



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0074978
(43) 공개일자 2011년07월05일

(51) Int. Cl.

A61K 38/08 (2006.01) *A61K 45/00* (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-7008209

(22) 출원일자(국제출원일자) 2009년09월11일
심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2011년04월08일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2009/006619

(87) 국제공개번호 WO 2010/028845
국제공개일자 2010년03월18일

(30) 우선권주장

08016142.5 2008년09월12일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인

샤리떼 우니베지테츠메디친 베를린

독일 10117 베를린 샤리떼플라츠 1

(72) 발명자

발터, 토마스

독일 양게르문데 16278, 27/오토 헤르츠스프롱,
린덴스트라세.

퀴블러, 볼프강

독일 베를린 10115 사론호스트스트라세.5

(74) 대리인

김영관

전체 청구항 수 : 총 15 항

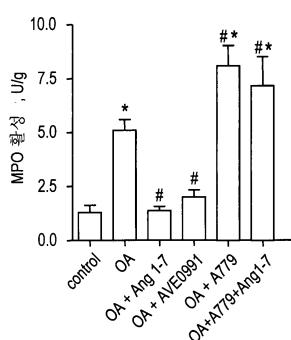
(54) 급성 폐 손상에서 ANG-(1-7) 수용체 작용제의 용도

(57) 요약

본 발명은 급성 폐 손상, 바람직하게는 급성 호흡곤란증후군의 예방 및/또는 치료를 위한, 웨პ티드 또는 비웨პ티드 안지오텐신-(1-7) (Ang-(1-7)) 수용체 작용제, 바람직하게는 Mas 수용체 작용제에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1

도1(A)



특허청구의 범위

청구항 1

개체에서 급성 폐 손상의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 Ang-(1-7) 수용체 작용제.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 수용체 작용제는 Mas 수용체 작용제인 수용체 작용제.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 수용체 작용제는 웨티드 또는 비웨티드 작용제인 수용체 작용제.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 웨티드 작용제는 서열번호 1에 따른 아미노산 서열을 포함하는 외래 또는 내재적 Ang-(1-7) 웨티드 또는 그의 유도체 또는 아날로그인 수용체 작용제.

청구항 5

제3항에 있어서, 상기 웨티드 작용제는 서열번호 2, 서열번호 3 또는 서열번호 4에 따른 아미노산 서열을 포함하는 웨티드인 수용체 작용제.

청구항 6

제3항에 있어서, 상기 웨티드 작용제는 서열번호 5에 따른 아미노산 서열을 포함하는 외래 또는 내재적 NorAng-(1-7) 웨티드 또는 그의 유도체 또는 아날로그인 수용체 작용제.

청구항 7

제3항에 있어서, 상기 웨티드 작용제는 서열번호 6에 따른 아미노산 서열을 포함하는 외래 또는 내재적 Ang IV 웨티드 또는 그의 유도체 또는 아날로그인 수용체 작용제.

청구항 8

제3항에 있어서, 상기 웨티드 작용제는 서열번호 7에 따른 아미노산 서열을 포함하는 외래 또는 내재적 Ang III 웨티드 또는 그의 유도체 또는 아날로그인 수용체 작용제.

청구항 9

제3항에 있어서, 상기 비웨티드 작용제는 1-(p-티에닐벤질)이미다졸 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되고, 바람직하게는 Ave 0991인 수용체 작용제.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 급성 폐 손상은 급성 호흡곤란증후군인 수용체 작용제.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 급성 폐 손상은 폐 폐손상(pulmonary lung injury) 또는 폐외 폐손상(extrapulmonary lung injury)에 관련된 것인 수용체 작용제.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 폐 폐 손상(pulmonary lung injury)은 흡입외상(inhalation trauma), 흡인외상(aspiration trauma), 독성 폐부종, 폐감염, 바람직하게는 폐렴, 폐 타박상(lung contusion) 및 색전증(embolism)으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 수용체 작용제.

청구항 13

제11항에 있어서, 상기 폐외 폐 손상 (extrapulmonary lung damage)은 폐혈증, 다중외상(polytrauma), 쇼크, 화상, 급성 췌장염, 약물중독, 알콜 남용, 만성 폐 질병, 대량 수혈, 과종 맥관내 응고(disseminated intravascular coagulation), 홍반(erythema), 및 자가면역 폐질병으로 이루어진 군으로부터 선택된 질환과 연관된 것인 수용체 작용제.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 개체는 포유동물, 바람직하게는 인간, 가장 바람직하게는 성인 인간인 것인 수용체 작용제.

청구항 15

개체에서 급성 폐 손상의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 따른 Ang-(1-7) 수용체 작용제를 포함하는 약학적 조성물.

명세서

기술 분야

[0001]

본 발명은 급성 폐 손상, 바람직하게는 급성 호흡곤란증후군의 예방 및/또는 치료를 위한, 웨티드 또는 비펩티드 안지오텐신-(1-7) (Ang-(1-7)) 수용체 작용제, 바람직하게는 Mas 수용체 작용제에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

매년 100,000명당 86.2의 나이 조정된 발생건수 (age-adjusted incidences)와 총 사망률 약 43%로 인하여, 급성 폐 손상 (acute lung injury: ALI) 및 그의 가장 심한 형태인 급성 호흡곤란증후군 (acute respiratory distress syndrome: ARDS)은 집중 치료(intensive care) (1,2)에서 주요 사망 원인이다. 상기 질병의 병리적 특징 (pathological hallmarks)은 광범위 폐모세혈관 손상(diffuse alveolo-capillary injury) 및 강한 염증 반응과 연관된 증가된 폐 투과성 (3,4)을 포함한다. 이들 변화는 급성 발병, 심각한 저산소혈증(severe hypoxemia) 및 단백질성 폐부종(proteinaceous lung oedema)이 특징인 임상증상으로 나타난다. 글루코코르티코이드, 케토코나졸, 리소필린, 알프로스타딜, 흡입된 NO 또는 보충된 계면활성제(supplemented surfactant) (5-7)의 사용을 포함한 다양한 치료적 전략의 가능성을 연구하기 위한 많은 큰 다중 중심 임상시험에도 불구하고, 지금까지 어떠한 치료적 약리적 중재도 ALI/ARDS의 임상적 결과(clinical outcome)를 개선시킬 수 없었다. 지금 까지, 환자의 생존에 대한 유일한 명백한 개선은 종래 사용된 고일회호흡량(high tidal volumes) (8)에 비하여 저일회호흡량(low tidal volumes)을 갖는 최소 침습 환기 전략 (minimal invasive ventilation strategies)의 이행에 의하여 이루어졌다.

[0003]

최근의 실험적 연구에서, Imai 및 공동연구자들은 한 아미노산의 절단에 의하여 Ang II를 Ang-(1-7)로 전환시키는, 안지오텐신 전환효소2(angiotensin converting enzyme 2: ACE2)가 산 흡인(acid aspiration) 또는 폐혈증에 의하여 유도된 중증 급성 폐 손상으로부터 생쥐를 보호한다는 것을 증명하였다(9). 상기 저자들은 이 발견을 ACE2가 Ang II 농도를 감소시킬 것이라고 그래서, Ang II 타입 1 수용체 (AT1)의 활성화를 감소시킬 것이라는 사실에 기인한 것이라고 하였다. 이 개념은 다양한 형태의 실험적 급성 폐 손상의 치료를 위한 AT1 수용체 차단제 또는 ACE 저해제의 효능을 증명하는 일련의 연구를 유도하였다(10-13).

[0004]

그러나 중요하게도, ACE2에 의한 Ang II의 절단 산물, Ang-(1-7)은 안지오텐신-경로의 불활성 폐기 산물(inert waste product)이 아니라 활성인 생물학적 기능을 할 수 있다. Ang-(1-7)은 AT1a 수용체 (15), 및 잠재적으로는 다른 수용체들의 생리학적 길항제인 것처럼 보이는 G 단백질-결합된 수용체 Mas (G protein-coupled receptor Mas)(14)에 결합한다. Ang-(1-7)의 그의 수용체(들)에의 결합은 따라서 ALI/ARDS의 병리에 대한 안지오텐신 경로에서 중재의 종래 증명된 이로운 효과에 결정적으로 기여할 수 있다.

[0005] 미국특허 US6,235,766은 Ang-(1-7) 수용체들의 비펩티드 작용제에 관한 것이며, 특히 Ang-(1-7) 수용체들에 대한 표지된 작용 (marked action)을 갖고 효과기 호르몬 Ang-(1-7)의 생물학적 작용을 모방하는 1-(p-티에닐벤질)이미다졸을 개시한다.

[0006] 국제특허출원 WO2006/128266는 생식계의 기능을 제어하는 관점에서 Mas 수용체와 Ang-(1-7) 또는 그의 아날로그들의 상호작용에 관한 것이다.

[0007] 국제특허출원 WO2007/000036은 아포토시스 활성 조절제 (apoptotic activity modulators)로서 웨პ티드 또는 비-펩티드 Mas 수용체 작용제들 및 길항제들의 용도에 관한 것이다.

[0008] 국제특허출원 WO2007/121546은 대상 증후군 또는 그의 복합증의 임상적 증상 (clinical manifestation)과 관련된 대사 활성을 조절하기 위한 웨პ티드 또는 비-펩티드 Mas 수용체 작용제들의 용도에 관한 것이다.

[0009] 본 발명자들은 Ang-(1-7) 또는 관련된 작용제들이 ALI/ARDS의 치료를 위한 새롭고 전망있는 전략을 나타낼 수 있다는 것을 짐작하였다. 따라서, 본 발명의 목적은 ALI/ARDS에 내재된 병리-생리적 사건 (patho-physiologic events)에서 약리학적 중재를 위한 수단 및 방법을 제공하는 것이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 개체에서 급성 폐 손상의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 Ang-(1-7) 수용체 작용제에 의하여 해결된다.

[0011] 본 발명의 목적은 Ang-(1-7) 수용체 작용제를 사용하여 개체에서 급성 폐 손상의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 의하여 해결된다.

[0012] 본 발명의 목적은 개체에서 급성 폐 손상의 예방 및/또는 치료를 위한 약학적 조성물의 제조를 위한 Ang-(1-7) 수용체 작용제의 용도에 의하여 또한 해결된다.

[0013] 본 발명의 목적은 개체에 Ang-(1-7) 수용체 작용제를 투여하는 것에 의한 급성 폐 손상의 예방 및/또는 치료의 방법에 의하여 또한 해결된다.

과제의 해결 수단

[0014] 일 구체예에서, 상기 Ang-(1-7) 수용체 작용제는 Mas 수용체 작용제이다.

[0015] 일 구체예에서, 상기 Ang-(1-7) 수용체 작용제는 Mas 수용체 또는 Mas 수용체와 연관된 수용체와 상호작용한다.

[0016] 일 구체예에서, 상기 Ang-(1-7) 수용체 작용제는 Mas 수용체와 물리적으로 상호작용하는 수용체를 자극한다.

[0017] 일 구체예에서, 상기 Ang-(1-7) 수용체 작용제는 Mas 수용체와 약리학적 유사성 (pharmacological

similarities)을 공유하는 수용체를 자극한다.

[0018] 일 구체예에서, 상기 Ang-(1-7) 수용체 작용제는 Ang-(1-7) 펩티드와 구조적 유사성(structural similarities)을 공유하는 Ang II 대사산물이다.

[0019] 일 구체예에서, 상기 수용체 작용제는 펩티드 또는 비-펩티드 작용제이다.

[0020] 일 구체예에서, 상기 펩티드 작용제는 서열번호1에 따른 아미노산 서열 Asp¹-Arg²-Val³-Tyr⁴-Ile⁵-His⁶-Pro⁷를 포함하는 외래적 또는 내재적 Ang-(1-7) 펩티드 또는 그의 유도체 또는 아날로그이다.

[0021] 일 구체예에서, 상기 펩티드 작용제는 상기 Ang-(1-7) 펩티드의 유도체 또는 아날로그이고, 상기 유도체 또는 아날로그는 아미노산 교환, 결실 또는 삽입을 포함한다. 바람직하게는, 상기 유도체 또는 아날로그는 보존된 또는 더 나은 작용제 특성을 갖는다.

[0022] 일 구체예에서, 상기 펩티드 작용제는 상기 Ang-(1-7) 펩티드의 유도체 또는 아날로그이고, 상기 유도체 또는 아날로그는 서열번호2에 따른 아미노산 서열 Asp¹-Arg²-Val³-Ser⁴-Ile⁵-His⁶-Pro⁷, 서열번호3에 따른 Asp¹-Arg²-Val³-Tyr⁴-Ile⁵-His⁶-Cys⁷ 또는 서열번호4에 따른 Asp¹-Arg²-Val³-Ser⁴-Ile⁵-His⁶-Cys⁷을 포함한다.

[0023] 일 구체예에서, 상기 펩티드 작용제는 서열번호2, 서열번호3 또는 서열번호4에 따른 아미노산 서열을 포함하는 펩티드이다.

[0024] 일 구체예에서, 상기 펩티드 작용제는 서열번호5에 따른 아미노산 서열 Asp¹-Arg²-NorLeu³-Tyr⁴-Ile⁵-His⁶-Pro⁷을 포함하는 외래적 또는 내재적 NorLeu3-Ang-(1-7) 펩티드 또는 그의 유도체 또는 아날로그이다.

[0025] 일 구체예에서, 상기 펩티드 작용제는 서열번호6에 따른 아미노산 서열 Val¹-Tyr²-Ile³-His⁴-Pro⁵-Phe⁶을 포함하는 외래적 또는 내재적 Ang IV 펩티드 또는 그의 유도체 또는 아날로그이다.

[0026] 일 구체예에서, 상기 펩티드 작용제는 서열번호7에 따른 아미노산 서열 Arg¹-Val²-Tyr³-Ile⁴-His⁵-Pro⁶-Phe⁷을 포함하는 외래적 또는 내재적 Ang III 펩티드 또는 그의 유도체 또는 아날로그이다.

[0027] 일 구체예에서, 상기 비-펩티드 작용제는 1-(p-티에닐벤질)이미다졸 화합물들로 이루어진 군으로부터 선택되고, 바람직하게는 Ave 0991 (즉 5-포르밀-4-메톡시-2-페닐-1-[[4-[2-(에틸아미노카르보닐술폰아미도)-5-이소부틸-3-티에닐]페닐]메틸]-이미다졸)이다.

[0028] 일 구체예에서, 상기 급성 폐 손상은 급성 호흡곤란증후군이다.

[0029] 일 구체예에서, 상기 급성 폐 손상은 폐(pulmonary) (직접적) 또는 폐외(extrapulmonary) (간접적) 폐 손상에 관련된다.

- [0030] 일 구체예에서, 상기 폐 손상(pulmonary lung injury)은 흡입외상, 흡인외상, 독성 폐부종, 폐감염, 바람직하게는 폐렴, 폐 타박상 및 색전증으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0031] 일 구체예에서, 상기 폐외 폐 손상 (extrapulmonary lung damage)은 폐혈증, 전신성염증반응증후군(systemic inflammatory response syndrome: SIRS), 다중외상, 쇼크, 화상, 급성 췌장염, 약물중독, 알콜 남용, 만성 폐질병, 대량 수혈, 파종 맥관내 응고, 홍반, 및 자가면역 폐질병으로 이루어진 군으로부터 선택된 질환과 연관되어 있다.
- [0032] 일 구체예에서, 상기 개체는 포유동물, 바람직하게는 인간, 가장 바람직하게는 성인 인간이다.
- [0033] 본 발명의 목적은 개체에서 급성 폐 손상의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 Ang-(1-7) 수용체 작용제를 포함하는 약학적 조성물에 의하여 또한 해결된다.
- [0034] 본 발명의 목적은 Ang-(1-7) 수용체 작용제를 포함하는 약학적 조성물을 사용하는 개체에서 급성 폐 손상의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 의하여 또한 해결된다.
- [0035] .
- [0036] 상기 약학적 조성물의 일 구체예에서, 상기 Ang-(1-7) 수용체 작용제는 Mas 수용체 작용제이다.
- [0037] 상기 약학적 조성물의 일 구체예에서, 상기 수용체 작용제는 웨პ티드 또는 비웨პ티드 작용제이다.
- [0038] 상기 약학적 조성물의 일 구체예에서, 상기 웨პ티드 작용제는 서열번호1에 따른 아미노산 서열을 포함하는 Ang-(1-7) 웨პ티드 또는 그의 유도체 또는 아날로그이다.
- [0039] 상기 약학적 조성물의 일 구체예에서, 상기 웨პ티드 작용제는 서열번호 2, 서열번호 3 또는 서열번호 4에 따른 아미노산 서열을 포함하는 웨პ티드이다.
- [0040] 상기 약학적 조성물의 일 구체예에서, 상기 웨პ티드 작용제는 서열번호5에 따른 아미노산 서열을 포함하는 웨პ티드 또는 그의 유도체 또는 아날로그이다.
- [0041] 상기 약학적 조성물의 일 구체예에서, 상기 웨პ티드 작용제는 서열번호6에 따른 아미노산 서열을 포함하는 Ang IV 웨პ티드 또는 그의 유도체 또는 아날로그이다.
- [0042] 상기 약학적 조성물의 일 구체예에서, 상기 웨პ티드 작용제는 서열번호7에 따른 아미노산 서열을 포함하는 Ang III 웨პ티드 또는 그의 유도체 또는 아날로그이다.
- [0043] 상기 약학적 조성물의 일 구체예에서, 상기 비-웨პ티드 작용제는 1-(p-티에닐벤질)이미다졸 화합물들로 이루어진 군으로부터 선택되고, 바람직하게는 Ave 0991 (즉 5-포르밀-4-메톡시-2-페닐-1-[4-[2-(에틸아미노카르보닐술폰

아미도)-5-이소부틸-3-티에닐]페닐]메틸]-이미다졸)이다.

- [0044] 상기 약학적 조성물의 일 구체예에서, 상기 급성 폐 손상은 급성 호흡곤란증후군이다.
- [0045] 상기 약학적 조성물의 일 구체예에서, 상기 급성 폐 손상은 폐 (직접적) 또는 폐외 (간접적) 폐 손상에 관련된다.
- [0046] 상기 약학적 조성물의 일 구체예에서, 상기 폐 폐 손상은 흡입외상, 흡인외상, 독성 폐부종, 폐감염, 바람직하게는 폐렴, 폐 타박상 및 색전증으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0047] 상기 약학적 조성물의 일 구체예에서, 상기 폐외 폐 손상은 폐혈증, 다중외상, 쇼크, 화상, 급성 췌장염, 약물 중독, 알콜 남용, 만성 폐 질병, 대량 수혈, 과종 맥관내 응고, 홍반, 및 자가면역 폐질병으로 이루어진 군으로부터 선택된 질환과 연관되어 있다.
- [0048] 상기 약학적 조성물의 일 구체예에서, 상기 개체는 포유동물, 바람직하게는 인간, 가장 바람직하게는 성인 인간이다.
- [0049] 일 구체예에서, 상기 약학적 조성물은 비경구 투여 또는 장관투여(enteral administration), 바람직하게는 흡입, 주입 또는 주사의 경로에 의한 비경구 투여를 위하여 제형화된다. 경구, 근육내, 정맥내, 피하, 국소, 경피, 직장, 질, 폐, 비강내, 볼내(intrabuccal), 또는 설파 투여를 위하여 제형화된 약학적 조성물이 또한 고려된다.
- [0050] 일 구체예에서, 상기 약학적 조성물은 정제, 알약, 캡슐, 과립, 시럽, 스프레이, 에어로졸, 리포좀 조성물, 연고, 좌약, 이식물(implant), 석고(plaster), 또는 느린 방출 제형으로서 제형화된다.
- [0051] 일 구체예에서, 상기 약학적 조성물은 중합체 담체, 봉괴제, 윤활제, 용매 또는 팽창제(swelling agent)와 같은 하나이상의 약리학적으로 불활성이고 제약학적으로 허용가능한 부형제를 더 포함한다.
- [0052]
- [0053] 상기 용어 "수용체 작용제 (receptor agonist)"는 수용체를 활성화시킬 수 있는 약제 즉 수용체 반응을 유도할 수 있는 약제를 나타낸다. 상기 용어 "Ang-(1-7) 수용체 작용제 (Ang-(1-7) receptor agonist)"는 Ang-(1-7)에 의하여 또한 활성화되는 수용체를 활성화시킬 수 있는 약제를 나타낸다. 상기 용어 "Mas 수용체 작용제 (Mas receptor agonist)"는 G 단백질-결합된 Mas 수용체를 활성화시킬 수 있는 약제를 나타낸다. 적절한 수용체 반응으로서, 상기 수용체로부터 (Mas와 물리적으로 상호작용하는 수용체로 인한) 직접 또는 간접적인 G 단백질-매개된 신호 케스케이드 하류가 개시되어 예를 들면, 아라키돈산 방출, PGI₂ 형성, NO 형성, 및/또는 cGMP 생성을 야기시킨다.
- [0054] Ang-(1-7) 신호전달은 A779 ([D-Ala⁷-Ang-(1-7); Asp¹-Arg²-Val³-Tyr⁴-Ile⁵-His⁶-D-Ala⁷, 서열번호 8) 및/또는 D-Pro⁷-Ang-(1-7) (Asp¹-Arg²-Val³-Tyr⁴-Ile⁵-His⁶-D-Pro⁷, 서열번호 9)에 의하여 차단되기 때문에, Ang-(1-7) 작용제의 추가적 특징은 A779 및/또는 D-Pro⁷-Ang-(1-7)에 의한 그의 효과의 억제이다. 또한, 비-경쟁적 또는 경쟁적 저해제가 또한 고려된다.

- [0055] 상기 용어 "펩티드 작용제 (peptidic agonist)"는 하나이상의 펩티드 결합을 포함하는 화합물을 나타낸다. 상기 용어는 순수한 펩티드 구조로 구성된 화합물 즉 2이상의 아미노산으로 구성된 펩티드뿐만 아니라 펩티드 및 비-펩티드 구조를 포함하는 화합물을 포함한다.
- [0056] 상기 용어 "비-펩티드 작용제 (non-peptidic agonist)"는 펩티드 결합을 포함하지 않는 화합물을 나타낸다. 바람직하게는, 그러한 화합물은 저분자량의 것 즉 작은 분자이다.
- [0057] 상기 용어 "유도체 (derivative)"는 구조적 변경 예를 들면 한 원자 또는 원자들의 군 또는 관능기를 다른 원자 또는 원자의 군 또는 관능기로의 치환에 의하여 다른 화합물과 상이하게 된 화합물을 의미한다.
- [0058] 상기 용어 "아날로그 (analogue)"는 다른 화합물과 구조 또는 기능이 비슷한 화합물을 의미한다.
- [0059] 상기 용어 "외래적 Ang-(1-7)(exogenous Ang-(1-7))"는 치료되어질 개체의 체외에서 생산되고 외래적으로 적용된 Ang-(1-7)를 의미한다. 그러나, 이것은 Ang-(1-7)가 예를 들면, 치료되지 않을 형질전환 동물에서 생산되는 것을 배제하지 않는다. 생합성 또는 종래 실험실 합성 (lab synthesis), 예를 들면, 고상 합성에 의하여 생산된 Ang-(1-7)가 일반적으로 고려된다.
- [0060] 상기 용어 "내재적 Ang-(1-7)(endogenous Ang-(1-7))"는 Ang-(1-7)가 치료되어질 개체의 신체에 의하여 내재적으로 생산되는 것을 의미한다. Ang-(1-7)의 (증가된) 내재적 생산은 Ang II로부터 그의 생성의 자극, 예를 들면, 약리학적으로 ACE2를 활성화시키는 것, AT1a 수용체를 차단하는 것, 또는 APA에 의한 Ang II의 Ang III로의 분해를 저해하는 것에 의한 그의 생성의 자극의 결과일 수 있다. 비슷하게, 내재적 Ang-(1-7) 생산은 NEP에 의한 Ang I으로부터 그의 생성의 자극에 의하여 증가될 수 있다. (증가된) 내재적 생산은 또한, 유전자 치료적 중재의 결과, 예를 들면, ACE2 또는 직접적으로 Ang-(1-7) 또는 그의 전구체 중의 하나를 생성하는 구조체를 과발현시키는 것의 결과일 수 있다. 내재적으로 생산된 Ang-(1-7)의 증가된 농도는 Ang-(1-7)의 감소된 분해, 예를 들면, Ang-(1-7)을 Ang-(1-5)로 분해하는 ACE의 약리학적 저해에 의하여 또한 야기될 수 있다.
- [0061] 재조합 또는 과발현된 ACE2는 Ang II로부터 그의 전환을 자극함으로써 직접적으로 Ang-(1-7)의 농도를 증가시킬 것이다. ACE 저해제는 Ang-(1-5)로의 Ang-(1-7) 분해를 감소시킬 것이지만 AT1a 수용체 차단제는 ACE2 기질 이용가능성의 증가에 의하여 Ang-(1-7) 수준을 증가시킬 것이다.
- [0062] 분자들, 예를 들면, 상기 Ang-(1-7) 펩티드 서열 또는 화학적 구조를 포함하는, 펩티드 또는 단백질이 또한 고려된다.
- [0063] "급성 폐 손상 (acute lung injury: ALI)" 및 "급성 호흡곤란증후군 (acute respiratory distress syndrome: ARDS)"은 가장 흔하게 폐혈증, 폐렴, 외상 및/또는 흡입에 의하여 야기되는 폐의 염증성 질환이다. 염증은 국부적으로 폐에 한정될 수 있거나, 상기 폐 염증은 전신성 염증과정의 부분일 수 있다. ALI 및 ARDS는 증가된 좌심방 압력(elevated left atrial pressure)의 부재하에서 저산소혈증 및 가슴 x-선 상의 광범위 침윤물(diffuse infiltrate)에 의하여 특징지워진다. ALI는 들숨산소분획(inspiratory oxygen fraction)에 대한 동맥 산소분압(arterial oxygen partial pressure)의 비율 ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$) < 300 으로서 정의되고 ARDS는 $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 200$ 으로서 정의되는 점에서 (16), ALI와 ARDS는 저산소혈증의 정도만이 상이하다. 진단은 임상적 제시(clinical presentation), ABGs (동맥혈액기체분석: arterial blood gas analyses) 및 이지밍 분석에 의한다. 치료는 폐-보호적, 낮은 일회호흡량 기계적 환기 (low tidal volume mechanical ventilation), 지지요법 및 내

재적 원인의 치료에 의한다.

도면의 간단한 설명

[0064] 도 1은 올레인산(oleic acid) 유도된 급성 폐 손상에서 폐 MPO 활성 (도 1(A)), 비건조 대 건조 중량비율 (wet-to-dry weight ratio) (도 1(B)), 평균 동맥압 (도 1(C)) 및 폐 혈관 저항 (도 1(D))에 미치는 Ang-(1-7) 및 비-펩티드 Ang-(1-7) 수용체 작용제 AVE0991의 영향을 나타낸다. 모든 데이터는 n=6인 동물 각각으로부터의 평균±SEM; * p<0.05 vs. 대조군; # p<0.05 vs. OA.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0065] 실시예

[0066] 동물들. 실험은 체중(bw) 330-360g의 수컷 Sprague-Dawley 랫트 (Charles River Wiga GmbH, Sulzfeld, Germany)에서 수행되었다. 동물들은 실험실 동물들의 관리 및 사용에 대한 지침(Guide for the Care and Use of Laboratory Animals) (Institute of Laboratory Animal Resources, 7th edition 1996)에 따른 관리를 받았다. 연구는 지역 동물 관리 및 사용 위원회(local animal care and use committee)에 의하여 승인되었다.

[0067] 수술 준비 및 혈류역학적 모니터링. 랫트를 이전에 기술된 바와 같이 메데토미딘 (0.5 mg/kg bw, Domitor® Dr. E. Graeub AG, Basel, Switzerland), 펜타닐 (0.05 mg/kg bw, JanssenCilag, Neuss, Germany) 및 미다졸람 (5 mg/kg bw, Dormicum® Roche, Basel, Switzerland)의 복막 주입에 의하여 마취시켰다(17). 기관절개 후, 기관은 캐뉼러가 삽입되었고 환기가 80 숨/분(breaths/min)에서 일회호흡량(tidal volume) 6 ml/kg bw (Advanced Animal Respirator, TSE Systems GmbH, Bad Homburg, Germany)으로 확립되었다. 카테터 (내경 0.58 mm; Sims Portex Ltd., Hythe, United Kingdom)를 이전에 기술된 바와 같이 동맥혈압(arterial blood pressure: AP), 액체 치환 및 약물전달을 위하여 좌경동맥(left carotid artery) 및 우내측 경정맥(right internal jugular vein)에 도입되었다(18). 초음파 플로우프로브 (Transonic® Transonic Systems Inc., Ithaca, NY)를 심장출력 (cardiac output: CO)을 연속적으로 모니터링하기 위하여 관상동맥의 가지침(branching)에 대하여 먼쪽의 상행 대동맥 주위에 위치시켰다. 중위 가슴절개(median thoracotomy) 후, 카테터를 폐동맥압(pulmonary artery pressure: PAP)의 측정을 위하여 우심실을 통하여 폐동맥으로 도입시켰다. AP, PAP 및 CO를 소프트웨어 폐기지 DasyLab 32 (DasyLab, Moenchengladbach, Germany)에 의하여 연속적으로 기록하였다. 폐 혈관저항 (pulmonary vascular resistance: PVR)은 일정한 좌심방압 2 mmHg의 가정하에 흐름에 대한 동정맥압 차이로서 계산되었다.

[0068] 실험 그룹 및 프로토콜. 랫트를 각 6마리로 구성된 4개 군에 임의적으로 할당하였다: 1군 (대조군)의 동물은 어떠한 약리적 중재도 받지 않았다. 2군 (올레인산: OA)에서, 어떠한 치료도 없이 30분에 걸쳐 0.2 mg/kg 올레인산 (Sigma, Munich, Germany)의 정맥내 주입 (infusion)에 의하여 ALI를 유도하였다. 3군 (OA+Ang-(1-7))에서, 2군에서와 같이 ALI가 유도되었고, ALI 유도 직후 분당 5 pmol/kg의 Ang-(1-7)의 주입을 개시하였다. 4군 (OA+AVE0991)에서, 2군에서와 같이 ALI가 유도되었고, ALI 유도 직후 분당 500 pmol/kg의 AVE0991의 주입을 개시하였다. 미엘로페옥시다제 (MPO) 활성만 측정된 각각 n=6인 추가의 2개 군에서, ALI 유도 직후 Ang-(1-7) 수용체 차단제 A779 (분당 10 pmol/kg)를 단독 (5 군) 또는 Ang-(1-7) (분당 5 pmol/kg; 6군)과 조합하여, 주입이 개시되었다.

[0069] 적어도 15분에 걸친 수술적 준비 및 혈류동력학적 안정화 후, 기저선 혈류동력학(baseline hemodynamics)이 기록되고 동맥혈 기체가 분석되었다 (RapidLab 348; Chiron Diagnostics GmbH, Fernwald, Germany). 제거된 혈액 부피는 히드록시에틸 전분 (6% 히드록시에틸 전분 200/0.6; Fresenius, Bad Homburg, Germany)으로 치환하였다. 기저선 기록 직후, 0.2 mg/kg 올레인산을 II-VI 군에서 또는 I 군에서 동일한 부피의 0.9% NaCl을 30분에 걸쳐 정맥내로 주입하였다. 모든 군에서, 측정은 동물이 실혈(exsanguination)에 의하여 희생된 총 4시간까지 60분 간격으로 반복되었다. 우측 주기관지의 인 시튜 결찰 후, 폐를 잘라내고 아래 기술된 바와 같이 비건조 대 건조 중량비 및 MPO 활성의 결정을 위하여 처리하였다.

- [0070] 폐 수분(water) 및 염증 반응의 검정. 폐 수분 함량의 결정을 위하여, 비건조 대 건조 중량비를 마이크로파 건조 기법(18)을 사용하여 측정하였다. 염증 세포의 모집(recruitment)은 이전에 기술된 바(19)와 같이 폐 균질화물 중의 MPO 활성의 측정에 의하여 분석되었다. 간단하게 설명하면, MPO 활성은 적절한 표준곡선 대비, 3'-5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB)-기반 분광 분석에 의하여 결정하고 폐조직 g 당 단위(U/g)로 표시하였다.
- [0071] 통계적 분석. 모든 데이터는 평균±SEM으로 표시하였다. 데이터는 군 사이의 차이에 대하여 Kruskal-Wallis test에 의하여 시험되었다. 통계적 유의성은 P<0.05에서 간주되었다.
- [0072] 결과. 올레인산은 MPO 활성의 증가 (도 1(A)), 폐 비건조 대 건조 중량비의 증가 (도 1(B)), 및 폐혈관저항 (도 1(D))의 증가에 의하여 특징지워지는 바와 같이 ALI를 유도하였고, 반면 전신성 동맥압은 대조군 대비 4시간 후에 감소하였다 (도 1(C)). Ang-(1-7) 주입이 폐 비건조 대 건조 중량비, MPO 활성, 및 폐혈관저항의 OA-유도된 변화를 제거한다는 사실에 의하여 증명된 바와 같이, Ang-(1-7)은 OA-유도된 ALI의 발생을 완전하게 예방하였다. Ang-(1-7) 주입이 OA-주입된 랫트에서 전신 저혈압(hypotension)을 약화시켰기 때문에, Ang-(1-7)의 보호적 효과는 외견상 전신성 혈관의 그의 기술된 혈관확장 효과로 인한 것이 아니었다. 비-펩티드 Ang-(1-7) 수용체 작용제 AVE0991도 비슷하게 OA-유도된 ALI를 약화시켰다. 4군 및 5군에서 추가적 MPO 분석은 A779에 의한 Mas 수용체의 차단은 OA-유도된 ALI를 약화시키고 Ang-(1-7) 주입의 구제효과 (rescue effect)를 차단한다는 것을 나타낸다.
- [0073] 결론. 본 발명의 발견은 Ang-(1-7) 또는 비-펩티드 Ang-(1-7) 수용체 작용제의 주입은 올레인산 유도된 ALI의 실험적 모델에서 폐 부종 및 염증을 완전하게 예방한다는 것은 나타낸다. 이 보호적 효과는 A779에 의한 Mas 차단에 후에 상실되기 때문에, 이 보호적 효과는 G-단백질 결합된 수용체 Mas를 통하여 매개된다. 내재적으로 형성된 Ang-(1-7)은, A779에 의하여 Mas 차단 후에 악화되는, ALI에 대한 내인성 보호 기작으로 작용한다.
- [0074] 인용문헌
- [0075] 1. Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, Weaver J, Martin DP, Neff M, Stern EJ, Hudson LD (2005) Incidence and outcomes of acute lung injury. *N Engl J Med* 353:1685-1693
- [0076] 2. Zambon M, Vinent J-L (2008) Mortality rates for patients with ALI/ARDS have decreased over time. *Chest*, Epub ahead of print
- [0077] 3. Bachofen M, Weibel ER (1982) Structural alterations of lung parenchyma in the adult respiratory distress syndrome. *Clin Chest Med* 3:35-56
- [0078] 4. Ware LB, Matthay MA (2000) The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 342:1334-1349
- [0079] 5. Steinberg KP, Hudson LD, Goodman RB, Hough CL, Lanken PN, Hyzy R, Thompson BT, Ancukiewicz M; National Heart, Lung, and Blood Institute Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) Clinical Trials Network (2006) Efficacy and safety of corticosteroids for persistent acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 354:1671-1684.
- [0080] 6. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network (2002) Randomized, placebo-controlled trial of lisofylline for early treatment of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 30:1-6.
- [0081] 7. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network (2000) Ketoconazole for early treatment of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA* 283:1995-2002
- [0082] 8. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network (2000) Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 342:1301-1308
- [0083] 9. Imai Y, Kuba K, Rao S, Huan Y, Guo F, Guan B, Yang P, Sarao R, Wada T, Leong-Poi H, Crackower MA, Fukamizu A, Hui CC, Hein L, Uhlig S, Slutsky AS, Jiang C, Penninger JM (2005) Angiotensin-

converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. *Nature* 436:112-116.

[0084] 10. Wosten-van Asperen RM, Lutter R, Haitsma JJ, Merkus MP, van Woensel JB, van der Loos CM, Florquin S, Lachmann B, Bos AP (2008) ACE mediates ventilator-induced lung injury in rats via angiotensin II but not bradykinin. *Eur Respir J* 31:363-371.

[0085] 11. Yao S, Feng D, Wu Q, Li K, Wang L (2008) Losartan attenuates ventilator-induced lung injury. *J Surg Res* 145:25-32.

[0086] 12. He X, Han B, Mura M, Xia S, Wang S, Ma T, Liu M, Liu Z (2007) Angiotensin-converting enzyme inhibitor captopril prevents oleic acid-induced severe acute lung injury in rats. *Shock* 28:106-11.

[0087] 13. Jiang JS, Wang LF, Chou HC, Chen CM (2007) Angiotensin-converting enzyme inhibitor captopril attenuates ventilator-induced lung injury in rats. *J Appl Physiol* 102:2098-2103.

[0088] 14. Santos RA, Simoes e Silva AC, Maric C, Silva DM, Machado RP, de Buhr I, Heringer-Walther S, Pinheiro SV, Lopes MT, Bader M, Mendes EP, Lemos VS, Campagnole-Santos MJ, Schultheiss HP, Speth R, Walther T (2003) Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:8258-8263.

[0089] 15. Kostenis E, Milligan G, Christopoulos A, Sanchez-Ferrer CF, Heringer-Walther S, Sexton PM, Gembardt F, Kellett E, Martini L, Vanderheyden P, Schultheiss HP, Walther T (2005) G-protein-coupled receptor Mas is a physiological antagonist of the angiotensin II type 1 receptor. *Circulation* 111:1806-1813.

[0090] 16. Matthay MA (1999) Acute lung injury: conference summary. *Chest* 116:119S-126S.

[0091] 17. Tabuchi A, Mertens M, Kuppe H, Pries AR, Kuebler WM (2008) Intravital microscopy of the murine pulmonary microcirculation. *J Appl Physiol* 104:338-346.

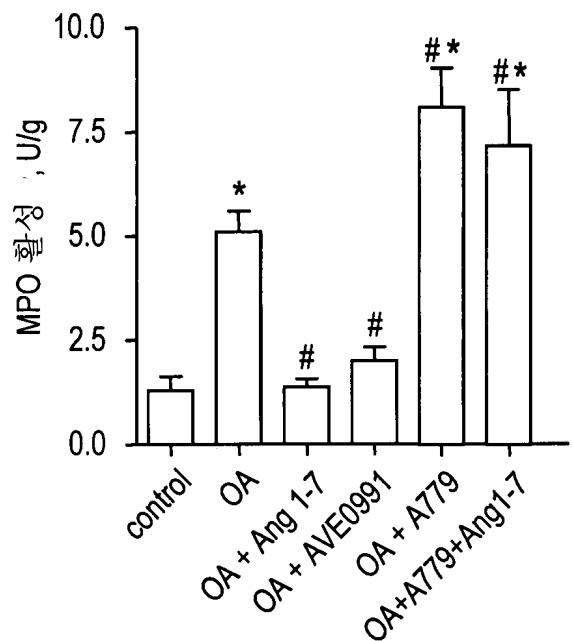
[0092] 18. Hentschel T, Yin N, Riad A, Habbazettl H, Weimann J, Koster A, Tschope C, Kuppe H, Kuebler WM (2007) Inhalation of the phosphodiesterase-3 inhibitor milrinone attenuates pulmonary hypertension in a rat model of congestive heart failure. *Anesthesiology* 106:124-131.

[0093] 19. Kuebler WM, Abels C, Schuerer L, Goetz AE (1996) Measurement of neutrophil content in brain and lung tissue by a modified myeloperoxidase assay. *Int J Microcirc Clin Exp* 16:89-97.

도면

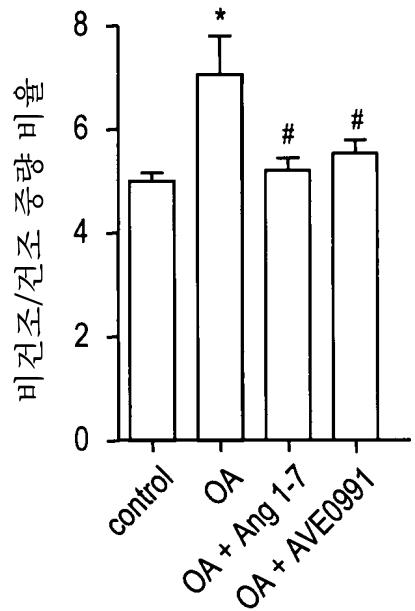
도면1

도1(A)



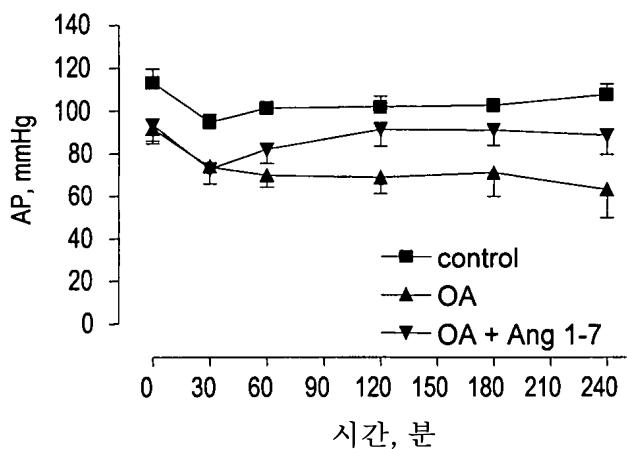
도면2

도1(B)

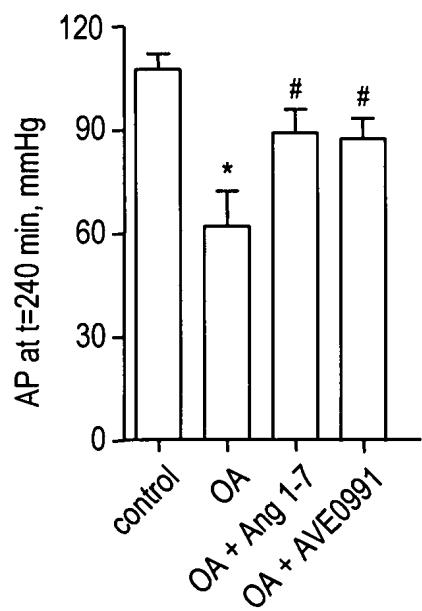


도면3

도1 (C)



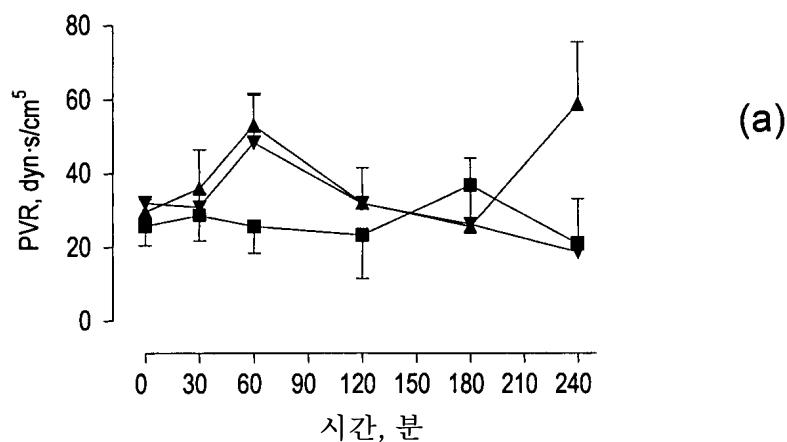
(a)



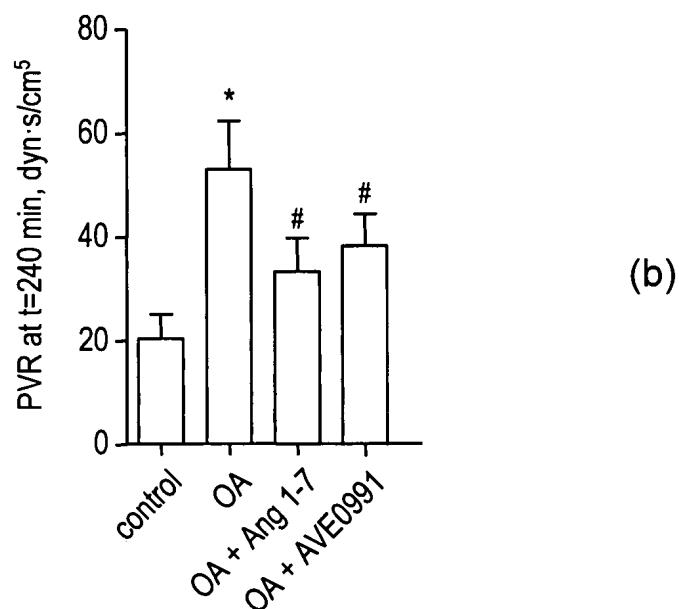
(b)

도면4

도면4 (D)



(a)



(b)

서 열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Charite - Universitätsmedizin Berlin

<120> Use of an ANG-(1-7) receptor agonist in acute lung injury

<130> I31650PCT

<160> 9

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Ang-(1-7)

<400> 1

Asp Arg Val Tyr Ile His Pro

1 5

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Ang-(1-7) derivative

<400> 2

Asp Arg Val Ser Ile His Pro

1 5

<210> 3

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Ang-(1-7) derivative

<400> 3

Asp Arg Val Tyr Ile His Cys

1 5

<210> 4

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Ang-(1-7) derivative

<400> 4

Asp Arg Val Ser Ile His Cys

1 5

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><221> source

<223> /note=" Description of artificial sequence: NorLeu3-Ang-(1-7)peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> /replace=" Nle"

<400> 5

Asp Arg Leu Tyr Ile His Pro

1 5

<210> 6

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Ang IV

<400> 6

Val Tyr Ile His Pro Phe

1 5

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Ang III

<400> 7

Arg Val Tyr Ile His Pro Phe

1 5

<210> 8

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><221> source

<223> /note=" Description of artificial sequence: A779"

<220><221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> /replace=" D-Ala"

<400> 8

Asp Arg Val Tyr Ile His Ala

1 5

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><221> source

<223> /note=" Description of artificial sequence: D-Pro7-Ang-(1-7)"

<220><221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> /replace=" D-Pro"

<400> 9

Asp Arg Val Tyr Ile His Pro

1 5

3