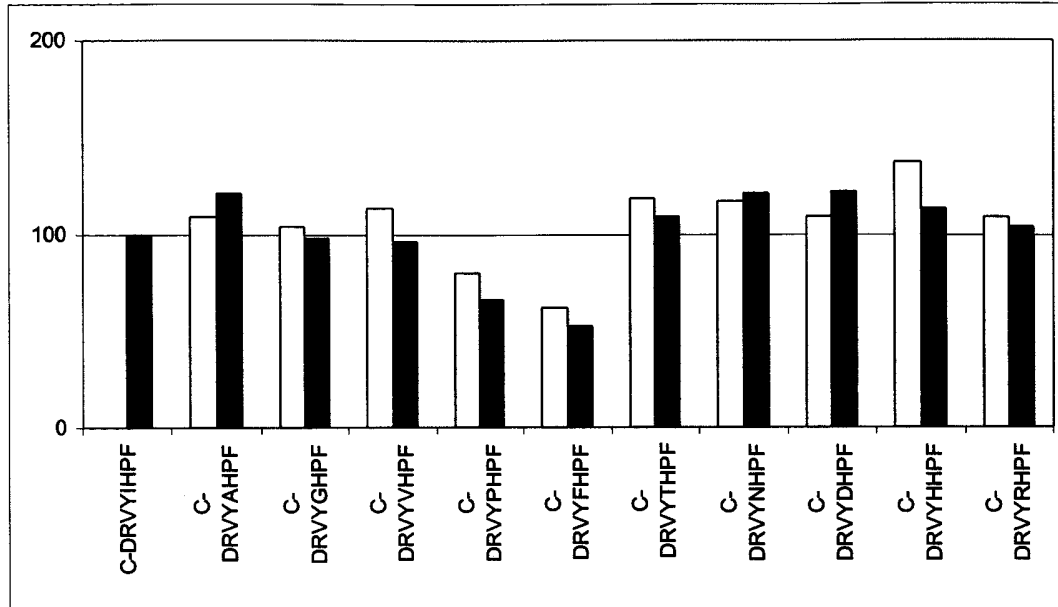


NACHGEREICHT

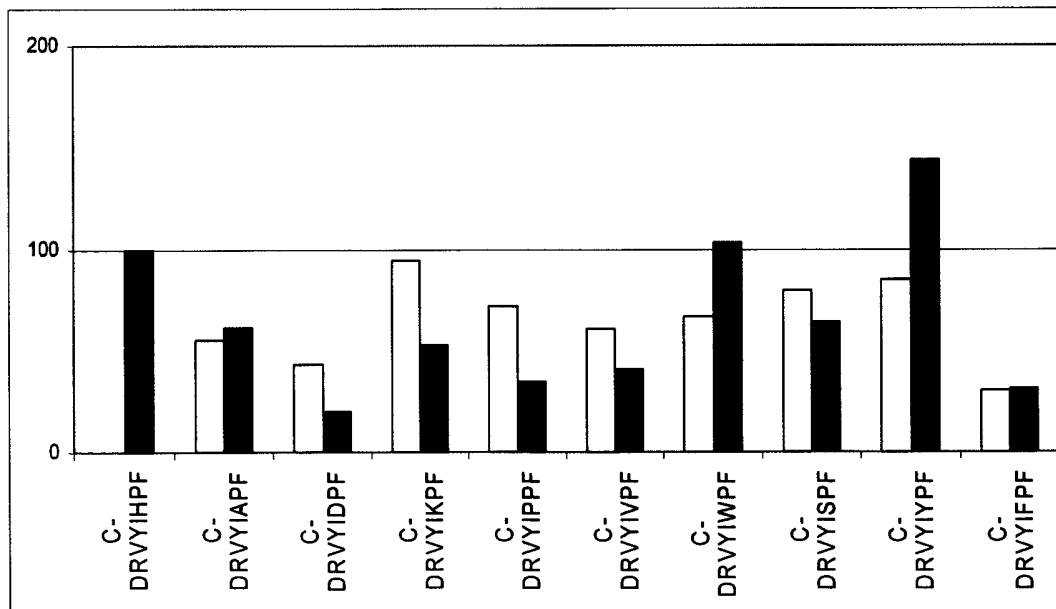
009517

3/5

Figur 5



Figur 6

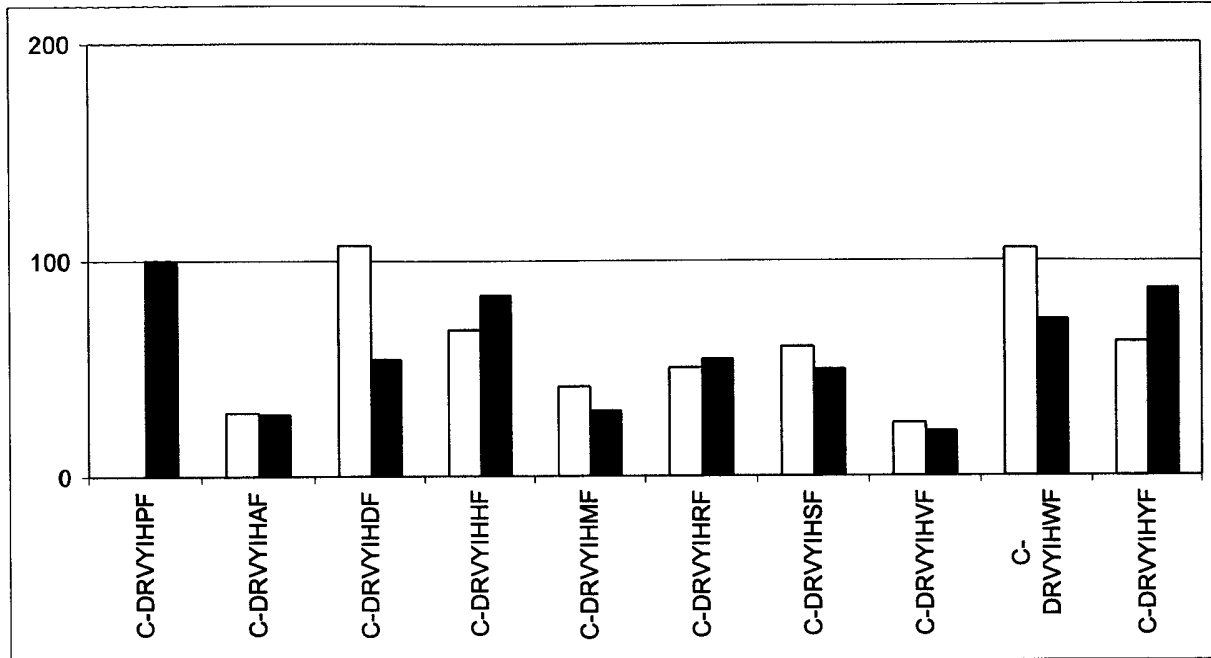


NACHGEREICHT

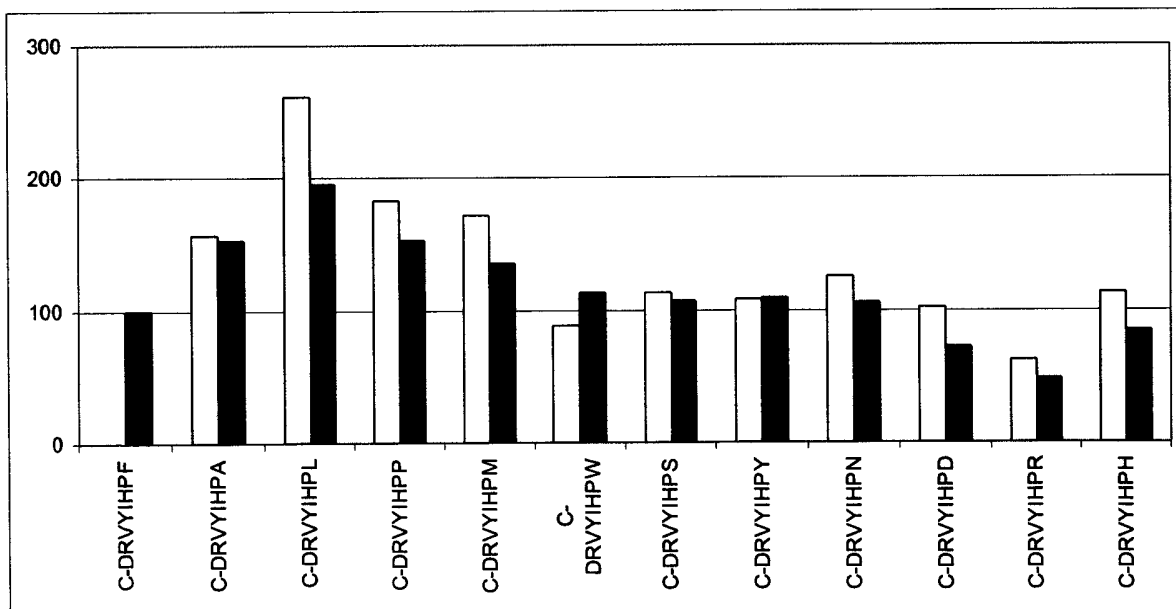
009517

4/5

Figur 7



Figur 8

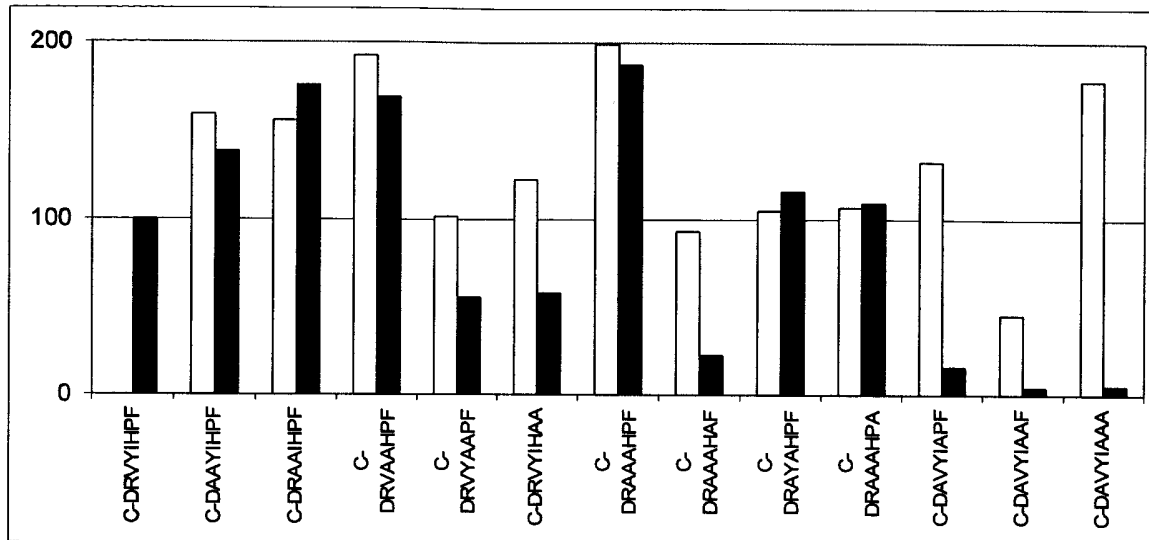


NACHGEREICHT

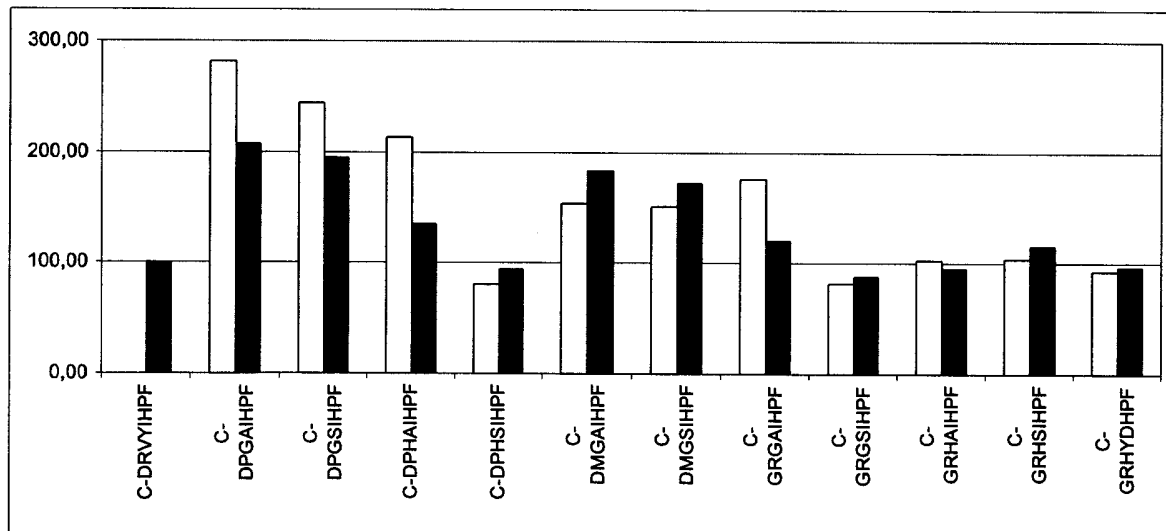
009517

5/5

Figur 9



Figur 10



NACHGEREICHT

Patentansprüche:

1. Eine an einen Träger gebundene Verbindung, die ein Peptid mit der Aminosäuresequenz



umfasst, zur Verwendung als Vakzin zur Behandlung und/oder Prävention einer physischen Erkrankung, die mit dem reninaktivierten Angiotensin-System in Zusammenhang steht, wobei

X_1 ein Aminosäurerest ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus D, G, A, T, S, Q, E, K, R und H,

X_2 ein Aminosäurerest ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus R, P, M, G, A, S, T, N, Q, D, E, K und H,

X_3 ein Aminosäurerest ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus V, G, H, A, L, I, N, Q, D, E, K und R;

X_4 jedweder Aminosäurerest ist,

X_5 ein Aminosäurerest ist, bei dem es sich nicht um P, F, W handelt,

X_6 ein aromatischer Aminosäurerest ist;

X_7 ein Aminosäurerest ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus F, L, I, P, M, V, A, H, einem nicht sauren Aminosäurerest und einem nicht basischen Aminosäurerest ist, und

wobei m, n und o unabhängig 0 oder 1 sind, mit der Maßgabe, dass m und n 0 sind, wenn o 0 ist, und m 0 ist, wenn n 0 ist, und

wobei das Peptid nicht DRVYIHPF ist, und wobei die Verbindung eine Bindungskapazität in Bezug auf einen Antikörper aufweist, der für DRVYIHPF spezifisch ist.

2. Verbindung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass X_1 G, A oder D ist,

X_2 G, A, P, M, E, K oder R ist,

X_3 G, A, H, D oder V ist,

X_4 S, A, D, P, F oder Y ist,

X_5 A, D, H, T, S, N oder I ist,

X_6 Y oder H ist,

X_7 F, A, V, L, I, P oder M ist.

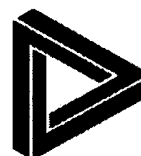
3. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet,

NACHGEREICHT

dass X_1 G, A oder D ist, X_2 A, P, M, G, oder R ist, X_3 G, A, H, oder V ist, X_4 S, A, D oder Y ist, X_5 A, D, H, S, N oder I ist, X_6 Y oder H ist, X_7 F, A, V, L oder I ist.

4. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass das Peptid aus der Gruppe bestehend aus GRVYIHPPF, DPVYIHPPF, DMVYIHPPF, DGVYIHPPF, DAVYIHPPF, DRGYIHPPF, DRAYIHPPF, DRHYIHPPF, DRVAIHPPF, DRVSIHPPF, DRVDIHPPF, DRVYAHPPF, DRVYNHPPF, DRVYDHPPF, DRVYHHPPF, DRVYSHPPF, DRVYIYPPF, DRVYIHPPA, DRVYIHPV, DRVYIHPL, DRVYIHPI, DAAYIHPPF, DRAAIHPPF, DRVAAHPPF, DRAYAHPPF, DRAAAHPPF, ARAAIHPPF, ARVAAHPPF, DAAAIHPPF, DAAAHPF, DAVAHPF, DAGYIHPPF, DAHYIHPPF, DPGYIHPPF, DPAYIHPPF, DMGYIHPPF, DMAYIHPPF, DMHYIHPPF, DGGYIHPPF, DGAYIHPPF, DGHYIHPPF, DPVAIHPPF, DPVSIHPPF, DMVAIHPPF, DMVSIHPPF, DRGAIHPPF, DRHAIHPPF, DRGYAHPPF, DRGYDHPPF, DRGYHHPPF, DRGYSHPPF, DRGYNHPPF, DRAYDHPPF, DRAYHHPPF, DRAYSHPPF, DRAYNHPPF, DRHYAHPPF, DRHYSHPPF, DRHYNHPPF, DRHYDHPPF, DRHYHHPPF, DRHYIYPPF, DRGADHPPF, DRGAHHPPF, DRVAHHPPF, DRHADHPPF, GRGAIHPPF, GRHSIHPPF, GRHADYPPF, DPGAIHPPF, GRHAIHPPF, DPGSIHPPF, DMGAIHPPF, DMGSIHPPF, GPGYIHPPF, GMGYIHPPF, GPGSIHPPF, GMGSIHPPF, DRGSIHPPF, DPHAIHPPF, DMHAIHPPF, GPHAIHPPF, GMHAIHPPF, GPHSIHPPF, GMHSIHPPF, PVYIHPPF, MVYIHPPF, GVYIHPPF, AVYIHPPF, RGYIHPPF, RAYIHPPF, RHYIHPPF, RVAIHPPF, RVSIHPPF, RVDIHPPF, RVYAHPPF, RVYNHPPF, RVYDHPPF, RVYHHPPF, RVYSHPPF, RVYIYPPF, RVYIHPPA, RVYIHPV, RVYIHPL, RVYIHPI, AAYIHPPF, RAAIHPPF, RVAAHPPF, RAYAHPPF, RAAAHPPF, RAAIHPPF, RVAAHPPF, AAAIHPPF, AAAHPPF, AVAAHPF, AGYIHPPF, AHYIHPPF, PGYIHPPF, PAYIHPPF, MGYIHPPF, MAYIHPPF, MHYIHPPF, GGYIHPPF, GAYIHPPF, GHYIHPPF, PVAIHPPF, PVSIHPPF, MVAIHPPF, MVSIHPPF, RGAIHPPF, RHAIHPPF, RGYAHPPF, RGYDHPPF, RGYHHPPF, RGYSHPPF, RGYNHPPF, RAYDHPPF, RAYHHPPF, RAYSHPPF, RAYNHPPF, RHYAHPPF, RHYSHPPF, RHYNHPPF, RHYDHPPF, RHYHHPPF, RHYIYPPF, RGADHPPF, RGAHHPPF, RVAHHPPF, RHADHPPF, RGAIHPPF, RHSIHPPF, RHADYPPF, PGAIHPPF, RHAIHPPF, PGSIHPPF, MGAIHPPF, MGSIHPPF, PGYIHPPF, MGYIHPPF, RGSIHPPF, PHAIHPPF, MHAIHPPF, PHSIHPPF, MHSIHPPF, GYIHPPF, AYIHPPF, HYIHPPF, VAIHPPF, VDIHPPF, VYAHPPF, VYNHPPF, VYDHPPF, VYHHPPF, VYSHPPF, VYIYPPF, VYIHPPA, VYIHPV, VYIHPL, VYIHPI, AAHPF, VAAHPF, AYAHPPF, AAHPF, HYIHPPF, VSIHPPF, GAIHPPF, HAIHPPF, GYAHPPF, GYDHPPF, GYHHPPF, GYSHPPF, GYNHPPF, AYDHPPF, AYHHPPF, AYSHPPF, AYNHPPF, HYAHPPF, HYSHPPF, HYNHPPF, HYDHPPF, HYHHPPF, HYIYPPF, GADHPPF, GAHHPPF, VAHHPPF, HADHPPF, GAIHPPF, HSIHPPF, HADYPPF, GSIHPPF, HAIHPPF, AIHPPF, SIHPPF, DIHPPF, YAHPPF, YNHPPF, YDHPPF, YHHPPF, YSHPPF, YIYPPF, YIHPPA, YIHPV, YIHPL, YIHPI, AAHPF, ADHPPF, AHHPPF und ADYPPF ausgewählt ist.

5. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass zumindest ein Cysteinrest an den N-Terminus der Aminosäuresequenz von Formel I gebunden ist.
6. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindung an ein Trägerprotein gebunden ist.
7. Verbindung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass der Träger aus der Gruppe bestehend aus Schlüssellochnapfschnecken-Hämocyanin (KLH, „keyhole limpet haemocyanin“), Tetanustoxoid (TT) oder Diphtherietoxin (DT) ausgewählt ist.
8. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindung an einem Adjuvans, vorzugsweise an Aluminiumhydroxid („Alum“), absorbiert ist.
9. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass die mit dem reninaktivierten Angiotensin-System in Zusammenhang stehende physische Erkrankung aus der Gruppe bestehend aus Bluthochdruck, Schlaganfall, Infarkt, Nierenversagen, kongestiver Herzinsuffizienz, Atherosklerose, Gefäßschaden und retinaler Blutung ausgewählt ist.
10. Verwendung einer Verbindung, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung und/oder Prävention von physischen Erkrankungen, die mit dem reninaktivierten Angiotensin-System in Zusammenhang stehen, vorzugsweise Bluthochdruck und mit Bluthochdruck in Zusammenhang stehende Erkrankungen.



Klassifikation des Anmeldungsgegenstands gemäß IPC ⁸ : A61K 38/08 (2006.01); A61P 9/10 (2006.01)		
Klassifikation des Anmeldungsgegenstands gemäß ECLA: A61K38/08A		
Recherchierter Prüfstoff (Klassifikation): A61K		
Konsultierte Online-Datenbank: STN-registry, Fulltext, EPODOC, CAS		
Dieser Recherchenbericht wurde zu den am 23. September 2009 eingereichten Ansprüchen 1-11 erstellt.		
Kategorie ⁹	Bezeichnung der Veröffentlichung: Ländercode, Veröffentlichungsnummer, Dokumentart (Anmelder), Veröffentlichungsdatum, Textstelle oder Figur soweit erforderlich	Betreffend Anspruch
X	WO 2005/044313 A2 (AMERSHAM HEALTH AS) 19. Mai 2005 (19.05.2005) <i>Ansprüche 1, 2, 9, Figur 1</i>	1-3, 9-11
	--	
X	GB 2001653 A (RICHTER GEDEON VEGYESZETI GYAR) 7. Februar 1979 (07.02.1979) <i>Ansprüche 1, 20</i>	1, 9-11
	--	
X	WO 2002/087504 A2 (UNIVERSITY OF SOUTHERN CALIFORNIA) 7. November 2002 (07.11.2002) <i>Ansprüche 1, 3-5, 11, Sequenz 45</i>	1-4, 10
	--	
X	WO 2001/043761 A2 (UNIVERSITY OF SOUTHERN CALIFORNIA) 21. Juni 2001 (21.06.2001) <i>Ansprüche 1, 11, Sequenz 44</i>	1-4, 10
	--	
X	WO 2001/098325 A1 (UNIVERSITY OF SOUTHERN CALIFORNIA) 27. Dezember 2001 (27.12.2001) <i>Ansprüche 1, 3-5, 11, Sequenz 45</i>	1-4, 10
	--	
Datum der Beendigung der Recherche: 14. April 2010		☒ Fortsetzung siehe Folgeblatt Prüfer(in): Mag. MOSSER
⁹ Kategorien der angeführten Dokumente: X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung : der Anmeldungsgegenstand kann allein aufgrund dieser Druckschrift nicht als neu bzw. auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden. Y Veröffentlichung von Bedeutung : der Anmeldungsgegenstand kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren weiteren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist. A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert. P Dokument, das von Bedeutung ist (Kategorien X oder Y), jedoch nach dem Prioritätstag der Anmeldung veröffentlicht wurde. E Dokument, das von besonderer Bedeutung ist (Kategorie X), aus dem ein älteres Recht hervorgehen könnte (früheres Anmeldedatum, jedoch nachveröffentlicht, Schutz ist in Österreich möglich, würde Neuheit in Frage stellen). & Veröffentlichung, die Mitglied der selben Patentfamilie ist.		

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung: Ländercode, Veröffentlichungsnummer, Dokumentart (Anmelder), Veröffentlichungsdatum, Textstelle oder Figur soweit erforderlich	Betreffend Anspruch
X	WO 2000/002905 A2 (UNIVERSITY OF SOUTHERN CALIFORNIA) 20. Jänner 2000 (20.01.2000) <i>Ansprüche 1, 12, Sequenz 42</i>	1-4, 10
	--	
X	WO 2003/031595 A2 (INCYTE GENOMICS, INC.) 17. April 2003 (17.04.2003) <i>Ansprüche 1, 17, 19, Sequenz 28</i>	1-4, 10
	--	
X	WO 2005/016962 A2 (GENENTECH, INC.) 24. Februar 2005 (24.02.2005) <i>Seite 73, Zeilen 35-37; Sequenzen 4200, 2620, 196</i>	1, 2, 10
	--	
X	WO 2002/008284 A2 (GENENTECH, INC.) 31. Jänner 2002 (31.01.2002) <i>Ansprüche 20-22; Sequenz 188 in Figur 188</i>	1, 2, 9, 10
