

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2008-0071116 (43) 공개일자 2008년08월01일
(51) Int. Cl.	<i>A61K 38/16</i> (2006.01) <i>A61K 38/00</i> (2006.01) <i>A61P 11/00</i> (2006.01)	(71) 출원인 드럭리큐어 에이피에스 덴마크 디케이-2970 호르솔름 아게른 알레 3
(21) 출원번호	10-2008-7001976	(72) 발명자 우텐달 라르스 오토 스페인 이-37002 살라만카 3-3-씨 칼레 마에스트로 아빌라
(22) 출원일자	2008년01월24일	(74) 대리인 박장원
심사청구일자	없음	
번역문제출일자	2008년01월24일	
(86) 국제출원번호	PCT/IB2006/002773	
국제출원일자	2006년06월23일	
(87) 국제공개번호	WO 2007/012976	
국제공개일자	2007년02월01일	
(30) 우선권주장		
60/693,968	2005년06월24일	미국(US)

전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 기도에 영향을 미치는 염증 질환에 있어서 활성화 단백질 C의 기도 투여법

(57) 요약

본 발명은 환자에게 항응고제 또는 이들의 생물학적 활성 유도체를 기관내, 기관지내 또는 폐포내의 경로에 의하여 기도를 통하여 투여하여 급성 및 만성 혈관의 폐 피브린 침착을 국소적으로 치료 및/또는 객체에게 항응고제를 전신 투여한 경우에 발생하는 불필요한 효과들을 감소시키는 방법을 제공한다.

특허청구의 범위

청구항 1

인간의 활성화 단백질 C 또는 이들의 생물학적 활성 유도체를 기관내, 기관지내 또는 폐포내 투여 수단에 의하여, 기도를 통하여 객체에 투여하는 것을 포함하는, 인간 객체의 기도 내에서, 특히 폐포 또는 기관지 폐포 공간 내에서의 혈관외 피브린 침착을 치료 또는 예방하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 피브린 침착은 염증성 폐질환에 의하여 야기되는 것인 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 염증성 폐질환은 ALI, ARDS, 폐렴, 급성 기관지 폐포 질환, 만성 기관지 폐포 질환, 섬유성 폐포염 또는 기관지 천식으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 4

선행하는 항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 염증성 폐질환은 직접적인 또는 간접적인 폐외상, 체장염, 흡기성 폐렴, 폐혈증, 중증 폐혈증 및/또는 폐혈증성 쇼크 및/또는 약물에 의하여 유발된 급성 폐부전으로 이루어진 군으로부터 선택되는 증상과 관련되는 것인 방법.

청구항 5

선행하는 항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 활성화 단백질 C는 활성화 단백질 C 용액을 사용하여 기관지 폐포 세척함으로써 투여되는 것인 방법.

청구항 6

선행하는 항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 활성화 단백질 C는 활성화 단백질 C 용액을 사용하여 맹(盲)기관 세척함으로써 투여되는 것인 방법.

청구항 7

선행하는 항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 활성화 단백질 C는 활성화 단백질 C의 분무액을 흡입함으로써 투여되는 것인 방법.

청구항 8

선행하는 항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 활성화 단백질 C는 분말형으로 된 활성화 단백질 C를 흡입함으로써 투여되는 것인 방법.

청구항 9

선행하는 항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 활성화 단백질 C는 기관지 내시경 중에 활성화 단백질 C를 직접 주입함으로써 투여되는 것인 방법.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 인간은 성인인 것인 방법.

청구항 11

제1항 내지 제9항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 인간은 어린이인 것인 방법.

청구항 12

선행하는 항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 APC는 1일 체중 1 kg당 0.1 μg /kg 내지 약 10 mg/kg의 양으로 투여되는 것인 방법.

청구항 13

제1항 내지 제9항 중 어느 하나의 항에 있어서, 항응고제를 보조 요법으로서 인간 객체에게 전신 투여하는 것을 더 포함하는 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 인간은 성인인 것인 방법.

청구항 15

제13항에 있어서, 상기 인간은 어린이인 것인 방법.

명세서

기술분야

<1> 본 출원서에서 인용되어 있거나 본 출원서 중에 나와있는 모든 특허 및 비특허 문헌들은 그 전체가 본 명세서에 참고로 포함되어 있다.

<2> 본 발명은 어린이와 성인에 있어서 급성, 재발성 및 만성 피브린 침착 (沈着)과 관련된 질환에 있어서 기도의 공간, 특히 폐포 및/또는 세기관지 (細氣管枝)에서의 그러한 침착을 억제하는 방법을 제공한다. 이들 질환은 급성 폐손상 (ALI) 등의 염증성 폐질환을 포함하고, 이들 질환은 직접적인 또는 간접적인 폐외상 예컨대, 인공 호흡기 요법 (환기 장치 유발 폐손상 (VILI)), 자가 면역성 질환 등의 염증들, 폐장염, 흡인 폐렴, 유독성 기체의 흡입, 급성 호흡 곤란 증후군 (ARDS)에 관련될 수가 있는데, 상기 급성 호흡 곤란 증후군은 ALI, 폐혈증 등의 감염, 중증 폐혈증과 폐혈증성 쇼크, 원인에 무관한 폐렴, 급성 및 만성 기관지 폐포의 질환, 섬유성 폐포염, 기관지염, 낭성 섬유증, 또한 기관지 천식 등의 중증 기도 과다 반응을 수반하는 질환과 약물 유발성 폐손상, 예컨대 블레오마이신 등의 화학요법의 더 심각한 증상이다. 본 발명의 방법에 있어서, 활성화 단백질 C 등의 항응고제들은, 이들 약제가 혈장에서 유래되었는지 또는 재조합 DNA 기술로 제조되었는지에 무관하게, 기도 투여를 통하여 기관내에, 기관지내에 또는 폐포 공간에 투여된다. 이들 방법은 임상 의학, 특히 중환자 치료 의학 또는 집중 치료 의학 및 호흡기 의학에서 유용하다.

배경 기술

<3> 기도의 공간에서, 특히 폐포와 기관지 폐포 공간에서의 피브린 침착은 외상, 폐혈증, 중증 폐혈증, 폐혈증성 쇼크, 약물 유발성 ALI, ARDS 또는 폐렴 (예컨대, 메토크사트-백혈증치료제, 블레오마이신-피부암, 폐암 치료제 또는 시로리무스로부터 유발되는)(Amigues L, Klouche K, Massanet P, Gaillard N, Garrigue V, Beraud JJ, Mourad G. Sirolimus-associated acute respiratory distress syndrome in a renal transplant recipient. Transplant Proc. 2005;37:2830-1.)과 환기 장치 유발성 폐손상 (VILI) (The Acute Respiratory Distress Syndrome Network: 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. 2000;342:1301-1308.), 및 기계적 환기에 의한 이차적인 폐손상 (VILI) (The Acute Respiratory Distress Syndrome Network: 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. 2000;342:1301-1308) 등의 전신 염증의 빈번한 합병증이다.

<4> 이들 질환은 전신성 응고 작용의 활성화를 초래하고, 결국에는 혈관 내외의 공간에서, 즉 폐포와 기관지 부분 내에 피브린이 침착되는 결과를 가져온다. 동시에, 염증 활성화는 활성화한 염증 세포로부터 종양 괴사 인자 알파 (TNF- α), 인터루킨 1-베타 (IL-1 β), 인터루킨 6 (IL-6) 그리고 인터루킨 8 (IL-8) 등의 전구 (前驅) 염증성 사이토키인의 방출을 야기한다. 혈관 내에 피브린이 침착되고 폐 공간 내에 전구 염증성 사이토키인이 방출되면, 확산된 폐포 손상을 수반하는 폐포의 모세 혈관막의 투수성 증가, 혈액 응고계 성분들을 비롯하여 원형질 단백질이 풍부한 부종액의 폐포내 축적 및 계면 활성제 생성 감소의 특징이 있는 조직 손상을 초래한다. 그 결과, 피브린이 풍부한 히알린 막 (hyaline membrane)이 폐포관 및 공간 내에 형성된다. 그 후의 단계에서, 중성구 및 기타의 염증성 세포들의 대량 침윤이 일어나고, 이어서 삼출물과 섬유증의 조직화가 일어난다. 이 병리학적인 연쇄적 상황은 문헌 (Bellingan GJ, 2002: "The pathogenesis of ALI/ARDS", Thorax 57:540-546)에서 설명 및 검토되어 있다. 이 병리학에 대응하는 임상 조건들은 ALI 또는 ARDS라고 부르는데, ARDS는 더 심각하며 흡입된

산소 분율에 대한 동맥의 P_{O_2} 의 비(PaO_2/FIO_2) ≤ 200 mmHg인 더 심각한 저산소혈증에 특징이 있다는 점만이 다르다. 폐장염 또는 직접 또는 간접적인 폐의 외상 등의 전염성 또는 비전염성 원인들이 될 수 있는 ALI와 ARDS는 전신 염증 반응 증후군 (SIRS)의 일부로서 발생하는데, SIRS의 원인이 전염성인 경우에는 이를 폐혈증이라 부르고, 장기의 기능장애와 관련되어 있을 경우에는 중증 폐혈증이라고 정의하며, 심각한 저혈압과 관련되어 있을 경우에는 폐혈증성 쇼크라고 부른다.

<5> 병리학적 사고의 유사한 귀결은 바이러스성의 세균성 및 균증상의 약제, 예컨대 주폐포자충 폐렴 (*Pneumocystis carinii pneumonia*) (PCP), 세기관지염 (예컨대 바이러스성 폐렴 및/또는 폐의 이식 조직-대-숙주 질환(GVHD)에 의하여 수반되는 것)을 비롯한 여러 가지 원인 때문에 폐렴에서 일어나며, 또한 이들은 감염증 과정에 의하여 영향을 받는 폐의 그러한 부위 내에서 폐포의 삼출물과 피브린 침착을 야기한다.

<6> 폐는 폐혈증에 있어서, 피브린 침착에 대하여 특히 민감하다고 지적된 바 있는데 (예컨대, by Levi M et al., 2003: "Bronchoalveolar coagulation and fibrinolysis in endotoxemia and pneumonia", Crit Care Med 31:S238-S242), 이러한 현상은 다른 장기에 비하여 그 정도가 더 심하다는 사실을 나타낸다. 집중적인 피브린 국소 침착은 응고 작용의 부분적인 활성화 또는 부분적인 생리 조절 체계의 혼란이 관련될 수도 있다는 사실을 암시한다. 기관지 폐포부에 있어서, 폐포의 대식 세포와 상피 위에 부분적으로 나타나는 조직 인자 (TF)는 응고 작용의 개시에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 보이지만, 반면에 항트롬빈과 단백질 C 계에 기인하는 생리학적 항응고 작용은 기능 장애적이다. 단백질 C 계는 폐혈증과 비폐혈증 양자에 기인하는 ALI/ARDS에 걸린 환자에 있어서 현저하게 붕괴된다고 보고되어 있고, ALI/ARDS에 있어서, 단백질 C 경로 내에 순환 교란 및 폐포내 교란의 양자의 교란 증거가 있다 (Ware LB et al., 2003:"Protein C and thrombomodulin in human acute lung injury", Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 285:L514-521).

<7> 동시에, 국부적인 섬유소 분해의 현저한 기능 저하, 즉 손상된 폐 내에서는 응고 작용이 부분적으로 증가되고, 반면에 섬유소 분해 활동은 현저하게 저하된다.

발명의 상세한 설명

<8> 발명의 요약

<9> 본 발명의 목적은 관련된 항응고제 또는 응고 작용의 부분적인 개시를 방지할 수 있는 약제를 투여하여, 응고계의 부분적인 폐 활성화와 항응고 대사 작용의 부분적인 결핍을 제공함으로써, ALI, ARDS, 폐렴, 염증성 폐질환의 치료법을 향상시키기 위한 것이다. 이러한 방식으로, 감염된 기도 내에서 이들 약제의 부분적인 고농도가 달성될 수 있으므로, 혈관의 피브린 침착은 동일한 약제를 전신 (정맥) 투여한 것보다 더 효율적으로 억제될 수 있는 한편, 계통적인 (전신적인) 부작용을 회피하거나 감소시킬 수 있다. 이들 약제의 기도 투여는 독자적으로 또는 동일하거나 다른 약제의 정맥 투여에 대한 보조제로 가능하다. 응고와 염증간의 "크로스-토크(cross-talk)" 때문에, 이들 약제의 기도 투여는 부분적인 트롬빈 활성화의 감소와 또한 어떤 경우에는 직접적인 항염증 작용에 의하여 국소적인 폐의 염증을 조절할 수 있을 것으로 역시 기대된다.

<10> 본 발명의 한 가지 측면은 그러한 피브린 침착을 일으키는 염증성 및/또는 전염성의 폐렴증을 가진 인간 객체에 있어서 기도 내에, 특히 폐포 또는 기관지 폐포 공간 내에서의 혈관의 피브린 침착을 감소시키는 방법에 관련되는데, 이 방법은 혈장으로부터 정제한 것이든 또는 재조합 DNA 기술로 얻은 것이든 관계 없이 항응고제를 기도를 통하여 투여하는 것으로 구성된다.

<11> 발명의 상세한 설명

<12> 본 발명은 성인과 어린이를 모두 포함하는 인간 객체에게 기도, 특히 폐포와 기관지 폐포의 공간에서의 혈관의 피브린 침착을 방지하거나 감소시키기 위하여 기관내, 기관지내 또는 폐포내의 투여를 포함하는, 그러나 이것들로 한정되지는 않는 적절한 방법으로, 정화된 또는 농축된 인간의 활성화 단백질 C (APC), 또는 그의 유도체 (이것이 어떻게 제조된 것인지에 관계 없이)를 기도를 통하여 투여하는 것에 관련된다. 그러한 피브린 침착은 급성 병증, 재발 병증 또는 만성적인 병증을 초래할 수 있으며, 외상, 직접 또는 간접적인 염증과 감염을 비롯한, 그러나 이들에 한정되지는 않는, 여러 가지 원인 때문일 수도 있으며, 기도내 피브린 침착을 유발하는 약제와 폐의 간극, 낭성 섬유증과 같은 선천적인 질병 때문일 수도 있으며, 또는 그러한 가능한 원인들의 조합 때문일 수도 있다. 예를 들면, 본 발명의 방법은 여러 가지 단계의 폐혈증 환자들, 중증 폐렴, 폐색성 세기관지염 및 섬유성 폐포염 환자들에 있어서 큰 비율로 일어나는 ALI 또는 ARDS의 폐포 피브린 침착 특성을 치료하는 데 유용할 것이라고 믿어진다.

- <13> 정의
- <14> 친화력 (Affinity): 수용자와 이들의 배위자 (리간드) 사이, 예를 들면 항체와 항원 사이의 결합력.
- <15> 아미노산 잔기 (Amino Acid Residue): 아미노산이 다른 아미노산과 펩티드 아미드 결합으로 연결된 폴리펩티드 사슬 내에 있는 아미노산의 부분. 본 명세서에 기재되어 있는 아미노산 잔기는 종기로는 "L" 이성질체형이다. 그러나, 목적하는 기능적 특성이 폴리펩티드에 의하여 유지되는 한, 아미노산은 L-아미노산, D-아미노산, 알파-아미노산, 베타-아미노산, 감마-아미노산, 천연 아미노산 및 합성 아미노산 또는 그러한 모든 아미노산을 포함한다. 변형이 이루어진 천연 또는 합성 아미노산도 더 포함된다. NH_2 는 폴리펩티드의 아미노 말단에 존재하는 자유 아미노기라고 부른다. COOH 는 폴리펩티드의 카르복실 말단에 존재하는 자유 카르복실기라고 부른다. 본 명세서에서 아미노산 잔기에 대해서는 표준적인 폴리펩티드 약제들이 사용된다.
- <16> 본 명세서에서 식으로 나타낸 모든 아미노산 잔기 서열들은 아미노산 말단에서 카르복실 말단으로의 통상의 방향에서 왼쪽으로부터 오른쪽 배향을 가진다는 점을 주목하여야 한다. 나아가, 아미노산 잔기 서열의 처음과 끝에 있는 대쉬 (dash)는 1개 또는 그 이상의 아미노산 잔기의 추가의 서열에 대한 펩티드 결합, 또는 NH_2 또는 아세틸 등의 아미노 말단기에 대한 공유 결합 또는 COOH 등의 카르복실 말단기에 대한 공유 결합을 나타낸다.
- <17> 변형 아미노산 (Modified amino acid): 임의의 기가 화학적으로 변형된 아미노산. 특히, 알파-아미노산에 있어서 알파-탄소 원자가 화학적으로 변형된 변형 아미노산이 좋다.
- <18> 폴리펩티드 (Polypeptide): 폴리펩티드라는 용어는 인접한 아미노산 잔기들 사이에 아미노 결합 이외에 다른 결합을 포함하지 않는 아미노 잔기로 구성된 하나의 분자를 말한다.
- <19> APC 분자
- <20> 본 발명은 급성의 혈관외 폐(肺) 피브린 침착을 국소적으로 치료하기 위한 의약을 생산함에 있어서 APC 분자(들)의 사용과 관련된다. 본 명세서에 있어서 "APC 분자"라는 용어는 응고 인자 Va 및 VIIIa에 결합하여 단백질 가수분해적으로 이들 응고 인자를 파괴할 수 있는, PAI-1에 결합하여 PAI-1을 중성화할 수 있는 분자 및/또는 단백질 C 수용체 (내피 단백질 C 수용체 EPCR)에 특이적으로 결합할 수 있는 분자를 말한다. 본 발명에서 사용하기 위한 APC 분자들의 기능 활성도를 분석하기 위한 방법으로서 문헌 (Gruber A, Griffin JH. Direct detection of activated protein C in blood from human subjects. *Blood*. 1992 May 1;79(9):2840-8, Strandberg K, Kjellberg M, Knebel R, Lilja H, Stenflo J. A sensitive immunochemical assay for measuring the concentration of the activated protein C-protein C inhibitor complex in plasma: use of a catcher antibody specific for the complexed/cleaved form of the inhibitor. *Thromb Haemost*. 2001;86(2):604-10)에서 설명되어 있는 것들이 있다.
- <21> 본 발명에서 사용하기 위한 APC 분자들의 활성도는 본래의 APC보다 덜 강하거나 더 강할 수 있다.
- <22> APC는 비타민 K-의존성 세린 프로테아제 (serine proteinase)이고 단백질 C의 활성형이다. APC는 항응고제와 프로피브리노라이신의(profibrinolytic) 특성을 모두 가지고 있다. 인간 단백질 C는 461개의 아미노산으로 되어 있는 폴리펩티드이고, 활성화 단백질 C를 만들기 위하여 많은 번역후수식(翻譯後修飾)을 겪는다. 이들 변형은 1) 42 아미노산 신호 서열의 분할, 2) 2-사슬 비활성 효소원(酵素原) (이항 가교를 통하여 262 아미노산 잔기 중사슬에 부착된 155 아미노산 잔기 경사슬)을 만들기 위한 라이신과 아르기닌 잔기 (위치 156과 157)의 분할, 3) 아미노말단 45 잔기들 (*gla*-영역) 내에 위치한 9개의 글루탐산의 비타민 K-의존성 카르복실화, 4) 4개의 부위들 (경사슬에서 하나 그리고 중사슬에서 세개)에서의 탄수화물 부착을 포함한다. 마지막으로, 이 2-사슬 효소원은 중사슬의 N 말단에서 도데카펩티드 (dodecapeptide)의 제거에 의해서 활성화될 수 있다.
- <23> 본 발명은 나아가 유전자 재조합에 의하여 또는 합성에 의하여 또는 형질 전환에 의하여 생산한 인간 APC 폴리펩티드들을 포함한다. 따라서, 한 가지 구체적인 실시 상태에 있어서, 상기 APC 분자는 APC의 상동체(相同體)이다.
- <24> 본 발명에 따라서 투여하기 위한 인간 활성화 단백질 C는 천연의 인간 활성화 단백질 C, 또는 혈장에서 제조되었는지 또는 재조합 또는 형질 전환 또는 합성으로 제조되었는지에 관계 없이, 생물학적 활성 유사체로 구성된다. 재조합 활성화 단백질 C는 변형체 (예컨대 이중 아미노산 서열의 아미노산 치환 및/또는 결실 및/또는 추가)를 포함하는 수가 있는데, 이는 생물학적 활성이 높은 유사체를 생성할 수 있다. 예를 들면, 상기 APC는 진핵 세포 배양 계 (예컨대, 인간 신장 293, HEPG-2, LLC-MK2, CHO 또는 AV12 세포들), 형질 변환 동물류, 형질 전환 식

물류, 또는 시험관내계를 사용해서 생산될 수 있다. 최근에는, 이 단백질은 비활성 전구체 (前驅體)로서 제조될 수 있고, 그것은 정제된 후에, 트롬빈 분할에 의해서 활성화되고 투여용으로 제제화된다. 대안으로, APC는 단백질 C의 활성화 형의 직접 분비에 의해서 제조될 수 있다.

<25> APC의 생산, 정제, 활성화, 그리고 제제에 대한 자세한 사항은 이 기술 분야에서 잘 알려져 있으며, 본 명세서이 그 전체를 참고로 포함시킨 예컨대 미국 특허 제6,156,734호에 기재되어 있다. 또한 이들 방법에 사용될 수 있는 APC 유전자와 플라스미드는 역시 본 명세서에 참고로 포함시킨 미국 특허 제4,981,952; 제4,775,624호 및 제4,992,373호에 설명되어 있다. 활성화 단백질 C도 역시 시판 (市販) 원료들로부터 얻을 수 있다. 예를 들면, 본 발명에서 사용될 수 있는 APC의 특정한 예는 Eli Lilly and Company에 의해서 XIGRIS (TM) (활성 재조합 인간 단백질 C)라는 이름으로 제조된다.

<26> 본 발명의 한 가지 양호한 구체적인 실시 상태에 있어서, APC 분자는 APC 유사체이다. "APC 유사체"는 APC에 대하여 아미노산 치환, 결실, 반전, 또는 추가가 1개 또는 그 이상 (예컨대, 20 또는 그 이하, 예를 들면 17 또는 그 이하, 예컨대 15 또는 그 이하, 예를 들면 13 또는 그 이하, 예컨대 11 또는 그 이하, 예를 들면 9 또는 그 이하, 예컨대 7 또는 그 이하, 예를 들면 5 또는 그 이하, 예컨대 3 또는 그 이하, 예를 들면 2 또는 그 이하, 예컨대 1 또는 그 이하)인 분자라고 정의되며, D-아미노산형들을 들 수 있다.

<27> APC 유사체들은 또한 문헌 (WO 01/57193)에 설명되어진 바 있고, SEQ ID NO 1에서 다음의 아미노산 치환을 최소 2개 함유하는 단백질 C 유사체들로부터 만들어진 APC 유사체들을 포함한다. 위치 10의 His를 Gln으로 치환, 위치 11의 Ser을 Gly로 치환, 위치 12의 Ser을 Lys로 치환, 위치 32의 Gln을 Glu로 치환, 위치 33의 Asn을 Asp 또는 Phe로 치환 및 위치 194, 195, 228, 249, 254, 302, 또는 316의 아미노산을 Ser, Ala, Thr, His, Lys, Leu, Arg, Asn, Asp, Glu, Gly, 및 Gln으로부터 선택된 아미노산으로 또는 그것들의 아미드 형 및 그것들의 약제학적으로 허용되는 염으로 치환.

<28> 본 발명에서 사용되는 양호한 APC 분자들로는 원래의 서열에는 주어지지 않는 1개 이상의 아미노산이 추가 또는 결실된 APC의 유사체들과 이들의 유도체들도 있다. 이들 유도체는, 예를 들면, 문헌 (EP 0 946 715)에 기재되어 있고, 그 문헌에서 단백질 C Gla 영역은 인자 VII, 인자 X 및 프로트롬빈 등의 기타 비타민 K-의존성 폴리펩티드들의 Gla 영역으로 대체되었다.

<29> 본 발명의 한 가지 구체적인 실시 상태에 있어서, APC 유사체는 야생형(野生型) 단백질과 비하여 높은 항응고제 활성을 나타낸다. 양호한 구체적인 실시 상태에 있어서, 상기 유사체는 예를 들어 FVa 및 FVIIIa 등의 이들 기질에 대하여 야생형 단백질보다 결합 친화력이 높다. 그러나 또 다른 구체적인 실시 상태에 있어서, APC 유사체는 예를 들어 단백질 C 억제제, 알파-안티트립신 또는 플라스미노겐 활성 인자 억제제-1 등의 이들 억제제에 대하여 야생형 단백질보다 결합 친화력이 낮다. 본 발명의 한 가지 구체적인 실시 상태에 있어서, 상기 APC 유사체는 야생형 단백질과 비교하여 강화된 프로피브리놀리틱(profibrinolytic) 활성을 나타낸다. 양호한 구체적인 실시 상태에 있어서, 상기 유사체는 PAI-1에 대하여 야생형 단백질보다 결합 친화력이 높다. 또 다른 구체적인 실시 상태에 있어서, 그 APC 유사체는 PAI-1을 억제할 수 있다. 추가적인 구체적인 실시 상태에 있어서, 그 변형체들은 APC 유사체의 안정화를 초래한다. 이들 유사체는 본 명세서에 그 전체가 참고 문헌으로 추가되어 있는, 예를 들어 특허 출원서 (WO 99/20767 및 WO 03/073980)에 기재되어 있다. APC 유사체는 본 발명에 따라서 독자적 또는 기타 APC 유사체 및/또는 상동체 및/또는 유도체 및/또는 콘주게이트와 함께 사용될 수 있다. 예를 들어 FVa 및/또는 FVIIIa 에 대하여 높은 결합 친화력을 가진 APC 유사체는 PAI-1에 선택적으로 결합하여 PAI-1을 억제하는 APC 상동체와 함께 사용될 수 있다.

<30> 본 발명의 한 가지 양호한 실시 상태에 있어서, APC 분자는 APC 유도체이다. "APC 유도체"란 APC 또는 APC 유도체의 아미노산 서열을 가지지만, 추가로 그의 1개 이상의 아미노산 측쇄기, 알파 탄소 원자, 말단 아미노기 또는 말단 카르복실산기가 화학적으로 변형된 것이다. 화학적 변형으로서는 화학적 성분 (chemical moieties)의 추가, 새로운 결합의 생성, 그리고 화학적 성분의 제거가 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 아미노산 측쇄기에서의 변형으로서는 리신 엡실론-아미노기의 아실화, 아르기닌, 히스티딘, 또는 리신의 N-알킬화, 글루탐산 또는 아스파르트산 카르복실산기의 알킬화, 글루타민 또는 아스파라긴의 탈아미드화가 있으나, 여기에 한정되는 것은 아니다. 말단 아미노의 변형에는 데스-아미노 (des-amino), N-저급 알킬, N-디-저급 알킬, N-아실 변형들이 있으나, 여기에 한정되는 것은 아니다. 말단 카르복시기의 변형으로서는 아미드, 저급 알킬 아미드, 디알킬 아미드, 저급 알킬 에스테르 변형들이 있으나 역시 여기에 한정되는 것은 아니다. 저급 알킬이란 C1-C4 알킬이다. 더욱이, 1개 이상의 측쇄기 또는 말단기는 숙련된 통상의 단백질 화학자가 알고 있는 보호기에 의하여 보호될 수 있다. 아미노산의 알파-탄소는 모노 또는 디메틸화할 수 있다.

- <31> APC 분자의 상동체
- <32> 본 명세서에 명시되어 있는 1개 이상의 서열로 된 상동체는 정의된 서열들과 비교시 1개 이상의 아미노산에서 변화할 수 있지만, 동일한 기능을 수행할 수 있는 것이다. 즉, 상동체는 미리 결정된 서열과 기능적으로 등가인 물질이라고 파악될 수 있다.
- <33> 따라서, 본 발명의 한 가지 양호한 실시 상태에 있어서, APC 분자는 본 명세서에 개시되어 있는 임의 분자의 상동체이고, 예를 들면
- <34> -APC
- <35> -XIGRIS
- <36> -활성화 드로트레코긴 알파
- <37> 으로 이루어진 군으로부터 선택된 임의의 분자의 상동체이다.
- <38> 따라서, 본 발명의 한 가지 양호한 실시 상태에 있어서, APC 분자는
- <39> -APC
- <40> -XIGRIS
- <41> -드로트레코긴 알파
- <42> 으로 이루어진 군으로부터 선택된 분자 등, 본 명세서에 개시된 임의의 분자에 비하여 1개 이상의 아미노산 치환, 반전, 첨가 및/또는 결실을 포함하는 펩티드이다.
- <43> 한 가지 실시 상태에 있어서, 치환, 결실 또는 첨가 수효는 아미노산 20개 이하이고, 예컨대 아미노산 15개 이하, 예컨대 아미노산 10개 이하, 예컨대 아미노산 9 이하, 예컨대 아미노산 8 이하, 예컨대 아미노산 7 이하, 예컨대 아미노산 6 이하, 예컨대 아미노산 5 이하, 예컨대 아미노산 4 이하, 예컨대 아미노산 3 이하, 예컨대 아미노산 2개 이하 (예컨대 1개), 또는 이들 사이의 임의의 정수개이다. 본 발명의 한 가지 측면에 있어서, 치환에는 1개 이상의 보존성 (conservative) 치환이 있는데, 예컨대 20개 이하의 보존성 치환, 예컨대 18개 이하, 예컨대 16개 이하, 예컨대 14개 이하, 예컨대 12개 이하, 예컨대 10개 이하, 예컨대 8개 이하, 예컨대 6개 이하, 예컨대 4개 이하, 예컨대 3개 이하, 예컨대 2개 이하의 보존성 치환을 포함한다. "보존성" 치환이란 아미노산 잔기를 동일한 작용기에 속하는 또 하나의 관련 아미노산 잔기에 의하여 치환하는 것을 말하는데, 그러한 잔기로는 예를 들면 측쇄기가 소수성인 것, 측쇄기가 방향족인 것, 측쇄기가 염기성인 것, 측쇄기가 산성인 것, 측쇄기가 히드록실기인 것, 측쇄기가 비이온화 극성인 것들이 있다. 보존성 치환의 예로서는, 이소류신, 발린, 류신 또는 메티오닌 등의 소수성 잔기를 다른 것으로 치환하는 것과, 또는 염기성 잔기를 다른 것으로 치환하는 것 (아르기닌을 라이신으로 치환하는 것 등)과, 또는 산성 잔기를 다른 것으로 치환하는 것 (글루탐산을 아스파르트산으로 치환하는 것 등)과, 또는 비이온화 극성 잔기를 다른 것으로 치환하는 것 (글루타민을 아스파라긴으로 치환하는 것 등) 및 이와 동종의 것이 있다. 다음 표는 보존성 아미노산 치환들을 설명하고 있는데, 다음 표에 있는 것에만 한정되는 것은 아니다.

원래의 잔기	치환체의 예
Ala	Val, Thr, Ser, Gly
Arg	Lys
Asn	Gln, Asp, Glu, Ser
Asp	Glu, Asn
Cys	Ser
Gln	Asn, His
Glu	Asp, Glu
Gly	Ala, Ser
His	Asn, Gln
Ile	Leu, Val, Ser
Leu	Ile, Val
Lys	Arg, Gln, Glu, Thr
Met	Leu, Ile, Val

Phe	Leu, Tyr
Ser	Thr, Ala, Asn
Thr	Ser, Ala
Trp	Arg, Ser
Tyr	Phe
Val	Ile, Leu, Ala
Pro	Ala

- <45> 본 발명의 방법에 적합한 기타의 TFPI 상동체들은 본 명세서에 개시된 분자, 예컨대
- <46> -APC
- <47> -XIGRIS
- <48> -드로트레코긴 알파
- <49> 으로 이루어진 군으로부터 선택된 분자들에 대하여, 서열 동일성이 50 퍼센트 이상 좋기로는 서열 동일성이 90 퍼센트 이상 (예컨대 서열 동일성이 91 퍼센트 이상, 예컨대 서열 동일성이 92 퍼센트 이상, 예컨대 서열 동일성이 93 퍼센트 이상, 예컨대 서열 동일성이 94 퍼센트 이상, 예컨대 서열 동일성이 95 퍼센트 이상, 예컨대 서열 동일성이 96 퍼센트 이상, 예컨대 서열 동일성이 97 퍼센트 이상, 예컨대 서열 동일성이 98 퍼센트 이상, 예컨대 서열 동일성이 99 퍼센트 이상, 예컨대 서열 동일성이 99.5 퍼센트 이상)인 펩티드 서열이다.
- <50> 본 명세서에서 사용하는 바와 같이, 서열 동일성은 이 기술 분야에서 잘 알려져 있는 표준 알고리즘을 사용하여 2개 분자 사이에서 수행하는 비교값을 말한다. 본 발명에서 서열 동일성을 산출하기 위한 양호한 알고리즘은 스미스-워터만 (Smith-Waterman) 알고리즘인데, 여기서는 참조 서열은 폴리펩티드 상동체를 그의 전체 길이에 대한 퍼센트 동일성을 정의하는 데 사용된다. 일치 파라미터 값, 불일치 파라미터 값, 삽입 또는 결실에 대한 파라미터 값의 선택은 임의적이지만, 어떤 파라미터 값들은 생물학적으로 다른 것들보다 더 현실적인 결과를 낳는다고 알려져 왔다. 스미스-워터만 알고리즘을 위한 양호한 한 조(組)의 파라미터 값은 "최대 유사성 세그먼트 (maximum similarity segments)" 접근법인데, 이는 일치된 잔기에 대하여는 1을, 불일치된 잔기에 대하여는 -1/3 (잔기는 1개의 뉴클레오타이드 또는 1개의 아미노산 중 어느 한 가지 잔기)을 사용한다 (Waterman, Bull. Math. Biol.46,473-500(1984)). 삽입 및 결실 (indels)은 다음 식으로 계산한다.
- <51> $x_k=1+k/3$,
- <52> 식 중, k는 주어진 삽입 또는 결실(Id) 중의 잔기의 수효이다.
- <53> 예를 들면, 18개의 아미노산 치환을 제외하고, 42개의 아미노산 잔기 서열에 동일한 서열과 3개의 아미노산의 삽입의 % 동일성은 다음 식으로 주어진다.
- <54> $[(1 \times 42 \text{ 일치}) - (1/3 \times 18 \text{ 불일치}) - (1+3/3 \text{ 삽입 또는 결실})]/42=81\%$ 동일성
- <55> 본 발명의 한 가지 양호한 실시 형태에 있어서, 서열 동일성의 계산시 분자 말단부의 절단은 고려되지 않으며 (즉, 만약 1개의 분자가 다른 분자보다 길이가 길면 이들 분자의 겹치는 부분의 길이만 서열 동일성 분석에 사용된다), 본 발명의 양호한 실시 상태에서는 절단들은 결실로서 계산된다.
- <56> 본 발명의 한 가지 양호한 실시 형태에 있어서, 서열 동일성의 계산시 분자 말단부의 절단은 고려되지 않으며 (즉, 만약 1개의 분자가 다른 분자보다 길이가 길면 이들 분자의 겹치는 부분의 길이만 서열 동일성 분석에 사용된다), 본 발명의 양호한 실시 상태에 있어서 절단은 결실로서 계산된다.
- <57> APC 상동체는 D-아미노산형을 포함할 수 있고,
- <58> -APC
- <59> -XIGRIS
- <60> -드로트레코긴 알파
- <61> 으로 이루어진 군으로부터 선택된 분자들처럼, 본 명세서에 개시되어 있는 분자에 대하여 1개 이상의 아미노산 치환, 결실, 반전, 또는 첨가가 이루어진 분자일 수 있다.

- <62> 본 발명의 한 가지 양호한 실시 상태에 있어서, APC 분자는 APC에 비하여 1개 이상의 아미노산 치환, 반전, 첨가 또는 결실을 포함하는 1개의 펩티드이다. 하나의 실시 상태에 있어서, 치환, 결실, 첨가의 수효는 아미노산 20개 이하이고, 예컨대 아미노산 15개 이하, 예컨대 아미노산 10개 이하, 예컨대 아미노산 9개 이하, 예컨대 아미노산 8개 이하, 예컨대 아미노산 7개 이하, 예컨대 아미노산 6개 이하, 예컨대 아미노산 5개 이하, 예컨대 아미노산 4개 이하, 예컨대 아미노산 3개 이하, 예컨대 아미노산 2개 이하 (예컨대 1개), 또는 이들 사이의 정수 개이다. 본 발명의 한 가지 측면에 있어서, 치환은 1개 이상의 보존성 치환을 포함한다. 적절한 보존성 치환의 예는 앞에 설명되어 있다.
- <63> 본 발명의 방법과 용도에 적당한 기타의 APC 상동체는, (1) SEQ ID NO:1 및/또는 (2) 그것으로부터 절단된 서열에 대하여, 서열 동일성이 50 퍼센트 이상, 종기로는 서열 동일성이 90 퍼센트 이상 (예컨대, 서열 동일성이 91 퍼센트 이상, 예컨대 서열 동일성이 92 퍼센트 이상, 예컨대 서열 동일성이 93 퍼센트 이상, 예컨대 서열 동일성이 94 퍼센트 이상, 예컨대 서열 동일성이 95 퍼센트 이상, 예컨대 서열 동일성이 96 퍼센트 이상, 예컨대 서열 동일성이 97 퍼센트 이상, 예컨대 서열 동일성이 98 퍼센트 이상, 예컨대 서열 동일성이 99 퍼센트 이상, 예컨대 서열 동일성이 99.5 퍼센트 이상)인 단백질 C 서열로부터 유래된 펩티드 서열이다. 본 명세서에 사용되어 있는 바와 같이, 서열 동일성이란 이 기술 분야에서 잘 알려져 있는 표준 알고리즘을 사용하여 2개 분자 사이에서 수행한 비교값을 말한다. 본 발명에서 서열 동일성을 계산하는 데 좋은 알고리즘은 스미스-워터만 알고리즘인데, 이는 앞에서 설명된 바 있다.
- <64> APC 상동체는 또한 인간 APC에 대하여 1개 이상의 아미노산 치환, 결실, 반전, 첨가를 포함하는 분자일 수 있는데, D-아미노산형을 들 수 있다.
- <65> APC 상동체는 또한 인간 APC에 대하여 1개 이상의 아미노산 치환, 결실, 전환, 첨가를 포함하는 분자일 수 있는데, D-아미노산형을 들 수 있다.
- <66> 본 발명의 또 다른 실시 상태에 있어서, SEQ ID NO: 1 등의 본 명세서에서 미리 결정된 임의 서열의 상기 상동체는 다음과 같이 정의될 수 있다.
- <67> i) 응고 인자 VIIa, Xa 및/또는 TF에 대하여 선택적으로 결합할 수 있는 아미노산으로 구성되는 상동체, 및/또는
- <68> ii) 인간의 APC보다 응고 인자 VIIa, Xa 및/또는 TF에 대한 결합 친화력이 실질적으로 유사하거나 더 큰 상동체, 및/또는
- <69> iii) PAI-1에 선택적으로 결합하여 억제할 수 있는 아미노산 서열로 구성된 상동체, 및/또는
- <70> iv) PAI-1에 대한 결합 친화력이 실질적으로 유사하거나 높은 상동체, 및 /또는
- <71> v) 내피 단백질 C 수용체 (ECPCR)에 대한 결합 친화력이 실질적으로 유사하거나 높은 상동체, 및/또는
- <72> vi) 기도 내에 침착된 후의 반감기가 실질적으로 유사하거나, 높거나 또는 낮은 상동체.
- <73> 화학적으로 유도된 APC 분자
- <74> 본 발명의 용도에 적합한 APC 분자들은 화학적으로 유도되거나 변경될 수 있는데, 예를 들면 비천연 아미노산 잔기 (예컨대, 타우린 잔기, 베타-, 감마-아미노산 잔기, D-아미노산 잔기)를 가진 펩티드, 아마이드, 에스테르 등의 C 말단 작용기 변형, C 말단 케톤 변형 및 아실화 아민, 쉬프 염기, 또는 예컨대 아미노산, 피로글루탐산에서 발견되는 바와 같은 고리화 등의 N 말단 작용기 변형들이다.
- <75> APC 분자 컨쥬게이트
- <76> 또한, 본 발명의 APC 분자들은 예컨대 PEG 또는 설탕 성분 등의 비(非)폴리펩티드 성분에 의하여 변형됨으로써, 예컨대 인간 혈장 및 알파1-항트립신에 의하여 비활성화에 대한 내성이 증가된 APC 화합물을 관찰할 수도 있고, 따라서 증가된 생체내 반감기를 보여준다. 좋은 예로는 최소한 1개의 추가적인 생체내 N-글루코실화 부위가 도입된 단백질 C 컨쥬게이트가 있다.
- <77> 적당한 예는 본 명세서에 그 내용이 참고 문헌으로 추가된 미국 특허 제6,933,367호 ("Protein C or activated protein C-like molecules")에 개시되어 있다.
- <78> 따라서, 본 발명의 한 가지 실시 상태에 있어서, 상기 사용된 APC 분자는 N-글루코실화 APC 폴리펩티드이거나 또는 그의 유사체이다.

- <79> 본 발명의 또 다른 실시 상태에 있어서, 상기 APC 분자는 0-글루코실화 APC 폴리펩티드이거나 또는 그의 유사체이다.
- <80> 추가의 구체적인 실시 상태에 있어서, 상기 APC 분자는 최소한 1개의 추가의 N-글루코실화 부위가 도입되었다.
- <81> 본 발명의 또 하나의 실시 상태에 있어서, 상기 사용된 APC 분자는 N-결합 또는 0-결합 지방산을 더 포함하는 APC 폴리펩티드이거나, 또는 그의 유사체이다.
- <82> APC 단편
- <83> 한 가지 실시 상태에 있어서, 상기 APC 분자는 1개의 APC 단편일 수 있다. 1개의 단편은 APC, APC 상동체 또는 APC 유도체의 일부이다. 단편의 예로서는 EGF-유사 영역 1 또는 2, 또는 상기 세린 프로테아제 영역 또는 천연 APC 펩티드의 N 말단의 결실 또는 C 말단의 결실 또는 이들 양자의 결실을 들 수 있다. APC 단편들은 SEQ ID NO: 1으로부터 최소한 20개의 연속적인 아미노산으로 구성되어 있다. 예를 들면, 1개의 단편은 20개 이상의 아미노산일 수 있고, 예컨대 아미노산 25개 이상, 예컨대 아미노산 30개 이상, 예컨대 아미노산 50개 이상, 예컨대 아미노산 100개 이상, 예컨대 아미노산 150개 이상, 예컨대 아미노산 200개 이상, 예컨대 아미노산 250개 이상, 예컨대 아미노산 300개 이상, 예컨대 아미노산 350개 이상, 예컨대 아미노산 400개 이상, 예컨대 아미노산 450개 이상, 예컨대 아미노산 460개 이상, 또는 이들 사이의 정수 개일 수도 있다.
- <84> 기관내, 기관지내 또는 폐포내 투여
- <85> 투여 방법으로서의 혈액 응고 인자들이 용해되어 있는 생리학적으로 허용되는 조성물을 유체 (流體)로서 사용하는 분무, 세척, 흡입, 플러싱 또는 점적 (點滴)이 있는데, 여기에 한정되는 것은 아니다. 본 명세서에 사용된 "기관내, 기관지내 또는 폐포내 투여"라는 용어는, 안정제 또는 기타 부형제의 첨가 여부에 관계 없이, 용액형 인자의 점적, 또는 분말형 인자의 투여, 또는 에어로졸화 또는 분무화 용액형 또는 분말형 또는 겔형 인자의 흡입에 의하여 기도의 관련 부분에 상기 인자가 도달할 수 있도록 함으로써, 응고 인자가 기관, 기관지, 폐포에 각각 투여되는 모든 투여형을 포함한다.
- <86> 또 다른 실시 상태에 있어서, 기관내의, 기관지내의, 폐포내 투여는 전술한 제품의 흡입은 포함하지 않지만, 인자의 용액제 또는 인자를 함유하는 분말제 또는 겔제를 기관이나 낮은 기도에 점적 또는 투여하는 것을 포함한다.
- <87> 기관지내/폐포내 투여 방법은 APC 및/또는 APC 상동체 및/또는 유도체 및/또는 컨쥬게이트가 용해된 생리학적으로 허용될 수 있는 혼합물을 세척액으로 사용하고, 또는 사실상 부형제의 유무에 관계 없이 건식 형태의 항응고제를 함유하는 분무화 분말의 사용을 비롯한 기관지내 투여형에 의하여 또는 기관지 내시경 중에 용액제 또는 분말제 또는 겔제의 형태로 항응고제를 직접 투여하는 이 기술 분야의 숙련자에게 잘 알려져 있는 방법에 따른 기관지 폐포 세척 (BAL)을 포함하는데, 이에 한정되는 것은 아니다. 기관내 투여 방법들은 활성화 단백질 C가 용해되어 있는 유사한 용액제에 의한 맹(盲)기관 세척, 또는 이 목적에 적합한 임의의 분무 장치를 사용하여 얻은 상기 용해된 활성화 단백질 C를 함유하는 에어로졸화 액적 (液滴)의 흡입을 포함하는데, 여기에 한정되는 것은 아니다.
- <88> 본 발명은 ALI, ARDS, 폐렴 및 기타 기관지 폐포 피브린 침착과 관련된 기타의 질환들을 다루는 방법에 관한 유용하고 새로운 추가의 방법을 제공한다. 나아가, 항응고제의 기도 투여는 APC 등의 항응고제의 계통 투여에 따른 불필요한 출혈성 부작용을 줄일 수 있을 것으로 기대되는데, 정맥 주사의 사용은 대뇌성 출혈을 비롯한 내출혈의 심각한 사고와 연관되어 있다. 동시에, 항응고제의 기도 투여는 이들의 계통 투여와 비교시 혈관외에서의 피브린 침착에 대한 효과를 증대시킬 것으로 기대된다. APC 등의 항응고제와 항염증성 약제의 전체 투여량은 기도 내에서 국부적으로 사용될 수 있거나, 또는 치료의 계통적 및 국부적 효과 사이의 최적의 균형을 얻고, 예컨대 중증 폐혈증, 폐혈증성 쇼크 및 ARDS 환자에 있어서 약물의 부작용 발생을 줄이기 위해 통상의 정맥 투여량과 본 발명의 기도 투여량 간에 분할시킬 수도 있다. 더욱이, APC의 정맥내의 사용이 유익한 가능성이 있는 시간 간격 ("기회의 창(window of opportunity)")은 한정되어 있다. 예컨대, ALI와 ARDS에서 나타나는 바와 같이, 약물이 후(後)폐혈증 단계 또는 심지어 폐포의 피브린 침착에 의하여 현저한 말기 ARDS 단계에서 사용된 경우 상기 약물에 대한 반응 시간 간격은 더 길 것으로 예상될 수 있다.
- <89> 본 발명의 양호한 실시 상태는 ARDS를 가진 인간 환자에게 적당량 (예컨대, 2 mg 내지 5 mg 또는 그 이상)의 APC가 용해되어 있는 세척액 (예컨대, 등장 식염수 25 ml 내지 100 ml)을 사용하는 기관지 폐포 세척 수단에 의하여 APC를 폐포내에 국부 투여하는 것으로 구성된다. 이러한 투여는 ALI 또는 ARDS가 초기 상태인지 또는 말

기 상태인지에 따라 1일 이상의 기간 중에 일정 간격으로 반복된다. APC의 정맥내 투여 지침을 준수하는 환자에 있어서 보조 치료법, 또는 조화 치료법으로서, APC는 정맥내 주입에 의하여 투입될 수 있다.

<90> 기타의 양호한 투여 방법으로서의 다음의 장치들을 사용하는 것들이 있다.

- <91> 1. 압축 공기/산소 혼합물을 이용한 가압 분무기
- <92> 2. 초음파 분무기
- <93> 3. 전기 미세 펌프 분무기 (예컨대, Aeroneb Professional Nebulizer)
- <94> 4. 계량 (計量) 흡입기 (MDI)
- <95> 5. 건조 분말 흡입 장치 (DPI)

<96> 에어로졸은 기계식 환기 (장치 1, 2 및 3) 도중에 a) 안면 보호대 또는 b) 관이 삽입된 환자의 기관내 튜브를 경유하여 전달될 수 있다. 또한, 장치 4와 5는 환자가 에어로졸 장치를 스스로 작동시킬 수 있는 경우에 도움을 받지 않고 환자가 사용할 수도 있다.

<97> APC 및/또는 상동체들 및/또는 APC의 유도체로 이루어진 용액제의 양호한 농도는 용액 1 ml당 활성 성분이 0.1 μg 에서 10000 μg 의 범위이다. 단량체 형태의 화합물을 사용하는 경우, 적당한 농도는 보통 용액 1 ml당 0.1 μg 내지 5000 μg 예컨대, 약 0.1 μg 내지 3000 μg , 특히 약 0.1 μg 내지 1000 μg , 예컨대 약 0.1 μg 내지 250 μg 이다. 양호한 농도는 용액 1 ml당 약 0.1 내지 약 5.0 mg, 더 좋기로는 약 0.3 mg 내지 약 3.0 mg, 예컨대 약 0.5 내지 약 1.5 mg, 특히 0.8 내지 1.0 mg이다. 다량체 형태의 화합물을 사용하는 경우, 적당한 농도는 보통 용액 1 ml당 약 0.1 μg 내지 1000 μg , 예컨대 0.1 μg 내지 750 μg 이고, 특히 용액 1 ml당 약 0.1 μg 내지 500 μg 예컨대 약 0.1 μg 내지 250 μg 이다. 양호한 농도는 약 0.1 내지 약 5.0 mg이고, 더 좋기로는 약 0.3 mg 내지 약 3.0 mg, 예컨대 약 0.5 mg 내지 약 1.5 mg, 특히 용액 1 ml당 0.8 내지 1.0 mg의 범위이다.

<98> 증상

<99> 본 발명의 한 가지 측면은 기도내에서의 혈관의 피브린 침착을 치료하고 방지하는 방법에 관한 것이다. 그러므로, 본 발명은 염증성 폐질환에 의해 야기되는 혈관의 피브린 침착 이환 환자, 또는 혈관의 피브린 침착 이환 위험성이 있는 환자의 치료법에 관한 것이다.

<100> 양호한 측면에 있어서, 염증성 폐질환은 다음의 것에 의하여 이루어지는 군으로부터 선택된다.

- <101> -ALI
- <102> -ARDS
- <103> -폐렴
- <104> -급성 기관지 폐포성 질환
- <105> -만성 기관지 폐포성 질환
- <106> -섬유성 폐포염 또는
- <107> -기관지 천식
- <108> -폐포염
- <109> -세기관지염
- <110> -폐쇄성 세기관지-형성 폐렴 (BOPA)
- <111> -이식 조직-대-숙주 질환 (GVHD)
- <112> -주폐포자충 폐렴 (PCP)
- <113> -폐렴, 예컨대 흡인성 폐렴
- <114> -약물 유발성 폐렴(예컨대, 메토타렉사트, 블레오마이신 또는 시로리무스에 원인이 있는 것)
- <115> -낭성 섬유증

- <116> -특발성 폐섬유화증
- <117> 또 다른 구체적 실시 상태에 있어서, 염증성 폐질환은 아래의 것들로 이루어진 군으로부터 선택된 증상과 관련이 있다.
- <118> -직접 또는 간접적인 폐 외상
- <119> -폐장염
- <120> -흡인성 폐렴
- <121> -폐혈증
- <122> -중증 폐혈증 및/또는
- <123> -폐혈증성 쇼크
- <124> -주폐포자충 폐렴 (PCP) 예컨대, PCP 상태의 전 또는 초기 트리메토프림-슈파메톡사졸에 의한 항뉴모시스티스 (*Pneumocystis*) 항생제 요법을 수반하는 발현 ARDS의 전 또는 초기에 보조 예방약 또는 우선 요법으로서 또는 PCP에 의하여 유발된 PCP 발현 ARDS의 치료로서.
- <125> 약학 조성물
- <126> 본 발명에서 사용하기 위한 약학 조성물 또는 약학적 조성물들은 종기로는 용해되어 있는 약학적으로 허용되는 담체, 종기로는 수용성 담체 또는 희석제와 조합된 APC 제제를 함유한다. 상기 약학 조성물은 고체(固劑), 액제, 젤제, 에어로졸제일 수 있다. 여러 가지 수용성 담체, 예컨대 9% 식염수, 완충 식염수, 생리학적으로 친화성인 완충제, 및 이와 동등한 것들이 사용될 수 있다. 상기 조성물은 이 기술 분야의 숙련자들에게 잘 알려져 있는 통상의 기술에 의하여 멸균시킬 수 있다. 그 결과 생성되는 살균된 수용액은 사용을 위해 포장되거나, 무균 여과시켜, 냉동 건조할 수가 있는데, 이 냉동 건조된 제제는 투여 전에 멸균 수용액에 용해시킨다.
- <127> 상기 조성물은 약학적으로 허용되는 보조 물질 또는 pH 조절 및 완충제 및/또는 긴장성 조절제(tonicity adjusting agents), 예컨대, 아세트산나트륨, 락트산나트륨, 염화나트륨, 염화칼륨, 염화칼슘, 등의 보조제를 함유할 수 있다. 상기 제형은 약제학적으로 허용되는 담체와, 미소구체, 리포솜 마이크로캡슐, 나노 입자 또는 그와 유사한 것들을 비롯한 부형제를 함유할 수 있다. 통상의 리포솜은 전형적으로 인지질류(중성 또는 음성으로 하전된 것) 및/또는 콜레스테롤류로 구성된다. 리포솜은 수용성 성분에 둘러싸인 지질 이중층에 기반한 소낭성 구조이다. 이들은 크기, 지질 조성, 표면 전하 및 인지질 이중층의 수효와 유동성 등의 이화학적 특성에 따라 변화할 수 있다. 리포솜 형성에 가장 빈번하게 사용되는 지질은 다음과 같은 것들이 있다. 즉, 1,2-디라우로일-*sn*-글리세로-3-포스포코린(DLPC), 1,2-디미리스토일-*sn*-글리세로-3-포스포코린(DMPC), 1,2-디팔미토일-*sn*-글리세로-3-포스포코린(DPPC), 1,2-디스테아로일-*sn*-글리세로-3-포스포코린(DSPC), 1,2-디올레오일-*sn*-글리세로-3-포스포코린(DOPC), 1,2-디미리스토일-*sn*-글리세로-3-포스포에탄올아민(DMPE), 1,2-디팔미토일-*sn*-글리세로-3-포스포에탄올아민(DPPE), 1,2-디올레오일-*sn*-글리세로-3-포스포에탄올아민(DOPE), 1,2-디미리스토일-*sn*-글리세로-3-포스포이트(일나트륨염)(DMPA), 1,2-디팔미토일-*sn*-글리세로-3-포스포이트(일나트륨염)(DPPA), 1,2-디올레오일-*sn*-글리세로-3-포스포이트(일나트륨염)(DOPA), 1,2-디미리스토일-*sn*-글리세로-3-[포스포-*rac*-(1-글리세롤)](나트륨염)(DMPG), 1,2-디팔미토일-*sn*-글리세로-3-[포스포-*rac*-(1-글리세롤)](나트륨염)(DPPG), 1,2-디올레오일-*sn*-글리세로-3-[포스포-*rac*-(1-글리세롤)](나트륨염)(DOPG), 1,2-디미리스토일-*sn*-글리세로-3-[포스포-L-세린](나트륨염)(DMPS), 1,2-디팔미토일-*sn*-글리세로-3-[포스포-L-세린](나트륨염)(DPPS), 1,2-디올레오일-*sn*-글리세로-3-[포스포-L-세린](나트륨염)(DOPS), 1,2-올레오일-*sn*-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(글루타릴)(나트륨염) 및 1,1',2,2'-테트라미리스토일 카디올리핀(암모늄염)이 있다. 기타의 지질 또는 리포솜 조절자와의 결합 형태, 예컨대 콜레스테롤 및/또는 포스파티딜콜린과의 결합 형태의 DPPC로 조성된 제형들이 좋다.
- <128> 순환 길이가 긴 리포솜은 혈관벽의 삼투성이 증가되는 신체 부위에서의 유출능(流出能)에 특징이 있다. 순환 길이가 긴 리포솜을 생성하는 가장 일반적인 방법은 친수성 중합체인 폴리에틸렌글리콜 (PEG)을 리포솜의 외부 표면에 공유 결합적으로 결합시키는 것이다. 양호한 지질은 1,2-디팔미토일-*sn*-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[메톡시(폴리에틸렌 글리콜)-2000](암모늄염), 1,2-디팔미토일-*sn*-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[메톡시(폴리에틸렌 글리콜)-5000](암모늄염), 1,2-디올레오일-3-트리메틸암모늄-프로판(염화물염)(DOTAP)이다.
- <129> 리포솜에 이용될 수 있는 지질들은 아반티, 폴라 리피즈사 (Avanti, Polar Lipids, Inc, Alabaster, AL)에 의하여 공급된다. 또한, 리포솜 현탁액은 저장시의 자유 라디칼 및 지질 과산화 손상에 대한 지질을 보호하는 지

질 보호제를 함유할 수 있다. 알파-토코페롤 등의 친유성 자유 라디칼 활성 감소제와 페리옥시아닌 등의 수용성 이온 특정 킬레이트제가 좋다.

<130> 본 명세서에 참고로 포함시킨 문헌 (Szoka et al., Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 9:467(1980), 미국 특허 제 4,235,871호, 제4,501,728호 및 제4,837,028호)에 설명되어 있는 바와 같이, 리포솜들을 제조하는 데 유용한 다양한 방법들이 있다. 또 다른 방법은 불균질한 크기의 다층 소낭 (小囊)을 생성한다. 이 방법에 있어서, 소낭 형성 지질들은 적당한 유기 용매 또는 용매계에 용해되고, 진공 또는 불활성 기체하에서 건조되어 얇은 지질 막을 형성한다. 필요한 경우, 상기 지질막은 3차 부탄올 등의 적당한 용매에 재용해시킨 다음, 이어서 냉동 건조시켜서 더 쉽게 수화 (水和)되는 분말형의 더욱 균질한 지질 혼합물을 형성한다. 이 막은 목적하는 약물과 목적하는 성분으로 이루어진 수용액으로 덮이고, 진탕에 의하여 통상 15~60분 이상 수화시킬 수 있다. 그 결과 형성되는 다층 소포낭들의 크기 분포는 상기 지질을 더 격렬한 진탕 조건에서 수화시키거나 테옥시콜레이트 등의 가용성 세제를 첨가함으로써 더 작게 만들 수 있다.

<131> 수용액 중에서 계면 활성제 (1개의 소수성 부분과 1개 이상의 이온성 또는 친수성이 강한 기(基)를 함유하는 분자)에 의하여 교질 입자가 형성된다.

<132> 이 기술 분야의 숙련자들에게 잘 알려져 있는 보통의 계면 활성제들이 본 발명의 교질 입자들 중에 사용될 수 있다. 적당한 계면 활성제는 라우르산나트륨, 올레산나트륨, 라우릴 황산나트륨, 옥타옥시에틸렌 글리콜 모노도데실 에테르, 옥톡시놀 9 및 PLURONIC F-127 (Wyandotte Dhemicals Corp.)가 있다. 양호한 계면 활성제는 정맥 주사와 친화성이 있는 비이온성 폴리옥시에틸렌과 폴리옥시프로필렌 세제, 예컨대 TWEEN-80, PLURONIC F-68, n-옥틸-베타-D-글루코피라노시드 및 이와 동등한 것들이다. 그 밖에, 리포솜 생산에 있어서 사용에 대하여 설명한 바와 같은 인지질도 역시 교질 입자의 생성에 사용될 수 있다.

<133> 어떤 경우에는, 활성 물질을 그의 표적 위치에 대한 전달을 증진시키는 화합물을 함유하는 것이 유익하다.

<134> 투여 방법

<135> 약제는 투여 제제와 친화성이 있는 방식과 치료에 유효한 양으로 투여된다. 투여량은, 예컨대 환자의 체중 및 나이, 치료할 질환, 질환 단계를 비롯한 치료반을 환자에 좌우된다. 적당한 투여량의 범위는 통상 체중 1 킬로그램에 대하여 1회 투여당 보통 활성 성분 수백 μg 수준인데, 양호한 범위는 약 0.1 μg 내지 10000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ · 체중의 범위이다. 단량체 형태의 화합물을 사용하는 경우에는, 적당한 투여량은 종종 0.1 내지 5000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ · 체중의 범위, 예를 들면 약 0.1 내지 3000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ · 체중, 특히 약 0.1 내지 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ · 체중의 범위이다. 다량체 형태의 화합물을 사용하는 경우에는, 적당한 투여량은 종종 0.1 내지 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ · 체중의 범위이고, 예를 들면 약 0.1 내지 750 $\mu\text{g}/\text{kg}$ · 체중의 범위, 특히 약 0.1 내지 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ · 체중, 0.1 내지 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ · 체중의 범위이다. 양호한 투여량은 1회 투여당 약 0.1 내지 5.0 mg, 더 좋기로는, 약 0.3 mg 내지 약 3.0 mg, 약 0.5 mg 내지 약 1.5 mg, 특히 0.8 mg 내지 1.0 mg의 범위이다. 투여는 1회만 수행될 수도 있고, 또는 연속적인 투여가 뒤따를 수도 있다. 투여량은 역시 투여 경로에 따라서도 달라질 수 있고, 치료할 환자의 나이, 성별, 체중에 좌우되게 된다. 다량체 형태의 화합물의 양호한 투여량은 체중 70 kg당 1 mg 내지 70 mg의 범위이다.

<136> 적당한 1일 투여량 범위는 보통 체중 1 kg에 대하여 활성 성분 수백 μg 의 범위인데, 양호한 범위는 약 0.1 μg 내지 10000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ · 체중/일의 범위이다. 단량체 형태의 화합물을 사용하면, 적당한 투여량은 0.1 μg 내지 5000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ · 체중/일의 범위인데, 예를 들면 약 0.1 μg 내지 3000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ · 체중/일의 범위, 특히 약 0.1 μg 내지 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ · 체중/일의 범위이다. 다량체 형태의 화합물을 사용하는 경우에, 적당한 투여량은 0.1 μg 내지 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ · 체중/일 범위, 예를 들면, 약 0.1 μg 내지 750 $\mu\text{g}/\text{kg}$ · 체중/일 범위이고, 특히 약 0.1 μg 내지 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ · 체중/일, 약 0.1 μg 내지 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ · 체중/일 범위이다. 양호한 투여량은 약 0.1 내지 약 100 μg 의 범위, 더 좋기로는 약 0.1 내지 약 50 μg 범위이고, 예를 들면 약 0.3 내지 약 30 μg 의 범위, 특히 1.0 내지 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ · 체중/일 범위이다. 투여는 1회 행해질 수도 있고 연속적인 투여가 뒤따를 수도 있다. 투여량은 투여 경로에 따라 달라지고, 치료할 환자의 나이, 성별, 체중에 좌우되게 된다. 다량체 형태의 화합물의 양호한 투여량은 70 kg당 1 mg 내지 70 mg 범위이다.

<137> 의료용 포장

<138> 본 발명에서 사용되는 화합물들은 1회 또는 복수 투여량으로 하여 단독 투여되거나 또는 약제학적으로 허용되는 담체 또는 부형제들과 함께 사용될 수도 있다. 상기 제제는 이 기술 분야의 숙련자에게 알려져 있는 방법에 의하여 편리하게 단위 투여량으로 제공된다.

<139> 본 발명에 따른 화합물들은 키트로 제공되는 것이 좋다. 그러한 키트는 통상 투여용 투여형 내에 활성 화합물을

함유한다. 투여형은 환자에게 투여시 목적하는 효과를 얻을 수 있도록 충분한 양의 활성 화합물을 함유한다.

- <140> 그러므로, 의료용 포장은 관련 투여 방식에 대응하는 단위 투여량으로 구성하는 것이 좋다. 따라서, 한 가지 실시 상태에 있어서, 의료용 포장은 위에서 정의된 화합물을 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염과 약제학적으로 허용되는 담체, 매개체 및/또는 부형제로 이루어지는 약학 조성물로 구성되는데, 단위 투여량이 1일 이상으로 되는 1회 내지 7회의 단위 투여량, 또는 단위 투여량이 1주 또는 수 주간으로 되는 7회 내지 21회의 단위 투여량 또는 다수 회의 투여량으로 이루어진다.
- <141> 단위 투여량은 위에서 정의한 바와 같다. 의료용 포장은 기관내, 기관지내 또는 폐포내 투여를 위한 임의의 적당한 형태일 수 있다. 양호한 실시 상태에 있어서, 포장은 유리병, 앰플, 튜브, 블리스터 팩, 카트리지 또는 캡슐의 형태이다.
- <142> 의료용 포장이 1회 이상의 단위 투여량으로 이루어진 경우, 의료용 포장에는 1회 단위 투여량에 맞도록 각각의 투여를 조절하기 위한 매카니즘을 제공하는 것이 좋다.
- <143> 더욱 좋기로는, 키트에는 소기의 효과를 달성하기 위한 투여형의 사용 및 정해진 시간 동안 복용할 수 있는 투여량을 설명하는 설명서가 포함된다. 따라서, 한 가지 실시 상태에 있어서, 의료용 포장은 약학 조성물의 투여에 대한 설명서를 포함한다.

실시예

- <144> 실시예 1
- <145> 60세 환자에 흉부 방사선 촬영으로부터 판명되는 바와 같이 오른쪽 폐에 주로 집중된 혼탁을 수반하는 중증 ARDS가 발생하였다. 기관지 폐포 세척 (BAL)은 통상의 생리 식염수 20 ml에 용해된 활성화 드로트레코긴-알파 (Xigris) 5 mg을 단일 투여량으로 기관지 내시경을 통하여 기관지 우측 하부엽 내에서 수행되었다. 외견상 부작용이 없고, 기도로부터의 출혈은 관찰되지 않았다. 다음날, BAL로 치료한 우측 하부엽에서 혼탁의 투명화가 약간 있었다. 반면에, APC의 단일 투여는 PaO_2/FiO_2 비에 의하여 관찰되어진 바와 같이 가스 교환을 개선시키지 못하였다.
- <146> 실시예 2
- <147> 호지킨은 2003년 미오글로빈 (Mb)증의 11세 소년을 화학요법에 의하여 최초로 치료하였다. 2005년에 재발이 보고되었는데, 이 때, 그는 방사선 요법 및 자가 골수 이식 (BMT) 치료를 받았다. 중환자실 입원 전에 수행된 폐생검의 결과, 이식 조직-대-숙주 질환 (GvHD)의 징후는 없었다. 림프종 침윤의 징후도 없었으며, 급성 폐기능 저하 (ALI)와 폐혈증을 수반하는 계속되는 고열 때문에 BMT를 한 후 9일간 중환자실에 입원시켰다. 초기에 광범위한 실험용 항생제로 치료하였다. 4일째에 산소 용량이 높은 능동성 종말 호기압 (終末呼氣壓) (PEEP)에도 불구하고 PaO_2/FiO_2 비 < 200으로 더 감소하였다. 흉부 사진은 양측성 확산 침윤이 폐 부위의 4분면의 전체에서 발생하였음을 보여주었다. 심장 초음파 검사는 심단락 (心短絡) 부존재 또는 보통의 심근 기능을 수반하는 판막 부전증을 보여주었다. 기타 기관의 기능 장애는 관찰되지 않았다. 환자는 중증 ARDS를 수반하는 단일 기관 기능 장애를 가지고 있다. 기관지 폐포 세척 (BAL)에 칸디다균 (*Candida spp*), 아스페르길루스균, 바이러스 또는 박테리아는 없었다. 인스티튜셔널 리뷰 보드 (IRB) 결정에 기초하여, 분무기 (Aeroneb 등록 상표)를 통하여 5 mg x 3의 투여량으로 활성화 단백질 C (활성화 드로트레코긴 알파)를 사용한 흡입 요법을 개시하였다. 3회 투여 후 12 시간 경과 후, 흉부 사진상의 침윤이 분명하게 감소되었고, 동시에 $FiO_2 = 1.0$ 이면서도 동맥 산소 포화도가 85 %로부터 95 %로 증가하였다. 부작용, 예컨대 APC 흡입 도중 또는 후에 기도로부터의 출혈은 없었다. APC 흡입 요법을 개시하고 24 시간 후에 상기 환자는 우심실 기능 상실, 즉 급성 폐심장증에 기인하는 순환 기능 상실로 사망하였다.

서열목록

- <110> Drugrecure ApS
- <120> AIRWAY ADMINISTRATION OF ACTIVATED PROTEIN C IN INFLAMMATORY CONDITIONS AFFECTING THE RESPIRATORY TRACT

<130> KP-CH-077870

<150> US 60/693,968

<151> 2005-06-24

<160> 1

<170> Kopatent In 1.71

<210> 1

<211> 419

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Ala Asn Ser Phe Leu Glu Glu Leu Arg His Ser Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15

Cys Ile Glu Glu Ile Cys Asp Phe Glu Glu Ala Lys Glu Ile Phe Gln
20 25 30

Asn Val Asp Asp Thr Leu Ala Phe Trp Ser Lys His Val Asp Gly Asp
35 40 45

Gln Cys Leu Val Leu Pro Leu Glu His Pro Cys Ala Ser Leu Cys Cys
50 55 60

Gly His Gly Thr Cys Ile Asp Gly Ile Gly Ser Phe Ser Cys Asp Cys
65 70 75 80

Arg Ser Gly Trp Glu Gly Arg Phe Cys Gln Arg Glu Val Ser Phe Leu
85 90 95

Asn Cys Ser Leu Asp Asn Gly Gly Cys Thr His Tyr Cys Leu Glu Glu
100 105 110

Val Gly Trp Arg Arg Cys Ser Cys Ala Pro Gly Tyr Lys Leu Gly Asp
115 120 125

Asp Leu Leu Gln Cys His Pro Ala Val Lys Phe Pro Cys Gly Arg Pro
130 135 140

Trp Lys Arg Met Glu Lys Lys Arg Ser His Leu Lys Arg Asp Thr Glu

145	150	155	160
Asp Gln Glu Asp Gln Val Asp Pro Arg Leu Ile Asp Gly Lys Met Thr	165	170	175
Arg Arg Gly Asp Ser Pro Trp Gln Val Val Leu Leu Asp Ser Lys Lys	180	185	190
Lys Leu Ala Cys Gly Ala Val Leu Ile His Pro Ser Trp Val Leu Thr	195	200	205
Ala Ala His Cys Met Asp Glu Ser Lys Lys Leu Leu Val Arg Leu Gly	210	215	220
Glu Tyr Asp Leu Arg Arg Trp Glu Lys Trp Glu Leu Asp Leu Asp Ile	225	230	235
Lys Glu Val Phe Val His Pro Asn Tyr Ser Lys Ser Thr Thr Asp Asn	245	250	255
Asp Ile Ala Leu Leu His Leu Ala Gln Pro Ala Thr Leu Ser Gln Thr	260	265	270
Ile Val Pro Ile Cys Leu Pro Asp Ser Gly Leu Ala Glu Arg Glu Leu	275	280	285
Asn Gln Ala Gly Gln Glu Thr Leu Val Thr Gly Trp Gly Tyr His Ser	290	295	300
Ser Arg Glu Lys Glu Ala Lys Arg Asn Arg Thr Phe Val Leu Asn Phe	305	310	315
Ile Lys Ile Pro Val Val Pro His Asn Glu Cys Ser Glu Val Met Ser	325	330	335
Asn Met Val Ser Glu Asn Met Leu Cys Ala Gly Ile Leu Gly Asp Arg	340	345	350
Gln Asp Ala Cys Glu Gly Asp Ser Gly Gly Pro Met Val Ala Ser Phe	355	360	365
His Gly Thr Trp Phe Leu Val Gly Leu Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys	370	375	380

Gly Leu Leu His Asn Tyr Gly Val Tyr Thr Lys Val Ser Arg Tyr Leu
385 390 395 400

Asp Trp Ile His Gly His Ile Arg Asp Lys Glu Ala Pro Gln Lys Ser
405 410 415

Trp Ala Pro