



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년10월27일

(11) 등록번호 10-1563757

(24) 등록일자 2015년10월21일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
**A61K 31/519** (2006.01) **A61P 9/00** (2006.01)  
**A61P 9/10** (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2010-7013193
- (22) 출원일자(국제) 2008년12월02일  
 심사청구일자 2013년11월25일
- (85) 번역문제출일자 2010년06월15일
- (65) 공개번호 10-2010-0099175
- (43) 공개일자 2010년09월10일
- (86) 국제출원번호 PCT/SE2008/051386
- (87) 국제공개번호 WO 2009/072967  
 국제공개일자 2009년06월11일
- (30) 우선권주장  
 07301616.4 2007년12월03일  
 유럽특허청(EPO)(EP)
- (56) 선행기술조사문헌  
 EP01493745 A1\*  
 WO2001092262 A1  
 WO2000034283 A1  
 US20070265282 A1  
 \*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자  
**아스트라제네카 아베**  
 스웨덴 에스이-151 85 쇠더탈제
- (72) 발명자  
**미셸, 장-밥티스트**  
 프랑스 에프-75018 파리 튀 앙리 위샤르 46 클로  
 드 베르나르 슈 비샤 앙세르 워넛 698
- (74) 대리인  
**김태홍, 김진희**

전체 청구항 수 : 총 1 항

심사관 : 정의준

(54) 발명의 명칭 **복부 대동맥류 치료를 위한 트리아졸로[4,5-D]피리미딘 화합물**

**(57) 요약**

본 발명은 P<sub>2T</sub> (P2Y<sub>12</sub>) 수용체 길항제로서 작용하는 트리아졸로[4,5-d]피리미딘 화합물을 제공한다. 상기 화합물은 복부 대동맥류의 치료 또는 예방에 유용하다.

**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

화합물 {1S-[1 $\alpha$ , 2 $\alpha$ , 3 $\beta$ (1S\*, 2R\*), 5 $\beta$ ]}-3-(7-([2-(3,4-디플루오로페닐)시클로프로필]아미노)-5-(프로필티오)-3H-1,2,3-트리아졸로[4,5-d]피리미딘-3-일)-5-(2-히드록시에톡시)시클로펜탄-1,2-디올을 포함하는, 복부 대동맥류 치료용 약학 조성물.

**청구항 2**

삭제

**청구항 3**

삭제

**청구항 4**

삭제

**청구항 5**

삭제

**청구항 6**

삭제

**청구항 7**

삭제

**청구항 8**

삭제

**발명의 설명**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 복부 대동맥류의 치료 또는 예방에 있어서의 일부 P2Y<sub>12</sub> 수용체(P<sub>2T</sub>, P2Y<sub>ADP</sub> 또는 P2T<sub>AC</sub>로도 알려져 있음)의 용도에 관한 것이다.

**배경기술**

[0002] 복부 대동맥류(AAA)는 연령 및 성별과 매우 깊이 관련된 흔한 형태의 죽상혈전성 질환이다(Bengtsson H et al. (1996), Ann N Y Acad Sci **800**:1-24). AAA 병태생리는 세포외 기질 단백질분해(Michel JB (2001), Arterioscler Thromb Vasc Biol **21**:1389-1392), 평활근 세포(SMC) 소실(Michel JB (2003), Arterioscler Thromb Vasc Biol **23**:2146-2154), 염증성 세포 침윤, 및 세포 콜로니화 및 치유의 부재(Fontaine V et al. (2004), Am J Pathol **164**:2077-2087)를 포함한다. 관강 섬유형성(Touat Z et al. (2006), Am J Pathol **168**:1022-1030) 및 관강에서 떨어진 방향에서의 섬유소 분해(Carrell TW et al. (2006), Vascular **14**:9-16; Fontaine V et al. (2002), Am J Pathol **161**:1701-1710)를 비롯한 벽재성 혈전증의 동적 생물학이 AAA 진행에 있어서 중요한 역할을 한다는 것이 최근 밝혀졌다. 이 상황에서, 활성화된 혈소판 응집체와 다형핵 백혈구(PMN) 소집 사이의 상호작용(Sarda-Mantel L et al. (2006), Arterioscler Thromb Vasc Biol **26**:2153-2159; Touat et al., 2006)이 세포 치유 부재에 주요 역할을 한다(Fontaine V et al. (2004), Am J Pathol **164**:2077-2087).

[0003] 아데노신 5'-디포스페이트(ADP)가 혈전증의 주요 매개체로서 작용한다는 것이 발견되었다. ADP 유도된 혈소판

응집은 혈소판막에 위치한 P2Y12 수용체 서브타입에 의해 매개된다. P2Y12 수용체(P2T, P2YADP 또는 P2TAC로도 알려져 있음)는 혈소판 활성화/응집 매개에 주로 연관된 G-단백질 커플링된 수용체이다. 이 수용체의 약리학적 특징은 예컨대 참조로 문헌[Humphries et al. (1994), Br. J. Pharmacology, 113, 1057-1063, 및 Fagura et al. (1998), Br. J. Pharmacology, 124, 157-164]에 개시되어 있다. 이 수용체에의 길항제들이 다른 항혈전제보다 유의적인 개선을 제공한다는 것이 확인되었다(J. Med. Chem. (1999) 42, 213 참조).

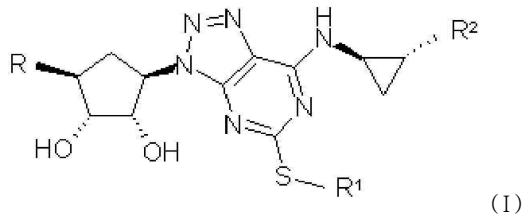
[0004]

국제 특허 출원 WO 99/05143호는 일반적으로 P2T (P2Y12, P2YADP 또는 P2TAC 라고도 알려짐) 길항제로서의 활성을 가지는 일련의 트리아졸로[4,5-d]피리미딘 화합물을 개시한다. 최근, 다른 항혈전제보다 유의적으로 개선된 신규 부류의 직접작용(비-프로드러그) P2T 수용체 길항제가 개시된 바 있다. 국제 특허 출원 WO 00/34283호는 화학식 I의 화합물을 포함하는 신규한 “직접작용” P2T 수용체 길항제를 개시한다. 결정질 및 비정질 형태의 트리아졸로(4,5-d)피리미딘 화합물이 W001/92262호에 개시되어 있다.

**발명의 내용**

[0005]

본 발명은 복부 대동맥류의 치료 또는 예방을 위한 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 유도체의 용도에 관한 것이다:



[0006]

(I)

[0007]

상기 식에서,

[0008]

R은 CH<sub>2</sub>OH 또는 O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH이고;

[0009]

R<sup>1</sup>은 3개의 할로겐 원자로 임의 치환된 C<sub>3-4</sub> 알킬이고;

[0010]

R<sup>2</sup>는 페닐 또는 3,4-디플루오로페닐이다.

[0011]

화학식 (I)의 화합물의 약학적으로 허용되는 유도체는 염(예, 약학적으로 허용되는 비독성 유기 또는 무기 산 부가염, 예컨대 염산, 브롬산, 질산, 황산 또는 아세트산의 염), 용매화물 및 염의 용매화물을 포함한다.

[0012]

본 발명의 일 구체예는 복부 대동맥류의 치료 또는 예방을 위한 화학식 (I)의 화합물이다.

[0013]

본 발명의 일 구체예는 복부 대동맥류의 치료 또는 예방용 의약의 제조를 위한 화학식 (I)의 화합물의 용도이다.

[0014]

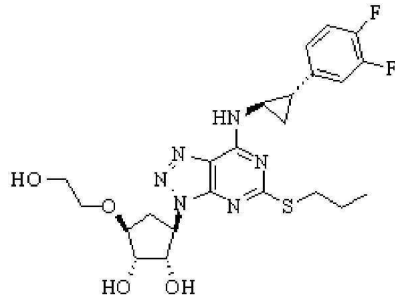
본 발명의 일구체예는 복부 대동맥류의 치료 또는 예방 방법으로서, 화학식 (I)의 화합물의 약학적 및 약리학적 유효량을 상기 치료 또는 예방이 필요한 피험체에게 투여한다.

[0015]

본 발명의 추가 구체예는 복부 대동맥류의 치료 또는 예방 방법으로서, 화학식 (I)의 화합물을 상기 치료 또는 예방이 필요한 피험체에게 투여한다.

[0016]

일 구체예에서, R<sup>1</sup>은 n-프로필, 3,3,3-트리플루오로프로필 또는 n-부틸이다. 일 구체예에서, R<sup>2</sup>는 3,4-디플루오로페닐이다. 일 구체예에서, 화학식 (I)의 화합물은 하기 화학식 (A)의 화합물이다.



[0017]

(A)

[0018]

상기 화학식 (A)의 화합물은 통상적으로 {1S-[1 $\alpha$ , 2 $\alpha$ , 3 $\beta$ (1S\*, 2R\*), 5 $\beta$ ]}-3-(7-{[2-(3,4-디플루오로페닐)시클로프로필]아미노}-5-(프로필티오))-3H-1,2,3-트리아졸로[4,5-d]피리미딘-3-일)-5-(2-히드록시에톡시)시클로펜탄-1,2-디올이라고 명명된다.

[0019]

화학식 (I)의 화합물을 투여하기 위한 적당한 제제는 당업계에 공지되어 있으며, W000/34283호, W02008/024044호 및 W02008/024045호로부터 공지된 것들을 포함한다. 화학식 (I)의 화합물의 약학 제제는 당업계에 공지된 각종 다른 성분들, 예컨대 보존제, 안정화제, 점도 조절제, 유화제 또는 완충제를 포함할 수 있으며, 실제로 보통 포함할 것이다. 따라서, 화학식 (I)의 약학 제제는 통상적으로 제제의 총량을 기준으로 한 중량%로서, 화학식 (I)의 화합물의 총량을 0.05~99 w%(중량%) 범위, 예컨대 0.10~70 중량% 범위 또는 0.10~50 중량% 범위로 포함할 것이다.

[0020]

화학식 (I)의 화합물의 적당한 용량은 의사 또는 전문가가 결정할 수 있으며, 사용되는 화합물(들)뿐 아니라, 치료되는 증상의 경중 및 사람에 따라서 달라질 것이다. 포유동물 환자, 특히 인간 환자의 처치 및/또는 예방 치료에 있어서 활성 화합물의 적당한 용량은 관련 병태의 치료 과정에 걸쳐 평균 혈장 농도가 최대 10  $\mu\text{mol/L}$ , 예컨대 0.001 내지 10  $\mu\text{mol/L}$ 가 되는 용량을 포함한다. 어떤 경우에는 의사 또는 전문가가 개인에게 가장 적당한 실제 용량을 결정할 것이며, 이는 치료할 병태뿐 아니라, 치료되는 특정인의 연령, 체중, 성별 및 반응에 따라서 달라질 것이다. 상기 용량은 평균 사례에 대한 예시적인 것이다. 물론, 더 높거나 낮은 용량 범위가 유리한 개별적 사례가 있을 수 있으며, 그러한 사례는 본 발명의 범위 내이다.

[0021]

명확하게 하기 위해서, 용어 “치료”는 처치 및/또는 예방적 치료를 포함한다.

### 도면의 간단한 설명

[0022]

도 1. 화합물 (A) 처리에 의한 동맥류 확장 예방. 10일째(a) 및 42일째(b) 동맥류 유도 후의 외부 동맥류 직경의 측정. 외부 직경은 10일 후(a)에 대조군(빈 사각형) 및 화합물 (A) 처리군(채워진 사각형) 래트에서 유사하였지만, 처리 42일 후(b)에는 화합물 (A)군에서 유의적으로 낮았다. (c) 동맥류 직경 증가는 10일째에 두 그룹에서 유사하였지만, 42일째에 화합물 (A) 처리 래트에서 유의적으로 감소하였다(채워진 막대). 실제로, 화합물 (A) 처리된 래트의 경우 10일과 42일 사이에 동맥류 직경의 증가가 관찰되지 않았다. \*\*,  $P < 0.001$ .

도 2. 화합물 (A) 처리에 의한 벽재성 혈전 형성의 억제. (a) 42일째의 대조군(좌측) 및 화합물(A) 처리 래트(우측)로부터의 대표적인 동맥류의 Picrosirius 레드 염색. 대동맥 직경 및 혈전(T) 면적은 화합물 (A) 처리 래트와 비교하여 대조군의 동맥류에서 더 크다. 혈전 내의 콜라겐의 부착(적색 염색)은 화합물 (A) 그룹에서만 관찰된다는 점이 주목된다. (b) 혈전 면적/벽 면적은 양 그룹의 래트에서 10일과 42일 사이에 증가되었으나, 10일과 42일 둘다에서 화합물 (A) 처리에 의해 유의적으로 감소되었다(채워진 사각형). (c) 그룹내 분석 결과 42일째의 동맥류 직경이 더 큰 것은 혈전 면적이 더 큰 것과 관련이 있는 것으로 확인되었다(각각, 대조군(○) 및 화합물 (A) 처리 래트(●)의 경우  $R^2 = 0.13$  및  $R^2 = 0.40$ ,  $P < 0.05$ ). (d) 42일째에 대조군(좌측) 및 화합물 (A) 처리된 래트(우측)로부터의 동맥류의 벽재성 혈전 내의 CD41(인테그린  $\alpha_{IIb}$ , 혈소판 마커)의 면역염색. L. 대동맥강. 염색 정량은 화합물 (A)를 이용한 42일간의 치료가 대조군에서 관찰되는 것과 비교하여 벽재성 혈전 내의 CD41-양성 영역의 상대적 크기를 유의적으로 감소시킨다는 것을 보여준다. 원배율, x200. \*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ .

도 3. 화합물 (A) 처리에 의한 염증성 침윤의 억제. (a) 42일째에 대조군(좌측) 및 화합물(A) 처리된 래트(우측)로부터의 동맥류의 벽재성 혈전 내의 PMN의 면역염색. 10일째(중간 패널) 및 42일째(하부 패널)에 벽

재성 혈전과 벽 내의 PMN 침윤의 정량. 10일 및 42일 후에, PMN은 대조군 동맥류의 벽재성 혈전 내에서 대부분 발견된다(빈 막대). 화합물 (A) 처리 (채워진 막대)는 둘다의 시점에서 혈전으로 PMN의 침윤을 억제하였다. (b) 42일째에 대조군(좌측) 및 화합물(A) 처리된 래트(우측)로부터의 동맥류의 벽재성 혈전 내의 대식세포의 면역염색. 10일째(중간 패널) 및 42일째(하부 패널)에서 벽재성 혈전과 벽 내의 대식세포 침윤의 정량. 대식세포는 대조군 동맥류의 벽뿐 아니라 벽재성 혈전 내에서도 발견되었다(빈 막대). 42일 후에, 더욱 많은 대식세포가 혈전 보다는 벽에 존재하였다. 화합물 (A) 처리(채워진 막대)는 둘다의 시점에서 혈전 내의 대식세포의 침윤을 억제 하였다. 화합물 (A) 처리 10일 또는 42일 후에 벽 내의 대식세포 함량의 감소는 통계적 유의수준에 도달하지 않았다. L: 대동맥강, 원배율, x200. \*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ .

도 4. 화합물 (A) 처리를 이용한 MMP-9 발현 감소. 42일째에 대조군(좌측) 및 화합물(A) 처리된 래트(우측)로부터의 동맥류의 벽재성 혈전 내의 MMP-9 면역염색. 42일째의 MMP-9 염색 정량은 벽 영역에 비하여 MMP-9 염색이 점유하는 영역이 대조군 동맥류의 벽 내에서도 혈전 내에서 더 크다는 것을 보여준다(빈 막대). 화합물(A) 처리는 혈전 및 벽내 모두의 MMP-9 양성 면적의 크기를 크게 감소시켰다(채워진 막대). L: 대동맥강, 원배율, x200. \*\*,  $P < 0.001$ ; \*\*\*,  $P < 0.0001$ . (b) 모든 래트가 고려되는 경우(대조군, ○; 화합물 (A) 처리, ●), 42일째에 혈전 내의 MMP-9 양성 영역의 크기와 총 혈전 영역 사이의 양의 상관관계가 있었다  $R^2 = 0.79$ ,  $P < 0.0001$ ).

도 5. 화합물(A) 처리한 동맥류 벽 내의 탄성섬유층판의 보존 및 벽재성 혈전의 SMC 콜로니화 (a) 42일째에 대조군(좌측) 및 화합물(A) 처리된 래트(우측)로부터의 동맥류의 울세인 염색. 화살표는 탄성섬유층판을 나타낸다. 탄성섬유층판의 정량은 10일 및 42일 모두에 화합물 (A) 처리(채워진 막대)의 유리한 효과를 나타내었다. (b). 42일째에 대조군(좌측) 및 화합물(A) 처리된 래트(우측)로부터의 동맥류의 벽재성 혈전 내의 SMC 면역염색. 화살표는 혈전 내의 SMC를 나타낸다. 10일째(중간 패널) 및 42일째(하부 패널) 벽 혈전 및 벽 내의 SMC 밀도는 양 그룹 모두에서 10일째와 42일째 사이에 증가하였다. 화합물 (A) 처리(채워진 막대)는 대조군(빈 막대)과 비교하여 42일 후에 SMC에 의한 혈전 콜로니화를 향상시키지만, 화합물 (A)의 효과를 벽에서는 관찰할 수 없었다. L: 관강; M: 중피; A: 외피. 원배율, x200. \*\*,  $P < 0.001$ .

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0023] 생물학적 평가

[0024] 혈소판 응집

[0025] 건강한 수컷 Lewis 래트(Iffa Credo, Lyon, France)에게 화합물 (A)(10 mg/kg 체중)를 1회 경구 투여하였다. 2마리의 래트로부터 얻은 새로운 정맥혈을 화합물 (A)를 투여하기 전과 투여한 후 2시간, 10시간 및 24 시간에 샘플링하고, 상온에서 3분 동안 250 g에서 원심분리하였다. 혈소판 풍부 혈장은 이전에 개시된 바와 같이 준비하였다(Eckly et al., 2001). 450- $\mu$ l 혈소판 현탁액을 1100 rpm에서 교반하고, 최종 부피 500  $\mu$ l로 5  $\mu$ M ADP(Sigma, Saint Quentin-Fallavier, France)를 첨가하여 활성화시켰다. 응집은 이중 채널 응집분석기(Chrono-Log, West Havertown, PA, USA)에서 비탁법으로 상온에서 측정하였다. 기준선 위의 최대 곡선 높이를 측정하여 응집도를 평가하였다.

[0026] AAA 모델

[0027] 실험적 대동맥류는 래트 대동맥에서 나트륨 도데실 설페이트-세포분리 기니아 피그 대동맥(이종 매트릭스)의 단편을 이식하여 유도하였다(Allaire E. et al. (1994), J Vasc Surg **19**:446-456). 이 AAA 모델은 이종 세포의 매트릭스의 면역-염증 손상을 특징으로 한다(Allaire E et al. (1997), Surgery **122**:73-81; Allaire E et al. (1996), Transplantation **62**:794-803). 간단히 설명하면, 46마리의 수컷 Lewis 래트(250 g) 및 46마리의 기니아 피그(280 g)(Iffa Credo, Lyon, France)를 유련연합이 제정한 실험 동물 관리안의 원칙에 따라서 수용하였다. 펜토바르비탈(5 mg/100 g 체중)의 복강내 주사로 동물을 마취시켰다. 기니아 피그 신하 대동맥(1.5 cm)을 샘플링하고 나트륨 도데실 설페이트 처리하여 세포분리하여 온전한 세포외 매트릭스관을 얻었으며, 이것을 10/0 나일론 단속 봉합한 Lewis 래트의 대동맥(이종이식편)으로 정상 이식하였다(Allaire et al., 1997; Allaire et al., 1996). 클램핑 해제 직후, 쌍안 현미경으로 이식편의 초기 직경을 그 자리에서 측정하였다. 24시간 후에, 래트를 무작위로 2개의 동등한 그룹에 배정하고, 화합물 (A) (10 mg/kg 체중, 1일 2회 경구 투여)로 또는 화합물 (A) 희석액(수중 1% 카르복시메틸셀룰로스/0.1% 트윈-80)으로 10일 동안(D10, 각 그룹에 대해서  $n = 9$ ) 또는 6주 동안(D42, 각 그룹에 대해서  $n = 14$ ) 처리하였다. 사망시킬 때에는, 래트를 깊이 마취시키고 이

식편 직경을 다시 측정하고, 대동맥을 절제하고 4% 포르말데히드에 고정시켰다. 대동맥 샘플을 파라핀에 포매시키고 5  $\mu$ m로 절단하였다.

[0028] *혈액학적 및 면역조직화학적 분석*

[0029] 절편을 picro Sirius 레드로 염색하여 콜라겐 및 피브린을 시각화하고, 오르세인으로 염색하여 엘라스틴을 시각화하였다. 면역조직화학은, 1차 항체로서 항인간  $\alpha$ -액틴(희석률 1:500, Dako, Trappes, France), 항-CD68(대식세포, 희석률 1:1000, Serotec, Cergy Saint-Christophe, France), 항-레트 다형핵 백혈구(희석률 1:3000, Cedarlane, Ontario, Canada), 항-CD41(인테그린  $\alpha_{IIb}$ , 혈소판, 희석률 1:50, Santa Cruz Biotechnologies) 및 항-MMP-9(희석률 1:50, Calbiochem, Darmstadt, Germany)와 검출용 퍼옥시다제 벡터 ABC 키트(Vector Labs, Burlingame, CA, USA)를 사용하여 실시하였다. 현미경 대안렌즈의 격자로 세포를 계수하였으며, 동일한 슬라이드 상에서 4대칭 시야에서 평균하였다. 혈전, 탄성섬유, AAA벽 및 MMP-9 및 CD41-양성 염색에 의해 표시된 영역의 크기는 Histolab 소프트웨어(Microvision Instruments, Evly, France)를 사용한 형태 분석으로 측정하였다. 혈전 면적을 Sirius 레드 슬라이드 상에서 측정하였다. 양성 염색이 차지하는 영역을, 내부 혈전 및 외부 벽에서 컴퓨터 프로그램의 색상 검출 모드로 정량화하였다.

[0030] *통계학적 분석*

[0031] 결과는 평균  $\pm$  S.D.로 표시한다. 직경 증가율(%)은 다음과 같이 계산하였다: (수거시 직경 - 이식시 직경)  $\times$  100 / 이식시 직경. 두 그룹 사이의 비교는 비모수적 Mann-Whitney U 테스트 (Statview, 버전 4.5)를 사용하여 실시하였다. 상이한 그룹에서 직경이 큰 동맥류의 빈도는  $X^2$  테스트로 분석하였다. 단순 회귀 분석을 이용하여 각종 매개변수 사이의 상관관계를 테스트하였다.  $P < 0.05$ 는 유의적인 것으로 간주하였다.

[0032] **결과**

[0033] *동맥류 직경*

[0034] 이식후 10일째(204.6  $\pm$  71.2%,  $n = 9$ ) 및 42일째(359.1  $\pm$  113.3%,  $n = 14$ ) 에 미처리된 대조군 래트에서 관찰되는 외부 동맥류 직경의 증가에 의해 확인되는 바와 같이, 세포분리된 세포의 매트릭스 이중이식편은 동맥류로 형성되었다(도 1) 10일 동안의 화합물 (A) 처리는 미처리 래트와 비교하여 외부 동맥류 직경의 증가를 변경시키지 않으며(197.3  $\pm$  52.8%,  $n = 9$ ); 평균 외부 동맥류 직경은 2 그룹 사이에 유사하였다(화합물 (A) 처리 래트 및 대조군 래트에서 각각, 2.22  $\pm$  0.56 mm 대비 2.22  $\pm$  0.70 mm) (도 1a, c). 그러나, 처리 42일 후에, 평균 외부 동맥류 직경은 화합물 (A) 처리군에서 유의적으로 낮았으며(화합물 (A) 처리 래트 및 대조군 래트에서 각각, 3.61  $\pm$  1.46 mm,  $n = 14$  대비 5.21  $\pm$  1.22 mm,  $n = 14$ ), 외부 직경 증가율은 유의적으로 감소하였다(도 1b,c). 따라서, 화합물 (A) 그룹에서 감소되는, 10일째 및 42일째 사이에 대조군에서 관찰되는 대동맥 직경의 증가율(%)의 차이에 의해 확인되는 바와 같이, 화합물 (A) 처리는 동맥류 확장을 예방하였다(도 1c). 또한, 42일째 더 큰 동맥류(직경 > 4 mm)의 발생은 화합물 (A) 처리군과 비교하여 대조군에서 우세하였다( $X^2 = 11.6$ ,  $P < 0.001$ ).

[0035] *벽재성 혈전 형성*

[0036] 세포분리된 세포의 매트릭스 이중이식편으로부터 발생한 실험적 동맥류는, 이전에 개시한 바와 같이 벽재성 혈전의 존재를 특징으로 한다(Touat et al., 2006) (도 2a). 대조군에서, 혈전 면적/벽 면적의 비율은 10일째에 0.22  $\pm$  0.14이고 42일째에 0.78  $\pm$  0.89로 증가하였다(도 2b). 화합물 (A)를 이용한 처리는 혈전/벽 영역을, 10일째 및 42일째에 모두, 유의적으로 감소시켰다(각각 0.07  $\pm$  0.05 및 0.35  $\pm$  0.44) (도 2b). 혈전 면적의 상대적 감소는 42일째에 혈전 내의 CD41-양성 면적(혈소판 마커인 인테그린  $\alpha_{IIb}$ )의 유의적인 감소와 관련이 있었다(화합물 (A) 처리 래트 및 대조군 래트에서 각각, 0.13  $\pm$  0.16 및 0.68  $\pm$  1.36,  $P = 0.005$ ) (도 2c). 마지막으로, 모든 래트가 고려되는 경우 42일째에 혈전 면적과 동맥류 직경 사이의 유의적인 상관관계가 있었다( $R^2 = 0.25$ ,  $P = 0.0003$ ). 그룹내 분석 결과 화합물 (A) 처리는 대조군과 비교하여 상관관계의 기울기(들)를 유의적으로 감소시키는 것이 확인되며(화합물 (A):  $s = 0.17$ ,  $R^2 = 0.40$ ; 대조군:  $s = 0.30$ ,  $R^2 = 0.13$ ) (도 2c), 이는 화합물 (A)에 의한 혈소판 활성화의 억제가 실험적 AAA 진행을 제한하는 것에 대한 증거를 제공한다.

[0037] *염증성 침윤*

[0038] 동맥류 발생은 다형핵 백혈구(PMN) 및 대식세포를 포함하는 염증 과정과 관련이 있다. 둘다의 염증 세포는 벽재

성 혈전 및 동맥류 벽에 존재하였다(도 3). 그러나, PMN은 대부분 벽재성 혈전에서 발견되었으며, 여기서 주요 염증 세포 유형을 나타내었다. 대조적으로, 대식세포는 벽 내에 우세하였다. PMN 밀도는 10일과 42일 사이에 감소한 반면에, 대식세포 밀도는 증가하였다(도 3). 화합물 (A) 처리는 10일 및 42일째에 벽재성 혈전으로의 PMN 및 대식세포의 침윤을 유의적으로 억제하였다(도 3). 동맥류 벽으로의 대식세포 침윤에는 변화가 없었다.

[0039] 동맥류에서의 MMP-9 발현 및 중피 중 보존된 탄성 섬유

[0040] 면역염색에 의해 밝혀진 MMP-9의 발현은 대조군 래트의 혈전 및 동맥류벽 모두에서 검출되었다(도 4a). MMP-9 양성 면적은 42일째에 벽에서보다 혈전 내에서 더 컸다. 화합물 (A) 처리는 혈전과 벽 모두에서, MMP-9 양성 면적을 현저히 감소시켰다(도 4a). 또한, 모든 래트가 고려되는 경우 42일째에 혈전 면적과 혈전 내의 MMP-9 발현 사이의 유의적인 양의 상관관계가 있었다( $R^2 = 0.79, P < 0.0001$ ) (도 4b). 감소된 MMP-9 발현의 영향으로, 양시점에서 화합물 (A) 처리한 경우 중피 중의 탄성 섬유의 유의적인 보존이 관찰되었다(도 5a). 탄성 섬유가 차지하는 상대적 면적이 10일과 42일 사이에 대조군 래트에서 일정하지만, 탄성 섬유 면적은 화합물 (A) 처리된 래트에서 크게 증가하였다(도 5a).

[0041] 벽재성 혈전의 VSMC 콜로니화

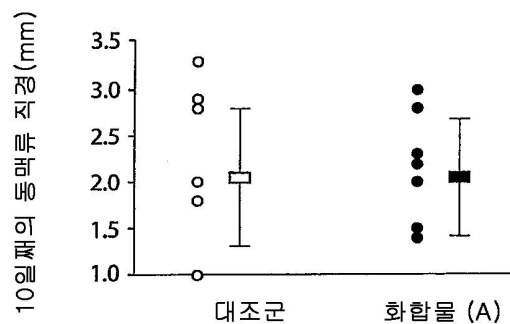
[0042] SMC는, 벽과 혈전 내의 알파-액틴 양성 염색에 의해 확인되는 바와 같이, 벽과 근접하여 형성되는 벽재성 혈전의 일부와 세포분리된 이식편을 콜로니화하였다(도 5b). 또한, SMC 밀도는 10일 내지 42일에 벽 및 혈전 모두에서 증가하였으며, 이는 상기 모델이 경시적으로 자발적인 치유 과정을 개시하는 경향의 증거를 제공하였다. 10일 동안 화합물 (A) 처리는 대조군과 비교하여 혈전 내의 SMC 밀도를 변형시키지 않았지만, 42일 동안의 처리는 혈전의 SMC 콜로니화를 유의적으로 향상시켰다(도 5b). 이는 Sirius 레드 염색에 의해 확인되는 바와 같이, 콜라겐의 부착과 관련이 있었다(도 2b). 대조적으로, 화합물 (A) 처리는 10일 또는 42일 후에 벽의 SMC 콜로니화에 영향을 주지 않았다(도 5b).

[0043] 결론

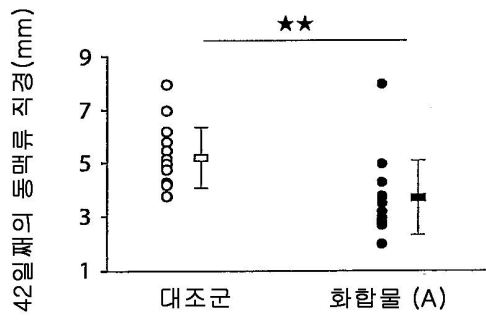
[0044] 화합물 (A)에 의한 혈소판 활성화의 억제를 통해 AAA 벽재성 혈전 형성을 예방하면 실험적 AAA 진행을 제한하였다. 화합물 (A)는 혈소판 활성화를 차단하고 벽재성 혈전 형성을 감소시킴으로써, 혈전에서의 백혈구 소집과 후속되는 프로테아제 농축을 감소시키며, 이에 의해 간엽세포(mesenchymatous cell) 콜로니화의 증가에 의해 확인되는 바와 같은 치유 개시 및 벽 일체성 보존이 유도된다.

**도면**

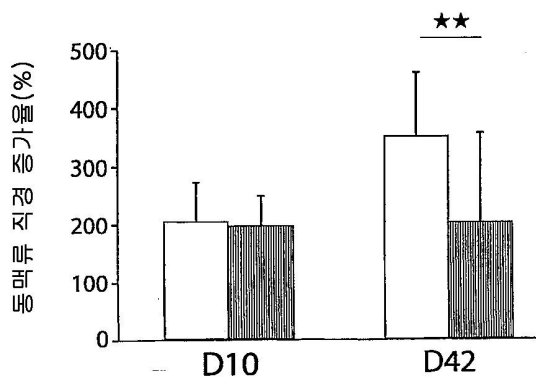
**도면1a**



도면1b



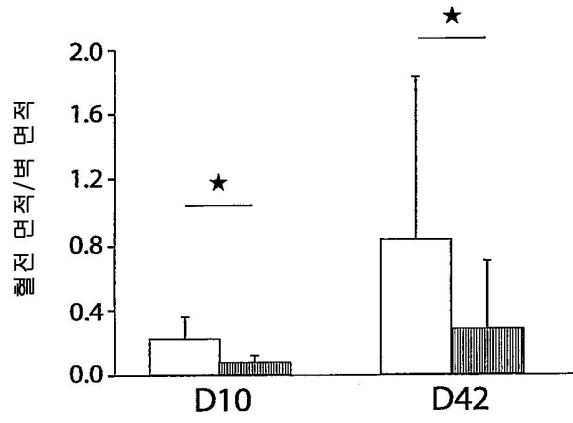
도면1c



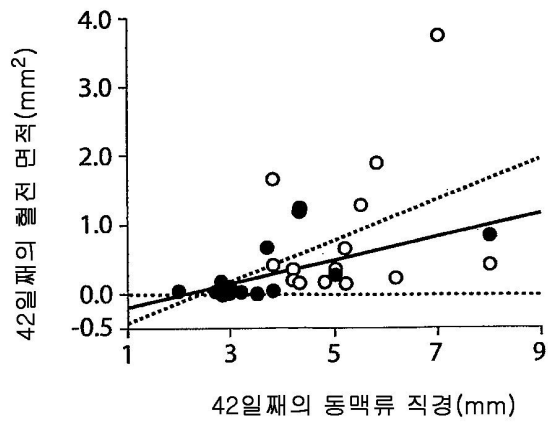
도면2a



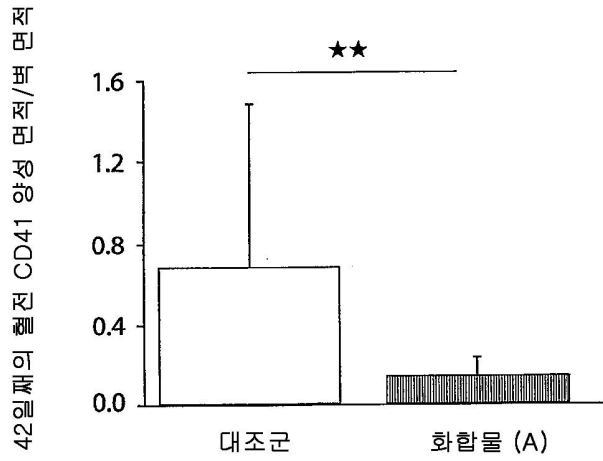
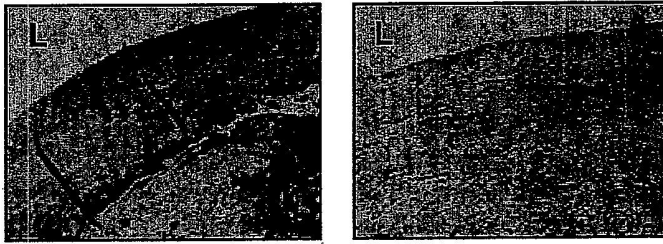
도면2b



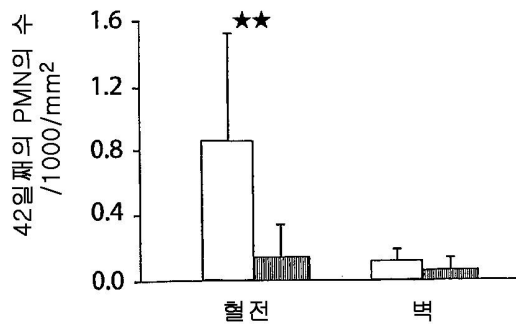
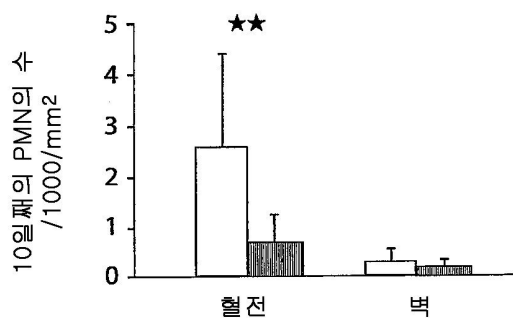
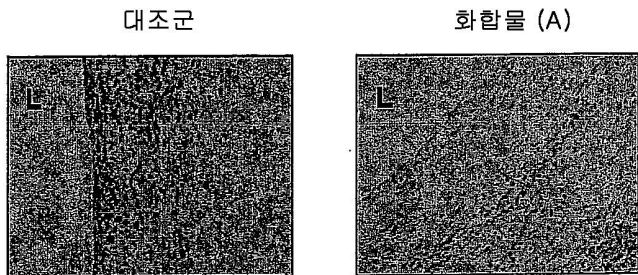
도면2c



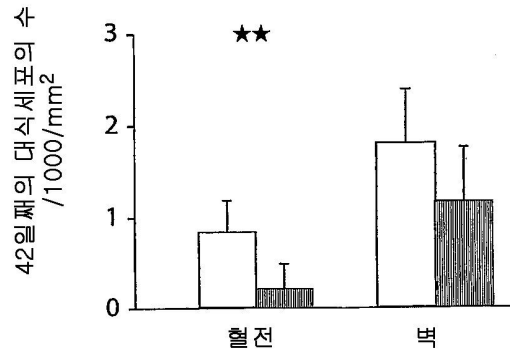
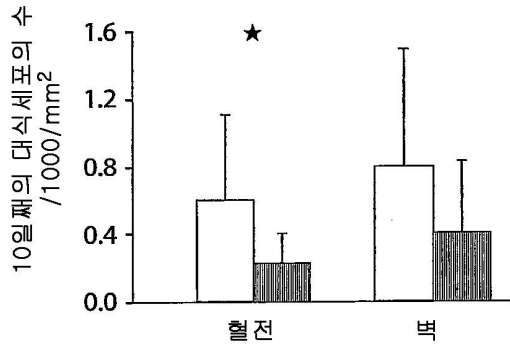
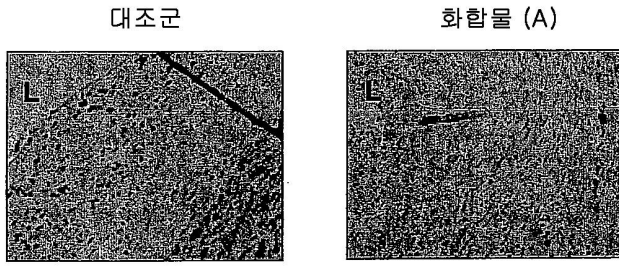
도면2d



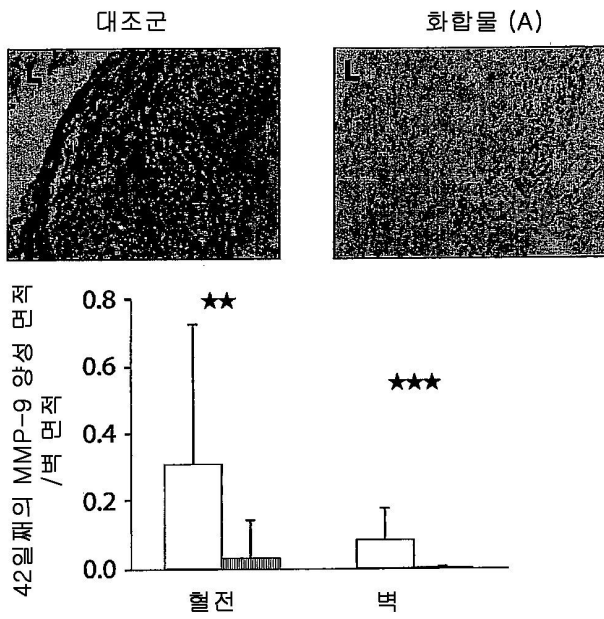
도면3a



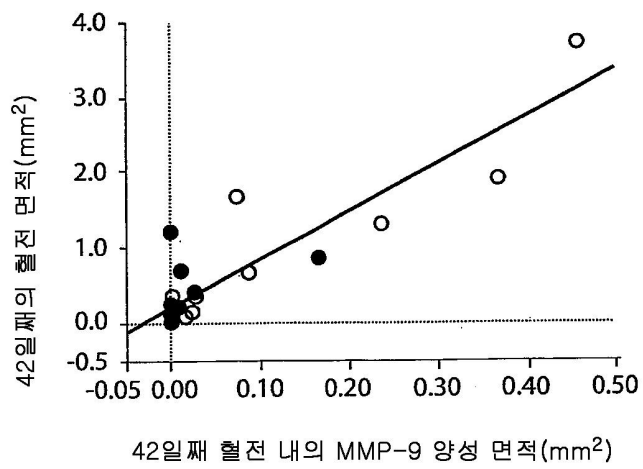
도면3b



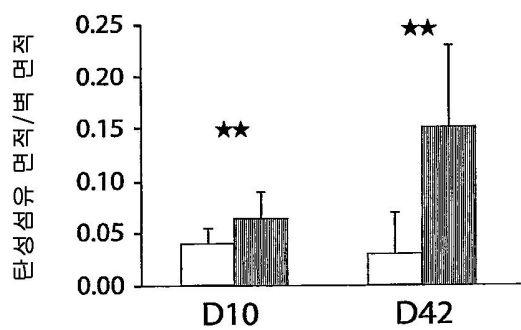
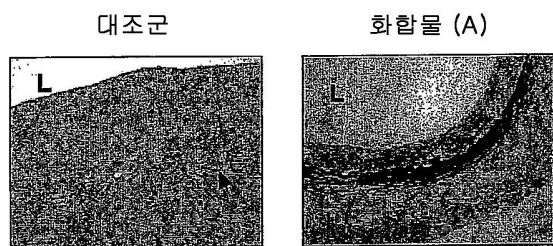
도면4a



도면4b



도면5a



도면5b

