



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0043597  
(43) 공개일자 2011년04월27일

(51) Int. Cl.

C07K 14/775 (2006.01) C07K 14/47 (2006.01)

A61K 38/17 (2006.01) A61P 9/10 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-7001120

(22) 출원일자(국제출원일자) 2009년06월17일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2011년01월14일

(86) 국제출원번호 PCT/US2009/047694

(87) 국제공개번호 WO 2009/155366

국제공개일자 2009년12월23일

(30) 우선권주장

61/073,708 2008년06월18일 미국(US)

(71) 출원인

더 리젠츠 오브 더 유니버시티 오브 캘리포니아  
미국 캘리포니아주 94607-5200 오크랜드 플로어  
12 프랭클린 스트리트 1111

(72) 발명자

비엘리키, 존 케이.

미국 94582 캘리포니아주 산 라몬 레이크릿지 플  
레이스 1008

요한슨, 잔

미국 94526 캘리포니아주 덴빌 메라노 스트리트  
165

(74) 대리인

김진희, 강승욱

전체 청구항 수 : 총 77 항

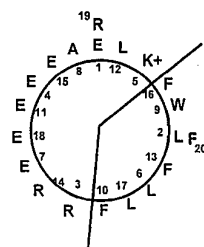
(54) 콜레스테롤 유출의 개선된 펩티드 매개체

(57) 요약

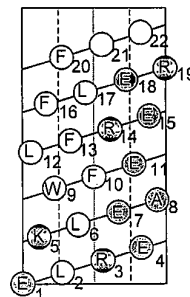
본 발명은 전장 아포지단백질(예를 들면, 아포A-I 및 아포E)의 콜레스테롤 유출 활성과 동등한 활성을 갖고, 전장 아포지단백질의 ABAC1에 대한 선택도와 유사한 높은 선택도를 갖는 비천연 폴리펩티드의 패밀리를 제공한다. 또한, 본 발명은 상기 폴리펩티드를 포함하는 조성물, 상기 폴리펩티드를 확인, 스크리닝 및 합성하는 방법 및 이상지질혈증, 고콜레스테롤혈증 및 염증과 관련된 질환 및 질병을 치료, 예방 또는 진단하는 방법을 제공한다.

대표도 - 도2

A



B



## 특허청구의 범위

### 청구항 1

하기 아미노산 서열을 포함하는 단리된 폴리펩티드:

$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$  (서열 번호 1)

[여기서,

$X_1$ ,  $X_7$  및  $X_{15}$ 는 E 및 D로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 아미노산이고;

$X_4$ ,  $X_{11}$  및  $X_{18}$ 은 E, D, A 및 G로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 아미노산이고;

$X_2$ ,  $X_6$ ,  $X_9$ ,  $X_{10}$ ,  $X_{12}$ ,  $X_{13}$ ,  $X_{16}$ ,  $X_{17}$  및  $X_{20}$ 은 F, L, W, I, V 및 A로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 아미노산이고;

$X_3$ ,  $X_5$  및  $X_{19}$ 는 R, K 및 C로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 아미노산이고;

$X_{14}$ 는 아미노산 R, A, E 또는 C이고;

$X_8$ 은 A, G 또는 V이다].

### 청구항 2

제1항에 있어서,  $X_{10}$ ,  $X_{12}$ ,  $X_{16}$  및  $X_{17}$ 은 F, L, I 및 W로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인 단리된 폴리펩티드.

### 청구항 3

제2항에 있어서,  $X_{10}$ ,  $X_{12}$ ,  $X_{16}$  및  $X_{17}$ 은 F 및 L로부터 독립적으로 선택되는 것인 단리된 폴리펩티드.

### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,  $X_9$ 는 L, F 또는 W인 단리된 폴리펩티드.

### 청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,  $X_2$ ,  $X_6$ ,  $X_{12}$  및  $X_{17}$  위치 중 3곳 이상은 L인 단리된 폴리펩티드.

### 청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,  $X_4$ ,  $X_8$  및  $X_{11}$  위치 중 1곳 이상은 A인 단리된 폴리펩티드.

### 청구항 7

제6항에 있어서,  $X_8$ 은 A인 단리된 폴리펩티드.

### 청구항 8

제1항에 있어서,  $X_4$ ,  $X_{11}$  및  $X_{18}$ 은 D 및 E로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인 단리된 폴리펩티드.

### 청구항 9

제1항에 있어서, C는  $X_3$ ,  $X_5$ ,  $X_{14}$  및  $X_{19}$ 로 이루어진 군으로부터 선택되는 1곳의 위치에 존재하는 것인 단리된 폴리펩티드.

### 청구항 10

제1항에 있어서, 하기 서열을 포함하는 단리된 폴리펩티드:

$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7AX_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$  (서열 번호 27)

[여기서,

$X_1$ ,  $X_7$ ,  $X_{15}$  및  $X_{18}$ 은 D 및 E로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

$X_2$ 는 L, I 또는 V이고;

$X_4$  및  $X_{11}$ 은 D, E 및 A로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

$X_3$ ,  $X_5$  및  $X_{19}$ 는 K 및 R로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

$X_9$ 는 W, F 또는 L이고;

$X_{14}$ 는 R, E 또는 A이고;

$X_6$ ,  $X_{10}$ ,  $X_{12}$ ,  $X_{13}$ ,  $X_{16}$ ,  $X_{17}$  및  $X_{20}$ 은 F, L, I 및 W로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다].

### 청구항 11

제10항에 있어서,  $X_{10}$ ,  $X_{12}$ ,  $X_{13}$ ,  $X_{16}$ ,  $X_{17}$  및  $X_{20}$ 은 L 및 F로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인 단리된 폴리펩티드.

### 청구항 12

제10항에 있어서, 하기 서열을 포함하는 단리된 폴리펩티드:

$X_1LRAX_5LX_7AX_9X_{10}AX_{12}X_{13}RX_{15}X_{16}X_{17}X_{18}RX_{20}$  (서열 번호 28)

[여기서,

$X_1$ ,  $X_7$ ,  $X_{15}$  및  $X_{18}$ 은 D 및 E로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

$X_5$ 는 K 또는 R이고;

$X_9$ 는 F, L 또는 W이고;

$X_{10}$ ,  $X_{12}$ ,  $X_{13}$ ,  $X_{16}$ ,  $X_{17}$  및  $X_{20}$ 은 F 및 L로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다].

### 청구항 13

제10항에 있어서, 하기 서열을 포함하는 단리된 폴리펩티드:

$X_1LRX_4X_5LX_7AX_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}RX_{15}X_{16}X_{17}X_{18}RX_{20}$  (서열 번호 29)

[여기서,

$X_1$ ,  $X_4$ ,  $X_7$ ,  $X_{11}$ ,  $X_{15}$  및  $X_{18}$ 은 D 및 E로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

$X_5$ 는 K 또는 R이고;

$X_9$ 는 F, L 또는 W이고;

$X_{10}$ ,  $X_{12}$ ,  $X_{13}$ ,  $X_{16}$ ,  $X_{17}$  및  $X_{20}$ 은 F 및 L로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다].

#### 청구항 14

제13항에 있어서, ELR(D/E)(K/R)LEA(W/F/L)(F/L)(D/E)L(F/L)RE(F/L)LER(F/L) (서열 번호 30)을 포함하는 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, C, K, Y 또는 L로 이루어진 군으로부터 선택되는  $X_{21}$ 을 더 포함하는 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, S 또는 C인  $X_{22}$ 를 더 포함하는 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 17

제15항에 있어서,  $X_{21}$ 은 K인 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 18

제17항에 있어서,  $X_{22}$ 는 S인 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 19

제16항에 있어서,  $X_{21}$  또는  $X_{22}$ 는 C인 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 보호기를 더 포함하는 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 21

제20항에 있어서, 보호기는 아세틸(Ac), 아마이드, 탄소수 3 내지 20의 알킬 기, Fmoc, t-부톡시카르보닐(Tboc), 9-플루오렌아세틸 기, 1-플루오렌카르복실 기, 9-플루오렌카르복실 기, 9-플루오렌-1-카르복실 기, 벤질옥시카르보닐, 크산틸(Xan), 트리틸(Trt), 4-메틸트리틸(Mtt), 4-메톡시트리틸(Mmt), 4-메톡시-2,3,6-트리메틸-벤젠설포닐(Mtr), 메시틸렌-2-설포닐(Mts), 4,4-디메톡시벤즈히드릴(Mbh), 토실(Tos), 2,2,5,7,8-펜타메틸 크로만-6-설포닐(Pmc), 4-메틸벤질(MeBzl), 4-메톡시벤질(MeOBzl), 벤질옥시(BzlO), 벤질(Bzl), 벤조일(Bz), 3-니트로-2-피리딘설포닐(Npys), 1-(4,4-디메틸-2,6-디옥소사이클로헥실리덴)에틸(Dde), 2,6-디클로로벤질(2,6-DiCl-Bzl), 2-클로로벤질옥시카르보닐(2-Cl-Z), 2-브로모벤질옥시카르보닐(2-Br-Z), 벤질옥시메틸(Bom), 사이클로헥실옥시(chXO), t-부톡시메틸(Bom), t-부톡시(tBuO), t-부틸(tBu) 및 트리플루오로아세틸(TFA)로 이루어진 군으로부터 선택되는 보호기인 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 22

제20항 또는 제21항에 있어서, 보호기는 아미노 또는 카르복시 말단에 연결되는 것인 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 23

제20항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 아미노 말단에 연결된 제1 보호기 및 카르복시 말단에 연결된 제2 보호기를 포함하는 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 24

제23항에 있어서, 상기 제1 보호기는 아세틸, 프로피오닐 및 탄소수 3 내지 20의 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되는 보호기인 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 25

제24항에 있어서, 상기 제1 보호기는 아세틸인 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 26

제23항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 보호기는 아미드인 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 거울상이성체 아미노산은 모두 "D" 아미노산인 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 28

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 거울상이성체 아미노산은 "L" 아미노산과 "D" 아미노산의 혼합물인 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 제1항에 제시된 바와 같은 서열을 갖는 제2의 펩티드에 연결되는 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 30

제29항에 있어서, 제2의 펩티드는 제1의 펩티드와 동일한 서열을 갖는 것인 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 콜레스테롤 유출 활성을 갖는 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 혈장에서 프리 $\beta$  형성을 유도하는 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, ABCA1 안정화 활성을 갖는 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 34

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 산화제에 의한 산화로부터 인지질을 보호하는 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 35

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 약학적으로 허용되는 담체와 혼합되는 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 36

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 폴리펩티드와 실질적으로 유사한 3차원 입체구조를 갖는 펩티드 모방체(peptidomimetic).

#### 청구항 37

제36항에 있어서, 레트로-인버소(retro-inverso) 유사체인 펩티드 모방체.

#### 청구항 38

제36항에 있어서, 레트로-에난티오(retro-enantio) 유사체인 펩티드 모방체.

#### 청구항 39

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 폴리펩티드 또는 제36항 내지 제38항 중 어느 한 항의 펩티드 모방체 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 조성물.

#### 청구항 40

제39항에 있어서, 심혈관 질환을 치료하기 위한 치료제를 더 포함하는 조성물.

#### 청구항 41

제40항에 있어서, 치료제는 스타틴, 담즙산 결합제, 혈소판 응집 억제제, 니코틴아미드, PPAR 활성제, 비타민 E 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

#### 청구항 42

지질과 복합체화된, 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 폴리펩티드 또는 제36항 내지 제38항 중 어느 한 항의 펩티드 모방체를 포함하는 조성물.

#### 청구항 43

제42항에 있어서, 상기 지질은 인지질인 조성물.

#### 청구항 44

제43항에 있어서, 인지질은 1-팔미토일-2-올레오일-sn-글리세롤-3-포스파티딜콜린("POPC")인 조성물.

#### 청구항 45

제42항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 약학적으로 허용되는 담체를 더 포함하는 조성물.

#### 청구항 46

포유동물에게 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 폴리펩티드를 투여하여 콜레스테롤 유출을 매개하는 단계를 포함하는 포유동물에서 콜레스테롤 유출을 매개하는 방법.

#### 청구항 47

제46항에 있어서, 상기 폴리펩티드는 ABCA를 안정화시키는 것인 방법.

#### 청구항 48

제47항에 있어서, 상기 ABCA는 ABCA1인 방법.

#### 청구항 49

제46항에 있어서, 상기 폴리펩티드는 항산화 활성을 갖는 것인 방법.

#### 청구항 50

제46항에 있어서, 상기 폴리펩티드는 소염 활성을 갖는 것인 방법.

#### 청구항 51

제46항에 있어서, 상기 포유동물은 인간인 방법.

#### 청구항 52

제46항에 있어서, 상기 포유동물은 비인간 포유동물인 방법.

#### 청구항 53

포유동물에게 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 폴리펩티드의 치료학적 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 포유동물에서 죽상동맥경화증의 증상을 치료하는 방법.

#### 청구항 54

제53항에 있어서, 상기 포유동물은 죽상동맥경화증의 1종 이상의 증상을 갖고 있는 것으로 진단된 포유동물인 치료 방법.

#### 청구항 55

제53항에 있어서, 상기 포유동물은 죽상동맥경화증에 대한 위험이 있는 것으로 진단된 포유동물인 치료 방법.

#### 청구항 56

제53항에 있어서, 상기 포유동물은 인간인 치료 방법.

#### 청구항 57

제53항에 있어서, 상기 포유동물은 비인간 포유동물인 치료 방법.

#### 청구항 58

포유동물에게 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 폴리펩티드를 투여하는 단계를 포함하는 포유동물의 혈관 내강 벽의 취약성 경화반을 안정화시키는 방법.

#### 청구항 59

제58항에 있어서, 상기 포유동물은 1 이상의 취약성 경화반을 갖는 것으로 진단된 포유동물인 방법.

#### 청구항 60

제58항에 있어서, 상기 포유동물은 1 이상의 취약성 경화반을 가질 위험이 있는 것으로 진단된 포유동물인 방법.

#### 청구항 61

- (a) 서열 번호 2의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 제공하는 단계;
  - (b) 상기 폴리펩티드의 1곳 이상의 아미노산 위치를 치환하여 폴리펩티드 변이체를 생성하는 단계;
  - (c) 콜레스테롤 유출 활성 및/또는 ABCA 안정화 활성에 대해 상기 폴리펩티드 변이체를 스크리닝하는 단계;
  - (d) 서열 번호 2의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드의 콜레스테롤 유출 활성의 80% 이상을 갖는 폴리펩티드 변이체를 선택하고/하거나 서열 번호 2의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드의 ABCA 안정화 활성의 80% 이상을 갖는 폴리펩티드 변이체를 선택하는 단계; 및
  - (e) 선택된 폴리펩티드 변이체를 합성하는 단계
- 를 포함하는, 양친매성  $\alpha$ -나선 구조를 포함하고 콜레스테롤 유출 활성 및/또는 ABCA 안정화 활성을 갖는 폴리펩티드 변이체를 제조하는 방법.

#### 청구항 62

제61항에 있어서, 상기 폴리펩티드 변이체는 1종 이상의 D 아미노산을 포함하는 것인 제조 방법.

#### 청구항 63

제61항에 있어서, 상기 폴리펩티드 변이체의 카르복시 말단은 D 아미노산을 포함하고, 상기 폴리펩티드 변이체의 아미노 말단은 D 아미노산을 포함하는 것인 제조 방법.

#### 청구항 64

제61항에 있어서, 상기 폴리펩티드 변이체는 모든 D 아미노산을 포함하는 것인 제조 방법.

#### 청구항 65

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 폴리펩티드 또는 제36항 내지 제38항 중 어느 한 항의 펩티드 모방체를 포함하는 용기를 포함하는 죽상동맥경화증 증상 치료용 키트.

#### 청구항 66

제65항에 있어서, 약학적으로 허용되는 담체를 더 포함하는 키트.

#### 청구항 67

제65항에 있어서, 상기 폴리펩티드는 단위 제형 내에서 약학적으로 허용되는 담체와 혼합되는 것인 키트.

#### 청구항 68

의약으로서 사용하기 위한, 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 단리된 폴리펩티드 또는 제36항 내지 제38항 중 어느 한 항의 펩티드 모방체.

#### 청구항 69

이상지질혈증과 관련된 질병의 치료에 사용하기 위한, 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 단리된 폴리펩티드 또는 제36항 내지 제38항 중 어느 한 항의 펩티드 모방체.

#### 청구항 70

콜레스테롤 유출 질병의 치료에 사용하기 위한, 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 단리된 폴리펩티드 또는 제36항 내지 제38항 중 어느 한 항의 펩티드 모방체.

#### 청구항 71

고콜레스테롤혈증의 치료에 사용하기 위한, 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 단리된 폴리펩티드 또는 제36항 내지 제38항 중 어느 한 항의 펩티드 모방체.

#### 청구항 72

염증의 치료에 사용하기 위한, 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 단리된 폴리펩티드 또는 제36항 내지 제38항 중 어느 한 항의 펩티드 모방체.

#### 청구항 73

죽상동맥경화증의 치료 또는 죽상동맥경화증의 증상을 예방하기 위한 치료에 사용하기 위한, 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 단리된 폴리펩티드 또는 제36항 내지 제38항 중 어느 한 항의 펩티드 모방체.

#### 청구항 74

경화반 안정화를 위한 치료에 사용하기 위한, 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 단리된 폴리펩티드 또는 제36항 내지 제38항 중 어느 한 항의 펩티드 모방체.

#### 청구항 75

시험관내에서 ABCA에 결합시키기 위한, 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 단리된 폴리펩티드 또는 제36항 내지 제38항 중 어느 한 항의 펩티드 모방체의 용도.

#### 청구항 76

검출 가능한 부분에 직접적으로 또는 간접적으로 연결된, 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 단리된 폴리펩티드 또는 제36항 내지 제38항 중 어느 한 항의 펩티드 모방체를 포함하는 검출 가능한 친화성 리간드.

#### 청구항 77

제76항에 있어서, 라벨은 형광 염료, 금속, 발색 염료, 화학발광 화합물, 생물발광 단백질, 효소, 방사성 동위원소, 자성 산화철 입자, 가스 함유 소낭 및 양자점으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 검출 가능한 친화성 리간드.

명세서



## 기술분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본원은 2008년 6월 18일자 출원된 미국 가출원 제61/073,708호의 이익을 주장하고, 이 가출원은 본원에 참조문헌으로 포함된다.

[0003] 상기 가출원에서의 대상은 또한 2007년 12월 13일자 출원된 PCT 출원 제PCT/US07/87477호에 관한 것이고, 그 개시내용은 모든 목적을 위해 이의 전문으로 본원에 참조문헌으로 포함된다.

[0004] 정부 지원 연구 및 개발 하에 이루어진 발명에 대한 권리에 관한 성명

[0005] 미국 에너지부에 의해 지원받은 계약 DE-AC02-05CH 11231호 및 미국 국립 노화 연구소(National Institute of Aging)에 의해 지원받은 보조금 (계약) R03-AG023153호 하에 정부 지원으로 본 발명은 이루어졌다. 정부는 본 발명에 대해 특정 권리를 갖는다.

[0006] 본 발명을 이끈 연구는 또한 Artery Therapeutics, Inc.와의 지원 연구 계약(다른 계약서 LB05-001119에 대한 LBNL Work) 및 캘리포니아주 담배 관련 질환 연구 프로그램(Tobacco Related Disease Research Program)에 의해 지원받은 보조금 13IT-0025호에 의해 자금을 지원받았다.

## 배경기술

[0007] 심혈관 질환(CVD)은 미국에서 및 전세계에 걸쳐 이환율 및 사망률의 주요 요인이다. 동맥 벽 내 거대세포에서의 콜레스테롤의 축적은 CVD의 주요 원인을 구성하는 죽상동맥경화증 및 거품 세포 형성을 촉진한다[Schmitz, G. and Kaminski, W.E., "ATP-binding cassette (ABC) transporters in atherosclerosis" Curr Atheroscler Rep., 4(3):243-51 (2002)]. 거대세포에서의 콜레스테롤 축적은 VLDL, IDL 및 LDL과 같은 지단백질 입자를 포함하는 아포지단백질 B에 의한 침착과 아포A-I 및 아포E 입자에 의한 콜레스테롤 제거 사이의 균형에 크게 의존한다. 스타틴류 및 다른 콜레스테롤 저하 약제에 의한 혈장 LDL 농도의 저하는 CVD 사례의 대략 1/3을 예방하지만, CVD 사례의 2/3는 여전히 존재한다(예를 들면, 문헌[Randomized trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S), Lancet, 344(8934):1383-1389 (1994)]; Influence of pravastatin and plasma lipids on clinical events in West of Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS), Circulation, 197(15):1440-5 (1998)] 참조). 후자는 엄청난 충족되지 못한 의학적 수요를 구성한다.

[0008] 혈장 HDL 콜레스테롤 수치 상승은 죽상동맥경화증의 위험 감소와 관련된다(Gordon et al., "High Density Lipoprotein As A Protective Factor Against Coronary Heart Disease," Am. J. Med., 62:707-14 (1977)). 최근 역학 연구에 의하면 HDL 보호 효과는 이의 주요성분 아포지단백질, 아포A-I에 의한 것으로 설명할 수 있다(Walldius, G. et al., High Apolipoprotein B, Low Apolipoprotein A-I, And Improvement In The Prediction of Fatal Myocardial Infarction (AMORIS study): A Prospective Study," Lancet, 358(9298):2026-33 (2001); Yusuf et al., "Effect of Potentially Modifiable Risk Factors Associated With Myocardial Infarction in 52 Countries (the INTERHEART study): Case-control Study," Lancet, 364(9438):937-52 (2004)). HDL의 유리한 효과는, 부분적으로는, 항동맥경화 콜레스테롤 역수송(RCT) 경로를 매개하는 데 있어서의 활성화와 관련된다. RCT는 대변으로의 스테롤 배설을 위한 말초 거대세포로부터의 간으로의 콜레스테롤의 수송을 포함한다(Lewis et al., "New Insights Into The Regulation of HDL Metabolism and Reverse Cholesterol Transport," Circ. Res., 96:1221-32 (2005)). RCT의 속도 제한 단계는, 아포A-I 및 아포E와 같은 천연 아포지단백질에 의해 매개되는, 거대세포로부터의 콜레스테롤 유출의 자극을 포함한다. 이러한 콜레스테롤 유출 과정은 원초(nascent) HDL을 발생시키고 ATP 결합 카세트 수송체 A1(ABCA1)을 필요로 하거나, 그렇지 않으면 죽상동맥경화증이 발병한다(Calpe-Berdiel et al., "Direct Evidence In Vivo of Impaired Macrophage-Specific Reverse Cholesterol Transport in ATP-Binding Cassette Transporter A1-Deficient Mice," Biochim. Biophys. Acta., 1738(1-3):6-9 (2005)). ABCA1은 혈장 HDL의 심각한 결핍증 및 조기 죽상동맥경화증을 특징으로 하는 탄지에르 질환(Tangiers disease)에서의 불완전한 분자이다(Attie et al., "Pivotal Role of ABCA1 in Reverse Cholesterol Transport Influencing HDL Levels and Susceptibility to Atherosclerosis," J Lipid Res., 42(11):1717-26 (2001)). 또한, 아포지단백질 A 및 E는 세포 ABCA1 단백질의 분해를 방지하여 이를 안정화시키고, 이것은 높은 수치의 세포 콜레스테롤 배출 및 HDL 어셈블리를 보장한다.

[0009] HDL의 임상적 중요성은 치료 목적을 위해 RCT를 조작하는 전략 개발에서 관심을 유발하였다. 개념 연구의 탐험

증명은 인지질 복합체에서, 예를 들면 프리아포A-I, 아포A-I 밀라노 및 아포A-I 2 야생형과 같은 전장 아포A-I 변이체에 의한 주사는 RCT를 증가시키고(Eriksson et al., Stimulation of Fecal Steroid Excretion After Infusion of Recombinant Proapolipoprotein A-I. Potential Reverse Cholesterol Transport in Humans," Circulation, 100(6):594-8 (1999)), 관상동맥 죽상동맥경화증을 퇴보시킨다(Nissen et al., "Effect of Recombinant ApoA-I Milano on Coronary Atherosclerosis in Patients with Acute Coronary Syndromes: A Randomized Controlled Trial," JAMA, 290(17):2292-300 (2003); Tardif et al., "Effect of rHDL on Atherosclerosis-Safety and Efficacy (ERASE) Investigators," JAMA, 297:1675-82. Epub March 26 (2007))는 것을 보여준다. 전장 아포A-I 단백질은 비록 유망하긴 하지만 상업 제품으로 개발되는 경우 치료제로서 몇몇 단점을 갖는다. 예를 들면, 아포A-I는 상업 제품에 필요한 분량으로 생산하기에 결코 간단하지 않은 243개 아미노산 길이의 단백질이다. 또한, 밀라노 및 파리 변이체와 같은 아포A-I 변이체는 이의 외래 성질로 인해 면역 반응을 일으킬 수 있다.

[0010] 따라서, 당해 분야에서 죽상동맥경화성 경화반을 안정화 및 퇴보시키기 위해, 즉 심혈관 질환을 치료하기 위해 콜레스테롤 유출을 매개하는 강력한 RCT 경로를 이용하는 추가 조성물 및 방법에 대한 수요가 존재한다. 놀랍게도, 본 발명은 이러한 조성물 및 방법을 제공함으로써 상기 수요 및 다른 수요를 충족시킨다.

### 발명의 내용

[0011] 본 발명은 지질 대사에 미치는 효과를 갖는 펩티드에 관한 것이다. 지질은 중요한 세포 구조 성분이고, 프로스타글란딘, 반응성 산화 종 등을 비롯하여 기본적인 세포 신호전달에 대한 공급 물질을 제공한다. 신호전달 경로를 통해, 지질은 또한 예를 들면 염증 자극에 대한 사이토카인 반응의 조절에 기여한다. 이러한 지질 효과는 죽상동맥경화증 및 신경성, 염증성 및 전염성 질환 증상을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는 몇몇 질환 상태에 연루된다. 펩티드는 직접적으로 또는 매개체를 통해 그 효과를 발휘한다. 매개체로는 HDL, ABC 수송체 및 산화 및 염증에 대한 매개체를 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다.

[0012] 일 양태에서, 본 발명은 따라서 중량 기준으로 전장 아포지단백질(예를 들면, 아포A-I 및 아포E)의 콜레스테롤 유출 활성과 유사한, 바람직하게는 이를 초과하는 콜레스테롤 유출 활성을 갖고, 전장 아포지단백질의 ABCA1에 대한 선택도와 유사한 ABCA1에 대한 높은 선택도를 갖는 폴리펩티드의 패밀리를 제공한다. 보다 특히, 본 발명은 ABCA1에 대한 고친화성 기능성 리간드로서 작용하고, 분자 기준으로 대략 천연 아포지단백질의 커패시티 및 효능으로 세포 콜레스테롤 유출을 자극하는 비천연 폴리펩티드의 패밀리를 제공한다. 본 발명의 폴리펩티드는 생체내 거대세포 거품 세포로부터의 콜레스테롤 유출을 자극하고, 지속적인 대변 스테롤 분비 증가를 촉진하며, 고콜레스테롤혈증 마우스에서 죽상동맥경화증의 중증도를 감소시킨다.

[0013] 본 발명의 폴리펩티드, 즉 ABCA1에 대해 강력한 및 선택적 활성을 갖는 폴리펩티드는 ABCA1 안정화 및 ABCA1-지질 유출 활성을 촉진하게 위해 치료학적으로 사용될 수 있고, 죽상동맥경화증을 감소시키기 위한 심혈관 질환의 치료를 위해 단독으로 또는 별법으로 다른 공지된 약리학적 제제와 복합제로 사용될 수 있다. 또한, 본 발명의 폴리펩티드는 경화반 지질 함량을 감소시키고 취약성 경화반을 안정화시키기 위한 급성 관상동맥 증후군의 치료를 위해 단독으로 또는 별법으로 다른 공지된 약리학적 제제와 복합제로 사용될 수 있다. 또한, 본 발명의 폴리펩티드는 혈장 HDL 농도를 상승시키고/시키거나 콜레스테롤 역수송을 촉진하기 위한 이상지질혈증, 고콜레스테롤혈증 및 염증의 치료를 위해 단독으로 또는 별법으로 다른 공지된 약리학적 제제와 복합제로 사용될 수 있다.

[0014] 본 발명의 펩티드는 펩티드의 약동학적 특성 및 약력학적 특성을 함께 규정하는 특정한 특징을 포함한다. 이러한 특징으로  $\alpha$ -나선 구조의 축을 따른 아미노산의  $\alpha$ -나선 구조 및 양친매성 배향을 들 수 있다. 펩티드는 친수성 축을 따라 2개의 개별적인 산성 잔기 자리를 포함한다.  $\alpha$ -나선 구조는 추가로 지질-물 중간 상에서 천연 아미노산 염 브릿지 형성에 의해 강요된다. 또한, 펩티드, 예를 들면 L 아미노산 및 D 아미노산을 포함하는 펩티드는 실질적인 입체 특이적 효과가 부족하고 반전 형태도 동일하게 훌륭히 기능한다. 펩티드는 혈장에서 HDL에 선택적으로 결합하고 세포에서 ABCA1 수송체를 표적으로 하는 20개 아미노산 잔기의 코어 서열을 포함한다.

[0015] 약력학적 특성은 소수성 특성에 의해 가능해지고, 예를 들면  $\alpha$ -나선의 축을 따른 소수성 쉼기각은 펩티드를 ABCA1 수송체 근처의 세포막에 위치시켜 기능성 상호작용을 허용한다. 따라서, 펩티드는 최소 비특이적 세포막 효과로 ABCA1 특이적 지질 유출을 부여한다는 점에서 생리학적 방식으로 세포막과 상호작용한다.

[0016] 추가 양태에서, 본 발명은, 부분적으로는, 20개 아미노산 길이의 소형 펩티드에서 단일 나선의 비극성 표면적이 나선 내 적절한 위치, 예를 들면 10번, 12번 위치 등에서 L, F, I, W와 같은 소수성 잔기를 사용함으로써 확장되어(즉, 소수성 점유 공간이 증가할 수 있음) 20개 아미노산 코어 서열을 갖고 천연 ABCA1 유출 자극 활성을

갖는, 즉 프롤린을 통해 연결된 복수의 양친매성  $\alpha$ -나선 구조를 갖는 아포A-I 과 같은 천연 단백질의 콜레스테롤 유출 활성화에 필적하는 ABCA1 유출 활성을 성취한, 소형 단일 나선 펩티드를 제공한다는 발견에 기초한다. 또한, 몇몇 실시양태에서, 본 발명은 펩티드가 인지질 제제에 대한 필요성을 제거하는 수치로 HDL에 결합할 수 있는 확장된 소수성 점유 공간을 갖는 20개 아미노산 길이의 펩티드를 제공한다.

[0017] 일 양태에서, 본 발명은  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$  (여기서,  $X_1$ ,  $X_7$ ,  $X_{11}$  및  $X_{15}$ 는 E 및 D로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 아미노산이고;  $X_4$  및  $X_{18}$ 은 E, D 및 A로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 아미노산이고;  $X_9$ ,  $X_{10}$ ,  $X_{13}$ ,  $X_{16}$  및  $X_{20}$ 은 F, L 및 W로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 아미노산이고;  $X_{17}$ 은 아미노산 L, A, F 또는 W이고;  $X_3$ ,  $X_5$  및  $X_{19}$ 는 R 및 K로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 아미노산이고;  $X_{14}$ 는 아미노산 R, A 또는 E이고;  $X_2$ ,  $X_6$ ,  $X_8$  및  $X_{12}$ 는 L, V 및 A로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 아미노산이고; 각 문자는 종래 1자리 아미노산 코드를 나타낸다)의 아미노산 서열을 포함하는(특정한 실시양태에서, 이것으로 이루어지거나, 별법으로 실질적으로 이것으로 이루어지는) 단리된 폴리펩티드를 제공한다.

[0018] 또한, 본 발명은  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$  (서열 번호 1)(여기서,  $X_1$ ,  $X_7$  및  $X_{15}$ 는 E 및 D로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 아미노산이고;  $X_4$ ,  $X_{11}$  및  $X_{18}$ 은 E, D, A 및 G로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 아미노산이고;  $X_2$ ,  $X_6$ ,  $X_9$ ,  $X_{10}$ ,  $X_{12}$ ,  $X_{13}$ ,  $X_{16}$ ,  $X_{17}$  및  $X_{20}$ 은 F, L, W, I, V 및 A로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 아미노산이고;  $X_3$ ,  $X_5$  및  $X_{19}$ 는 R, K 및 C로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 아미노산이고;  $X_{14}$ 는 아미노산 R, A, E 또는 C이고;  $X_8$ 은 A, G 또는 V이다)의 아미노산 서열을 포함하는(특정한 실시양태에서, 이것으로 이루어지거나, 별법으로 실질적으로 이것으로 이루어지는) 폴리펩티드를 제공한다. 본 발명의 상기 펩티드의 몇몇 실시양태에서,  $X_2$ ,  $X_6$ ,  $X_9$ ,  $X_{10}$ ,  $X_{12}$ ,  $X_{13}$ ,  $X_{16}$ ,  $X_{17}$  및  $X_{20}$ 은 F, L, I 및 W로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. 몇몇 실시양태에서,  $X_4$ ,  $X_{11}$  및  $X_{18}$ 은 A, D 및 E로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. 몇몇 실시양태에서,  $X_4$ 번 및  $X_{11}$ 번 위치는 A이다. 몇몇 실시양태에서,  $X_4$ 번 및  $X_{11}$ 번 위치는 D 및 E로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. 몇몇 실시양태에서,  $X_9$ 는 L, F 또는 W이다. 몇몇 실시양태에서, 위치  $X_2$ ,  $X_6$ ,  $X_{12}$  및  $X_{17}$  위치 중 3곳 이상은 L이다. 몇몇 실시양태에서,  $X_{14}$ 는 R이고;  $X_{17}$ 은 L 또는 F이다. 몇몇 실시양태에서,  $X_8$ 은 A이다. 몇몇 실시양태에서,  $X_2$ 는 L 또는 V이다. 몇몇 실시양태에서,  $X_6$ ,  $X_{10}$ ,  $X_{12}$ ,  $X_{13}$ ,  $X_{16}$ ,  $X_{17}$  및  $X_{20}$ 은 F, L, I 및 W로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. 몇몇 실시양태에서,  $X_6$ ,  $X_{10}$ ,  $X_{12}$ ,  $X_{13}$ ,  $X_{16}$ ,  $X_{17}$  및  $X_{20}$ 은 F 및 L로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0019] 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 펩티드는  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7AX_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$  (서열 번호 27)(여기서,  $X_1$ ,  $X_7$ ,  $X_{15}$  및  $X_{18}$ 은 D 및 E로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;  $X_2$ 는 L, I 또는 V이고;  $X_4$  및  $X_{11}$ 은 D, E 및 A로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;  $X_3$ ,  $X_5$  및  $X_{19}$ 는 K 및 R로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;  $X_9$ 는 W, F 또는 L이고;  $X_{14}$ 는 R, E 또는 A이고;  $X_6$ ,  $X_{10}$ ,  $X_{12}$ ,  $X_{13}$ ,  $X_{16}$ ,  $X_{17}$  및  $X_{20}$ 은 F, L, I 및 W로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다)의 아미노산 서열을 포함한다(특정한 실시양태에서, 이것으로 이루어지거나, 별법으로 실질적으로 이것으로 이루어진다). 몇몇 실시양태에서,  $X_{10}$ ,  $X_{12}$ ,  $X_{13}$ ,  $X_{16}$ ,  $X_{17}$  및  $X_{20}$ 은 F 및 L로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0020] 몇몇 실시양태에서, 본 발명은  $X_1LRAX_3LX_7AX_9X_{10}AX_{12}X_{13}RX_{15}X_{16}X_{17}X_{18}RX_{20}$  (서열 번호 28)(여기서,  $X_1$ ,  $X_7$ ,  $X_{15}$  및  $X_{18}$ 은 D 및 E로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;  $X_5$ 는 K 또는 R이고;  $X_9$ 는 W, L 또는 F이고;  $X_{10}$ ,  $X_{12}$ ,  $X_{13}$ ,  $X_{16}$ ,  $X_{17}$  및  $X_{20}$ 은 F 및 L로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다)의 아미노산 서열을 포함하는(특정한 실시양태에서, 이것으로 이루어지거나, 별법으로 실질적으로 이것으로 이루어지는) 펩티드를 제공한다.

[0021] 몇몇 실시양태에서, 본 발명은  $X_1LRX_4X_3LX_7AX_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}RX_{15}X_{16}X_{17}X_{18}RX_{20}$  (서열 번호 29)(여기서,

X<sub>1</sub>, X<sub>4</sub>, X<sub>7</sub>, X<sub>11</sub>, X<sub>15</sub> 및 X<sub>18</sub>은 D 및 E로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고; X<sub>5</sub>는 K 또는 R이고; X<sub>9</sub>는 F, L 또는 W이고; X<sub>10</sub>, X<sub>12</sub>, X<sub>13</sub>, X<sub>16</sub>, X<sub>17</sub> 및 X<sub>20</sub>은 F 및 L로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다)의 아미노산 서열을 포함하는(특정한 실시양태에서, 이것으로 이루어지거나, 별법으로 실질적으로 이것으로 이루어지는) 펩티드를 제공한다.

[0022] 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 펩티드는 ELR(D/E)(K/R)LEA(W/F/L)(F/L)(D/E)L(F/L)RE(F/L)LER(F/L) (서열 번호 30)을 포함한다(특정한 실시양태에서, 이것으로 이루어지거나, 별법으로 실질적으로 이것으로 이루어진다).

[0023] 몇몇 실시양태에서, 본원에 기재된 본 발명의 펩티드는 C, K, Y 또는 L로 이루어진 군으로부터 선택되는 X<sub>21</sub>을 더 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 X<sub>21</sub>이 C, K, Y 및 L로 이루어진 군으로부터 선택되고, X<sub>22</sub>가 S 또는 C인 X<sub>21</sub> 및 X<sub>22</sub>를 더 포함한다. 몇몇 실시양태에서, X<sub>21</sub>은 K이다. 몇몇 실시양태에서, X<sub>22</sub>는 S이다. 몇몇 실시양태에서, X<sub>21</sub> 또는 X<sub>22</sub>는 C이다. 본 발명의 폴리펩티드는 콜레스테롤 유출 활성 및 ABCA1 안정화 활성을 갖는다.

[0024] 몇몇 실시양태에서, 시스테인은, 양친매성 α-나선의 지질-물 계면에서 아르기닌 또는 리신과 같은 양으로 하전된 아미노산에 대한 치환으로서, 본 발명의 펩티드, 예를 들면 서열 번호 2-33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 펩티드로 도입된다. 통상적으로, 시스테인 치환을 포함하는 본 발명의 펩티드는 펩티드 및/또는 나선 분절마다 1개의 시스테인을 갖는다. 따라서 몇몇 실시양태에서, 시스테인은 서열 번호 1의 3번, 5번, 14번 또는 19번 위치에 존재하거나, 서열 번호 27, 28, 39 또는 30의 3번, 5번, 14번 또는 19번 위치에서 치환된다. 예를 들면, 특정한 실시양태에서 본 발명의 펩티드, 예를 들면 서열 번호 2의 펩티드는 R3→C, K5→C, R14→C 및 R19→C의 치환 중 1개를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 서열 번호 27, 28, 29 또는 30의 펩티드는 또한 3번, 5번, 14번 또는 19번 위치에서 시스테인 치환을 포함할 수 있다. 특정한 실시양태에서, 본 발명의 펩티드는 서열 번호 1에 서의 시스테인 또는 서열 번호 27, 28, 39 또는 30의 3번, 5번, 14번 또는 19번 위치에서 치환된 시스테인 및 21번 또는 22번 위치에서의 제2 시스테인 잔기를 포함할 수 있다.

[0025] 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는

[0026] ELREKLEAWFELFREFLERF(서열 번호 2),

[0027] ELRERLEAWFELFREFLERF(서열 번호 3),

[0028] ELRDKLEAWFDLFRDFLDRF(서열 번호 4),

[0029] DLRDKLDAWFDLFRDFLDRF(서열 번호 5),

[0030] ELRDRLEAWFDLFRDFLDRF(서열 번호 6),

[0031] DLRDRLDAWFDLFRDFLDRF(서열 번호 7),

[0032] ELREKLEAWLELLRELLERL(서열 번호 8),

[0033] ELRERLEAWLELLRELLERL(서열 번호 9),

[0034] ELRDKLEAWDLLRELLERL(서열 번호 10),

[0035] DLRDKLDAWLDLLRDLLDRL(서열 번호 11),

[0036] ELRDRLEAWDLLRELLERL(서열 번호 12),

[0037] DLRDRLDAWLDLLRDLLDRL(서열 번호 13),

[0038] EVREKLEAWFEAFREFAERFKS(서열 번호 14).

[0039] EVREKLEAWFELFREFAERFKS(서열 번호 15),

[0040] EVREKLEAWFELFREFAERFLS(서열 번호 16),

[0041] EVREKLEAWFELFREFLERFKS(서열 번호 17),



- [0042] EVREKLEAWFELFREFLERFLS(서열 번호 18),
- [0043] EVREKLEAWFELFREFLERFL(서열 번호 19),
- [0044] EVREKLEAWFELFREFLERF(서열 번호 20),
- [0045] EIREKIEAWIEIIREIIERI(서열 번호 21),
- [0046] ELREKLEAWFELFEEFFARFKS(서열 번호 22),
- [0047] ELREKLEAWFELFAEFFARFKS(서열 번호 23),
- [0048] ELREKLEAWFELFAEFFARFK(서열 번호 24),
- [0049] ELREKLEAWFELFAEFFARF(서열 번호 25),
- [0050] ELRAKLEAWFEAFAEFFARF(서열 번호 26),
- [0051] ELREKLEAWFELFREFLERFKS(서열 번호 31)
- [0052] ELREKLEALFELFREFLERF(서열 번호 32) 및
- [0053] ELREKLEAFFELFREFLERF(서열 번호 33)
- [0054] 로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다(특정한 실시양태에서, 이것으로 이루어지거나, 별 방법으로 실질적으로 이것으로 이루어진다).
- [0055] 다른 양태에서, 본 발명은 서열 번호 2-26, 31, 32 또는 33의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드의 폴리펩티드 변이체를 제공한다. 일 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열 번호 2-26, 31, 32 및 33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열에 적어도 75%의 동일성을 갖는다. 바람직한 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열 번호 2-26, 31, 32 및 33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 폴리펩티드에 적어도 75%의 동일성, 바람직하게는 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는다.
- [0056] 또한, 본 발명은 표 A, 표 B 또는 표 C에서 실시예 2에 기재된 서열을 갖고, 콜레스테롤 유출 활성을 갖는 폴리펩티드를 제공한다.
- [0057] 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 펩티드는, 예를 들면 프롤린 잔기를 통해, 콜레스테롤 유출 활성을 갖는 다른 양친매성 알파 나선 펩티드에 연결된다. 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 펩티드는 본 발명의 제2의 펩티드에 연결된다. 본 발명의 제2의 펩티드는 동일한 펩티드 또는 상이한 펩티드일 수 있다. 따라서, 본 발명은 또한 하나 이상의 본 발명의 펩티드를 포함하는 콜레스테롤 유출 활성을 갖는 폴리펩티드를 제공한다.
- [0058] 일 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 보호기를 더 포함한다. 예를 들면, 구성 아미노산 및/또는 말단 아미노산에서의 R 기가 차단될 수 있도록, 즉 보호기에 의해 보호될 수 있도록 폴리펩티드를 변형시킬 수 있다. 특히 아미노 및/또는 카르복시 말단의 봉쇄는 경구 전달을 크게 개선하고 혈청 반감기를 유의적으로 증가시킬 수 있는 것으로 밝혀졌다. 따라서, 일 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 아미노 또는 카르복시 말단에 연결된 보호기를 더 포함한다. 일 실시양태에서, 폴리펩티드는 아미노 말단에 연결된 제1 보호기 및 카르복시 말단에 연결된 제2 보호기를 더 포함한다.
- [0059] 적합한 보호기로는 아세틸(Ac), 아마이드, 탄소수 3 내지 20의 알킬 기, Fmoc, t-부톡시카르보닐(Tboc), 9-플루오렌아세틸 기, 1-플루오렌카르복실 기, 9-플루오렌카르복실 기, 9-플루오렌-1-카르복실 기, 벤질옥시카르보닐, 크산틸(Xan), 트리틸(Trt), 4-메틸트리틸(Mtt), 4-메톡시트리틸(Mmt), 4-메톡시-2,3,6-트리메틸-벤젠설포닐(Mtr), 메시틸렌-2-설포닐(Mts), 4,4-디메톡시벤즈히드릴(Mbh), 토실(Tos), 2,2,5,7,8-펜타메틸 크로만-6-설포닐(Pmc), 4-메틸벤질(MeBzl), 4-메톡시벤질(MeOBzl), 벤질옥시(BzlO), 벤질(Bzl), 벤조일(Bz), 3-니트로-2-피리딘설포닐(Npys), 1-(4,4-디메틸-2,6-디옥소사이클로헥실리덴)에틸(Dde), 2,6-디클로로벤질(2,6-DiCl-Bzl), 2-클로로벤질옥시카르보닐(2-Cl-Z), 2-브로모벤질옥시카르보닐(2-Br-Z), 벤질옥시메틸(Bom), 사이클로헥실옥시(cHxO), t-부톡시메틸(Bum), t-부톡시(tBuO), t-부틸(tBu) 및 트리플루오로아세틸(TFA)을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0060] 바람직한 실시양태에서, 폴리펩티드는 아미노 말단에 연결된 제1 보호기를 포함하고, 제1 보호기로는 아세틸, 프로피오닐 및 탄소수 3 내지 20의 알킬을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 바람직한 실시양태에서, 제1 보호기는 아세틸이다. 다른 바람직한 실시양태에서, 폴리펩티드는 카르복시 말단에 연결된 제2 보호기를 포

함하고, 제2 보호기는 아미드이다.

- [0061] 본 발명의 폴리펩티드는 모든 "L" 아미노산, 모든 "D" 아미노산 또는 "L" 아미노산과 "D" 아미노산의 혼합물을 포함할 수 있다. 놀랍게도, 모든 D-아미노산을 포함하는 폴리펩티드가 L-아미노산 폴리펩티드와 같이 높은 커페시티 및 높은 친화도로 콜레스테롤 유출을 자극하는 것으로 밝혀졌다.
- [0062] 본 발명의 폴리펩티드는 콜레스테롤 유출 활성을 갖는다. 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 ABCA1 안정화 활성을 갖는다. 일 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 산화제에 의한 산화로부터 인지질을 보호한다(즉, 폴리펩티드는 항산화 활성을 갖는다). 일 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 소염 활성을 갖는다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 상기 활성 중 1 이상을 포함한다. 훨씬 더 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 상기 활성을 각각 포함한다.
- [0063] 본 발명의 펩티드는 통상적으로 인간 혈장에서 HDL 입자의 대부분인 특별한 알파-HDL 입자와 결합/상호작용하여 인간 혈장에서 프리β-1 HDL 형성을 유도하고, 알파-HDL 입자를 개형시켜 아포A-I를 대체시키고, 이로써 프리β HDL 입자를 생성시킨다.
- [0064] 또한, 본 발명의 펩티드는 강력하고(혈장에서) 2:1의 펩티드:아포A-I의 몰 비로, 보다 통상적으로 1:1의 몰 비로, 심지어 더 흔히 1:5 또는 1:10 또는 그 이하의 몰 비로 프리β-1 및 ABCA1 매개 콜레스테롤 유출을 유도한다.
- [0065] 본 발명의 추가 실시양태는 본원에 기재된 1종 이상의 폴리펩티드 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 몇몇 실시양태에서, 약학 조성물은 콜레스테롤 유출과 관련된 질환 또는 질병(예를 들면, 심혈관 질환)을 치료하기 위해 추가 치료제(예를 들면, 스타틴류, 예컨대 아토르바스타틴, 로바스타틴, 프라바스타틴, 심바스타틴, 플루바스타틴 또는 로수바스타틴; 담즙산 결합제, 예컨대 콜레스티라민 또는 콜레스티폴; Nieman-Pick C1 유사 1 스테롤 수송체 채널 억제제, 예컨대 에제티미베; 혈소판 응집 억제제, 예컨대 아스피린, 티클로피딘 또는 클로피도그렐, 니아신/니코틴아미드, PPAR 활성화제, 비타민 E 또는 이들의 복합제)를 포함한다.
- [0066] 본 발명의 다른 양태는 본원에 개시된 폴리펩티드의 펩티드 모방체를 제공한다. 일 실시양태에서, 본 발명은 서열 번호 1, 서열 번호 27, 서열 번호 28, 서열 번호 29 또는 서열 번호 30의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드로서 실질적인 3차원 입체구조를 갖는 펩티드 모방체를 제공한다. 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열 번호 2-26, 31, 32 및 33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산을 갖는 폴리펩티드로서 실질적인 3차원 입체구조를 갖는 펩티드 모방체를 제공한다. 일 실시양태에서, 펩티드 모방체는 레트로-인버소(retro-inverso) 유사체이다. 다른 실시양태에서, 펩티드 모방체는 레트로-에난티오(retro-enantio) 유사체이다. 또 다른 실시양태에서, 펩티드 모방체는 트랜스-올레핀 유사체이다. 본원에 개시된 바대로, 본 발명의 펩티드 모방체는 다른 골격 변형을 포함할 수 있다. 본 발명의 폴리펩티드와 같이, 본 발명의 펩티드 모방체는 보호기, 바람직하게는 아미노 및 카르복시 말단 둘 다에서의 보호기를 더 포함할 수 있다.
- [0067] 다른 양태에서, 본 발명은 1개의 α-나선 분절을 포함하고 콜레스테롤 유출 활성을 갖는 펩티드, 예를 들면 서열 번호 1-33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 펩티드로서 동일한 ABCA1 결합 부위에 결합하는 양친매성 α-나선 펩티드를 제공한다. 본 발명은 추가로 HDL에 결합하는 양친매성 α-나선 펩티드를 제공한다. 또한, 본 발명은 추가로 예를 들면 ABCA1 특이적 콜레스테롤 유출을 자극하는 단일 20개 아미노산 α-나선 펩티드 구성성분, 몇몇 실시양태에서 21개 아미노산 또는 22개 아미노산 α-나선 펩티드 구성성분을 갖는 단리된 양친매성 α-나선 펩티드를 제공한다.
- [0068] 추가 양태에서, 본 발명은 본 발명의 폴리펩티드, 예컨대 서열 번호 1-33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드 또는 지질과 복합체화된 이의 펩티드 모방체를 포함하는 조성물을 제공한다. 일 실시양태에서, 지질은 인지질이다. 다른 실시양태에서, 인지질은 1-팔미토일-2-올레오일-sn-글리세롤-3-포스파티딜콜린("POPC")이다. 또 다른 실시양태에서, 조성물은 약학적으로 허용되는 담체를 더 포함한다.
- [0069] 본 발명의 또 다른 양태는 포유동물 피험자(예를 들면, 영장류, 예컨대 인간 또는 침팬지 또는 설치류, 예컨대 랫트 또는 마우스)에게 본원에 기재된 1종 이상의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 투여하여 피험자에서 콜레스테롤 유출을 매개하는 방법을 제공한다. 당업자라면 이러한 폴리펩티드(또는 펩티드 모방체)를 코딩하는 핵산을 폴리펩티드(또는 펩티드 모방체) 투여 대신에 피험자에게 투여할 수 있다는 것을 이해할 것이다. 본 발명은 이러한 핵산을 제공한다. 이의 콜레스테롤 유출 활성에 기초하여, 이상지질혈증, 고콜레스테롤혈증 및 염증과 관련된 질환 또는 병증을 치료, 완화 또는 예방하기 위해 본 발명의 폴리펩티드 및 펩티드 모방체를 유리하게는

사용할 수 있다.

- [0070] 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 폴리펩티드, 예를 들면 서열 번호 1-33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 폴리펩티드를 포함하는 치료 또는 진단 제제의 전달을 위한 합성 지질 입자, 예를 들면 합성 LDL 또는 HDL 입자를 제공한다. 예를 들면, 암 치료 또는 감염 치료에 대한 치료제를 전달하기 위해 이러한 입자를 사용할 수 있다.
- [0071] 본 발명의 또 다른 양태는 피험자에게 본원에 기재된 1종 이상의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 투여하여 포유동물에서 죽상동맥경화증의 증상을 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다. 또한, 당업자라면 이러한 폴리펩티드(또는 펩티드 모방체)를 코딩하는 핵산을 폴리펩티드(또는 펩티드 모방체) 투여 대신에 피험자에게 투여할 수 있다는 것을 이해할 것이다. 이러한 핵산은 본 발명에 의해 제공된다. 이 방법의 일 실시양태에서, 포유동물은 죽상동맥경화증의 1종 이상의 증상을 갖고 있는 것으로 진단된 포유동물이다. 다른 실시양태에서, 포유동물은 죽상동맥경화증에 대한 위험이 있는 것으로 진단된다. 바람직하게는, 포유동물은 인간이지만, 또한 비인간 동물일 수 있다. 예시적인 일 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열 번호 1, 서열 번호 27, 서열 번호 28, 서열 번호 29 또는 서열 번호 30의 아미노산 서열 또는 서열 번호 2-26, 31, 32 및 33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는다.
- [0072] 다른 관련 실시양태에서, 상기 방법은 하나 이상의 추가 치료제를 투여하는 단계를 더 포함한다. 이러한 치료제의 예로는 항체, 효소 억제제, 항박테리아제, 항바이러스제, 스테로이드제, 비스테로이드성 소염 제제, 대사길항물질, 사이토카인 또는 가용성 사이토카인 수용체를 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 효소 억제제는 프로테아제 억제제 또는 사이클로옥시제나제 억제제일 수 있다. 추가 제제를 약학 조성물의 일부로서 첨가할 수 있거나, 추가 제제의 생리학적 효과가 본 발명의 폴리펩티드(들) 또는 펩티드 모방체(들)의 생리학적 효과와 중첩될 때 동시에 또는 시간 기간 내에 투여할 수 있다. 보다 구체적으로, 추가 제제를 동시에 또는 폴리펩티드(들) 또는 펩티드 모방체(들)의 투여 1주, 수일, 24 시간, 8 시간 후 또는 직후 투여할 수 있다. 별법으로, 추가 제제를 폴리펩티드(들) 또는 펩티드 모방체(들)의 투여 1주, 수일, 24 시간, 8 시간 후 또는 직후 투여할 수 있다.
- [0073] 본 발명의 또 다른 양태는 포유동물에게 본원에 기재된 1종 이상의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 투여하는 단계를 포함하는 취약성 경화반을 안정화시키는 방법을 제공한다. 또한, 당업자라면 이러한 폴리펩티드를 코딩하는 핵산을 폴리펩티드 투여 대신에 투여할 수 있다는 것을 이해할 것이다. 이러한 핵산은 본 발명에 의해 제공된다. 이 방법의 일 실시양태에서, 포유동물은 하나 이상의 취약성 경화반을 갖고 있는 것으로 진단된 포유동물이다. 다른 실시양태에서, 포유동물은 취약성 경화반(들)을 가질 위험이 있는 것으로 진단된다. 바람직하게는, 포유동물은 인간이지만, 또한 비인간 동물일 수 있다. 몇몇 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열 번호 1, 서열 번호 27, 서열 번호 28, 서열 번호 29 또는 서열 번호 30의 아미노산 서열을 갖는다. 몇몇 실시양태에서, 펩티드는 서열 번호 2-26, 31, 32 및 33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는다.
- [0074] 또한, 본 발명은 이상지질혈증, 고콜레스테롤혈증 또는 염증과 관련된 질환 또는 병증을 치료하기 위한 키트를 제공한다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명은 죽상동맥경화증의 증상을 치료 또는 예방하기 위한 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 포함하는 용기를 포함하는 키트를 제공한다. 키트는 약학적으로 허용되는 담체를 더 포함할 수 있다. 또한, 키트는 죽상동맥경화증과 같은 이상지질혈증, 고콜레스테롤혈증 또는 염증과 관련된 질환 또는 병증을 치료 또는 예방하기 위한 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체의 용도를 교시하는 지시 자료를 더 포함할 수 있다. 본 발명의 키트에서 제공되는 폴리펩티드 및 펩티드 모방체는 모든 L 아미노산, 모든 D 아미노산 또는 L 아미노산과 D 아미노산의 혼합물을 포함할 수 있다.
- [0075] 상기 키트와 관련하여, 지시 자료는 약학 조성물의 사용에 대한 서면 또는 음향 지시를 비롯한 문서 또는 기록 매체를 포함할 수 있다. 지시 자료로는 예를 들면 병 위 라벨, 박스 내 삽입지, 박스 또는 상자 팩 위 인쇄물, 임의의 위치에서 제공되는 주소의 웹사이트에 제공된 지시물 등을 들 수 있다.
- [0076] 다른 양태에서, 본 발명은 (a) 서열 번호 1, 서열 번호 27, 서열 번호 28, 서열 번호 29 또는 서열 번호 30의 아미노산 서열 또는 서열 번호 2-26, 31, 32 및 33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 모폴리펩티드를 제공하는 단계; (b) 상기 폴리펩티드의 1곳 이상의 아미노산 위치를 변형시켜 폴리펩티드 변이체를 생성하는 단계; (c) 콜레스테롤 유출 활성 및/또는 ABCA 안정화 활성에 대해 상기 폴리펩티드 변이체를 스크리닝하는 단계; (d) 모폴리펩티드의 콜레스테롤 유출 활성의 80% 이상을 갖는 폴리펩티드 변이체를 선택하고/하거나 모폴리펩티드의 ABCA 안정화 활성의 80% 이상을 갖는 폴리펩티드 변이체를 선택하는 단계; 및 (e) 선택된 폴리펩티드 변이체를 합성하는 단계를 포함하는 콜레스테롤 유출 활성 및/또는 ABCA 안정화 활성을 갖는 변

이체 폴리펩티드를 제조하는 방법을 제공한다. 몇몇 실시양태에서, 예를 들면 1개, 2개, 3개 이상의 아미노산의 치환, 결실 또는 삽입에 의해 폴리펩티드를 변형시킨다. 예를 들면, 몇몇 실시양태에서, 콜레스테롤 유출 활성을 갖는 20합체를 생성하기 위해 22합체를 변형시킬 수 있다. 일 실시양태에서, 1종 이상의 아미노산을 보존적 아미노산으로 치환한다. 폴리펩티드는 1종 이상의 D 아미노산을 포함할 수 있다. 이 방법의 몇몇 실시양태에서, 변형 폴리펩티드 또는 변이체 폴리펩티드는 모든 D 아미노산을 포함한다. 또한, 폴리펩티드의 1종 이상의 아미노산을 변형시키기 위해, 폴리펩티드의 골격을 또한 변형시켜 본원에 기재된 펩티드 모방체를 제조할 수 있다.

[0077] 또 다른 양태에서, 본 발명은 포유동물에서 콜레스테롤 유출을 매개하기 위한 의약의 제조에서 1종 이상의 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체의 용도를 제공한다. 예시적 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열 번호 1-33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열 또는, 별법으로 이의 펩티드 모방체를 갖는다. 일 실시양태에서, 펩티드 모방체는 서열 번호 1-33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드로서 실질적인 3차원 입체구조를 갖는다.

[0078] 추가 양태에서, 본 발명은 포유동물에서 죽상동맥경화증의 증상을 치료하기 위한 의약의 제조에서 1종 이상의 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체의 용도를 제공한다. 예시적 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열 번호 1-33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열 또는, 별법으로 이의 펩티드 모방체를 갖는다. 일 실시양태에서, 펩티드 모방체는 서열 번호 1-33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드로서 실질적인 3차원 입체구조를 갖는다.

[0079] 다른 추가 양태에서, 본 발명은 포유동물에서 취약성 경화반을 안정화시키기 위한 의약의 제조에서 1종 이상의 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체의 용도를 제공한다. 예시적 실시양태에서, 폴리펩티드는 아미노산 서열 서열 번호 1-33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 또는, 별법으로 이의 펩티드 모방체를 갖는다. 일 실시양태에서, 펩티드 모방체는 서열 번호 1-33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드로서 실질적인 3차원 입체구조를 갖는다.

[0080] 본 발명의 다른 양태는 본 발명의 폴리펩티드를 코딩하는 단리된 핵산, 핵산을 포함하는 발현 벡터 및 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다.

[0081] 본 발명의 폴리펩티드 및 펩티드 모방체는 또한 연구 도구 및/또는 진단 도구로서 유용하다. 예를 들면, 역콜레스테롤 결핍 혈장을 갖는 피험자 및 역콜레스테롤 치료에 대한 반응자인 피험자를 확인하기 위해 상기 펩티드를 사용할 수 있다. 또한, (예를 들면, 펩티드 모방체를 비롯하여) 다른 화합물의 항죽상동맥경화 가능성을 평가하기 위해 본 발명의 폴리펩티드를 사용할 수 있다.

[0082] 또한, 특히 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 표지(예를 들면, 방사능 표지, 형광 표지 등)할 때, 동물 및 동물 모델에서 지단백질-수용체 상호작용을 조사하기 위해 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 사용할 수 있다.

[0083] 또한, 지질 대사 경로를 설명하기 위해 적절한 동물 모델을 확인하기 위해 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 사용할 수 있다. 예를 들면, 콜레스테롤 역수송에 미치는 효과를 갖는 동물 모델 및 유전자 및/또는 약물 상호작용을 확인하기 위해 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 사용할 수 있다.

[0084] 하기 상세한 설명, 실시예, 특허청구범위 및 도면을 읽으면, 본 발명의 다른 특징, 목적 및 이점 및 이의 바람직한 실시양태는 명확할 것이다.

## 도면의 간단한 설명

[0085] 도 1은 펩티드 N257-11의 나선 바퀴 다이어그램을 나타낸 것이다.

도 2는 본 발명의 펩티드(서열 번호 2)의 나선 바퀴 다이어그램 및 나선 망상 다이어그램을 나타낸 것이다. A 패널은 펩티드의 양친매성 성질을 보여주는 나선 바퀴 다이어그램을 나타낸다. B 패널은 극성 표면의 장축을 절단하고 편평하게 한 펩티드를 보여주는 나선 망상 다이어그램을 나타낸다. 흑색 원은 산성 아미노산을 나타내고, 부분 흑색 원은 양이온성 잔기를 나타낸다. 패널 둘 다에서의 숫자는 아미노산의 1차 서열을 의미한다.

도 3은 서열 번호 2 대 전장 아포A-I의 콜레스테롤 유출 활성을 보여주는 데이터를 제공한다. A 패널은 농도에 대한 콜레스테롤 유출의 의존성(지질 비함유 서열 번호 2의 펩티드(사각형); 지질 비함유 아포지단백질(아포)A-I(원형))을 보여준다. B 패널은 cAMP 존재 및 부재 하에 처리된 세포를 사용하여 결정한 ABCA1 발현에 대한 콜



레스테롤 유출의 의존성을 보여준다.

도 4는 잔기 KS가 C 말단에 첨가된 서열 번호 2의 22합체 유사체가 ABCA1 콜레스테롤 유출을 자극한다는 것을 보여주는 데이터를 제공한다.

도 5는 ABCA1 콜레스테롤 유출 활성화에 부정적으로 영향을 미치는 일 없이 서열 번호 2에서 트립토판(W)에 대해 류신(L) 또는 페닐알라닌(F)을 치환할 수 있다는 것을 보여주는 데이터를 제공한다. A 패널은 표시된 펩티드에 의한 처리에 반응하여 매질 중에 나타난 세포 [ $^3\text{H}$ ]콜레스테롤의 백분율을 보여준다. B 패널은 펩티드의 농도에 대한 콜레스테롤 유출의 의존성을 보여준다.

도 6은 활성화에 부정적으로 영향을 미치는 일 없이 콜레스테롤 유출 펩티드의 비극성 표면 상의 류신에 대해 발린을 치환할 수 있다는 것을 보여주는 데이터를 제공한다. A 패널은 표시된 펩티드에 의한 처리에 반응하여 매질 중에 나타난 세포 [ $^3\text{H}$ ]콜레스테롤의 백분율(8 시간)을 보여준다. B 패널은 펩티드의 농도에 대한 콜레스테롤 유출의 의존성을 보여준다.

도 7은 ABCA1 콜레스테롤 유출의 자극은 펩티드에서 소수성 류신 잔기의 수에 의해 영향을 받는다는 것을 보여주는 데이터를 제공한다. A 패널은 표시된 펩티드에 의한 처리에 반응하여 매질 중에 나타난 세포 [ $^3\text{H}$ ]콜레스테롤의 백분율을 보여준다. B 패널은 펩티드의 농도에 대한 콜레스테롤 유출의 의존성을 보여준다.

도 8은 ABCA1 콜레스테롤 유출 활성화에 부정적으로 영향을 미치는 일 없이 비극성 표면 상의 류신 잔기 또는 류신 잔기와 이소류신 잔기의 조합에 의해 본 발명의 펩티드를 조작할 수 있다는 것을 보여주는 데이터를 제공한다. A 패널 및 B 패널은 표시된 펩티드에 의한 처리에 반응하여 매질 중에 나타난 세포 [ $^3\text{H}$ ]콜레스테롤의 백분율을 보여준다. C 패널은 펩티드의 농도에 대한 콜레스테롤 유출의 의존성을 보여준다.

도 9는 ABCA1 콜레스테롤 유출을 자극하는 능력에 부정적으로 영향을 미치는 일 없이 비극성 표면 상의 페닐알라닌 잔기의 수를 증가시켜 본 발명의 펩티드를 조작할 수 있다는 것을 보여주는 데이터를 제공한다. A 패널은 표시된 펩티드에 의한 처리에 반응하여 매질 중에 나타난 세포 [ $^3\text{H}$ ]콜레스테롤의 백분율을 보여준다. B 패널은 펩티드의 농도에 대한 콜레스테롤 유출의 의존성을 보여준다.

도 10은 ABCA1 콜레스테롤 유출을 자극하는 능력에 부정적으로 영향을 미치는 일 없이 본 발명의 펩티드의 류신 및 페닐알라닌 잔기를 이소류신으로 대체할 수 있다는 것을 보여주는 데이터를 제공한다. A 패널은 표시된 펩티드에 의한 처리에 반응하여 매질 중에 나타난 세포 [ $^3\text{H}$ ]콜레스테롤의 백분율을 보여준다. B 패널은 펩티드의 농도에 대한 콜레스테롤 유출의 의존성을 보여준다.

도 11은 ABCA1 콜레스테롤 유출을 자극하는 능력에 부정적으로 영향을 미치는 일 없이 펩티드에서 양으로 하전된 리신에 대해 양으로 하전된 아르기닌을 치환할 수 있다는 것을 보여주는 데이터를 제공한다. A 패널은 표시된 펩티드에 의한 처리에 반응하여 매질 중에 나타난 세포 [ $^3\text{H}$ ]콜레스테롤의 백분율을 보여준다. B 패널은 펩티드의 농도에 대한 콜레스테롤 유출의 의존성을 보여준다.

도 12는 ABCA1 콜레스테롤 유출을 자극하는 능력에 부정적으로 영향을 미치는 일 없이 음으로 하전된 글루탐산에 대해 음으로 하전된 아스파르트산을 치환할 수 있다는 것을 보여주는 데이터를 제공한다. A 패널은 표시된 펩티드에 의한 처리에 반응하여 매질 중에 나타난 세포 [ $^3\text{H}$ ]콜레스테롤의 백분율을 보여준다. B 패널은 펩티드의 농도에 대한 콜레스테롤 유출의 의존성을 보여준다.

도 13은 아스파르트산 잔기 및 글루탐산 잔기가 본원에 기재된 펩티드에서 상호 교환될 수 있고 둘 중 어느 잔기도 다른 아미노산 치환과의 조합으로 사용될 수 있다는 것을 보여주는 데이터를 제공한다. 그 결과를 서열 번호 2의 펩티드를 사용하여 얻은 대조군 활성화의 백분율(8 시간)로 나타냈다.

도 14는 ABCA1 콜레스테롤 유출을 자극하는 펩티드의 능력에 부정적으로 영향을 미치는 일 없이 12번 위치에서 류신(L)에 대해 트립토판(W) 또는 페닐알라닌(F)을 치환할 수 있다는 것을 보여주는 데이터를 제공한다. A 패널 및 B 패널은 표시된 펩티드에 의한 처리에 반응하여 매질 중에 나타난 세포 [ $^3\text{H}$ ]콜레스테롤의 백분율을 보여준다.

도 15는 ABCA1 콜레스테롤 유출을 자극하는 능력에 부정적으로 영향을 미치는 일 없이 모든 D-아미노산 또는 역

서열을 갖는 본 발명의 펩티드를 사용할 수 있다는 것을 보여주는 데이터를 제공한다. 도 15는 표시된 펩티드에 의한 처리에 반응하여 매질 중에 나타난 세포 [<sup>3</sup>H]콜레스테롤의 백분율을 보여준다.

도 16은 극성 표면 상의 알라닌 치환은 ABCA1 콜레스테롤 유출을 자극하는 본 발명의 펩티드의 능력을 양호하게 증가시킨다는 것을 보여주는 데이터를 제공한다. A 패널 및 B 패널은 표시된 펩티드에 의한 처리에 반응하여 매질 중에 나타난 세포 [<sup>3</sup>H]콜레스테롤의 백분율을 보여준다. C 패널은 펩티드의 농도에 대한 콜레스테롤 유출의 의존성을 보여준다.

도 17은 ABCA1 콜레스테롤 유출을 자극하는 능력에 부정적으로 영향을 미치는 일 없이 아르기닌 14(R14) 및 글루탐산 18(E18)에 대해 알라닌을 치환할 수 있다는 것을 보여주는 데이터를 제공한다. A 패널은 표시된 펩티드에 의한 처리에 반응하여 매질 중에 나타난 세포 [<sup>3</sup>H]콜레스테롤의 백분율을 보여준다. B 패널은 펩티드의 농도에 대한 콜레스테롤 유출의 의존성을 보여준다.

도 18은 본 발명의 펩티드를 인지질과 제제화하여 ABCA1 의존 및 비의존 메커니즘을 통해 높은 수치의 세포 콜레스테롤 유출을 보조하는 복합체를 생성할 수 있다는 것을 보여주는 데이터를 제공한다. A 패널은 펩티드:POPC 복합체의 입자 크기를 나타내는 겔 사진을 보여준다. B 패널은 펩티드:POPC 복합체의 콜레스테롤 유출 활성을 보여준다.

도 19는 본 발명의 펩티드가 고지방 서구식 식이를 급식받은 아포지단백질 E 결핍 마우스에서 발생한 죽상동맥 경화증을 감소시킨다는 것을 보여주는 데이터를 제공한다. A 패널은, 병변으로 덮인 대동맥의 백분율로서, 대조군 및 펩티드 처리 마우스에서 죽상동맥경화증의 정도를 보여준다. B 패널은 Oil Red O 염색에 의해 측정된 대동맥동 경화반의 지질 함량을 보여준다.

도 20은 미엘로퍼옥시다제(MPO) 유도 산화 생성물에 내성을 부여하는 아미노산 치환의 이용을 보여주는 데이터를 제공한다. A 패널은 아크롤레인의 존재 및 부재 하에 항온처리된 서열 번호 2의 펩티드의 콜레스테롤 유출 활성을 보여준다. B 패널은 서열 번호 12의 펩티드의 콜레스테롤 유출 활성을 보여준다.

도 21은 본 발명의 펩티드는 특별한 HDL 소집단을 포함하는 매우 특이적인 메커니즘을 통해 인간 혈장에서 프리 β-1 HDL 형성을 유도한다는 것을 보여주는 데이터를 제공한다.

#### 본 발명의 예시적인 서열의 간단한 설명

서열 번호 1은 다음과 같다:

위치 <sup>1</sup>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
아미노산(들)	E	F	R	E	K	F	E	V	F	F	E	F	F	R	E	F	F	E	R	F
	D	L	K	D	R	L	D	A	L	L	D	L	L	A	D	L	L	D	K	L
		W	C	A	C	W		G	W	W	A	W	W	E		W	W	A	C	W
		I				I			I	I	I	I	I	C		I	I	I		I
		V				V			V	V	V	V	V			V	V	A		V
		A				A			A	A	A	A	A			A	A	G		A

서열 번호 27은 다음과 같다:

위치 <sup>1</sup>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
아미노산(들)	E	L	R	E	K	F	E	A	F	F	F	F	F	R	E	F	F	E	R	F
	D	I	K	D	R	L	D		L	D	D	L	L	E	D	L	L	D	K	L
		V		A		W			W	A	I	I	I	A		I	I			I

서열 번호 28은 다음과 같다:

위치 <sup>1</sup>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
아미노산(들)	E	L	R	A	K	L	E	A	F	F	E	F	F	R	E	F	F	E	R	F
	D				R		D		L	L	D	L	L		D	L	L	D		L

서열 번호 29는 다음과 같다:

위치 <sup>1</sup>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
아미노산(들)	E	L	R	E	K	L	E	A	F	F	E	F	F	R	E	F	F	E	R	F
	D			D	R		D		L	L	D	L	L		D	L	L	D		L

서열 번호 30은 다음과 같다:

ELR(D/E)(K/R)LEA(W/F/L)(F/L)(D/E)L(F/L)RE(F/L)LER(F/L)

몇몇 실시양태에서, 서열 번호 27-30의 임의의 펩티드는 C, K 또는 L인 21번 위치를 더 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 상기 펩티드는 S 또는 C인 22번 위치를 더 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 상기 펩티드는 21번 위치가 K이고 22번 위치가 S인 21번 위치 및 22번 위치를 더 포함한다.

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

### I. 서론

본 발명은 특히 강력한 콜레스테롤 유출 활성 및 ABCA 안정화 활성을 보유하는 폴리펩티드를 제공한다. 본 발명의 폴리펩티드는 아포A-I 및 아포E와 같은 천연 아포지단백질의 것과 유사한 콜레스테롤 유출 활성 및 ABCA1 안정화 활성을 갖고, 이것은 본 발명의 폴리펩티드가 비천연이라는 사실의 견지에서 매우 놀랍다. 몇몇 경우에, 본 발명의 폴리펩티드는 또한 항산화제 활성 및/또는 소염 활성을 보유한다.

따라서, 본 발명의 폴리펩티드는 소형이고, 성질상 천연 아포지단백질과 유사한 활성을 보유하면서, 자연에서 발견되지 않는 아미노산 서열을 보유한다는 점에서 독특하다. 따라서, 본 발명의 폴리펩티드는 ABCA1의 시험관 내 및 생체내 연구를 위한 중요한 생물학적 도구이고 다양한 치료학적 용도에 중요한 치료제이다.

이러한 폴리펩티드의 바람직한 실시양태는 서열 번호 1-33의 서열 및 이의 보존적 변이체에 기초한다. 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 서열 번호 1, 서열 번호 27, 28, 29 또는 30의 아미노산 서열을 갖는다. 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 서열 번호 2-26 및 31-33의 서열 번호 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 갖는다. 본 발명은 이러한 폴리펩티드를 포함하는 조성물, 이러한 폴리펩티드를 확인하고 스크리닝하고 합성하는 방법 및 이러한 폴리펩티드를 투여하여 예를 들면 (즉, 경화반 침착 완화에 의한) 심장 질환, 죽상동맥경화성 병변, 뇌졸중, 알츠하이머병과 같은 이상지질혈증, 고콜레스테롤혈증 및 염증과 관련된 질환 및 질병 및 추적 질환을 치료, 예방 또는 진단하는 방법을 제공한다. 본 발명은 이상지질혈증, 고콜레스테롤혈증 및 염증과 관련된 질환 및 질병 및 지질 추적 질환을 치료, 예방 또는 진단하기 위한 키트를 더 제공한다.

### II. 정의

"ABC" 또는 "ATP 결합 카세트"란 용어는 세포막을 통한 알로크라이트(예를 들면, 콜레스테롤)의 유출 및 유입의 조절을 담당하는 다영역 막 단백질을 의미한다. ABC 단백질은 4개의 도메인을 포함하고, 2개의 막 관동 영역(TMD)은 알로크라이트 결합 및 수송을 담당하고, 2개의 뉴클레오티드-결합 영역(NBD)은 TMD에서 입체구조 변화에 대해 ATP 가수분해의 에너지의 결합을 담당한다. 패밀리 구성원은 예를 들면 ABCA1 및 ABCA7을 포함한다(예를 들면, 문헌[Dean et al., J. Lipid Res., 42:1007-1017 (2001)] 참조). ABCA1은 문헌[Deni et al., J Biol. Chem., 279(40):41529-36 (2004)]에 규명되어 있다. ABCA1은 콜레스테롤 유출에서 역할을 담당하고 콜레스테롤 풍부 조건에 노출된 세포에서 상향 조절되고 탄지예르 질환에서의 불완전한 분자이다(Brooks-Wilson et al., Nat. Gen., 22:336-344 (1999); Bodzioch et al., Nat. Gen., 22:347-351 (1999); Rust et al., Nat. Gen., 22:352-355 (1999)). ABCA1은 신속히 전환되고 아포지단백질과 같은 적합한 안정화제의 부재 하에 약 1 시간의 반감기를 갖는다(예를 들면, 문헌[Wang et al., J. Clin. Invest., 111:99-107 (2003)] 참조). ABCA1 서열은 유전자은행 수탁 번호 AJ012376; NM\_173076; NM\_015657; NM\_005502; NP\_005493; 095477에 제시되어 있다. 인간 ABCA7 유전자의 프로모터 구조 및 유전자 체계는 문헌[Broccardo et al., Cytogenet Cell Genet., 92(3-4):264-70 (2001)]에 기재되어 있다. ABCA7 서열은 유전자은행 수탁 번호 NM\_033308; NM\_019112; NP\_150651; NP\_061985; AAK00959에 제시되어 있다. 관련 ATP 결합 단백질의 패밀리가 규명되었다(예를 들면, 문헌[Higgin et al., J Bioenerg Biomembr., 22(4):571-92 (1990); Higgins et al., Bioessay, 8(4):111-6 (1988); Higgins et al., Nature, 323(6087):448-50(1986); Doolittle et al., Nature, 323(6087):451-3(1986); Blight and Holland, Mol Microbiol., 4(6):873-80 (1990)] 참조). 이 패밀리에 속하는 단백질은 또한 'A' 공통 서열의 하나 또는 두 개의 카피(예를 들면, 문헌[Walker et al., EMBO, 1(8):945-51 (1982)] 참조) 또는 'P-loop'(예를 들면, 문헌[Saraste et al., Trends Biochem Sci., 15(11):430-4 6155 (1990)] 참조)를 포함한다. ABCA 패밀리 구성원은 문헌[Broccardo et al., Biochimica et Biophysica Acta, 1461:395-404 (1999)]에 검토되었다.

"양친매성 알파 나선" 또는 "양친매성 α 나선"이란 용어는 한 표면, 즉 면이 극성이며 주로 친수성 아미노산(예를 들면, Asp, Glu, Lys, Arg, His, Gly, Ser, Thr, Cys, Tyr, Asn 및 Gln)으로 이루어지고, 다른 표면이

주로 소수성 아미노산(예를 들면, Leu, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Trp 및 Met)을 포함하는 비극성 면인 나선 구조의 2차 구조를 채택하는 폴리펩티드 서열을 의미한다(예를 들면, 문헌[Kaiser and Kezdy, Ann. Rev. Biophys. Biophys. Chem., 16:561 (1987), and Science, 223:249 (1984)] 참조).

[0093] 양친매성  $\alpha$  나선의 극성 면은, 몇몇 경우에, 폴리펩티드 2차 구조 내에 대략 균등하게(예를 들면, 대략 매 1회, 2회 또는 3회 나선 회전에서) 위치하는 "음으로 하전된 아미노산의 정렬" 또는 "산성 아미노산의 정렬", 즉 일련의 음으로 하전된 아미노산 또는 산성 아미노산(예를 들면, Asp 및/또는 Glu)을 디스플레이할 수 있다. 양친매성  $\alpha$  나선 구조는 분자내 및 분자의 단백질-단백질 상호작용 둘 다에서 역할을 담당하고, 양친매성  $\alpha$  나선 구조를 포함하는 단백질 및 지단백질(예를 들면, 아포지단백질 포함)은 지질(예를 들면, HDL) 수송 및 대사에서 역할을 담당하는 것으로 상정된다(예를 들면, 문헌[Anantharamaiah et al., Adv. Exp. Med. Biol., 285:131-40 (1991)] 참조). 양친매성  $\alpha$  나선의 구조 및 기능은 예를 들면 문헌[Segrest et al., Proteins, 8(2):103-17 (1990)]에 검토되었다. 양친매성  $\alpha$  나선 구조를 확인하는 인 실리코(in silico) 방법은 예를 들면 문헌[Jones et al., J. Lipid Res., 33(2):141-66 (1992)]에 기재되어 있다. 예를 들면, 아포지단백질 및 혈청 아밀로이드 단백질을 비롯하여 양친매성  $\alpha$  나선 구조를 포함하는 다수의 단백질이 확인되었다.

[0094] 본 발명의 폴리펩티드의 "3차원 입체구조와 실질적으로 유사한" 구조란 한 표면, 즉 면이 극성이고 주로 친수성 잔기로 이루어지고, 다른 표면이 주로 소수성 잔기를 포함하는 비극성 면인  $\alpha$ -나선 구조의 축을 따른 아미노산의 양친매성 배향을 갖는 양친매성  $\alpha$  나선 2차 구조를 채택하는 예를 들면 24개 잔기 길이의 코어 서열을 포함하는 구조를 의미한다. 2개의 개별적인 산성 잔기 자리가 친수성 축을 따라 존재한다. 본 발명의 폴리펩티드의 3차원 입체구조와 실질적으로 유사한 구조를 갖는 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체는 또한 ABCA1 매개 콜레스테롤 유출을 자극하는 능력을 갖는다.

[0095] "아포지단백질" 또는 "아포" 또는 "교환 가능한 아포지단백질"이란 용어는 지질과 배합되어(즉, 지질을 가용화시켜) 지단백질을 형성하는 몇몇 수용성 단백질 중 임의의 단백질을 의미하고 킬로미크론, HDL, LDL 및 VLDL의 구성성분이다. 아포지단백질은 특이적 효소 또는 지질 수송 단백질 또는 세포-표면 수용체 또는 ATP 결합 카세트 수송체(예를 들면, ABC 수송체)에 결합하고 이것을 활성화시켜 지질 대사에 생리학적 영향을 발휘한다. 아포지단백질과 ABCA1 사이의 상호작용은 콜레스테롤 유출 및 HDL 입자 어셈블리를 생성시킨다. 아포지단백질로는 예를 들면 아포A-I, 아포A-II, 아포A-IV, 아포C-I, 아포C-II, 아포C-III, 아포E 및 혈청 아밀로이드 단백질, 예컨대 혈청 아밀로이드 A를 들 수 있다.

[0096] "아포지단백질 AI" 또는 아포A-I란 용어는 N 말단 및 C 말단 도메인을 형성하는 243개의 아미노산을 포함하는 폴리펩티드를 의미한다(예를 들면, 문헌[Saito et al., J. Biol. Chem., 278:23227-23232 (2003); Saito et al., Prog. Lipid Res., 43:350-380 (2004)] 참조). 아포A-I의 3차 구조는 지질에 강하게 결합하는 N 말단 4개의 나선 다발 도메인 및 C 말단 도메인을 포함한다(예를 들면, 문헌[Saito et al., Prog. Lipid Res., 43:350-380 (2004); Mishra et al., Biochemistry, 37:10313-10324 (1998)] 참조). 아포A-I의 44-243번 잔기는 ABCA1을 통해 콜레스테롤 유출을 매개하기 위한 필수 구조 결정인자를 포함한다(예를 들면, 문헌[Chroni et al., J. Biol. Chem., 278:6719-6730 (2003); Natarajan et al., J. Biol. Chem., 279:24044-24052 (2004)] 참조). 상기 아포A-I 영역(aa44-243)은, 아포A-I 유전자의 엑손 4에 의해 정의된 바대로, 프롤린 잔기에 의해 분리된 11개 및 22개 아미노산의 일련의 10개의 양친매성  $\alpha$ -나선으로 이루어진다(예를 들면, 문헌[Borhani et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 94:12291-6 (1997)] 참조). 아포A-I의 각각의  $\alpha$ -나선 분절은, 부분적으로, 양으로 하전된 잔기의 상대 분포에 의해 정의되고 클래스 A 또는 클래스 Y라 칭한다(예를 들면, 문헌[Saito et al., J. Biol. Chem., 278:23227-23232 (2003)] 참조). 클래스 A 나선은 지질-물 계면에서 양으로 하전된 아미노산을 보유하는 반면, 클래스 Y 나선은 계면 양이온 잔기 이외에 극성 표면의 중양을 향해 양으로 하전된 아미노산을 나타낸다. 온전한 아포A-I 분자는 단백질의 절두 형태(A-I  $\Delta$ 1-43)를 따라 결정화된다(예를 들면, 문헌[Ajees et al. PNAS, 103:2126-2131 (2006); Borhani et al., Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr., 55:1578-1583 (1999); Segrest et al., J. Biol. Chem., 274:31755-31758 (1999)] 참조). 아포A-I 서열은, 예를 들면 유전자은행 수탁 번호 P02647, J0009; AAB64381; AAB22835; 1613168A; 1403292A; CAA25519; CAA26097; 및 LPHUA1에 제시되어 있다.

[0097] 아포A-I의 aa 44-243으로 표시되는 양친매성  $\alpha$ -나선의 각각은 이론적으로 인지질 표면에 결합할 수 있다. 아포A-I의 1 나선(aa 44-65) 및 10 나선(aa 220-241)은 합성 22합체 폴리펩티드로서 단리 형태로 가장 높은 지질-결합 친화도를 보유한다(예를 들면, 문헌[Gillotte et al., J. Biol. Chem., 274:2021-2028 (1999)] 참조). 그러므로, 1 나선 및 10 나선은 세포 콜레스테롤 유출 및 원초 HDL 어셈블리의 매개체로서 관련된 다(Palgunachari et. al., Arteriocler. Thromb. Vasc. Biol., 16:328-338 (1996); Panagotopoulos et. al., J.

Biol. Chem., 277:39477-39484 (2002); Chroni et al., J. Biol. Chem., 278:6719-6730 (2003)). 그러나, 높은 지질-결합 활성을 갖는 아포A-I의 각각의 나선, 예컨대 1 나선 및 10 나선은 ABCA1 의존적 콜레스테롤 유출을 자극할 수 없다(예를 들면, 문헌[Natarajan et al., J. Biol. Chem., 279:24044-24052 (2004)] 참조). 자연에서, 연속 배열되고 프롤린 잔기를 통해 말단 대 말단 연결된 몇몇 아포A-I 양친매성  $\alpha$ -나선의 비교적 긴 스트레치(stretch)가 생산적인 ABCA1 상호작용, 즉 콜레스테롤 유출 및 HDL 어셈블리를 매개하는 데 필요하다(문헌[Beckstead et al., Biochem. 44:4591-4599 (2005); Natarajan et al., J. Biol. Chem., 279:24044-24052 (2004); Chroni et al. J. Biol. Chem., 278:6719-6730 (2003); Chroni et al., Biochem. 43:2126-2139 (2004)] 참조). 아포A-I의 나선 9의 나선 10과의 결합으로 ABCA1 지질 유출을 자극하는 데 있어서 활성을 갖는 최소 구성요소가 생성되지만, 상기 최소 나선 세트의 활성은 전장 아포A-I 단백질보다 다소 약하다(문헌[Natarajan et al., J. Biol. Chem., 279:24044-24052 (2004); Vedhachalam et al. J. Biol. Chem., 279:49931-49939 (2004)] 참조).

[0098] "아포지단백질 E" 또는 "아포E"란 용어는 동맥 벽 및 뇌에서 지질 항상성에서 중요한 역할을 하는 혈액 혈장 단백질(예를 들면, 문헌[Wahrle et al., J. Biol. Chem., 279:40987-40993 (2004)] 참조). 거대세포 거품-세포 표현형을 역전시켜 아포E가 세포 콜레스테롤 항상성을 유지하도록 작용하는 죽상동맥경화성 병변 내에 아포E가 거대세포 거품-세포에 의해 합성되고 분비된다(예를 들면, 문헌[Basu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78:7545-7549 (1981); Basu et al., Science, 219:871-873 (1983); Rosenfeld et al., Arterioscler. Thromb., 13:1382-1389 (1993); O'Brien et al., Am. J. Pathol., 144:538-548 (1994)] 참조). 이러한 효과는 ABCA1을 통해 세포 콜레스테롤 유출을 자극하는 아포E의 능력 및 콜레스테롤 역수송에서의 이의 역할과 관련된다(Hara et al., J. Biol. Chem., 266: 3080-3086 (1991); Smith et al., J. Biol. Chem., 271:30647-30655 (1996); Oram et al., J. Lipid Res., 37:2473-2491 (1996); Zhang et al., J. Biol. Chem., 271:28641-28646 (1996); Remaley et al., Biochem. Biophys. Res. Comm., 280:818-823 (2001); Mahley, Science, 240: 622-630 (1988)). 아포E는 ABCA1 발현 세포에 결합하기 위해 아포A-I과 경쟁할 수 있고, 이것은 ABCA1과 분자 복합체를 형성할 수 있다(Krimbou et al., J. Lipid Res., 45:839-848 (2004)). 뇌에서의 불완전한 아포E/ABCA1 상호작용은 세포의 아포E 수치를 극단적으로 감소시키고 신경 질환의 발병에 기여하는 세포 내 지질 수송을 방해한다(예를 들면, 문헌[Hirsch-Reinshagen et al., J. Biol. Chem., 279:41197-41207 (2004); Wahrle et al., J. Biol. Chem., 279:40987-40993 (2004); Koldamavo et al., J. Biol. Chem., 280:43224-43235 (2005)] 참조).

[0099] 아포E 단백질은 N 말단 4개의 나선 다발 도메인 및 C 말단 나선으로 이루어지고, 이것은 아포A-I과 유사하다(Saito et al., Prog. Lipid Res., 43:350-380 (2004); Saito et al., J. Biol. Chem., 278:23227-23232 (2003); Ajees et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:2128-2131 (2006)). 아포E의 C 말단 도메인은 프롤린 잔기에 의해 분리된 2개의 긴 나선 분절로 이루어진다(예를 들면, 문헌[Hatters et al., Trends Biochem. Sci., 416, in press, www.sciencedirect.com(2006); Weisgraber, Adv. Prot. Chem., 45:249-302 (1994); Saito et al., J. Biol. Chem., 278:23227-23232 (2003)] 참조). 제1 분절은 클래스 A  $\alpha$ -나선을 형성하는 51개의 아미노산(잔기 216-266) 및 클래스 G  $\alpha$ -나선인 제2 33개의 아미노산(aa 267-299)으로 이루어진다(Segrest et al., J. Lipid Res., 33:141-165). 아포E CT 도메인의 대략 79개의 아미노산(잔기 222-299)을 포함하는 나선 분절 둘 다 ABCA1 지질 유출 및 HDL 어셈블리를 효과적으로 매개하는 데 필요하다(Vedhachalam et al., J. Biol. Chem., 279(48):49931-49939 (2004)). 따라서, 아포A-I에서와 같이, 성질은 ABCA1 상호작용 및 ABCA1 세포 콜레스테롤 유출을 불러 일으키기 위해 연속 연결되는 다수의 나선 분절의 비교적 긴 스트레치에 의존한다(상기 Vedhachalam 외 문헌). 아포E 서열은 유전자은행 수탁 번호 NM 000041; P02649; AAH03557; AAB59397; 및 AAB59518에 제시되어 있다.

[0100] "콜레스테롤 유출" 및 "콜레스테롤 유출 활성"이란 용어는 임의의 세포 유형으로부터의 콜레스테롤의 유출을 의미한다. 예를 들면, 동맥 벽에서의 거대세포 거품-세포는 적절한 억셉터, 예컨대 아포지단백질 및/또는 HDL에 콜레스테롤을 방출(즉, 배출)시킨다. 콜레스테롤 유출을 매개하는 화합물은 콜레스테롤의 방출, 즉 세포 밖으로부터의 콜레스테롤의 이동 및 세포외 배지 또는 구획으로의 콜레스테롤의 이동을 증대시킨다. 콜레스테롤 유출은 대개 세포로부터의 인지질의 유출이 수반되거나, 이에 선행, 즉 이것이 후행한다. 콜레스테롤 및 인지질 둘 다의 조직화된 방출은 적합한 지질 억셉터, 예를 들면 아포지단백질 또는 펩티드의 존재 하에 HDL을 생성시킨다. 따라서, 콜레스테롤 유출 및 인지질 유출 과정은 연결되고 서로 밀접하다. 세포로부터 콜레스테롤의 방출을 증대시키는 화합물은 화합물의 부재 하에 콜레스테롤 유출의 수치와 비교하여 적어도 25%, 50%, 75%, 100% 또는 적어도 2배, 4배, 8배, 10배 이상 세포 외에서 나타나는 콜레스테롤 및/또는 인지질의 양을 증가시킨



다.

- [0101] "ABCA 안정화 활성화" 또는 "ABCA1 안정화"란 용어는 이의 분해를 방지하여 ABCA 단백질의 반감기를 증대 및/또는 연장하는 것을 의미한다. ABCA1 안정화 활성을 갖는 화합물은 단백질 분해를 현저히 연기시킨다. 이것은 화합물의 부재 하에 검출되는 ABCA1 단백질과 비교하여 적어도 25%, 50%, 75%, 100% 또는 적어도 2배, 4배, 8배, 10배 이상 세포 ABCA1 단백질 수치를 증가시킨다.
- [0102] "소염 활성화"이란 용어는 염증의 예방 또는 감소를 의미한다. 염증은 죽상동맥경화증 발병에서 역할을 담당하는 것으로 인식되고 이상지질혈증, 고콜레스테롤혈증 및/또는 지단백질 지질 산화와 관련된다. 염증 반응은 동맥 벽 또는 뇌 또는 다른 혈관의 조직과 같이 국소 염증 및 전신 염증일 수 있다. 국소 및 전신 염증은 둘 다 염증 매개체, 예컨대 산화된 지질 및/또는 사이토카인의 생성과 관련될 수 있다. 일반적으로, 염증 반응은 혈액 단핵구-거대세포의 혈관의 구획으로의 동원과 관련된다. 단핵구-거대세포의 동원은 혈관의 조직에서의 거대세포 활성화, 분화 및 보유와 관련된다. 소염 활성을 갖는 화합물은 화합물의 부재 하에서와 비교하여 염증 매개체(예를 들면, 접착 분자, 사이토카인 및/또는 산화된 지질)의 감소 및/또는 경화반 및 조직에서의 거대세포 및/또는 거대세포 활성화의 감소에 의해 측정되는 바대로 염증 반응을 감소시킨다.
- [0103] "항산화제 활성화"이란 용어는 예를 들면 과산화수소( $H_2O_2$ ); 하이포클로라이트 이온( $OC1^-$ ); 하이드록실 라디칼( $OH^\cdot$ ); 및 슈퍼옥사이드 음이온( $O_2^-$ )을 비롯하여 반응성 산소 종(ROS)에 의해 야기되는 산화의 예방 또는 감소를 의미한다. 다수의 천연 물질(예를 들면, 단백질 및 소형 분자)은 항산화제 활성을 보유한다. 예를 들면, 아포지 단백질은 지질 과산화를 억제할 수 있고, 따라서 친유성 및 수용성 자유 라디칼 개시제로부터 인지질 표면을 보호할 수 있다(예를 들면, 문헌[Biochemistry, 41:2089-2096 (2002)] 참조). 또한, 알파-토코페롤(비타민 E)은 항산화제이다. 또한, ABC 수송체 또는 임의의 다른 방식을 통해 세포 안 및 밖으로의 옥시스테롤 및 산화된 인지질과 같은 산화제 및 항산화제(비타민 E)의 이동을 촉진하는 단백질 및 펩티드를, 염증 매개체의 동맥 벽을 구축하고/하거나 조직에서 바람직한 레독스 균형의 복원에 영향을 미치기 위한 항산화 활성을 갖는 것으로서 평가할 수 있다. 항산화제 활성을 갖는 화합물은 화합물의 부재 하에 항산화제 활성화보다 적어도 25%, 50%, 75%, 100% 또는 적어도 2배, 4배, 8배, 10배 이상 높은 항산화제 활성을 갖는다.
- [0104] 본원에서 사용되는 "경화반 안정화"는 거품 세포 거대세포로부터의 콜레스테롤의 제거를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는 지질 풍부 경화반으로부터 콜레스테롤을 제거하여 파열 또는 부식의 위험으로부터 취약성 경화반을 안정화시키는 것을 의미한다. 경화반은 혈전 형성 물질, 즉 혈장에 노출될 때 국소 혈전증 및 혈관 폐색의 위험을 갖는 혈소판을 응집시키는 데 매우 강력한 물질, 예컨대 조직 인자를 포함한다. 경화반의 파열 및 상기 물질의 노출은 경화반을 혈관으로부터 분리시키는 섬유질 캡에 의해 방지된다. 지질 제거는 2가지 주요 방식으로 경화반 안정성을 부여한다. 첫째로, 해부학적으로, 동맥에서의 침복합체(gruel)의 수축에 의한 지질 제거는 혈류역학 능력(심박 및 혈압 변화와 관련된 확장-수축)의 위험의 감소에 의해 경화반 안정성을 부여한다. 둘째로, 문헌에 기재된 바대로, 콜레스테롤 축적은 섬유질 캡에 미치는 분해 효과를 갖는 매트릭스-메탈로-프로테아제(MMP)를 비롯한 프로테아제의 합성 및 분비; 및 조직 인자, 강력한 응집 인자의 생성을 자극한다.
- [0105] 본원에서 사용되는 "콜레스테롤 역수송(RCT)"은 거대세포 거품 세포로부터 콜레스테롤을 제거하고 동맥 벽으로부터 지질 풍부 경화반을 제거하여, 후속적으로 흡수를 위해 혈장을 통해 간으로 이동시키고, 가공시키고 대변에서 천연 스테롤(콜레스테롤) 또는 산성 스테롤(히드록실화 콜레스테롤/담즙)로서 배설시키는 과정을 의미한다. 거대세포 거품 세포로부터의 콜레스테롤의 유출은 콜레스테롤이 다른 덜 취약성인 인접 세포로 이동할 수 있더라도 그 자체로 RCT 이점에 대한 필수조건이다. 그러나, 배설을 위한 HDL 유사 입자에서 간으로의 수송에 의한 콜레스테롤의 추가 제거는 치료의 바람직한 양태이다. 상기 완전한 RCT는 동맥에서 콜레스테롤 함량의 실제 순수 제거에 의한 동맥 혈관의 일반적인 회복을 제공한다. RCT 및 경화반 안정화 효과는 펩티드 또는 이것이 혈장 및 세포에서 인지질과 자연적으로 형성하는 복합체에 의해 직접적으로 부여되거나, 별법으로 펩티드로서의 아포A-I/HDL은 내인성 HDL 입자에 결합하여, 그 특성을 변경하고 이것이 RCT를 촉진하는 데 더 효과적으로 만든다.
- [0106] 본 발명과 관련하여 "프리- $\beta$  형성"이란 용어는 프리- $\beta$ -HDL 입자의 형성을 의미한다. 프리- $\beta$ -HDL은 아포A-I 분자, 통상적으로 2개 내지 3개의 아포A-I 분자 및 소량의 인지질을 포함하는 지질 결핍 입자이다. 프리- $\beta$ -HDL 입자는 세포 콜레스테롤 유출의 초기 억셉터로서 작용하고/하거나 ABCA1 콜레스테롤 유출을 매개한다.
- [0107] "이상지질혈증"과 관련된 질환 또는 질병은 조직(즉, 혈액) 지질 및 지단백질 농도의 변화 및/또는 콜레스테롤 유출의 비정상 매개 또는 비정상 ABCA 안정화로 인해 지질 대사가 비정상 조절되는 임의의 질환 또는 질병이다.

상기 질환으로는 예를 들면 심장 질환, 죽상동맥경화성 병변, 뇌졸중, 알츠하이머병 및 축적 질환을 들 수 있다.

[0108] "아미노산"이란 용어는 천연 및 합성 아미노산 및 천연 아미노산과 유사한 방식으로 작용하는 아미노산 유사체 및 아미노산 모방체를 의미한다. 천연 아미노산은 유전자 코드에 의해 코딩되는 아미노산 및 후에 변형되는 아미노산, 예를 들면 히드록시프롤린,  $\gamma$ -카르복시글루타메이트 및 O-포스포세린이다. 아미노산 유사체는 천연 아미노산과 동일한 염기 화학 구조, 즉 수소, 카르복시 기, 아미노 기 및 R 기에 결합된  $\alpha$  탄소를 갖는 화합물, 예를 들면 호모세린, 노르류신, 메티오닌 설폰사이드, 메티오닌 메틸 설폰을 의미한다. 상기 유사체는 변형 R 기(예를 들면, 노르류신) 또는 변형 폴리펩티드 골격을 갖지만, 여전히 천연 아미노산과 동일한 염기 화학 구조를 보유한다. 아미노산 모방체는 아미노산의 일반적인 화학 구조와 상이한 구조를 갖지만, 천연 아미노산과 유사한 방식으로 작용하는 화학 화합물을 의미한다. 아미노산 및 보존적 아미노산 치환의 보다 자세한 설명은 하기 "폴리펩티드"라 표제 붙인 섹션에 기재되어 있다.

[0109] 본원에서는 IUPAC-IUB 생화학 명명 위원회(Biochemical Nomenclature Commission)가 권장하는 이의 통상적으로 알려진 3문자 기호 또는 1문자 기호에 의해 아미노산을 칭할 수 있다. 마찬가지로, 이의 통상적으로 승인된 1문자 코드에 의해 뉴클레오티드를 칭할 수 있다.

[0110] "폴리펩티드", "펩티드" 및 "단백질"이란 용어는 아미노산 잔기의 중합체를 의미하기 위해 본원에서 상호 교환적으로 사용된다. 이 용어는 하나 이상의 아미노산 잔기가 대응되는 천연 아미노산의 인공 화학 모방체인 아미노산 중합체 및 천연 아미노산 중합체 및 비천연 아미노산 중합체에 적용된다. 아미노산 중합체는 L-아미노산만, D-아미노산만 또는 L 아미노산과 D 아미노산의 혼합물을 포함할 수 있다. 본원에서 "펩티드 또는 펩티드 모방체(peptidomimetic)"란 용어의 사용은 단지 천연 아미노산 및 변형 아미노산을 포함하는 펩티드가 고려된다는 것을 강조하는 것이다.

[0111] "단리된", "정제된" 또는 "생물학적으로 순수한"이란 용어는 본래 상태에서 발견되면서 일반적으로 동반되는 성분을 실질적으로 또는 본질적으로 포함하지 않는 물질을 의미한다. 통상적으로 분석 화학 기법, 예컨대 폴리아크릴아미드 겔 전기영동 또는 고성능 액체 크로마토그래피를 이용하여 순도 및 동종성은 결정한다. 제조시 존재하는 우세 종인 단백질이 실질적으로 정제된다. "정제된"이란 용어는 전기영동 겔에서 본질적으로 하나의 밴드를 생성시키는 핵산 또는 단백질을 의미한다. 특히, 이는 핵산 또는 단백질이 적어도 85% 순수한, 더 바람직하게는 적어도 95% 순수한, 가장 바람직하게는 적어도 99% 순수하다는 것을 의미한다.

[0112] 2개 이상의 폴리펩티드 서열(또는 2개 이상의 핵산)과 관련하여 "동일한" 또는 "동일성"이란 용어는 비교창에 걸쳐 최대 대응에 대해 비교 및 정렬될 때 특정 영역(예컨대 서열 번호 2-26, 31, 32 또는 33의 아미노산 서열) 또는 21개 또는 22개 아미노산 길이의 서열의 첫번째 20개의 아미노산에 대해 또는 다음의 서열 비교 알고리즘 중 어느 하나를 이용하여 또는 수동 정렬 및 육안 검사에 의해 측정될 때 지정 영역에 대해 예를 들면 60%의 동일성, 바람직하게는 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성과 같이 동일하거나 특정 백분율의 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드를 갖는 2개 이상의 서열 또는 하위서열을 의미한다. 그러면, 이러한 서열은 "실질적으로 동일"하다고 말한다. 이러한 정의는 또한 시험 서열의 상보성을 의미한다.

[0113] 서열 비교를 위해, 통상적으로 하나의 서열은 시험 서열을 비교하는 기준 서열로서 작용한다. 서열 비교 알고리즘을 이용할 때, 시험 및 기준 서열을 컴퓨터에 입력하고, 하위서열 좌표를 설계하고, 필요한 경우 및 서열 알고리즘 프로그램 매개변수를 설계한다. 디폴트 프로그램 매개변수를 사용할 수 있거나, 대안적인 매개변수를 설계할 수 있다. 이후, 서열 비교 알고리즘은 프로그램 매개변수에 기초하여 기준 서열에 대해 시험 서열에 대한 서열 동일성(%)을 계산한다. 핵산 및 단백질의 서열 비교를 위해, BLAST 및 BLAST 2.0 알고리즘 및 하기 기재된 디폴트 매개변수를 사용한다.

[0114] "핵산" 및 "폴리뉴클레오티드"란 용어는 단일 또는 이중 가닥 형태의 데옥시리보뉴클레오티드 또는 리보뉴클레오티드 및 이들의 중합체를 의미하기 위해 본원에서 상호 교환적으로 사용된다. 상기 용어는 기준 핵산과 유사한 결합 특성을 갖고, 기준 뉴클레오티드와 유사한 방식으로 대사되는 합성, 천연 및 비천연의 공지된 뉴클레오티드 유사체 또는 변형 골격 잔기 또는 연결을 포함하는 핵산을 포함한다. 상기 유사체의 예로는, 제한함이 없이, 포스포로티오에이트, 포스포아미데이트, 메틸 포스포네이트, 키랄-메틸 포스포네이트, 2-O-메틸 리보뉴클레오티드, 폴리펩티드-핵산(PNA)을 들 수 있다. 달리 기재되지 않은 한, 특정한 핵산 서열은 또한 이의 "보존적으로 변형된 변이체"(예를 들면, 축퇴성 코돈 치환) 및 상보적 서열 및 명확히 기재된 서열을 포함한다. 구체적으로, 하나 이상의 선택(또는 모든) 코돈의 제3 위치가 혼합 염기 및/또는 데옥시이노신 잔기로 치환된 서열을

생성시켜 축퇴성 코돈 치환을 달성할 수 있다(Batzer et al., Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991); Ohtsuka et al., J. Biol. Chem., 260:2605-2608 (1985); Rossolini et al., Mol. Cell. Probes, 8:91-98 (1994)). 핵산이란 용어는 유전자, cDNA, mRNA, 올리고뉴클레오타이드 및 폴리뉴클레오타이드와 상호 교환적으로 사용된다.

[0115] "발현 벡터"는 숙주 세포에서 특정 핵산의 전사를 허용하는 일련의 특정 핵산 구성요소에 의해 재조합으로 또는 합성으로 생성된 핵산 작제물이다. 발현 벡터는 플라스미드, 바이러스 또는 핵산 단편의 일부분일 수 있다. 통상적으로, 발현 벡터는 프로모터에 작동적으로 연결되어 전사되는 핵산을 포함한다.

[0116] "숙주 세포"에 의해 발현 벡터를 함유하고 발현 벡터의 복제 또는 발현을 보조하는 세포를 의미한다. 숙주 세포는 원핵 세포, 예컨대 이. 콜라이 또는 진핵 세포, 예컨대 효모, 곤충, 양서류 또는 포유동물 세포, 예컨대 CHO, HeLa 등, 예를 들면 배양 세포, 이식편 및 생체내 세포일 수 있다.

[0117] "라벨" 또는 "검출 가능한 라벨"은 분광, 광화학, 생화학, 면역화학 또는 화학 수단에 의해 검출 가능한 조성물이다. 예를 들면, 유용한 라벨로는 방사성 동위원소(예를 들면,  $^3\text{H}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{51}\text{Cr}$  또는  $^{125}\text{I}$ ), 형광 염료, 고전자밀도 시약, 효소(예를 들면, 알칼리 포스파타제, 겨자무 과산화효소 또는 ELISA에서 통상 사용되는 다른 효소), 비오틴, 디곡시제닌 또는 합텐 및 항혈청 또는 단일클론 항체가 이용 가능한 단백질(예를 들면, 서열 번호 1, 2 또는 3에 의해 코딩되는 폴리펩티드는 예를 들면 방사능 라벨의 폴리펩티드로의 혼입에 의해 검출 가능해질 수 있고, 폴리펩티드와 특이적으로 반응하는 항체를 검출하도록 사용될 수 있다)을 들 수 있다.

[0118] 본원에서 사용되는 "완화"는 증상의 정도를 개선, 경감 또는 감소시키거나 또는 질환 증상의 에피소드의 발생수를 감소시키는 것을 의미한다.

[0119] 당해 분야에서 인식되는 "예방"이란 용어는, 고콜레스테롤혈증 또는 죽상동맥경화증과 같은 질환의 재발 또는 발병과 같은 병증과 관련하여 사용될 때, 당해 분야에서 충분히 이해되고 있으며, 조성물을 투여받지 않은 피험자에 비해 피험자에서 의학 병증의 증상의 빈도를 감소시키거나, 그 증상의 발병을 연기시키는 조성물의 투여를 포함한다.

[0120] 본원에서 사용되는 "치료"는 질병 또는 질환의 진행을 늦추거나, 중지시키거나, 역전시키는 것을 의미한다. 바람직한 실시양태에서, "치료"는 질병 또는 질환의 제거 지점으로 진행을 역전시키는 것을 의미한다.

[0121] 본원에서 사용되는 "억제"는 대조군 샘플에서 발생하는 양과 비교하여 양이 감소하였다는 것을 의미한다. 바람직한 실시양태에서, 억제는 양이 50% 초과, 훨씬 더 바람직하게는 75% 초과 또는 심지어 100% 감소한다는 것을 의미한다.

[0122] 본원에 개시된 방법에 의해 치료하고자 하는 "피험자" "환자" 또는 "포유동물"은 인간 또는 비인간 동물일 수 있다.

### [0123] III. 폴리펩티드

[0124] 본 발명은 콜레스테롤 유출을 매개하는 강력한 콜레스테롤 역수송(RCT) 경로를 이용하는 비천연 폴리펩티드의 패밀리를 제공한다. 본 발명의 폴리펩티드는, ABCA1 의존적 콜레스테롤 유출의 강력한 및 선택적 매개체라는 것 이외에, 또한 ABCA 안정화 활성, 항산화 활성 및 소염 활성, 이러한 활성의 임의의 조합, 바람직하게는 이러한 활성 모두를 갖는다.

[0125] 본 발명의 펩티드는 콜레스테롤 유출에 미치는 효과를 갖는 코어 아미노산 서열, 서열 번호 1의 놀라운 발견에 기초한다. 본 발명의 폴리펩티드는 아포지단백질(예를 들면, 아포A-I, 아포E 등)의 것과 유사한 주요 효능으로 ABCA1 의존적 콜레스테롤 유출을 자극하는 비천연 폴리펩티드, 예를 들면 서열 번호 2-26 및 31-33이다. 흥미롭게도, 본 발명의 폴리펩티드 패밀리 구성원은 소형이고, 온전한 아포지단백질의 완전한 생물학적 활성 및 효능을 갖는 단일 나선 분절 및 ABCA1을 통해 콜레스테롤 유출 활성을 발휘하는 데 필요한 자연에서 발견되는 다수의  $\alpha$ -나선 분절의 긴 스트레치에 해당한다.

[0126] 양친매성  $\alpha$ -나선 펩티드와 관련하여, 나선의 한 측에서는 소수성 아미노산이, 일반적으로 다른 측에서는 극성 또는 친수성 아미노산과 함께, 농축된다. 이러한 배열은 나선의 한 면이 소수성 코어를 향해 배향되고 한 면이 물 노출 표면을 향해 배향되는 구상 단백질 및 아포지단백질의 알파 나선에서 일반적이다. 상이한 아미노산 서열은  $\alpha$ -나선 구조를 형성하는 데 상이한 경향을 갖는다. 메티오닌, 알라닌, 류신, 글루타메이트 및 리신은 모두 특히 높은 나선 형성 경향을 갖는 반면, 프롤린, 글리신, 티로신 및 세린은 상대적으로 빈약한 나선 형성 경향을 갖는다.



- [0127] 일 실시양태에서, 본 발명은 서열 번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 단리된 폴리펩티드(및 이러한 펩티드를 포함하는 조성물)를 제공한다. 몇몇 실시양태에서, 본 발명은  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7AX_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$  (서열 번호 27)(여기서,  $X_1$ ,  $X_7$ ,  $X_{15}$  및  $X_{18}$ 은 D 및 E로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;  $X_2$ 는 L, I 또는 V이고;  $X_4$  및  $X_{11}$ 은 D, E 및 A로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;  $X_3$ ,  $X_5$  및  $X_{19}$ 는 K 및 R로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;  $X_9$ 는 W, F 또는 L이고;  $X_{14}$ 는 R, E 또는 A이고;  $X_6$ ,  $X_{10}$ ,  $X_{12}$ ,  $X_{13}$ ,  $X_{16}$ ,  $X_{17}$  및  $X_{20}$ 은 F, L, I 및 W로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다)의 아미노산 서열을 포함하는 단리된 폴리펩티드를 제공한다.
- [0128] 일 실시양태에서, 단리된 폴리펩티드는 서열 번호 1-33으로 이루어진 군으로부터 선택되는(특정한 실시양태에서, 이것으로 이루어지거나, 별법으로 실질적으로 이것으로 이루어지는) 아미노산 서열을 포함한다.
- [0129] 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 펩티드는 서열 번호 2에 제시된 아미노산 서열을 갖는 펩티드 또는 9번 위치에서 W에 대해 치환된 L 또는 F; 비극성 표면 상의 L에 대한 V 치환, 예를 들면 2번 위치에서 L에 대한 V 치환; 10번, 13번, 16번 및/또는 20번 위치에서 비극성 표면 상의 F 잔기에 대한 L 또는 I 치환; 2번, 6번, 12번 및/또는 17번 위치에서 L 잔기에 대한 F 또는 I 치환; 예를 들면 5번 위치에서 K에 대한 R 치환; 서열 번호 2에서 하나 이상의 글루탐산 잔기에 대한 아스파르트산 치환; 12번 위치에서 L에 대한 W 치환; 극성 표면 상의 A 치환, 예를 들면 14번 위치에서 R에 대한, 4번 위치에서 E에 대한, 11번 위치에서 E에 대한 및/또는 18번 위치에서 E에 대한 A 치환의 치환 중 하나 이상을 갖는 이의 변이체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 서열 번호 2 또는 이의 변이체는 C 말단에 첨가된 잔기 KS를 더 포함할 수 있다. 따라서, 몇몇 실시양태에서, 서열 번호 2의 변이체는 A 잔기를 극성 표면에서는 갖지만; 비극성 표면에서는 갖지 않는다. 몇몇 실시양태에서, 소수성 표면을 최대화하기 위해 지질-물 계면에 또는 그 근처에 위치한 12번, 17번 및 21번 위치에서 고도로 소수성인 L 또는 F를 포함시켜 비극성 표면을 증가시킬 수 있다.
- [0130] 당업자라면 상기 폴리펩티드가 본 발명의 폴리펩티드의 패밀리를 완전히 포함하지 않는다는 것을 용이하게 이해할 것이다. 실제로, 본원에 제공된 교시내용을 이용하여, 예를 들면 보존적 또는 반보존적 치환(예를 들면, E에 의해 대체된 D), 확장, 결실 등에 의해 다른 적합한 폴리펩티드(예를 들면, 보존적 변이체)를 일상적으로 생성할 수 있다. 또한, 본원에 제공된 분석을 이용하여, 원하는 생물학적 활성에 대해 다른 적합한 폴리펩티드를 일상적으로 스크리닝할 수 있다.
- [0131] 따라서, 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열 번호 2-26 및 31-33의 폴리펩티드의 폴리펩티드 변이체를 제공한다. 예시적인 일 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열 번호 2-26, 31, 32 및 33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 폴리펩티드의 폴리펩티드와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 98%의 동일성을 갖는다. 당업자라면 동일하지 않은 아미노산 잔기가 천연 또는 비천연일 수 있다는 것을 이해할 것이다. "동일성(%)"이란 용어는 2개의 아미노산 서열(또는 또한 본 발명에 의해 제공되는 2개의 뉴클레오티드 서열) 사이의 서열 동일성을 의미한다. 비교 목적을 위해 정렬될 수 있는 각각의 서열에서의 위치를 비교하여 동일성을 각각 측정할 수 있다. 비교된 서열에서 등등한 위치를 동일한 아미노산 또는 염기가 차지할 때, 분자는 그 위치에서 동일하고; 등등한 부위를 동일한 또는 유사한 (예를 들면, 입체 및/또는 전자 성질에서 유사한) 아미노산 잔기가 차지할 때, 분자를 그 위치에서 상동성(유사)이라 칭할 수 있다. 상동성, 즉 유사성 또는 동일성의 백분율의 표현은 비교된 서열이 점유한 위치에서 유사한 또는 동일한 아미노산 수의 함수를 의미한다. 예를 들면, FASTA, BLAST 및 ENTREZ를 비롯한 다양한 정렬 알고리즘 및/또는 프로그램을 이용할 수 있다. FASTA 및 BLAST는 GCG 서열 분석 패키지(University of Wisconsin(미국 위스콘신주 매디슨))의 일부로서 이용 가능하고, 예를 들면 디폴트 세팅으로 사용할 수 있다. ENTREZ는 미국 메릴랜드주 베테스다 국립보건원 국립의학도서관 국립생명공학정보센터를 통해 구입 가능하다. 일 실시양태에서, 2개의 서열의 동일성(%)을 1의 값 중량으로 GCG 프로그램에 의해 결정할 수 있고, 예를 들면 2개의 서열 사이에 단일 아미노산 또는 뉴클레오티드 미스매치가 있는 것처럼 각각의 아미노산 값을 중량을 켤다.
- [0132] 상기 기재된 실시양태와 중첩될 수 있는 다른 실시양태에서, 서열 번호 2-26 및 31-33의 폴리펩티드는 보존적 (또는 반보존적) 아미노산 잔기로 치환된다. "보존적 아미노산 치환"이란 용어는 상기 하나의 군으로부터의 아미노산의 동일한 군으로부터의 상이한 아미노산에 의한 치환(개념상으로 또는 그 외)을 의미한다. 각각의 아미노산 사이의 공통 특성을 한정하는 실용적인 방식은 상동성 유기체의 대응 단백질 사이의 아미노산 변경의 평균 빈도를 분석하는 것이다(예를 들면, 문헌[Schulz, G. E. and R.H. Schirmer, Principles of Protein Structure, Springer-Verlag] 참조). 상기 분석에 따르면, 군 내의 아미노산이 서로에 우선적으로 교환되고, 따

라서 전체 단백질 구조에 대한 이의 영향이 서로 대부분 닮은 아미노산 군을 정의할 수 있다(예를 들면, 문헌 [Schulz, G.E. and R.H. Schirmer, Principles of Protein Structure, Springer-Verlag] 참조). 상기 방식으로 정의된 아미노산 군의 세트의 하나의 예로는 (i) Glu 및 Asp, Lys, Arg 및 His로 이루어지는 하전 기; (ii) Ly, Arg 및 His로 이루어지는 양으로 하전된 기; (iii) Glu 및 Asp로 이루어지는 음으로 하전된 기; (iv) Phe, Tyr 및 Trp로 이루어지는 방향족 기; (v) His 및 Trp로 이루어지는 질소 고리 기; (vi) Val, Leu 및 Ile로 이루어지는 대형 지방족 비극성 기; (vii) Met 및 Cys로 이루어지는 약간 극성인 기; (viii) Ser, Thr, Asp, Asn, Gly, Ala, Glu, Gln 및 Pro로 이루어지는 소형 잔기 기; (ix) Val, Leu, Ile, Met 및 Cys로 이루어지는 지방족 기; 및 (x) Ser 및 Thr로 이루어지는 소형 하이드록실 기를 들 수 있다.

[0133] 상기 기재된 실시양태와 또한 중첩될 수 있는 다른 예시적 실시양태에서, "보존적 아미노산 치환"은 분자량이 유사하거나 소수화도가 유사한 다른 아미노산에 대한 아미노산의 치환을 의미할 수 있다. "유사한 분자량" 및 "유사한 소수화도"는 각 값에 25% 내, 더 바람직하게는 20%, 15%, 10% 또는 10% 미만인 값을 의미한다. 아미노산 분자량 및 소수화도에 대한 데이터는 표 1에 기재되어 있다. 소수화도 순위는 표 2에 기재되어 있고; 보존적 치환은 "="로 나타낸 아미노산을 다른 아미노산(예를 들면, Tyr = Trp)으로 변경하는 것 및 다소 기호에 기재된 순위에서 이에 인접한 다른 아미노산에 대해 하나의 아미노산을 변경하는 것을 포함한다.

[0134] [표 1]

비변형 생리학적 L-알파-아미노산에 대한 매개변수				
아미노산	3문자 코드	1문자 코드	분자량 <sup>†</sup>	소수화도 <sup>‡</sup>
알라닌	Ala	A	89.09	0.616
시스테인	Cys	C	121.16	0.680
아스파테이트	Asp	D	133.10	0.028
글루타메이트	Glu	E	147.13	0.043
페닐알라닌	Phe	F	165.19	1.00
글리신	Gly	G	75.07	0.501
히스티딘	His	H	155.16	0.165
이소류신	Ile	I	131.18	0.943
리신	Lys	K	146.19	0.283
류신	Leu	L	131.18	0.943
메티오닌	Met	M	149.21	0.738
아스파라긴	Asn	N	132.12	0.236
프롤린	Pro	P	115.13	0.711
글루타민	Gln	Q	146.15	0.251
아르기닌	Arg	R	174.20	0.000
세린	Ser	S	105.09	0.359
트레오닌	The	T	119.12	0.450
발린	Val	V	117.15	0.825
트립토판	Trp	W	204.23	0.878
티로신	Tyr	Y	181.19	0.880

[0135]

† 기재된 분자량은 천연, 유리 아미노산의 분자량이고; 잔기 중량은 물 1 당량(18 g/mol)을 공제하여 얻을 수 있다.

† 기재된 소수화도는 "Small Fragment Approach"에 의해 컴퓨터를 사용한 로그(P) 결정으로부터 얻은 "눈금" 값이다(문헌["Development of Hydrophobicity Parameters to Analyze Proteins Which Bear Post- or Cotranslational Modification" Black, S.D. and Mould, D.R., Anal. Biochem., 193:72-82 (1991)] 참조). 기재된 눈금 값에 대해 원래 로그(P) 값을 비율 조절하기 위해 사용되는 방정식은 다음과 같다: 눈금 매개변수 = (원래 매개변수 + 2.061)/4.484.

[표 2]

생리학적 L-알파-아미노산에 대한 소수화도 매개변수의 경향
Phe > Leu = Ile > Tyr > Trp > Val > Met > Pro > Cys > Ala > Gly >
Thr > Ser > Lys > Gln > Asn > His > Glu > Asp > Arg

아스파르트산 및 글루탐산은 생리학적 pH에서 음전하를 제공하는 산이고; 히스티딘, 아르기닌 및 리신은 생리학적 pH에서 양전하를 제공하는 염기이다.

2개의 폴리펩티드가 다른 폴리펩티드의 보존적 변이체라는 다른 표시는 2개의 폴리펩티드가 동일한 기능, 바람직한 실시양태에서 동일한 또는 매우 유사한 활성 수치에서 동일한 기능을 수행한다는 것이다. 따라서, 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드의 보존적 변이체는 서열 번호 1, 27, 28, 29 또는 30의 폴리펩티드에서 발견되는 것; 또는 보다 특히 서열 번호 2-26 및 31-33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 폴리펩티드에서 발견되는 것의 적어도 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 활성을 포함할 수 있다. 또한, 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 1 이상의 활성을 보유할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 폴리펩티드는 콜레스테롤 유출 매개 활성, ABCA 안정화 활성, 소염 활성 및 항산화제 활성, 이러한 활성의 임의의 조합 또는 이상적으로 이러한 활성 모두를 포함할 수 있다. 보존적 변이체는 1 이상의 동일한 활성 및 이상적으로 동일한 활성 모두를 가질 수 있다. 당업자라면 2개 이상의 폴리펩티드가 유사한 활성을 보유하는지를 결정하기 위해 본원에 기재된 스크리닝 분석을 용이하게 이용할 수 있다. 또한, 당업자라면 2개 이상의 폴리펩티드가 유사한 생물학적 특성 또는 활성을 보유하는지를 결정하기 위해 이용할 수 있는 다른 스크리닝 분석을 알 것이다.

바람직한 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 천연 아미노산 또는 천연 아미노산의 D 형태를 이용하고, 비천연 아미노산(예를 들면, 메티오닌 설펍사이드, 메티오닌 메틸설펍소늄, 노르류신, 엡실론-아미노카프로산, 4-아미노부탄산, 테트라하이드로이소퀴놀린-3-카르복실산, 8-아미노카프릴산, 4-아미노부티르산, Lys(N(엡실론)-트리플루오로아세틸), α-아미노이소부티르산 등)에 의한 치환이 본 발명의 폴리펩티드에서 이용할 수 있다. 다른 아미노산 치환과 같이, 비천연 아미노산은, 치환시, 이것을 치환시키는 잔기의 공간 특성 및 이온 또는 비이온 특성을 보유하도록 통상적으로 치환된다.

당업자라면 아미노산 잔기를 상기 폴리펩티드의 활성에 영향을 미치는 일 없이 본 발명의 폴리펩티드의 C 말단 및/또는 N 말단에 첨가할 수 있다는 것을 이해할 것이다. 따라서, 본원에 기재된 나선 서열을 포함하는 본 발명의 폴리펩티드(예를 들면, 서열 번호 1-33의 폴리펩티드)는 길이 20개, 21개 또는 22개 이상의 아미노산인 실시양태, 예를 들면 길이 23개, 24개, 25개, 26개, 27개, 30개, 35개 또는 40개의 아미노산인 펩티드를 포함한다. 당업자라면 또한 일 실시양태에서 본 발명의 폴리펩티드가 예를 들면 프롤린 또는 다른 링커 잔기를 통해 콜레스테롤 유출을 자극하는 다른 양친매성 α 나선 펩티드에 연결되어 2중 나선 또는 예를 들면 길이 40개, 50개, 60개, 70개, 80개, 90개 또는 100개의 아미노산의 다합체 폴리펩티드를 형성할 수 있다는 것을 이해할 것이다. 따라서, 서열 번호 1-33의 임의의 서열은 아미노산 첨가를 가질 수 있거나, 연결될 수 있다. 예를 들면, 서열 번호 2-26 또는 31-33과 같은 본 발명의 폴리펩티드의 하나의 분자는 프롤린 잔기를 통해 폴리펩티드의 다른 분자에 연결되어 적어도 길이 41개의 아미노산인 폴리펩티드를 제공할 수 있다. 유사하게, 2개의 20합체, 2개의 21합체, 2개의 22합체, 20합체 및 22합체, 21합체 및 20합체 또는 21합체 및 22합체는 예를 들면 프롤린을 사용하여 연결되어, 길이 41-45개의 잔기인 폴리펩티드를 생성시킬 수 있다. 상기 2중 나선 또는 다합체 펩티드는 2중 나선 또는 다합체 펩티드에 의해 포함되는 본 발명의 단일 나선 펩티드의 활성에 동등하거나 또는 바람직하

게는 이를 초과하는 활성을 갖는다. 또한, 상기 2중 나선 또는 다합체 폴리펩티드는 천연 전장 아포지단백질(예를 들면, 아포A-I 및 아포E)의 콜레스테롤 유출 활성을 초과하거나, 아포지단백질의 콜레스테롤 유출 매개 도메인의 콜레스테롤 유출 활성을 초과하는 활성을 가질 수 있다. 본원에 기재된 방법론을 이용하여, 당업자라면 용이하게 C 말단 및/또는 N 말단에 추가 아미노산을 추가하고, 이후 원하는 활성에 대해 생성된 폴리펩티드를 스크리닝할 수 있다.

[0143] 몇몇 실시양태에서, 나선의 극성/비극성 계면에서 티올 보유 아미노산(예를 들면, Cys)을 치환 또는 삽입하여 본원에 기재된 나선 펩티드를 변형시킬 수 있다.

[0144] 특히 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 본원에 기재된 하나 이상의 D-아미노산을 포함한다. 특정한 실시양태에서, 모든 아미노산(예를 들면, 모든 거울상이성체 아미노산)은 D-아미노산이다. 모든 D-아미노산을 포함하는 폴리펩티드가 L-아미노산 폴리펩티드와 같이 높은 커패시티 및 높은 친화도로 콜레스테롤 유출을 자극하는 것으로 밝혀졌다. 단순히 화학 합성에서 D 형태 유도 아미노산 잔기를 사용하여 폴리펩티드 내 1곳 이상의 위치에서 D-아미노산이 용이하게 혼입된다. 고상 폴리펩티드 합성을 위한 D 형태 잔기는 다수의 공급업자(예를 들면, Advanced Chem Tech(미국 켄터키주 루이스빌); Nova Biochem(미국 캘리포니아주 샌 디에고); Sigma(미국 미조리주 세인트 루이스); Bachem California Inc.(미국 캘리포니아주 토란스) 등 참조)로부터 상업적으로 구입가능하다. D 형태 아미노산은 원하는 대로 폴리펩티드 내 임의의 위치에서 혼입될 수 있다. 따라서, 예를 들면 일 실시양태에서, 폴리펩티드는 단일 D-아미노산을 포함할 수 있는 반면, 다른 실시양태에서, 폴리펩티드는 적어도 2개, 일반적으로 적어도 3개, 보다 일반적으로 적어도 4개, 가장 일반적으로 적어도 5개, 바람직하게는 적어도 6개, 더 바람직하게는 적어도 7개, 가장 바람직하게는 적어도 8개의 D 아미노산을 포함한다. 일 실시양태에서, 실질적으로 모든 다른 (거울상이성체) 아미노산이 D 형태 아미노산이다. 특정한 실시양태에서, 적어도 80%, 바람직하게는 적어도 90%, 더 바람직하게는 적어도 95%의 거울상이성체 아미노산이 D 형태 아미노산이다. 특히 바람직한 일 실시양태에서, 실질적으로 모든 거울상이성체 아미노산은 D 형태 아미노산이다.

[0145] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드의 펩티드 모방체가 제공된다. "펩티드 모방체"은 인산화, 캠퍼, 지방산 변형을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않고 비천연 골격 및/또는 측쇄 구조를 포함하는 아미노산 쇠의 임의의 변형 형태를 포함한다. 당업자라면 펩티드 모방체가 아미노산 쇠와 비펩티드 소형 분자 사이에 구조 연속체를 포함한다는 것을 용이하게 명확히 알 것이다. 펩티드 모방체는 일반적으로 인식 가능한 폴리펩티드 유사 중합체 단위 구조를 보유한다. 따라서, 펩티드 모방체는 통상적으로 천연 폴리펩티드가 결합하는 임의의 표적 분자에 대한 결합의 기능을 보유한다. 적합한 펩티드 모방체의 예는 미국 특허 출원 제2006/0069030호(이의 교시내용은 모든 목적을 위해 참조문헌으로 포함됨)에 개시되어 있다. 다른 펩티드 모방체 및 이를 제조하는 방법은 당업자에게 공지되어 있다.

[0146] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 모방체는 2개의 카테고리 중 어느 하나에 해당한다: (i) 대리체; 및 (ii) 유사체. 폴리펩티드의 아미드 결합을 위해 다양한 대리체가 개발되었다. 아미드 결합에 흔히 이용되는 대리체로는 (i) 트랜스-올레핀, (ii) 플루오로알켄, (iii) 메틸렌아미노, (iv) 포스포아미드 및 (v) 설포아미드의 기를 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 상기 대리체의 예는 미국 특허 출원 제2006/0069030호에 개시되어 있다. 또한, 폴리펩티드의 골격의 많은 실질적인 변형에 기초하는 펩티드 모방체를 사용할 수 있다. 이러한 카테고리에 해당하는 펩티드 모방체로는 (i) 레트로-인버소 유사체 및 (ii) N-알킬 글리신 유사체(소위 펩토이드)를 들 수 있다. 또한, 상기 유사체의 예는 미국 특허 출원 제2006/0069030호에 개시되어 있다.

[0147] 본 발명의 일 실시양태에서, 펩티드 또는 펩티드 모방체는 레트로-인버소 유사체이다. L-아미노산 기반 폴리펩티드를 합성하는 것과 유사한 방식으로 당해 분야에 공지된 방법에 따라 레트로-인버소 유사체를 제조할 수 있다. 보다 구체적으로, 상기 레트로-인버소 유사체를 제조하기에 적합한 방법의 예는 Sisto 등에 의해 발행된 미국 특허 제4,522,752호에 기재되어 있다. HPLC 또는 당업자에게 공지된 임의의 다른 적합한 크로마토그래피 방법에 의해 최종 제품 또는 이의 중간체를 정제할 수 있다.

[0148] 다른 실시양태에서, 펩티드 또는 펩티드 모방체는 레트로-에난티오 유사체이다. 표준 고상 또는 액상 폴리펩티드-합성 기법을 이용하여 상업적으로 구입 가능한 D-아미노산(또는 이의 유사체)으로부터 레트로-에난티오 유사체를 합성할 수 있다.

[0149] 또 다른 실시양태에서, 펩티드 모방체는 트랜스-올레핀 유사체 또는 유도체이다. 문헌[Shue et al., Tetrahedron Lett., 28:3225 (1987)]의 방법에 따라 상기 폴리펩티드의 트랜스-올레핀 유사체를 용이하게 합성할 수 있다. 또한, 당해 분야에 공지된 다른 방법을 또한 이용할 수 있다. 트랜스-올레핀 유도체를 합성하는 데 사용되는 시약의 성질에 따라 Sjeue 등의 절차에서의 변형 또는 다른 이용 가능한 절차가 필요할 수 있는 것으로



이해될 수 있다.

- [0150] 또한, 상기 방법에 의해 합성된 유사디펩티드를 다른 유사디펩티드에 결합시켜, 아마이드 작용기 대신에 몇몇 올레핀 작용기를 갖는 유사펩티드를 제조할 수 있다. 예를 들면, 특정한 디-펩티드 서열에 대응되는 유사디펩티드를 제조하고 이후 표준 기법에 의해 함께 결합시켜 잔기 사이의 교대하는 올레핀 결합을 갖는 폴리펩티드의 유사체를 생성시킬 수 있다.
- [0151] 또 다른 종류의 펩티드 모방체 유도체는 포스포네이트 유도체를 포함한다. 상기 포스포네이트 유도체의 합성은 공지된 합성 반응식으로부터 채택할 수 있다(예를 들면, 문헌[Loots et al. "Peptides: Chemistry and Biology," (Escom Science Publishers, Leiden, p. 118, 1988); Petrillo et al. "Peptides: Structure and Function (Proceedings of the 9th American Peptide Symposium)," (Pierce Chemical Co. Rockland, III., 1985)] 참조).
- [0152] 다른 실시양태에서, 변형은 탄수화물 또는 지질 잔기의 도입일 수 있다. 상기 변형은 다양한 배지 내 폴리펩티드의 용해도를 변경시켜 적합한 약학 조성물로서 유리하게 제조될 수 있게 한다. 변형 지질 기로는 파르네실 및 미리스토일 기를 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 변형 탄수화물 기로는 임의의 천연 및/또는 합성 당의 단일 당 또는 올리고사카라이드 및 예를 들면 포도당, 갈락토스, 람노스, 만노스, 아라비노스를 비롯한 당 알콜 및 다른 당 및 이의 각각의 알콜을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0153] 특정한 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 모방체는 수식후 변형과 유사한 변형을 더 포함할 수 있다. 상기 변형으로는 아세틸화, 카르복실화, 글리코실화, 인산화, 지질화 및 아실화를 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 그 결과, 변형 펩티드 모방체는 비아미노산 구성요소, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜, 지질, 폴리사카라이드 또는 모노사카라이드 및 포스페이트를 포함할 수 있다. 펩티드 모방체의 기능에 미치는 상기 비아미노산 구성요소의 효과는 본원에 개시된 분석 방법을 이용하여 시험할 수 있다.
- [0154] 따라서, 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 모방체는 서열 번호 1-33의 폴리펩티드와 실질적으로 유사한 3차원 입체구조를 갖는다. 특정한 실시양태에서, 펩티드 모방체는 카르복시 방향에 대한 아마노 내 아마이드 연결이 아닌 1 이상의 주쇄 연결, 예컨대 천연 폴리펩티드에 대한 레트로-인버소 폴리펩티드, 또는 아마이드 연결이 아닌 1 이상의 주쇄 연결을 포함한다.
- [0155] 구성 아마노산 및/또는 말단 아마노산 상의 R 기가 차단, 즉 보호기에 의해 보호되도록, 예를 들면 레트로-인버소 펩티드 모방체를 비롯하여 본 발명의 폴리펩티드 및 펩티드 모방체를 변형할 수 있다. 특히 아마노 및/또는 카르복시 말단의 봉쇄가 경구 전달을 크게 개선하고 혈청 반감기를 현저히 증가시키는 것으로 밝혀졌다. 본원에서 사용되는 "보호기"는 원치않는 화학 전환으로부터 가능하게는 반응성 작용기를 보호하는 일시적 치환기를 의미한다. 상기 보호기의 예로는 일반적으로 각각 카르복실산의 에스테르, 알콜의 실릴 에테르, 및 알데하이드 및 케톤의 아세탈 및 케탈을 들 수 있다. 보호기 화학의 분야는 검토되었다(Greene, T. W.; Wut, P. G. M. Protective Groups in Organic Synthesis, 2<sup>nd</sup> ed.; Wiley: New York, 1991).
- [0156] 이러한 목적에 많은 보호기가 적합하다. 상기 기로는 아세틸,  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-$ , 아마이드, Fmoc, t-부톡시카르보닐 (t-BOC), 9-플루오렌아세틸 기, 1-플루오렌카르복실 기, 9-플루오렌카르복실 기, 9-플루오레논-1-카르복실 기, 벤질옥시카르보닐, 크산틸(Xan), 트리틸(Trt), 4-메틸트리틸(Mtt), 4-메톡시트리틸(Mmt), 4-메톡시-2,3,6-트리메틸-벤젠설포닐(Mtr), 메시틸렌-2-설포닐(Mts), 4,4-디메톡시벤조히드릴(Mbh), 토실(Tos), 2,2,5,7,8-펜타메틸 크로만-6-설포닐(Pmc), 4-메틸벤질(MeBzl), 4-메톡시벤질(MeOBzl), 벤질옥시(BzlO), 벤질(Bzl), 벤조일(Bz), 3-니트로-2-피리딘설포닐(Npys), 1-(4,4-디메틸-2,6-디옥소사이클로헥실리덴)에틸(Dde), 2,6-디클로로벤질(2,6-DiCl-Bzl), 2-클로로벤질옥시카르보닐(2-Cl-Z), 2-브로모벤질옥시카르보닐(2-Br-Z), 벤질옥시메틸(Bom), 사이클로헥실옥시(cHxO), t-부톡시메틸(Bum), t-부톡시(tBuO), t-부틸(tBu) 및 트리플루오로아세틸(TFA)을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 변수 "n"은 0 내지 12, 통상적으로 0 내지 6, 예컨대 0 내지 4의 정수이다. 다른 적합한 보호기는 미국 특허 제6,933,279호(이의 개시내용은 참조문헌으로 포함됨)에 개시되어 있다.
- [0157] 일 실시양태에서, 바람직한 보호기로는 아세틸, 아마이드 및 알킬 기를 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않고, 아세틸 및 알킬 기가 N 말단 보호에 특히 바람직하고 아마이드 기가 카르복시 말단 보호에 특히 바람직하다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 아마노 말단을 보호하기 위해 아세틸 기를 사용하고 카르복시 말단을 보호하기 위해 아마이드 기를 사용한다. 이 실시양태에서, 아세트산 무수물을 사용하여 폴리펩티드가 수지 상에 있을 때 합성 동안 아세틸화를 달성할 수 있다. 합성에 적절한 수지의 선택에 의해 아마이드 보호를 달성할 수 있다. 예를 들면,

링크 아미드 수지를 사용할 수 있다. 합성 완료 후, Asp 및 Glu와 같은 산성 2작용성 아미노산 및 Lys와 같은 염기성 아미노산 및 Tyr의 하이드록실 상의 반응구 보호기를 모두 동시에 제거한다. 산성 처리를 이용하여 상기 수지로부터 방출되는 폴리펩티드는 아세틸로서 보호된 N 말단 및 NH<sub>2</sub>로서 보호된 C 말단으로부터 나오고, 다른 보호기가 모두 동시에 제거된다.

[0158] **A. 화학 합성**

[0159] 예를 들면, 고상 합성을 비롯한 당해 분야에 널리 공지된 방법을 이용하여 폴리펩티드를 화학적으로 합성할 수 있다(예를 들면, 문헌[Merrifield, J. Am. Chem. Soc, 85:2149-2154(1963); Abelson et al., Methods in Enzymology, Volume 289: Solid-Phase Peptide Synthesis (1st ed. 1997)] 참조). 수동 기법을 이용하여 또는 자동화에 의해 폴리펩티드 합성을 수행할 수 있다. 예를 들면, Applied Biosystems 431A Peptide Synthesizer(Perkin Elmer)를 사용하여 자동 합성을 달성할 수 있다. 별법으로, 폴리펩티드의 다양한 단편을 별도로 화학적으로 합성한 후, 화학 방법을 이용하여 혼합하여 전장 폴리펩티드를 생성할 수 있다. 폴리펩티드의 서열 및 질량을 GC 질량 분광법에 의해 확인할 수 있다. 일단 합성되면, 예를 들면 상기 기재된 바대로 N 말단 아세틸 기 및 C 말단 아미드 기에 의해 폴리펩티드를 변형시킬 수 있다. 합성된 폴리펩티드를 적어도 약 80%, 바람직하게는 90%, 더 바람직하게는 95%의 순도로 HPLC에 의해 추가로 분리시킬 수 있다.

[0160] **B. 재조합 발현**

[0161] 본원에 기재된 폴리펩티드를 특히 폴리펩티드가 "D" 아미노산 잔기를 포함하지 않을 때 또한 재조합으로 발현시킬 수 있다. 이 실시양태는 재조합 유전학의 분야에서의 일상 기법에 의존한다. 일반적으로, 본원에 기재된 재조합 DNA 기술에서의 명명법 및 실험실 절차는 당해 분야에서 널리 공지되어 있고 통상 사용되는 것이다. 클로닝, DNA 및 RNA 단리, 증폭 및 정제에 표준 기법을 이용한다. 제조업자의 규격에 따라 일반적으로 DNA 절찰, DNA 중합효소, 제한 엔도뉴클레아제 등을 포함하는 효소 반응을 수행한다. 본 발명에서의 일반적인 이용 방법을 개시하는 기본 교재로 문헌[Sambrook et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual (3d ed. 2001); Kriegler, Gene Transfer and Expression" A Laboratory Manual (1990); Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al., eds., 1994)]을 포함한다.

[0162] 예를 들면, 발현시키고자 하는 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열을 클로닝하기 위해, 생리학적 샘플에서 코딩 mRNA의 존재를 검출하기 위한 프로브로서 사용하기 위한 핵산을 제조하기 위해, 핵산 서열 분석을 위해 또는 다른 목적을 위해 중합효소 체 반응 또는 다른 시험관내 증폭 방법이 또한 유용할 수 있다. PCR 반응에 의해 증폭된 핵산을 아가로스 겔로부터 정제하고 적절한 벡터로 클로닝할 수 있다.

[0163] 당해 분야에 공지된 기법, 예를 들면 mRNA의 역전사 및 증폭, 전체 RNA 또는 폴리 A+RNA의 단리, 노던 블로팅, 도트 블로팅, 제자리 하이브리드화, RNase 보호, 프로빙 DNA 마이크로칩 어레이 등에 의해 본 발명의 서열의 유전자 발현을 또한 분석할 수 있다.

[0164] 본 발명의 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열과 같은 핵산 서열의 고수준 발현을 얻기 위해, 통상적으로 본 발명의 폴리펩티드 서열을 발현 벡터로 코딩하는 핵산 서열을 서브클로닝하고, 이 발현 벡터는 후속적으로 적합한 숙주 세포로 형질감염된다. 발현 벡터는 통상적으로 전사를 지시하는 강력한 프로모터 또는 프로모터/항상제, 전사/번역 종결자, 및 단백질을 코딩하는 핵산의 경우, 번역 개시에 대한 리보솜 결합 부위를 포함한다. 프로모터는 본 발명의 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열 또는 이의 하위서열에 작동적으로 연결된다. 적합한 박테리아 프로모터는 당해 분야에 널리 공지되어 있고, 예를 들면 Sambrook 외 및 Ausubel 외의 문헌에 기재되어 있다. 발현 벡터에 통상적으로 포함되는 구성요소는 또한 이. 콜라이에서 기능하는 레플리콘, 재조합 플라스미드가 포함된 박테리아의 선택을 허용하는 항생제 내성을 코딩하는 유전자 및 진행 서열의 삽입을 허용하는 플라스미드의 비필수 영역에서의 독특한 제한 부위를 포함한다. 선택되는 특정한 항생제 내성 유전자는 중요하지 않고, 당해 분야에 공지된 많은 내성 유전자 중 임의의 유전자가 적합하다.

[0165] 세포에 유전자 정보를 수송하도록 사용되는 특정한 발현 벡터는 특히 중요하지 않다. 진행 또는 원핵 세포에서의 발현에 사용되는 종래 벡터 중 임의의 벡터를 사용할 수 있다. 표준 박테리아 발현 벡터로는 플라스미드, 예컨대 pBR322 기반 플라스미드, pSKF, pET23D 및 융합 발현 시스템, 예컨대 GST 및 LacZ를 들 수 있다. 재조합 폴리펩티드에 His 태그와 같은 에피토프 태그를 첨가하여 편리한 단리 방법을 제공할 수 있다. 몇몇 경우에, 효소 분해 서열(예를 들면, 인자 Xa 분해 부위를 형성하는 Met-(His)g-Ile-Glu-Gly-Arg)을 재조합 폴리펩티드에 첨가한다. 폴리펩티드를 발현시키기 위한 박테리아 발현 시스템은 예를 들면 이. 콜라이, 바실루스 종(Bacillus sp.) 및 살모넬라에서 이용 가능하다(Palva et al., Gene 22:229-235 (1983); Mosbach et al., Nature

302:543-545 (1983)). 상기 발현 시스템을 위한 키트는 상업적으로 구입 가능하다. 포유동물 세포, 효모 및 곤충 세포에 대한 진핵 발현 시스템은 당해 분야에 널리 공지되어 있고 상업적으로 구입 가능하다.

[0166] 표준 형질감염 방법을 이용하여 많은 분량의 본 발명의 폴리펩티드를 발현하는 세포주를 생성하고, 이후 표준 기법을 이용하여 정제한다(예를 들면, 문헌[Colley et al., J. Biol. Chem., 264:17619-17622 (1989); Guide to Protein Purification, in Methods in Enzymology, vol. 182 (Deutscher, ed., 1990)] 참조). 표준 기법에 따라 세포의 형질전환을 수행한다(예를 들면, 문헌[Morrison, J. Bact., 132:349-351 (1977); Clark-Curtiss & Curtiss, Methods in Enzymology, 101:347-362 (Wu et al., eds, 1983)] 참조). 예를 들면, 외래 뉴클레오티드 서열을 숙주 세포로 도입하는 널리 공지된 절차 중 임의의 절차를 이용할 수 있다. 이것은 인산칼슘 형질감염, 폴리브렌, 원형질체 융합, 전기영동, 리포솜, 미세주입, 혈장 벡터, 바이러스 벡터 및 클로닝된 게놈 DNA, cDNA, 합성 DNA 또는 다른 외래 유전자 물질을 숙주 세포로 도입하기 위해 다른 널리 공지된 방법 중 임의의 방법의 이용을 포함한다(예를 들면, 상기 Sambrook 외 문헌 참조). 본 발명의 폴리펩티드를 발현할 수 있는 숙주 세포로 1종 이상의 유전자를 성공적으로 도입시킬 수 있도록 사용하는 특정한 유전자 조작 절차만이 반드시 필요하다.

[0167] 발현 벡터를 세포로 도입시킨 후, 본 발명의 폴리펩티드의 발현에 바람직한 조건 하에 형질감염된 세포를 배양한다. 하기 기재된 표준 기법을 이용하여 배양물로부터 본 발명의 폴리펩티드를 회수한다.

#### [0168] C. 폴리펩티드의 정제

[0169] 예를 들면, 봉입체로부터의 추출 및 정제, 크기 차등 여과, 용해도 분별(즉, 황산암모늄과 같은 물질에 의한 선택적 침전); 칼럼 크로마토그래피, 면역정제 방법 및 다른 방법을 비롯한 당해 분야에 공지된 표준 기법에 의해 실질적인 순도로 폴리펩티드를 정제한다(예를 들면, 문헌[Scopes, Protein Purification: Principles and Practice (1982)]; 미국 특허 제4,673,641호; 상기 Ausubel 외 문헌; 상기 Sambrook 외 문헌 참조).

[0170] 폴리펩티드가 정제될 때 다수의 절차를 이용할 수 있다. 예를 들면, 확립된 분자 접착 특성을 갖는 폴리펩티드를 재조합 폴리펩티드에 가역적으로 융합시킬 수 있다. 적절한 리간드에 의해, 재조합 폴리펩티드를 정제 칼럼에 선택적으로 흡착시킨 후, 비교적 순수한 형태로 칼럼으로부터 유리시킬 수 있다. 이후, 융합된 폴리펩티드를 효소 활성에 의해 제거한다. 마지막으로, 면역친화성 칼럼을 사용하여 폴리펩티드를 정제할 수 있다.

#### [0171] IV. 원하는 활성을 갖는 폴리펩티드를 확인하는 방법

[0172] 당업자에게 널리 공지된 방법을 이용하여 콜레스테롤 유출을 매개하고/하거나 ABCA(예를 들면, ABCA1)를 안정화시키는 이의 능력에 대해 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 용이하게 스크리닝할 수 있다.

[0173] 콜레스테롤 유출을 매개하고/하거나 ABCA(예를 들면, ABCA1)를 안정화시키는 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 확인하기 위해 다수의 상이한 스크리닝 프로토콜을 이용할 수 있다. 일 실시양태에서, 스크리닝 방법은 예를 들면 인간 세포를 비롯한 포유동물 세포에서 콜레스테롤 유출을 매개하고/하거나 ABCA(예를 들면, ABCA1)를 안정화시키는 폴리펩티드를 확인하기 위해 복수의 시험 폴리펩티드를 스크리닝하는 것을 포함한다.

[0174] 콜레스테롤 유출을 매개하고/하거나 ABCA를 안정화시키는 이의 능력을 스크리닝하는 것 이외에, 예를 들면 항산화 활성 및 소염 활성을 비롯한 다른 활성에 대해 후보자 시험 폴리펩티드를 또한 스크리닝할 수 있다. 항산화 활성 및/또는 소염 활성을 갖는 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 확인하기 위해 다수의 상이한 스크리닝 프로토콜을 이용할 수 있다.

[0175] 당업자라면 원하는 생물학적 활성에 대해 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 스크리닝하기 위해 본원에 개시된 것 이외에 다양한 다른 스크리닝 분석을 이용할 수 있다는 것을 용이하게 이해할 것이다.

#### [0176] A. 콜레스테롤 유출 활성에 대한 스크리닝

[0177] 적합한 콜레스테롤 유출 분석은 예를 들면 문헌[Bielicki, J. K and Oda, M. N., Biochem, 41:2089-2096 (2002); Jia et al., Biochem. Biophys. Res. Common., 297:206-213 (2002)]에 기재되어 있다. 몇몇 실시양태에서, 세포 기반 분석에서 콜레스테롤 유출의 추가 매개체에 대해 스크리닝하기 위해 콜레스테롤 유출을 매개하는 것으로 공지된 폴리펩티드(예를 들면, 아포A-I의 나선 9/10)를 사용한다. 예를 들면, 콜레스테롤 유출을 매개하는 본 발명의 폴리펩티드의 능력을 평가하기 위해 ABCA1 단백질 발현을 상향 조절하는 cAMP 유사체(예를 들면, J774 거대세포)를 사용하여 콜레스테롤 유출이 증대될 수 있는 세포주를 편리하게 사용할 수 있다. 세포에 의한 콜레스테롤 흡수에 적절한 조건 하에 표지된 콜레스테롤(예를 들면, [<sup>3</sup>H]콜레스테롤)과 함께 세포를 항온처

리한다. 따라서, 세포 콜레스테롤 유출의 개시 전에, 즉 세포와 시험 폴리펩티드의 접촉 전에 cAMP 또는 cAMP 유사체(예를 들면, CPT-cAMP)를 적합한 시간 동안 세포와 함께 항온처리한다. 배지 중에 나타나는 표지된 콜레스테롤의 측정을 이용하여 시험 폴리펩티드의 콜레스테롤 유출 매개 활성을 측정한다.

[0178] **B. ABCA 안정화 활성에 대한 스크리닝**

[0179] 당해 분야에 공지된 다수의 분석을 이용하여 본 발명의 폴리펩티드의 ABCA 안정화 활성을 측정할 수 있다. 예를 들면, ABCA(예를 들면, ABCA1)에 결합하는 시험 폴리펩티드의 능력을 시험하기 위해 결합 분석을 이용할 수 있다. ABCA 안정화 활성을 갖는 폴리펩티드가 또한 마찬가지로 콜레스테롤 유출의 매개체인 것으로 밝혀졌다. 그러므로, 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체는 콜레스테롤 유출을 매개하고 ABCA를 안정화시키는 능력을 갖는다. 하나의 스크리닝 실시양태에서, 결합 분석은 경쟁적 분석일 수 있다. 다른 분석은 예를 들면 시험 폴리펩티드와의 접촉 이후 ABCA(예를 들면, ABCA 단백질 또는 핵산)의 직접 측정을 포함한다.

[0180] **1. 결합 분석**

[0181] 결합 분석은 일반적으로 ABCA와 1종 이상의 시험 폴리펩티드와의 접촉시키고, ABCA 및 시험 폴리펩티드가 결합 복합체를 형성하기에 충분한 시간을 허용하는 것을 포함한다. 다수의 확립된 분석 기법 중 임의의 기법을 이용하여 형성된 임의의 결합 복합체를 검출할 수 있다. 단백질 결합 분석으로는 면역조직화학 결합 분석, 유세포 분석법 또는 다른 분석을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 몇몇 실시양태에서, 경쟁 분석을 이용하여 시험 폴리펩티드가 ABCA 안정화 활성을 갖는지를 결정한다. 경쟁 분석은 당해 분야에 널리 공지되어 있다. 통상적으로, 경쟁자 화합물, 즉 ABCA에 결합하는 것으로 공지된 화합물을 표지하여 (예를 들면, ABCA에 결합할 수 있는 본 발명의 시험 폴리펩티드의 증가량의 존재 하에) ABCA에 대한 결합의 차이를 측정할 수 있다. 분석에서 사용되는 특정한 라벨 또는 검출 가능한 기가 ABCA에 대한 시험 화합물의 결합과 현저히 상호작용하지 않는 한, 이것은 본 발명의 중요한 양태가 아니다. 본원에 기재된 바대로, 검출 가능한 기(또는, 별법으로 검출 가능한 잔기 또는 라벨)는 검출 가능한 물리 또는 화학 특성을 갖는 임의의 물질일 수 있다. 상기 검출 가능한 라벨은 면역분석의 분야에서 널리 개발되어 있고, 일반적으로 상기 방법에서 유용한 대부분의 임의의 라벨은 본 발명에 적용될 수 있다. 따라서, 라벨은 분광, 광화학, 생화학, 면역화학, 전기, 광학 또는 화학 수단에 의해 검출 가능한 임의의 조성물이다. 본 발명에서 유용한 라벨로는 자기 비드(예를 들면, DYNABEADSTM), 형광 염료(예를 들면, 플루오레신 이소티오시아네이트, 텍사스 레드(Texas red), 로다민 등), 방사능 라벨(예를 들면, <sup>3</sup>H, <sup>125</sup>I, <sup>35</sup>S, <sup>14</sup>C 또는 <sup>32</sup>P), 효소(예를 들면, 겨자무 과산화효소, 알칼리 포스파타제 및 ELISA에서 통상 사용되는 다른 효소) 및 비색 라벨, 예컨대 콜로이드성 금 또는 착색 유리 또는 플라스틱 비드(예를 들면, 폴리스티렌, 폴리프로필렌, 라텍스 등)를 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다.

[0182] 몇몇 실시양태에서, ABCA 발현 및 비발현 세포를 사용하여 ABCA에 대한 시험 폴리펩티드 및 경쟁자 화합물(예를 들면, 전장 아포A-I A 또는 아포A-I 9/10 폴리펩티드)의 상대 ABCA 결합 친화도를 측정함으로써 시험 폴리펩티드의 ABCA(예를 들면, ABCA1) 안정화 활성을 측정한다. 몇몇 실시양태에서, 전장 아포A-I A 내지 ABCA의 결합 친화도를 예를 들면 문헌[Remaley et al., J. Lipid Res., 44:828-836 (2003)]에 기재된 본 발명의 표지된 폴리펩티드의 결합 친화도와 비교하였다. ABCA를 발현하는 세포를 경쟁자 화합물의 존재 및 부재 하에 항온처리한 후, 각각의 표지된 시험 폴리펩티드(예를 들면, 본 발명의 방사능 표지된 폴리펩티드)의 농도 범위에 노출시킨다. 통상적으로, 시험 폴리펩티드의 농도는 약 0.1 µg/ml 내지 약 200 µg/ml, 약 0.5 µg/ml 내지 약 100 µg/ml, 약 1 µg/ml 내지 약 40 µg/ml 또는 약 5 µg/ml 내지 약 20 µg/ml이다.

[0183] **2. ABCA의 직접 측정**

[0184] 몇몇 실시양태에서, 세포 기반 분석을 이용한 ABCA(예를 들면, ABCA 단백질 또는 핵산)의 직접 측정에 의해 ABCA의 안정화를 측정한다. ABCA로 형질감염된 세포(예를 들면, HeLa 세포)를 비롯하여 ABCA가 발현된 임의의 세포(예를 들면, J774 거대세포)에서 세포 기반 분석을 수행할 수 있다. 임의의 세포 유형을 사용할 수 있다. 예를 들면, J774 거대세포를 사용하여 본 발명의 폴리펩티드의 존재 및 부재 하에 상대 ABCA1 단백질 수치를 평가할 수 있다. 세포를 우선 ABCA를 유도하는 화합물(예를 들면, cAMP 또는 cAMP 유사체, 예컨대 8-브로모-cAMP)과 접촉시켜 ABCA(예를 들면, ABCA1) 발현을 상향 조절한 후, cAMP 자극의 부재 하에 본 발명의 폴리펩티드의 존재 및 부재 하에 합성 ABCA1 단백질 수치에 노출시켜 ABCA1 단백질이 안정화 또는 분해되었는지를 평가한다. 예를 들면, 세포막의 면역블롯 분석(Oram et al., J. Biol. Chem., 278:52379-52385 (2003)) 또는 ABCA mRNA에 대한 핵산 프로브의 하이브리드화를 비롯하여 당해 분야에 공지된 임의의 수단을 이용하여 ABCA1 단백질



의 상대 수준을 평가할 수 있다.

[0185] **C. 항산화제 활성화에 대한 스크리닝**

[0186] 당해 분야에 공지된 방법을 이용하여 항산화제 활성화에 대해 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 스크리닝할 수 있다. 예를 들면, 미국 특허 공보 제2003/0087819호에는 예를 들면 미셀 기질 분석을 비롯하여 폴리펩티드의 항산화제 활성을 측정하기 위해 사용할 수 있는 다수의 분석이 기재되어 있다. 인지질(예를 들면, 1-팔미토일-2-리놀레오일포스파티딜콜린)을 포함하는 미셀 기질을 사용하여 특이적 효소(예를 들면, 대두 리폭시제나제 및/또는 크산틴/크산틴 옥시다제)에 의해 촉매되는 지질 과산화의 속도를 측정한다. 효소는 본 발명의 재조합 폴리펩티드의 인지질 미셀에의 첨가 후 지질 과산화를 개시시킨다. 공액 디엔(지질 과산화의 생성물)의 증가를 25℃에서 자외선 흡수 분광법(234 nm)에 의해 측정한다. 공액 디엔의 몰 흡수 계수( $\epsilon=29,500 \text{ Lcm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ )를 이용하여 인지질 하이드로퍼옥사이드의 질량을 계산한다. 리폭시제나제 매개 지질 과산화의 초기 속도를 산화 곡선의 직선 부분의 기울기로부터 계산하고 그 결과를 분마다 형성된 과산화인지질의 nmole로 표시한다. 폴리펩티드의 부재 하에 얻어진 과산화지질 축적의 최대 수치(즉, 산화 곡선과 관련된 고원)에 기초하여, 본 발명의 폴리펩티드의 효능(예를 들면, 지질 과산화에 50% 보호를 발생시키는 폴리펩티드의 농도)과 관련된 정량적 정보를 유도할 수 있다. 다른 방법은 LDL, VLDL 및 Lp(A)로서 아포B 지단백질의 산화를 예방하는 폴리펩티드 커패시티에 대해 스크리닝하는 것에 관한 것이다.

[0187] 항산화 활성화에 대해 스크리닝하는 다른 분석은 PCT 공보 WO 제02/15923호(이의 교시내용은 본원에 참조문헌으로 포함됨)에 개시되어 있다.

[0188] **D. 소염 활성화에 대한 스크리닝**

[0189] 당해 분야에 공지된 임의의 방식을 이용하여 소염 활성화에 대해 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 스크리닝할 수 있다. 예를 들면, 염증 사건에 민감한 효소(예를 들면, 레시틴:콜레스테롤 아세틸트랜스퍼라제(LCAT) 또는 파라옥소나제(PON))의 활성을 분석하는 분석을 이용하여 본 발명의 폴리펩티드의 소염 활성을 평가할 수 있다. 적합한 분석은 예를 들면 외인성 프로테오리포솜 기질을 이용한 LCAT 활성의 정량화를 기재하고 있는 문헌[Chen et al., J. Lipid Res., 23:680-691 (1982)] 및 PON 활성의 정량화를 기재하고 있는 문헌[Forte et al., J. Lipid Res., 43:477-485 (2002)]에 기재되어 있다. 다른 스크리닝은 다양한 자극(예를 들면, 접착 분자, TNF- $\alpha$ , LPS 또는 이들의 조합) 이후 표적 세포의 mRNA 발현 및/또는 단백질 생성을 억제하는 폴리펩티드 커패시티를 모니터링하는 것을 포함할 수 있다.

[0190] **E. 프리 $\beta$  형성**

[0191] 인간 혈장에서 프리 $\beta$ -1 HDL 형성을 유도하는 능력에 대해 본 발명의 펩티드를 또한 스크리닝할 수 있다. 상기 분석 중 일 예에서, 시험하고자 하는 펩티드를 인간 혈장에 첨가한다. 펩티드를 갖는 혈장 및 펩티드를 갖지 않는 혈장을 항온처리한 후, 예를 들면 1차원의 아가로스 겔 전기영동에 이어, 2차원의 본래의 구배 겔 전기영동에 의해 평가하여 인간 혈장 샘플 중에 존재하는 HDL 입자의 집단을 평가한다. 관심 있는 펩티드는 통상적으로, 예를 들면 약 1:1 이하의 (혈장 내) 펩티드:아포A-I의 몰 비에서 강력한 활성을 나타낸다.

[0192] **F. 추가 시험**

[0193] 콜레스테롤 유출을 매개하거나 ABCA와 상호작용하는 것으로 처음에 확인된 폴리펩티드를 추가로 시험하여 콜레스테롤 유출을 매개하고/하거나 ABCA를 안정화시키는 이의 능력을 확인할 수 있다. 상기 방법의 기본적인 형식은 초기 스크리닝 동안 확인된 주요 화합물을 모델로서 작용하는 동물에게 투여하는 것을 포함한다. 검정 연구에서 사용되는 동물 모델은 일반적으로 임의의 종류의 포유동물이다. 적합한 동물의 구체적인 예로는 영장류(예를 들면, 침팬치, 원숭이 등) 및 설치류(예를 들면, 마우스, 랫트, 기니아 피그, 래빗 등)를 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 바람직한 실시양태에서, 아포E -/- 마우스, 아포A-II -/- 마우스 또는 아포C-III -/- 마우스를 사용한다. 추가 동물 모델은 예를 들면 문헌[Marschang et al., Stem. Cell Dev. Biol., 14:25-35 (2003)]에 기재되어 있다.

[0194] **G. 고속 스크리닝**

[0195] 일 실시양태에서, 고속 스크리닝(HT) 방법을 이용하여 콜레스테롤 유출을 매개하고/하거나 ABCA를 안정화시키는 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 확인한다. HTS 방법은 많은 강력한 치료 화합물(즉, 콜레스테롤 유출을 매개하거나 ABCA를 안정화시키는 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체)을 포함하는 조합 폴리펩티드 라이브러리

를 제공하는 것을 포함한다. 상기 "라이브러리"를 이후 본원에 기재된 바대로 1 이상의 분석에서 스크리닝하여 원하는 특징적인 활성을 디스플레이하는 라이브러리 구성원(즉, 특정한 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체)을 확인한다. 이렇게 확인된 화합물은 종래 "주요 화합물"로서 작용할 수 있거나, 그 자체가 강력한 치료제 또는 실질적인 치료제로서 사용될 수 있다.

[0196] 조합 폴리펩티드 라이브러리는 다수의 화학 "빌딩 블록", 즉 아미노산을 조합하여 화학 합성 또는 생물 합성 중 어느 하나에 의해 생성되는 다양한 폴리펩티드의 집합이다. 보다 특히, 소정 화합물 길이(즉, 폴리펩티드 화합물 내 아미노산 수)에 대해 모든 가능한 방식으로 일련의 화학 빌딩 블록(아미노산)을 조합하여 선형 조합 폴리펩티드 라이브러리를 형성한다. 화학 빌딩 블록의 이러한 조합 혼합을 통해 수백만 개의 폴리펩티드 화합물을 합성할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 서열 번호 2-26 및 31-33의 폴리펩티드의 보존적 변이체가 형성되고, 이것을 고속 방식으로 원하는 생물학적 활성(예를 들면, 콜레스테롤 유출 활성)에 대해 스크리닝한다.

[0197] 조합 라이브러리를 제조하기 위한 장치는 당업자에게 공지되어 있고 다수의 상이한 공급원(예를 들면, ECIS TM, Applied BioPhysics Inc.(미국 뉴욕주 트로이), MPS, 390 MPS, Advanced Chem Tech(미국 켄터키주 루이스빌), Symphony, Rainin(미국 매사추세츠주 워번), 433A Applied Biosystems(미국 캘리포니아주 포스터 시티), 9050 Plus, Millipore(미국 매사추세츠주 베드포드) 참조)으로부터 상업적으로 구입 가능하다.

## [0198] V. 사용 방법

[0199] 본 발명의 비천연 폴리펩티드는 콜레스테롤 유출을 매개하는 강력한 콜레스테롤 역수송(RCT) 경로를 이용한다. 본 발명의 폴리펩티드는, ABCA1 의존적 콜레스테롤 유출의 강력한 및 선택적 매개체라는 것 이외에, 또한 ABCA 안정화 활성, 항산화 활성 및 소염 활성, 이러한 활성의 임의의 조합, 바람직하게는 이러한 활성 모두를 갖는다.

[0200] 이의 생물학적 활성, 특히 콜레스테롤 유출을 매개하는 이의 능력과 관련하여, 포유동물에서 콜레스테롤 수치 증가를 치료하기 위해 또는 콜레스테롤 수치 증가를 발전시킬 위험이 있는 포유동물을 예방학적으로 치료하기 위해 본 발명의 폴리펩티드(또는 이의 펩티드 모방체)를 사용할 수 있다. 또한, 포유동물에서 지질 매개변수를 개선하기 위해 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 또한 사용할 수 있다. "지질 매개변수"의 개선은 예를 들면 혈관에 집착하는 지단백질의 성향의 감소, (혈장 LDL 및/또는 HDL 농도가 현저히 변화되지 않을 수 있다 하더라도) 죽상동맥경화성 경화반의 양의 감소, HDL 또는 LDL 입자의 산화 가능성의 감소, (예를 들면, 경동맥 혈관조영술 또는 초음파에 의해 측정되는) 죽상동맥경화증의 퇴보 및 심장 사건의 감소 중 1 이상을 포함한다. 따라서, 이상지질혈증, 고콜레스테롤혈증 및 염증과 관련된 질환 및 병증 또는 지질 매개변수를 변경시켜 치료할 수 있는 질환 및 병증, 예컨대 본원에 개시된 질환 및 병증을 치료 또는 예방(즉, 예방학적으로 치료)하기 위해 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 사용할 수 있다.

[0201] 본원에 구체적으로 개시된 질환 및 병증 이외에, 당업자는 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 사용하여 치료 또는 예방할 수 있는 이상지질혈증, 고콜레스테롤혈증 및 염증과 관련된 다른 질환 및 병증을 알 것이다.

## [0202] A. 죽상동맥경화증의 증상(들)의 치료 또는 예방

[0203] 일 실시양태에서, 본 발명은 죽상동맥경화증의 1종 이상의 증상을 치료, 완화 및/또는 예방하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 바람직하게는 본 발명의 폴리펩티드(또는 상기 폴리펩티드의 펩티드 모방체) 중 1종 이상을 유기체, 바람직하게는 포유동물, 더 바람직하게는 인간에게 투여하는 것을 포함한다. 주사, 좌제, 비강 분무, 경시 방출 이식물, 피하 패치, 경구 등을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는 다수의 표준 방법 중 임의의 방법에 따라 본원에 기재된 바대로 폴리펩티드(들)를 투여할 수 있다. 특히 바람직한 일 실시양태에서, 폴리펩티드(들)를 경구(예를 들면, 시럽, 캡슐, 정제 등으로서) 투여한다.

[0204] 본 발명의 방법은 죽상동맥경화증의 1종 이상의 증상(들)(예를 들면, 고혈압, 혈관 협착, 경화반 형성 및 파열, 심장 마비, 협심증 또는 뇌졸중, 높은 수치의 혈장 콜레스테롤, 높은 수치의 저밀도 지단백질, 높은 수치의 초저밀도 지단백질 또는 염증 단백질 등)을 갖는 인간 또는 비인간 동물을 치료하는 것으로 제한되지 않고, 또한 예방학적 상황에서 매우 유용하다. 따라서, 죽상동맥경화증의 1종 이상의 증상의 발병, 즉 전개를 예방하기 위해 본 발명의 폴리펩티드(또는 이의 펩티드 모방체)를 유기체, 예컨대 인간 또는 비인간 동물에게 투여할 수 있다. 예방학적 치료에 적합한 후보자 피험자로는 예를 들면 죽상동맥경화증에 대해 1 이상의 위험 인자(예를 들면, 가족력, 죽상동맥경화증, 고혈압, 비만, 높은 알콜 소비, 흡연, 높은 혈중 콜레스테롤, 높은 혈중 트리글리세라이드, 혈액 LDL, VLDL, IDL의 증가 또는 HDL의 감소, 당뇨병 또는 당뇨병, 높은 혈중 지질, 심장 마비, 협

심증 또는 뇌졸중의 가족력 등과 연관되는 유전적 마커)를 갖는 피험자를 들 수 있다.

- [0205] 치료는 전신성 및 지속성 항죽상동맥경화증 치료를 위한 혈관 수술에 대한 필요성을 보완 또는 배제시킬 수 있다. 따라서, 수술전 순환을 최적화하기 위한 중재 전에, 맥관 구조 또는 그 근처에서의 국부 투여를 위한 수술 동안 또는 수술 중재에 의한 기계적 외상에 의해 야기되는 염증 및 죽상동맥경화증을 감소시키기 위한 수술 후에 펩티드가 제공될 수 있다.
- [0206] **B. 급성 염증 반응과 관련된 죽상동맥경화증의 증상(들)의 치료 또는 예방**
- [0207] 본 발명의 죽상동맥경화증을 억제하는 폴리펩티드는 다수의 다른 상황에서 또한 유용하다. 특히, 심혈관 합병증(예를 들면, 죽상동맥경화증, 뇌졸중 등)은 급성기 염증 반응을 자주 수반하거나 이의 발병에 후행한다는 것이 밝혀졌다. 이러한 급성기 염증 반응은 대개 재발성 염증 질환(예를 들면, 나병, 결핵, 전신 홍반성 루푸스, 류마티스성 관절염 등), 바이러스 감염(예를 들면, 인플루엔자, HIV 등), 박테리아 감염, 진균 감염, 장기 이식, 상처 또는 다른 외상, 이식 기관, 생물막 등과 관련된다.
- [0208] 이의 항산화제 활성화와 관련하여, 급성기 염증 반응 동안 또는 이후 산화된 인지질의 형성을 감소 또는 예방하기 위해 본원에 기재된 폴리펩티드를 사용하여 이러한 병증과 관련된 심혈관 합병증을 경감 또는 제거할 수 있다.
- [0209] 따라서, 특정한 실시양태에서, 본 발명은 급성기 염증 반응에 대한 위험 또는 이것을 유발할 위험이 있는 피험자 및/또는 죽상동맥경화증의 증상에 대한 위험 또는 이것을 유발할 위험이 있는 피험자에게 1종 이상의 본 발명의 폴리펩티드를 투여하는 것을 고려한다.
- [0210] 본 발명의 펩티드는 지질에 작용하여 지질 및 지질 대사가 역할을 담당하는 질환 상태의 치료에 유용할 수 있다. 따라서, 예를 들면 관상동맥 질환을 앓거나, 이의 위험이 있는 사람에게 독감 시즌 동안 본 발명의 폴리펩티드를 예방학적으로 투여할 수 있다. 죽상동맥경화증 또는 뇌졸중의 발병을 경감 또는 예방하기 위해 재발성 염증 병증, 예를 들면 류마티스성 관절염, 다양한 자가면역 질환 등을 갖는 인간(또는 다른 동물) 피험자를 본 발명의 폴리펩티드로 치료할 수 있다. 유사하게, 죽상동맥경화증 또는 뇌졸중의 발병을 경감 또는 예방하기 위해 외상, 예를 들면 급성 손상, 조직 이식 등을 갖는 인간(또는 다른 동물) 피험자를 본 발명의 폴리펩티드로 치료할 수 있다.
- [0211] 몇몇 경우에, 상기 방법은 급성 염증 반응의 발병 또는 위험의 진단을 수반한다. 급성 염증 반응은 통상적으로 간에서의 대사 변경 및 유전자 조절을 수반한다. 이는 면역계, 심혈관계 및 중추 신경계 이외의 신체의 모든 주요 시스템을 포함하는 동적 항상성 과정이다. 통상, 급성기 반응은 수일만 지속하지만, 만성 또는 재발성 염증의 경우에, 몇몇 양태에서의 급성기 반응의 비정상 지속은 질환을 수반하는 기초적인 조직 손상에 기여할 수 있고, 또한 추가 합병증, 예를 들면 심혈관 질환 또는 단백질 축적 질환, 예컨대 아밀로이드증을 야기할 수 있다.
- [0212] 급성기 반응의 중요한 양태는 간의 생합성 프로파일을 급진적으로 변경시킨다. 정상 상황 하에, 간은 정상 상태 농도에서 특징적인 범위의 혈장 단백질을 합성한다. 이러한 단백질은 대부분은 중요한 기능을 갖고, 이러한 급성기 반응물(APR) 또는 급성기 단백질(APP)은 염증 자극 이후의 급성기 반응 동안 더 높은 혈장 수치가 필요하다. 대부분의 APR가 간세포에 의해 합성되지만, 몇몇은 단핵구, 내피 세포, 섬유아세포 및 지방세포를 비롯한 다른 세포 유형에 의해 생성된다. 대부분의 APR이 정상 수치에 비해 50% 내지 수배 사이에 유도된다. 반대로, 주요 APR은 정상 수치에 비해 1000배 증가할 수 있다. 이러한 군으로는 혈청 아밀로이드 A(SAA) 및 인간에서의 C-반응성 단백질(CRP) 또는 마우스에서의 이의 동족체, 혈청 아밀로이드 P 성분(SAP)을 들 수 있다. 소위 네가티브 APR은 급성기 반응 동안 혈장 농도에서 감소하여 유도된 APR을 합성하는 간의 용량을 증가시킨다.
- [0213] 특정한 실시양태에서, 따라서 급성기 염증 반응 또는 위험을 1종 이상의 APP를 측정하여 평가한다. 이러한 마커를 측정하는 것은 당업자에게 널리 공지되어 있고, 이러한 측정(예를 들면, Carditech Services(미국 켄터키주 루이스빌))에 의해 측정되는 AGP)을 제공하는 상업용 회사가 존재한다. 일단 급성기 염증 반응을 경험하거나 급성기 염증 반응을 경험할 위험이 있는 사람인지를 결정하면, 급성기 염증 반응 동안 또는 이후 산화된 인지질의 형성을 감소 또는 예방하기 위해 본 발명의 폴리펩티드를 투여하여 상기 병증과 관련된 심혈관 합병증을 경감 또는 제거할 수 있다.
- [0214] **C. 관상동맥 석회화 및 골다공증과 관련된 증상(들) 또는 병증의 치료 또는 예방**
- [0215] 산화된 지질이 관상동맥 석회화 및 골다공증의 원인일 수 있는 것으로 또한 밝혀졌다. 산화된 지질이 석회화 대동맥관막 협착증의 발병에 관여할 수 있는 것으로 또한 생각된다.
- [0216] 따라서, 다른 실시양태에서, 류마티스성 다발성근육통, 결절성 다발동맥염, 강피증, 특발성 폐 섬유증, 만성 폐

쇄성 폐 질환, 알츠하이머병, AIDS, 관상동맥 석회화, 석회화 대동맥판막 협착증, 골다공증 등과 같은 질환의 증상을 치료, 억제 또는 예방하기 위해 본 발명의 폴리펩티드를 사용한다. 상기 방법에서, 산화된 인지질의 형성을 감소 또는 예방하기 위해 인간 또는 비인간 동물에게 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 투여하여 류마티스성 다발성근육통, 결절성 다발동맥염, 강피증, 특발성 폐 섬유증, 만성 폐쇄성 폐 질환, 알츠하이머병, AIDS, 관상동맥 석회화, 석회화 대동맥판막 협착증, 골다공증 등과 같은 질환의 증상을 억제 또는 예방할 수 있다.

[0217] 통상적으로, 상기 방법은 모두 본 발명의 단일 폴리펩티드의 투여 또는 별법으로 본 발명의 상이한 2종 이상의 폴리펩티드의 투여를 포함한다. 상기 폴리펩티드를 단독으로 또는 다른 치료제, 예컨대 본원에 개시된 것과의 복합제로 투여할 수 있다. 폴리펩티드는 단량체로서 또는 이합체, 올리고머 또는 중합체 형태로 제공될 수 있다. 특정한 실시양태에서, 다중 결합 형태는 (예를 들면, 이온성으로 또는 소수성으로 연결된) 회합 단량체를 포함할 수 있는 반면, 다른 실시양태에서, 다른 다중 결합 형태는 공유 결합(직접적으로 결합, 또는 링커를 통해 결합)된 단량체를 포함한다.

[0218] 또한, 상기 방법은 모두 인간과 관련하여 본원에 기재되어 있지만, 당업자라면 용이하게 상기 방법이 또한 다른 동물에, 즉 수의학 용도에 유용하다는 것을 명확히 알 것이다. 따라서, 바람직한 유기체로는 인간, 비인간 영장류, 개, 말, 고양이, 돼지, 유제류, 토끼 등을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다.

#### [0219] D. 취약성 경화반의 안정화

[0220] 본원에 설명된 바대로, 심장 질환, 구체적으로 관상동맥 질환은 미국 및 다른 선진국에서 사망, 불능 및 건강 관리 비용의 주요 원인이다. 최근까지, 대부분의 심장 질환은 주로 관상동맥에서의 경질 경화반의 진행성 증가가 원인인 것으로 생각되었다. 경질 경화반의 이러한 죽상동맥경화성 질환 과정은 이화된 관상동맥의 중요한 협소화(협착)를 발생시키고 가슴 통증으로 통상 알려진 협심증 증후군을 생성시킨다. 협소화의 진행은 혈류를 감소시켜 혈액 응집물(혈전)의 형성을 촉발한다. 혈전은 심장 근육으로의 산소 풍부 혈액의 흐름을 막아서(허혈) 심장 마비를 야기할 수 있다. 또는, 혈전이 파괴될 수 있고 뇌와 같은 다른 기관의 혈관에 침전되어 혈전성 뇌졸중을 야기할 수 있다.

[0221] 그러나, 지난 수십 년에, 죽상동맥경화증, 관상동맥 질환 및 심장 발작의 패러다임을 어느 정도 변경되었다는 증거가 부각되었다. 경질 경화반의 축적이 협심증 및 관상동맥에서 중증 허혈을 발생시킬 수 있고, 새로운 임상 데이터는 대개가 비폐색성인 취약성 경화반의 파열은 그 자체가 거의 대부분의 심장 마비를 야기한다는 것을 제시한다. 그 비율은 60~80%로 추정된다.

[0222] 많은 경우에, 취약성 경화반은 혈관 내강에 영향을 주지 않고, 오히려, 농양과 같이, 이것은 동맥 벽 내에서 영향을 준다. 대부분의 취약성 경화반은 지질 풀(pool), 평활근(내피) 세포 및 얇은 섬유질 캡에 의해 포함된 콜레스테롤로 채워진 거대세포/거품 세포의 두꺼운 침윤을 포함한다. 지질 풀은 저밀도 지단백질(LDL), 거대세포 및 염증 과정을 포함하는 병리학적 과정의 결과로서 형성되는 것으로 생각된다. 거대세포는 LDL을 산화시켜 거품 세포를 생성시킨다.

[0223] 거대세포, 거품 세포 및 관련 내피 세포는 일반화된 세포 괴사 및 아포토시스, 전응집 및 섬유질 캡의 약화를 발생시키는 종양 괴사 인자, 조직 인자 및 매트릭스 프로테이나제와 같은 다양한 물질을 방출시킨다. 염증 과정은 예컨대 혈압 증가에 의해 생성되는 충분한 기계적 강도가 파열을 발생시킬 수 있는 정도로 섬유질 캡을 약화시킬 수 있다. 지질 코어 및 취약성 경화반의 다른 내용물은 이후 혈류로 보내져 응집 캐스케이드가 개시될 수 있다. 캐스케이드는 가능하게는 심장 마비 및/또는 뇌졸중을 야기하는 혈전을 발생시킨다. 이 과정은 콜라겐 및 경화반 성분(예를 들면, 콜라겐 및 조직 인자)의 방출로 인해 악화되고, 이의 방출시 응집이 증대된다.

[0224] 본 발명의 폴리펩티드가 콜레스테롤 역수송을 통해 경화반 지질 함량을 감소시켜 취약성 경화반을 안정화시킬 수 있는 것으로 밝혀졌다. 따라서, 다른 실시양태에서, 본 발명은 1종 이상의 본 발명의 폴리펩티드(또는 상기 폴리펩티드의 펩티드 모방체)를 포유동물(더 바람직하게는 인간)에게 투여하여 포유동물의 혈관에서의 취약성 경화반을 안정화시키는 방법을 제공한다. "취약성" 경화반은 일반적으로 적절한 콜라겐 및 평활근 세포 지지체가 결여된 얇은 섬유질 캡을 갖는 지질 풍부 경화반으로서 정의된다. 또한, 본 발명의 폴리펩티드는 경화반 지질 함량을 감소시켜 이러한 "취약성" 경화반을 안정화시킬 수 있다.

[0225] 일 실시양태에서, 포유동물은 1 이상의 취약성 경화반을 갖는 것으로 진단된 포유동물이다. 이 실시양태에서, 취약성 경화반의 검출(예를 들면, 진단 및 편재화)을 위해 온도 검출 전략, 표지 전략, 영상화 전략(예를 들면, 자기 공명, 초음파, 적외선, 형광, 가시광선, 전파, X선 등을 이용하는 장치), 주변 건강한 혈관 조직 등으로부



터 취약성 경화반을 구별하기 위한 일반적인 전략을 비롯한 다수의 여러 진단 분석이 개발되었다(예를 들면, 미국 특허 제6,245,026호, 제6,475,159호, 제6,475,210호 및 제7,118,567호 참조). 하나의 전략은 혈관 내 온도 측정을 포함한다. 예를 들면, 취약성 경화반 조직 온도는 일반적으로 건강한 혈관 조직과 비교하여 상승한다. 이 온도차를 측정하여 취약성 경화반을 검출할 수 있다. 다른 검출 전략은 취약성 경화반을 마커로 표시하는 것을 포함한다. 마커는 성분에 특이적이고/이거나 취약성 경화반(예컨대 C 반응성 단백질)에 특징적인 물질일 수 있다. 예를 들면, 마커는 건강한 조직에 대해서보다 취약성 경화반에 대해 더 높은 친화도를 가질 수 있다. 따라서, 마커를 검출하여 취약성 경화반을 검출할 수 있다. 또는, 마커는 취약성 경화반에 대한 친화도를 반드시 가져야하는 것은 아니고, 단순히 취약성 경화반과 관련된 특성을 변경시킬 수 있다. 특성 변경을 검출할 수 있고, 따라서 취약성 경화반을 검출할 수 있다.

[0226] 다른 실시양태에서, 포유동물은 1 이상의 취약성 경화반을 가질 위험이 있다. 이 실시양태에서, 포유동물이 1 이상의 취약성 경화반을 가질 위험이 있는 것으로 당업자가 믿게 하는 임상 증상이 발병하고/하거나 임상 사건이 발생한다.

[0227] 취약성 경화반을 안정화시키는 상기 방법과 관련하여, 주사, 주입, 좌제, 비강 분무, 경시 방출 이식물, 피하 패치, 경구 등을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는 다수의 표준 방법 중 임의의 방법에 따라 본원에 기재된 바대로 폴리펩티드(들)를 투여할 수 있다. 특히 바람직한 일 실시양태에서, 폴리펩티드(들)를 경구(예를 들면, 시럽, 캡슐, 정제 등으로서) 투여한다. 또한, 이상지질혈증, 고콜레스테롤혈증 및 염증의 치료를 위해 본 발명의 폴리펩티드(또는 펩티드 모방체)를 단독으로 또는 다른 공지된 약학 제제와의 복합제로 사용하여 혈장 HDL 농도를 상승시키고/시키거나 콜레스테롤 역수송을 촉진할 수 있다.

## [0228] VI. 병용 요법

[0229] 몇몇 실시양태에서, 죽상동맥경화증을 비롯하여 심혈관 질환과 같은 이상지질혈증, 고콜레스테롤혈증 및 염증과 관련된 질환 및 질병을 치료 또는 예방하기 위해 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 1종 이상의 추가 치료제와 조합하여 투여한다. 예를 들면, 일 실시양태에서, 예를 들면 스타틴류(예를 들면, 아토르바스타틴, 로바스타틴, 프라바스타틴, 심바스타틴, 플루바스타틴 또는 로수바스타틴); Nieman-Pick C1 유사 1 스테롤 수송체 채널 억제제(예를 들면, 에제티미베); 담즙산 결합제(예를 들면, 콜레스티라민 또는 콜레스티폴); 혈소판 응집 억제제(예를 들면, 아스피린, 티클로피딘 또는 클로피도그렐); 니아신/니코틴아미드; PPAR 활성제; 비타민 E; 수술 중재(예를 들면, 혈관성형술, 스텐트, 스텐트 또는 경동맥 내막절제술); 및 라이프스타일 변경(예를 들면, 저지방 식이, 체중 감소 및 운동)을 비롯하여 죽상동맥경화증에 대한 표준 치료 중 임의의 치료와 병용하여 본 발명의 폴리펩티드를 투여한다.

[0230] 보다 특히, 분리 단위 또는 고정 복합제로서 원치않는 염증 분자에 결합하는 항체 또는 사이토카인, 예컨대 인터류킨-6, 인터류킨-8, 과립구 거대세포 콜로니 자극 인자 및 종양 괴사 인자- $\alpha$ ; 효소 억제제, 예컨대 프로테아제 억제제 아프로티닌 또는 사이클로옥시제나제 억제제; 항생제, 예컨대 아목시실린, 리팜피신, 에리스로마이신; 항바이러스제, 예컨대 아시클로버; 스테로이드성 소염제, 예컨대 글루코코르티코이드; 비스테로이드성 소염제, 예컨대 아스피린, 이부프로펜 또는 아세트아미노펜; 또는 비염증성 사이토카인, 예컨대 인터류킨-4 또는 인터류킨-10 중 하나 이상과 조합하여 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 사용할 수 있다. 다른 사이토카인 및 성장 인자, 예컨대 인터페론- $\beta$ , 종양 괴사 인자, 혈관생성억제 인자, 에리쓰로포이에틴, 트롬보포이에틴, 인터류킨, 성숙 인자, 화학주성 단백질 및 유사한 생리학적 활성을 보유하는 이들의 변이체 및 유도체를 또한 추가 치료제로서 사용할 수 있다.

[0231] 예를 들면, 당뇨병 환자의 지질 질병을 치료하기 위해 통상적으로 사용되는 약물과 조합하여 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 사용할 수 있다. 상기 약물로는 HMG-CoA 리덕타제 억제제, 니코틴산, 에제티미드, 담즙산 격리제, 피브린산 유도체, MTP 억제제, ACAT 억제제 및 CETP 억제제를 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. HMG-CoA 리덕타제 억제제의 예로는 로바스타틴, 프라바스타틴, 심바스타틴, 로수바스타틴, 플루바스타틴 및 아토르바스타틴을 들 수 있다. 담즙산 격리제의 예로는 콜레스티라민, 콜레스티폴 및 콜레세벨람을 들 수 있다. 피브린산 유도체의 예로는 겐피브로질 및 페노피브레이트를 들 수 있다.

[0232] 항고혈압 약물, 예를 들면 이노제,  $\beta$ -차단제, 카텝신 S 억제제, 메틸도파,  $\alpha$ 2-아드레날린성 효능제, 구아나딘, 레세르핀,  $\beta$ -아드레날린성 수용체 길항제,  $\alpha$ 1-아드레날린성 수용체 길항제, 하이드랄라진, 미녹시딜, 칼슘 채널 길항제, ACE 억제제 및 안지오텐신 II-수용체 길항제와 조합하여 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 또한 사용할 수 있다.  $\beta$ -차단제의 예로는 아세부톨롤, 비소프롤롤, 에스몰롤, 프로판올롤, 아테놀롤, 라베탈롤, 카르베딜롤 및 메토프롤롤을 들 수 있다. ACE 억제제의 예로는 캅토프릴, 에날라프릴, 리시노프릴,

베나제프릴, 포시노프릴, 라미프릴, 퀴나프릴, 페린도프릴, 트란도라프릴 및 모엑시프릴을 들 수 있다.

[0233] 심혈관 약물, 예컨대 칼슘 채널 길항제,  $\beta$ -아드레날린성 수용체 길항제 및 효능제, 알도스테론 길항제, ACE 억제제, 안지오텐신 II 수용체 길항제, 니트로 혈관확장제 및 강심 배당체와 조합하여 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 또한 사용할 수 있다. 소염 약물, 예컨대 H1 수용체 길항제, H2 수용체 매개 효능제 및 길항제, COX-2 억제제, NSAID, 살리실레이트, 아세트아미노펜, 프로피온산 유도체, 에놀산, 디아릴 치환된 푸아논, 사이클로옥시제나제 억제제 및 브래디키닌 효능제 및 길항제와 조합하여 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 또한 사용할 수 있다.

[0234] 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체와 조합하여 사용하기에 적합한 다른 치료제는 미국 특허 출원 제 2005/0142180호(이는 2005년 6월 30일자에 공개되었고, 그 교시내용은 본원에 참조문헌으로 포함됨)에 개시되어 있다.

[0235] 폴리펩티드(또는 이의 펩티드 모방체) 및 추가 치료제를 동시에 또는 순차로 투여할 수 있다. 예를 들면, 처음에 폴리펩티드를 투여한 후, 추가 치료제를 투여할 수 있다. 또는, 처음에 추가 치료제를 투여한 후, 본 발명의 폴리펩티드를 투여할 수 있다. 몇몇 경우에, 본 발명의 폴리펩티드 및 추가 치료제를 동일한 제형으로 투여한다. 다른 경우에, 폴리펩티드 및 추가 치료제를 상이한 제형으로 투여한다. 폴리펩티드 및 추가 치료제를 상이한 제형으로 투여할 때, 이의 투여는 동시 또는 순차일 수 있다.

## [0236] VII. 약학 제형

[0237] 본 발명의 방법을 수행하기 위해, 이상지질혈증, 고콜레스테롤혈증 및 염증과 관련된 질환 또는 질병을 갖거나 또는 이의 위험이 있는 것으로 진단된 개인에게(예를 들면, 죽상동맥경화증의 1종 이상의 증상을 갖는 것으로 또는 죽상동맥경화증에 대한 위험이 있는 것으로 진단된 개인에게) 1종 이상의 본 발명의 폴리펩티드 또는 이의 펩티드 모방체를 투여한다. 폴리펩티드 또는 이의 펩티드 모방체를 이의 "자연" 형태로 또는, 원하는 경우, 예를 들면 염, 에스테르, 아마이드, 프로드럭, 유도체 등의 형태로 투여할 수 있고, 단 이 염, 에스테르, 아마이드, 프로드럭 또는 유도체는 본 발명의 방법에서 약리학적으로 적합(즉, 효과적)이다.

[0238] 본원에 기재된 방법의 일 실시양태에서, 투여 경로는 경구, 복강내, 경피, 피하, 정맥내 또는 근육내 주사에 의한, 흡입, 국소, 병변내, 주입; 리포솜 매개 전달; 국소, 척추강내, 치은낭, 직장, 기관지내, 비강, 경점막, 장내, 안 또는 귀 전달 또는 당업자가 용이하게 인지할 수 있는 당해 분야에 공지된 임의의 다른 방법에 의한 것일 수 있다. 본 발명의 조성물의 다른 실시양태는 비경구, 폐, 비강 및 경구를 비롯한 다양한 투여 경로를 위해 미립자 형태, 보호 코팅, 프로테아제 억제제 또는 투과 향상제가 혼입된다. 투여 방법/방식에 따라 각종 단위 제형으로 약학 조성물을 투여할 수 있다. 적합한 단위 용량으로는 산제, 정제, 환제, 캡슐, 로젠지제, 좌제, 패치, 비강 분무액, 주사제, 이식성 서방 제형 등을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다.

[0239] 그러므로, 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체의 약학적 유효량 및 허용되는 담체 및/또는 부형제를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 약학적으로 허용되는 담체는 생리학적으로 상용성이고 바람직하게는 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체의 활성과 상호작용하지 않고, 그렇지 않으면 억제하지 않는 임의의 용매, 분산 매질 또는 코팅을 포함한다. 바람직하게는, 담체는 정맥내, 근육내, 경구, 복강내, 경피, 국소 또는 피하 투여에 적합하다. 약학적으로 허용되는 담체는 예를 들면 조성물을 안정화시키도록 또는 활성 제제(들)의 흡수를 증가 또는 감소시키도록 작용하는 1종 이상의 생리학적으로 허용되는 화합물(들)을 포함할 수 있다. 생리학적으로 허용되는 화합물로는 예를 들면 탄수화물, 예컨대 포도당, 수크로스 또는 텍스트란, 향산화제, 예컨대 아스코르브산 또는 글루타티온, 킬레이트화제, 저분자량 단백질, 활성 제제의 청소율 또는 가수분해를 감소시키는 조성물, 또는 부형제 또는 다른 안정화제 및/또는 완충제를 들 수 있다.

[0240] 다른 생리학적으로 허용되는 화합물로는 미생물의 성장 또는 작용을 예방하는 데 특히 유용한 습윤제, 유화제, 분산제 또는 보존제를 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 다양한 보존제가 널리 공지되어 있고 이것으로는 예를 들면 페놀 및 아스코르브산을 들 수 있다. 당업자라면 생리학적으로 허용되는 화합물을 비롯하여 약학적으로 허용되는 담체(들)의 선택은, 예를 들면 폴리펩티드(들) 또는 펩티드 모방체(들)의 투여 경로 및 폴리펩티드(들) 또는 펩티드 모방체(들)의 특정한 물리-화학 특징에 따라 달라진다는 것을 이해할 것이다.

[0241] 바람직한 실시양태에서, 약학적으로 허용되는 담체는 생리 식염수이다. 다른 약학적으로 허용되는 담체 및 이의 제제가 널리 공지되어 있고 일반적으로 예를 들면 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, Philadelphia, PA. Lippincott Williams & Wilkin, 2005]에 기재되어 있다. 다양한 약학적으로 허용되는 부형제가 당해 분야에 널리 공지되어 있고, 이것은 예를 들면 문헌[Handbook of Pharmaceutical

Excipients (5th ed., Ed. Rowe et al., Pharmaceutical Press, Washington, D.C.)에서 확인할 수 있다. 또한, 약학 조성물을 용액, 마이크로에멀션, 리포솜, 캡슐, 정제 또는 다른 적합한 형태로서 제제화할 수 있다. 표적 작용 부위에 도달하기 전에 환경에 의한 불활성화로부터 활성 성분을 보호하기 위해 이것을 물질 중에 코팅할 수 있다.

[0242] 특정한 바람직한 실시양태에서, 당업자에게 널리 공지된 표준 방법에 따라 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 (예를 들면, 정제를 통해) 경구로 또는 주사제로서 투여할 수 있다. 다른 바람직한 실시양태에서, 종래 경피 약물 전달 시스템, 즉 통상적으로 피부에 부착되는 약물 전달 장치로서 작용하는 적층 구조물 내에 폴리펩티드(들) 또는 펩티드 모방체(들)이 포함되는 경피 "패치"를 사용하여 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 피부를 통해 또한 전달할 수 있다. 이러한 구조물에서, 약물 조성물은 통상적으로 상부 백킹 층 밑의 층 또는 "리저버"에 포함된다. 본원에서 "리저버"란 용어는 궁극적으로 피부 표면에의 전달에 이용 가능한 "활성 성분(들)"의 분량을 의미하는 것으로 이해된다. 따라서, 예를 들면 "리저버"는 패치의 백킹 층에서의 접착제 내 또는 당업자에게 공지된 각종 여러 매트릭스 제제 중 임의의 제제 내 활성 성분(들)을 포함할 수 있다. 패치는 단일 리저버를 포함할 수 있거나, 다중 리저버를 포함할 수 있다.

[0243] 일 실시양태에서, 리저버는 약물 전달 동안 피부에 시스템을 부착하도록 작용하는 약학적으로 허용되는 접착 접착 물질의 중합체 매트릭스를 포함한다. 적합한 피부 접착 접착 물질의 예로는 폴리에틸렌, 폴리실록산, 폴리이소부틸렌, 폴리아크릴레이트, 폴리우레탄 등을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 또는, 약물 함유 리저버 및 피부 접착 접착제는 리저버 밑에 있는 접착제와 분리 및 구별 층으로서 존재하고, 이러한 경우에, 이 리저버는 상기 기재된 바대로 중합체 매트릭스일 수 있거나, 액체 또는 하이드로겔 리저버일 수 있거나, 다른 형태를 취할 수 있다. 장치의 상부 표면으로서 작용하는 이러한 적층물 내 백킹 층은 바람직하게는 "패치"의 1차 구조 요소로서 작용하고 가요성을 많이 갖는 장치를 제공한다. 백킹 층에 선택되는 물질은 바람직하게는 활성 제제(들) 및 존재하는 임의의 다른 물질에 실질적으로 불투과성이다.

[0244] 국소 약물 전달을 위한 다른 바람직한 제형으로는 연고 및 크림을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 연고는 통상적으로 석유 또는 다른 석유 욕 유도체에 기초하는 반고체 제형이다. 선택된 활성 제제를 포함하는 크림은 통상적으로 점성 액체 또는 반고체 에멀션(대개 수중유 또는 유중수 중 어느 하나)이다. 크림 기제는 통상적으로 물로 세척 가능하고, 유상, 유화제 및 수상을 포함한다. 종종 "내상(internal phase)"이라고도 칭하는 유상은 일반적으로 석유 및 지방 알콜, 예컨대 세틸 또는 스테아릴 알콜을 포함하고; 수상은 일반적으로, 반드시 그렇진 않더라도, 부피가 유상보다 크고, 일반적으로 습윤제를 포함한다. 크림 제형에서의 유화제는 일반적으로 비이온성, 음이온성, 양이온성 또는 양쪽성 계면활성제이다. 당업자가 이해하고 있는 바대로, 사용하고자 하는 특정 연고 또는 크림 기제는 최적 약물 전달을 위해 제공되는 것이다. 다른 담체 또는 비히클에서와 같이, 연고 기제는 불활성이고, 안정하고, 비자극성이고, 비감작성이어야 한다.

[0245] 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드 및 펩티드 모방체를 포함하는 제형을 전달하기 위해 이식 장치(예를 들면, 동맥내 및 정맥내 스텐트, 예컨대 용리 스텐트 및 카테터)를 사용한다. 예를 들면, 본 발명의 폴리펩티드 및 펩티드 모방체를 포함하는 수용액을 스텐트 및 카테터를 통해 직접 투여한다. 몇몇 실시양태에서, 본원에 기재된 폴리펩티드 및 펩티드 모방체를 포함하는 제형에 의해 스텐트 및 카테터를 코팅할 수 있다. 몇몇 실시양태에서, 폴리펩티드 및 펩티드 모방체는 스텐트로부터의 시간 방출 제형일 수 있다. 적합한 스텐트는 예를 들면 미국 특허 제6,827,735호; 제6,827,735호; 제6,827,732호; 제6,824,561호; 제6,821,549호; 제6,821,296호; 제6,821,291호; 제6,818,247호; 제6,818,016호; 제6,818,014호; 제6,818,013호; 제6,814,749호; 제6,811,566호; 제6,805,709호; 제6,805,707호; 제6,805,705호; 제6,805,704호; 제6,802,859호; 제6,802,857호; 제6,802,856호; 및 제6,802,849호에 기재되어 있다. 적합한 카테터는 예를 들면 미국 특허 제6,829,497호; 제6,827,798호; 제6,827,730호; 제6,827,703호; 제6,824,554호; 제6,824,553호; 제6,824,551호; 제6,824,532호; 및 제6,819,951호에 기재되어 있다.

[0246] 통상적인 폴리펩티드 제형과 달리, L-형태 아미노산 또는 D-형태 아미노산을 포함하는 본 발명의 폴리펩티드를 위산 등에 의한 단백질 분해에 대해 보호하지 않고 심지어 경구로 투여할 수 있다. 그럼에도 불구하고, 특정한 실시양태에서, 폴리펩티드 전달은 보호 부형제의 사용에 의해 증대될 수 있다. 폴리펩티드를 산성 및 효소 가수분해에 저항성있게 만드는 조성물과 복합체화하여 또는 적절히 저항성인 담체, 예컨대 리포솜 내에 폴리펩티드를 캡키징하여 통상적으로 이를 수행한다. 경구 전달을 위해 폴리펩티드를 보호하는 수단은 당해 분야에 널리 공지되어 있다(예를 들면, 치료제의 경구 전달을 위한 지질 조성물을 기재하고 있는) 미국 특허 제5,391,377호 참조).



- [0247] 서방 폴리펩티드 "팩키징" 시스템을 이용하여 혈청 반감기 증가를 유지시킬 수 있다. 이러한 서방 시스템은 당업자에게 널리 공지되어 있다. 바람직한 일 실시양태에서, 단백질 및 폴리펩티드에 대한 ProLease 생분해성 미세구 전달 시스템을 이용하고(Tracy, Biotechnol. Prog., 14:108 (1998); Johnson et al., Nature Med., 2:795 (1996); Herbert et al., Pharmaceut. Res., 15:357 (1998)), 이는 다른 제제 존재 또는 부재 하에 건조 제형으로서 배합될 수 있는 중합체 매트릭스 내에 폴리펩티드를 포함하는 생분해성 중합체 미세구로 이루어지는 건조 분말의 사용을 포함한다.
- [0248] ProLease 미세구 제조 공정은 높은 폴리펩티드 캡슐화 효율을 달성하면서 단백질 온전성을 유지하도록 설계된다. 그 공정은 (i) 안정화 부형제와 함께 약물 용액의 분무 동결 건조에 의한 벌크 폴리펩티드로부터의 냉동 건조 단백질 입자의 제조, (ii) 약물-중합체 현탁액의 제조에 이은 약물 입자 크기를 감소시키기 위한 초음파 처리 또는 균질화, (iii) 액체 질소로의 무화에 의한 동결 약물-중합체 미세구의 생성, (iv) 에탄올에 의한 중합체 용매의 추출 및 (v) 최종 건조 분말 제품을 생성하기 위한 여과 및 진공 건조로 이루어진다. 생성된 분말은 다공성 중합체 입자 내에 균일하게 및 신속히 분산되는 폴리펩티드의 고체 형태를 포함한다. 상기 공정에 가장 통상적으로 사용되는 중합체, 폴리(락티드-코-글리콜라이드)(PLG)는 생체 상용성이고 생분해성이다.
- [0249] 저온(예를 들면, -40℃)에서 캡슐화를 달성할 수 있다. 캡슐화 동안, 폴리펩티드를 물의 부재 하에 고체 상태로 유지시키고, 따라서 폴리펩티드의 물 유도 입체구조 이동도를 최소화하여, 반응물로서 물을 포함하는 폴리펩티드 분해 반응을 막고, 폴리펩티드가 변성을 겪을 수 있는 유기-수성 상호작용을 회피한다. 바람직한 공정은 대부분의 폴리펩티드가 불용성인 용매를 사용하고, 따라서 높은 (예를 들면, 95% 이상의) 캡슐화 효율을 생성시킨다.
- [0250] 다른 실시양태에서, 용액의 1종 이상의 성분은 예를 들면 희석에 이용 가능한 (예를 들면, 선충정된 부피의) 저장 용기 내 또는 일정 부피의 물의 첨가에 이용 가능한 가용성 캡슐 내 "농축물"로서 제공될 수 있다.
- [0251] 본 발명의 특정한 실시양태에서, 약학 조성물은 서방 제형이다. 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 중합체가 극각적인 환경으로 방출되는 속도를 조절하는 생물학적 상용성 중합체 또는 매트릭스와 혼합할 수 있다. 제어 방출 또는 서방 조성물은 친유성 데포(예를 들면, 지방산, 왁스, 오일) 내 제제를 포함한다. 또한, 본 발명에 의해 중합체(예를 들면, 폴록사머 또는 폴록사민)로 코팅된 미립자 조성물이 고려된다. 본 발명의 조성물의 다른 실시양태는 비경구, 폐, 비강 및 경구를 비롯한 다양한 투여 경로를 위해 미립자 형태, 보호 코팅, 프로테아제 억제제 또는 투과 향상제가 혼입된다. 허용되는 담체로는 카르복시메틸 셀룰로스(CMC) 및 변형 CMC를 들 수 있다.
- [0252] 본 발명의 약학 조성물은 바람직하게는 전달 시기에 멸균 및 비발열성이고, 바람직하게는 제조 및 저장의 조건 하에 안정하다. 이러한 약학 조성물은 널리 공지된 종래 무균 기법에 의해 멸균시킬 수 있다.
- [0253] 치료학적 용도에서, 이상지질혈증, 고콜레스테롤혈증 및 염증과 관련된 질환 또는 질병을 앓거나, 앓을 위험이 있는 것으로 진단된 개인에게(바람직한 실시양태에서, 죽상동맥경화증의 1종 이상의 증상을 갖거나, 죽상동맥경화증에 대한 위험이 있는 것으로 진단된 개인에게) 질환, 병증 및/또는 이의 합병증을 치료하기에 또는 적어도 부분적으로 예방 또는 저지하기에 충분한 양으로 본 발명의 조성물을 투여한다. 이를 달성하기에 적절한 양은 "치료학적 유효량"으로서 정의된다. 이러한 용도에 효과적인 양은 질환의 중증도 및 환자의 일반적인 건강 상태에 따라 달라진다. 조성물의 단일 또는 복수 투여를 환자가 필요로 하고 환자에 내약성인 용량 및 빈도에 따라 할 수 있다. 임의의 경우에, 조성물은 개인 또는 환자를 효과적으로 치료(하나 이상의 증상을 완화)하기에 충분한 분량의 본 발명의 제제의 활성 제제, 즉 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 제공해야 한다.
- [0254] 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체의 농도는 광범위하게 변할 수 있고, 주로 선택되는 특정 투여 방식 및 환자의 필요에 따라 유체 부피, 점도, 체중, 폴리펩티드의 순환 혈장 수치, 폴리펩티드 독성, 질환(예를 들면, 죽상동맥경화증)의 진행, 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 항체의 생성 등에 기초하여 선택될 수 있다. 통상적으로, 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체의 용량 당량은 약 0.1 내지 약 50 mg/kg, 바람직하게는 약 1 내지 약 25 mg/kg, 가장 바람직하게는 약 1 내지 약 20 mg/kg(체중)이다. 상기 용량은 특정 피험자 또는 피험자 군에서 치료 섭생을 최적화하기 위해 변할 수 있는 것으로 이해된다.
- [0255] 투여를 위해, 환자의 몸집 및 전체 건강에도 적용되는 것처럼, 다양한 농도에서 폴리펩티드의 LD50 및 폴리펩티드의 부작용에 의해 측정되는 속도로 본 발명의 폴리펩티드를 투여할 수 있다. 단일 또는 분할 용량을 통해 투여할 수 있고, 예를 들면 용량을 일정 시간 기간(예를 들면, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일 또는 1~3주 이상) 동안 규칙적 단위(예를 들면, 매일)로 투여한다.



- [0256] 본원에서 설명된 바대로, 다수의 상이한 방식으로 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 변형시킬 수 있다. 예를 들면, 구성 아미노산 및/또는 말단 아미노산 상의 R 기가 차단되도록, 즉 보호기에 의해 보호되도록 폴리펩티드를 변형시킬 수 있다. 특히 아미노 및/또는 카르복시 말단의 봉쇄가 경구 전달을 크게 개선할 수 있고 혈청 반감기를 현저히 증가시킬 수 있는 것으로 밝혀졌다. 또한, 생체내 전달 및/또는 생물학적 활성을 증대시키기 위해, 합성 유기 화학 분야의 당업자에게 공지되어 있고, 예를 들면 문헌[March (1992) Advanced Organic Chemistry; Reactions, Mechanisms and Structure, 4th Ed. N. Y. Wiley-Interscience]에 기재되어 있는 표준 절차를 이용하여 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체의 염, 에스테르, 아마이드, 프로드럭 및 다른 유도체를 제조할 수 있다.
- [0257] 예를 들면, 통상적으로 적합한 산과의 반응을 수반하는 종래 방법을 이용하여 유리 염기로부터 산 부가염을 제조한다. 일반적으로, 약물의 염기 형태를 극성 유기 용매, 예컨대 메탄올 또는 에탄올 중에 용해시키고 산을 이에 첨가한다. 생성된 염은 덜 극성인 용매의 첨가에 의해 용액으로부터 침전되거나 생성될 수 있다. 산 부가염을 제조하기에 적합한 산으로는 아세트산, 프로피온산, 글리콜산, 피루브산, 옥살산, 말산, 말론산, 숙신산, 말레산, 푸마르산, 타르타르산, 시트르산, 벤조산, 신남산, 만델산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, p-톨루엔술폰산, 살리실산 산 등과 같은 유기산 및 염산, 브롬산, 황산, 질산, 인산 등과 같은 무기산 둘 다를 들 수 있다. 산 부가염은 적합한 염기에 의한 처리에 의해 유리 염기로 재전환될 수 있다. 본원에 기재된 폴리펩티드의 특히 바람직한 산 부가염으로 할라이드 염을 들 수 있고, 예컨대 염산 또는 브롬산을 사용하여 제조할 수 있다. 반대로, 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화암모늄, 수산화칼슘, 트리메틸아민 등과 같은 약학적으로 허용되는 염기를 사용하여 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체의 염기성 염의 제제를 유사한 방식으로 제조한다. 특히 바람직한 염기성 염으로는 알칼리 금속염, 예를 들면 나트륨염 및 구리염을 들 수 있다.
- [0258] 에스테르 제제는 통상적으로 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체 내 존재할 수 있는 하이드록실 및/또는 카르복시 기의 작용기를 포함한다. 에스테르는 통상적으로 유리 알콜 기의 아실 치환 유도체, 즉 화학식  $\text{RCOOH}$ 의 카르복실산(여기서, R은 알킬, 바람직하게는 저급 알킬임)으로부터 유도되는 잔기이다. 에스테르를, 원하는 경우, 종래 수소화 분해 또는 가수분해 절차를 이용하여 유리 산으로 재전환시킬 수 있다.
- [0259] 당업자에게 공지되어 있거나 관련 문헌에 기재되어 있는 기법을 이용하여 아마이드 및 프로드럭을 또한 제조할 수 있다. 예를 들면, 적합한 아민 반응물을 사용하여 에스테르로부터 아마이드를 제조할 수 있거나, 또는 암모니아 또는 저급 알킬 아민과의 반응에 의해 무수물 또는 산 염화물로부터 제조할 수 있다. 통상적으로 개인의 대사 시스템에 의해 변경될 때까지 치료학적 불활성인 화합물을 생성시키는 잔기의 공유 결합에 의해 프로드럭을 제조한다.
- [0260] 상기 제형 및 투여 방법은 예시적이고 임의의 방식으로 제한적이지 않은 것으로 이해되는 것이 명확하다. 본원에 제공된 교시내용을 이용하여, 다른 적합한 제형 및 투여 방식을 용이하게 고안할 수 있는 것으로 이해되어야 한다.
- [0261] **VIII. 지질 기반 제제**
- [0262] 다른 양태에서, 본 발명의 폴리펩티드 및 펩티드 모방체를 바람직하게는 하나 이상의 지질과 조합하여 투여한다. 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체의 수송/흡수를 보호 및/또는 증대시키기 위해 지질을 부형제로서 제제화할 수 있거나, 이것을 별개로 투여할 수 있다.
- [0263] 지질을 리포솜, 나노캡슐, 미세입자, 미세구, 지질 입자, 지질 소낭 등으로 제제화할 수 있다. 본 발명의 폴리펩티드 및 펩티드 모방체를 캡슐화하기 위해 이 지질 제제를 사용할 수 있고/있거나, 이것을 단순히 상기 폴리펩티드 및 펩티드 모방체와 복합체화/혼합할 수 있다. 당업자라면 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 캡슐화 또는 복합체화하기 위해 이러한 지질 제제를 어떻게 사용하는지를 이해할 것이다. 예를 들면, 리포솜의 형성 및 사용은 일반적으로 당업자에게 공지되어 있다. 최근, 개선된 혈청 안정성 및 순환 반감기를 갖는 리포솜이 개발되었다(미국 특허 제5,741,516호 참조). 또한, 잠재적 약물 담체로서의 리포솜 및 리포솜 유사 제제의 여러 방법이 검토되었다(미국 특허 제5,567,434호; 제5,552,157호; 제5,565,213호; 제5,738,868호 및 제5,795,587호 참조).
- [0264] 일 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 미국 특허 출원 제2005/0142180호(이는 2005년 6월 30일자에 공개되었고, 이의 교시내용은 본원에 참조문헌으로 포함된다)에 개시된 것과 유사한 방식으로 인지질(예를 들면, 1-팔미토일-2-올레오일-sn-글리세롤-포스파티딜콜린("POPC")과 같은 지질과 복합체화하였다. 놀랍게도, 본 발명의 폴리펩티드 및 펩티드 모방체가 예를 들면 POPC와 약 1:0.5 내지 약 1:5(폴리펩티드:POPC)

범위의 비로 복합체화될 때, 약 5 내지 약 20 nm의 크기를 갖는 명확한 지질-폴리펩티드 입자가 형성되고, 커패시티, 즉 세포로부터 콜레스테롤을 유출하는 능력을 상당히 증대시키는 것으로 밝혀졌다.

[0265] 그러므로, 본 발명은 세포로부터 콜레스테롤을 유출시키는 능력이 증가된 폴리펩티드-지질 복합체(또는 별법으로 펩티드 모방체-지질 복합체)를 제공한다. 통상적으로, 지질을 투여 전에 폴리펩티드와 혼합한다. 본 발명의 폴리펩티드 및 지질을 수용액 중에 적절한 비로 혼합할 수 있고 동결 건조, 세제 가용화에 이은 투석, 미세유동, 초음파 처리 및 균질화를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는 당해 분야에 공지된 방법에 의해 복합체화할 수 있다. 예를 들면, 압력, 초음파 주파수 또는 세제 농도를 변화시켜 복합체 효율을 최적화할 수 있다. 폴리펩티드-지질 복합체를 제조하기 위해 통상 사용되는 세제의 예는 콜산나트륨이다.

[0266] 특정한 실시양태에서, 폴리펩티드-지질(예를 들면, 인지질) 복합체는 적절한 약학 희석제 또는 담체와 용액 중에 있을 수 있다. 다른 실시양태에서, 폴리펩티드-지질 복합체의 냉각 건조 또는 동결 건조 제제는 투여 전에 적절한 약학 희석제와 수화 또는 재조합될 수 있다. 다른 실시양태에서, 폴리펩티드-지질 복합체는 이를 필요로 하는 피험자에게 투여 전에 균질한 용액이 달성될 때까지 해동되는 동결 제제일 수 있다.

[0267] 지질은 당업자에게 공지된 임의의 적합한 지질일 수 있다. 일 실시양태에서, 스테아릴아민, 도데실아민, 아세틸 팔미테이트, (1,3)-D-만노실-(1,3)디글리세라이드, 아미노페닐글리코사이드, 3-콜레스테릴-6'-(글리코실티오)헥실 에테르 글리코지질, N-(2,3-디(9-(Z)-옥타데세닐옥시))-프로프-1-일-N,N,N-트리메틸암모늄 클로라이드 및 지방산 아마이드를 비롯한 인 비함유 지질을 사용할 수 있다.

[0268] 다른 실시양태에서, 인지질 또는 인지질의 혼합물을 사용한다. 적합한 인지질은 소형 알킬쇄 인지질, 포스파티딜콜린, 에그 포스파티딜콜린, 대두 포스파티딜콜린, 디팔미토일포스파티딜콜린, 콩 포스파티딜글리세롤, 에그 포스파티딜글리세롤, 디스테아로일포스파티딜글리세롤, 디미리스토일포스파티딜콜린, 디스테아로일포스파티딜콜린, 디라우릴포스파티딜콜린, 1-미리스토일-2-팔미토일포스파티딜콜린, 1-팔미토일-2-미리스토일포스파티딜콜린, 1-팔미토일-2-스테아로일포스파티딜콜린, 1-스테아로일-2-팔미토일포스파티딜콜린, 디올레오일포스파티딜콜린, 1-팔미토일-2-올레오일포스파티딜콜린, 1-올레오일-2-팔미토일포스파티딜콜린, 디올레오일포스파티딜에탄올아민, 디라우로일포스파티딜글리세롤, 포스파티딜세린, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜이노시톨, 포스파티딜글리세롤, 디포스파티딜글리세롤, 디미리스토일포스파티딜글리세롤, 디팔미토일포스파티딜글리세롤, 디스테아로일포스파티딜글리세롤, 디올레오일포스파티딜글리세롤, 포스파티딘산, 디미리스토일포스파티딘산, 디팔미토일포스파티딘산, 디미리스토일포스파티딜에탄올아민, 디팔미토일포스파티딜에탄올아민, 디미리스토일포스파티딜세린, 디팔미토일포스파티딜세린, 뇌 포스파티딜세린, 스펡고미엘린, 스펡고리피드, 뇌 스펡고미엘린, 디팔미토일스펙고미엘린, 디스테아로일스펙고미엘린, 갈락토세레브로사이드, 강글리오사이드, 세레브로사이드, 포스파티딜글리세롤, 포스파티딘산, 리솔레시틴, 리소포스파티딜에탄올아민, 세팔린, 카디오리핀, 디세틸포스페이트, 디스테아로일-포스파티딜에탄올아민 및 콜레스테롤 및 이의 유도체를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 유사하게, 인지질은 상기 인지질 중 임의의 인지질의 유도체 또는 유사체, 또는 상기 인지질 중 임의의 인지질의 2종 이상의 혼합물일 수 있다. 상기 인지질은 상업용 공급원, 천연 공급원으로부터 또는 당업자에게 공지된 합성 또는 반합성 수단에 의해 얻을 수 있다.

[0269] 바람직한 실시양태에서, 폴리펩티드-지질 복합체는 폴리펩티드-인지질-복합체이다. 더 바람직한 실시양태에서, 지질은 1-팔미토일-2-올레오일 포스파티딜콜린("POPC") 또는 ("1-팔미토일-2-올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린")이다.

[0270] 본 발명의 폴리펩티드 및 지질, 바람직하게는 인지질을 포함하는 복합체는 임의의 양의 지질 및 임의의 양의 폴리펩티드를 포함할 수 있고, 단 복합체는 콜레스테롤 유출을 매개하기에 효과적이고 결국, 이와 관련된 질환 또는 증상을 치료하기에 효과적이라는 것을 당업자라면 용이하게 명확히 알 것이다. 이미 기재된 바대로, 놀랍게도 본 발명의 폴리펩티드가 예를 들면 POPC와 약 1:0.5 내지 약 1:5(폴리펩티드:POPC) 범위의 비로 복합체화될 때, 약 5 내지 약 20 nm의 크기를 갖는 명확한 지질-폴리펩티드 입자가 형성되고, 커패시티, 즉 세포로부터 콜레스테롤을 유출하는 능력을 상당히 증대시키는 것으로 밝혀졌다. 그러나, 본 발명의 폴리펩티드-지질 복합체는 예컨대 약 100:1, 약 10:1, 약 5:1, 약 3:1, 약 2:1, 약 1:1, 약 1:2, 약 1:3, 약 1:5, 약 1:10 및 약 1:100(폴리펩티드의 중량/지질의 중량)의 인지질 대 폴리펩티드의 다른 비를 갖는 복합체를 포함할 수 있다.

[0271] 본 발명의 폴리펩티드-지질 복합체는 당해 분야의 당업자에게 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 몇몇 경우에, 투여 전에 지질 및 폴리펩티드를 혼합하는 것이 바람직하다. 지질은 균질화, 초음파 처리 또는 압출과 같은 표준 기법을 이용하여 형성되는 리포솜 또는 에멀션 형태, 또는 용액 내 있을 수 있다. 초음파 처리는 일반적으로 빙욕 내에서 팁 초음파 처리기(tip sonifier), 예컨대 Branson 팁 초음파 처리기로 수행한다. 통상적

으로, 현탁액을 수회의 초음파 처리 사이클로 처리한다. 압출을 생체막 압출기, 예컨대 Lipex Biomembrane Extruder™(Lipex Biomembrane Extruder, Inc.(캐나다 밴쿠버))에 의해 수행할 수 있다. 압출 필터에서의 한정된 기공 크기는 특정 크기의 단일 라멜라 리포솜 소낭을 생성시킬 수 있다. 또한, 리포솜은 비대칭 세라믹 필터, 예컨대 Ceraflow Microfilter™(Norton Company(미국 매사추세츠주 우스터))로부터 상업용적으로 구입 가능)를 통해 또는 폴리카보네이트 필터 또는 당업자에게 공지된 다른 유형의 중합 물질(즉, 플라스틱)을 통해 압출에 의해 형성될 수 있다.

[0272] 이미 기재된 바대로, 본 발명의 폴리펩티드-지질 복합체는 소낭, 리포솜 또는 프로테오리포솜을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는 각종 형태로 제조될 수 있다. 폴리펩티드-지질 복합체를 제조하기 위해 당업자에게 널리 공지된 각종 방법을 이용할 수 있다. 리포솜 또는 프로테오리포솜을 제조하기 위한 다수의 이용 가능한 기법을 이용할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 폴리펩티드(예를 들면, 서열 번호 1-30의 폴리펩티드, 예를 들면 서열 번호 1-26 또는 31-33의 폴리펩티드)를 (육 또는 프로브 초음파분쇄기를 사용하여) 적절한 지질로 공동 음파처리하여 폴리펩티드-지질 복합체를 형성할 수 있다. 특정한 실시양태에서, 폴리펩티드가 미리 형성된 지질 소낭과 배합되어 폴리펩티드-지질 복합체가 저절로 형성될 수 있다. 다른 실시양태에서, 세제 투석 방법에 의해 폴리펩티드-지질 복합체를 또한 제조할 수 있다. 이 방법에서, 폴리펩티드, 지질 및 세제, 예컨대 콜산나트륨의 혼합물을 세제를 제거하기 위해 투석할 수 있고 폴리펩티드-지질 복합체를 제조하기 위해 재구성할 수 있다(예를 들면, 문헌[Jonas et al., Methods Enzymol., 128: 553-82 (1986)] 참조).

[0273] 다른 실시양태에서, 미국 특허 제6,287,590호 및 6,455,088호(이들의 교시 내용은 그 전문이 참조문헌으로 본원에 포함됨)에 개시된 바대로 공동 동결 건조에 의해 폴리펩티드-지질 복합체를 제조할 수 있다. 예를 들면, 미국 특허 제6,004,925호, 제6,037,323호 및 제6,046,166호(이들의 교시 내용은 그 전문이 참조문헌으로 본원에 포함됨)에 다른 방법이 개시되어 있다. 당업자라면 폴리펩티드-지질 복합체를 제조하는 다른 방법을 명확히 알 것이다.

[0274] 일 바람직한 실시양태에서, 균질화에 의해 폴리펩티드-지질 복합체를 제조할 수 있다.

[0275] 추가 양태에서, 본 발명은 본 발명의 폴리펩티드를 포함하는 합성 지질 입자를 제공한다. 상기 입자를 치료 또는 진단 제제의 전달에 사용할 수 있다. 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 합성 LDL 입자의 성분이다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 합성 HDL 입자의 성분이다. 몇몇 실시양태에서, 상기 입자는 직경 약 500 nm 미만 또는 직경 약 200 nm 미만이다. 다른 실시양태에서, 상기 입자는 직경 약 80 nm 미만이다. 몇몇 실시양태에서, 상기 입자는 직경 약 25 nm 미만이다. 상기 입자의 제조 방법은 당해 분야에 공지되어 있다(예를 들면, 미국 특허 출원 제20040229794호 및 제20070167351호 및 이이 기재된 문헌 참조).

[0276] 몇몇 실시양태에서, 합성 지질 입자는 감염의 치료를 위한 항생제 또는 약물을 포함한다. 상기 제제는 항생제 또는 항균제(예를 들면, 항박테리아제, 항진균제 및 항바이러스제)를 포함할 수 있다.

[0277] 추가 실시양태에서, 본 발명의 펩티드를 포함하는 합성 지질 입자는 암의 치료 또는 진단을 위한 제제 또는 신경계 질병의 치료를 위한 제제를 포함한다. 예를 들면, 종양의 치료 또는 진단을 위해 또는 혈액 세포암의 치료 또는 진단을 위해 본원에 기재된 펩티드를 포함하는 합성 입자를 투여할 수 있다. 종양으로는 암종 및 육종을 들 수 있다. 치료할 수 있는 예시적인 암으로는 신장암, 유방암, 폐암, 방광암, 대장암, 난소암, 전립선암, 직장암, 위암, 뇌암, 두경부암, 피부암, 자궁암, 고환암, 신경교종, 식도암 및 간암을 들 수 있다. 혈액 세포암으로는 B-급성 림프아구성 림프종, 비호치킨 림프종(예를 들면, 버킷, 소세포 및 대세포 림프종) 및 호치킨 림프종, 백혈병(예를 들면, AML, ALL 및 CML), 다발성 골수종, 맨틀 세포 림프종, 발렌스트롬 마크로글로불린혈증 및 필라델피아 양성 암을 들 수 있다.

[0278] 몇몇 실시양태에서, 중추 신경계의 질환을 치료하기 위해 본 발명의 합성 지질 입자를 사용한다. 몇몇 실시양태에서, 중추 신경계의 질환은 뇌졸중, 간질, 두부 외상, 바이러스 감염(예를 들면, HIV 관련 인지 장애, 피코르나바이러스, 토가바이러스, 포진바이러스 파라믹소바이러스 및 아레아나바이러스에 의해 야기된 뇌수막염), 박테리아 감염(예를 들면, 뇌수막염, 예컨대 크립토코커스 뇌수막염 및 전격성 박테리아 뇌수막염, 신경결핵, 톡소플라스마증 및 신경매독), 진균, 리케차, 원생동물 또는 기생충 감염, 알츠하이머병, 파킨슨병, 다발성 경화증 및 뇌의 유전성 대사 질환으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0279] 환자에게 전신으로 또는 국소로 상기 합성 입자를 투여할 수 있다.

[0280] 몇몇 실시양태에서, 입자로 혼입되는 본 발명의 펩티드는 관심 있는 세포에 입자를 지시하기 위해 표적 잔기, 예를 들면 세포 표면 수용체에 결합하는 펩티드에 결합된다.

- [0281] 당업자라면, 본 발명의 다른 양태에서, 상기 기재된 바대로 진단 또는 치료 제제의 전달을 위해 사용될 수도 있는 지질을 포함하지 않을 수 있는 입자를 제제화하는 데 본원에 기재된 펩티드를 또한 사용할 수 있다는 것을 이해할 것이다. 지질에 기초하지 않을 수 있는 입자의 예는 예를 들면 미국 특허 출원 제20070128290호 및 제20050238725호 및 이에 기재된 문헌에 기재되어 있다. 예를 들면, 치료학적으로 또는 진단학적으로 활성인 제제를 포함하는 입자의 표면에 흡착되거나 또는 이것에 회합된 수용성 성분으로서 본 발명의 펩티드를 사용할 수 있다. 상기 입자는 일반적으로 직경이 약 1000 nm 또는 500 nm 미만 또는 직경이 약 200 nm 미만이다. 다른 실시양태에서, 상기 입자는 직경이 약 80 nm 미만이다. 몇몇 실시양태에서, 상기 입자는 직경이 약 25 nm 미만이다.
- [0282] **IX. 핵산 및 유전자 치료**
- [0283] 다른 실시양태에서, 본 발명은 본원에 개시된 폴리펩티드를 코딩하는 단리된 핵산, 핵산을 포함하는 발현 벡터 및 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 보다 특히, 본 발명은 분자 기준으로 전장 아포지단백질과 유사한 콜레스테롤 유출 활성을 갖고, 전장 아포지단백질, 폴리펩티드(서열 번호 1-33을 포함하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함하나, 이것에 제한되지는 않음)와 유사한 방식으로 ABAC1에 대해 높은 선택도를 갖는 본 발명의 폴리펩티드를 코딩하는 단리된 핵산을 제공한다.
- [0284] 특정한 실시양태에서, 시험관내 및 생체내 세포의 형질감염에 본 발명의 폴리펩티드를 코딩하는 핵산을 사용한다. 하기 기재된 바대로 표적 세포 및 유기체의 형질감염을 위해 상기 핵산을 임의의 다수의 널리 공지된 벡터로 삽입할 수 있다. 벡터 및 표적 세포의 상호작용을 통해 생체의 또는 생체내 세포로 핵산을 형질감염한다. 그러면, 핵산은 프로모터의 제어 하에 본 발명의 폴리펩티드를 발현하여, 이상지질혈증, 고콜레스테롤혈증 및 염증과 관련된 질환의 효과를 경감시킨다.
- [0285] 여러 문맥에서 후천성 및 선천성 유전적 결함, 암 및 다른 질환을 치료하기 위해 상기 유전자 치료 절차를 사용해 왔다. 인간에서 인공 유전자를 발현시키는 능력은 다른 요법에 의한 치료에 의해 고쳐지지 않는 많은 질환을 비롯하여 많은 중요한 인간 질환의 예방 및/또는 치료를 용이하게 한다(유전자 치료 절차의 개요를 위해, 문헌 [Anderson, Science, 256:808-813 (1992); Nabel et al., TIBTECH, 11:211-217 (1993); Mitani et al., TIBTECH, 11:162-166 (1993); Mulligan, Science, 926-932 (1993); Dillon, TIBTECH, 11:167-175 (1993); Miller, Nature, 357:455-460 (1992); Van Brunt, Biotechnology, 6(10):1149-1154 (1998); Vigne, Restorative Neurology and Neuroscience, 8:35-36 (1995); Kremer et al., British Medical Bulletin, 51(1):31-44 (1995); Haddada et al., in Current Topics in Microbiology and Immunology (Doerfler & Bohm ed., 1995); Yu et al., Gene Therapy, 1:13-26 (1994)] 참조).
- [0286] 핵산의 전달을 위해, 바이러스 벡터를 사용할 수 있다. 적합한 벡터로는 예를 들면 문헌[Lilley et al., Curr. Gene Ther., 1(4):339-58 (2001)]에 기재되어 있는 단순 포진 바이러스 벡터, 예를 들면 문헌[Polo et al., Dev. Biol. (Basel), 104:181-5 (2000)]에 기재되어 있는 알파바이러스 DNA 및 입자 레플리콘, 예를 들면 문헌[Mazda, Curr. Gene Ther., 2(3):379-92 (2002)]에 기재되어 있는 엡스타인바 바이러스(EBV; Epstein-Barr virus) 기반 플라스미드 벡터, 예를 들면 문헌[Otomo et al., J. Gene Med., 3(4):345-52 (2001)]에 기재되어 있는 EBV 레플리콘 벡터 시스템, 예를 들면 문헌[Gao et al., PNAS USA., 99(18):11854 (2002)]에 기재되어 있는 붉은털 원숭이로부터 얻은 아데노바이러스 및 아데노 관련 바이러스, 예를 들면 문헌[Nicklin et al., Curr. Gene Ther., 2(3):273-93 (2002)]에 기재되어 있는 아데노바이러스 및 아데노 관련 바이러스 벡터를 들 수 있다. 다른 적합한 아데노 관련 바이러스(AAV) 벡터 시스템을 당해 분야에 널리 공지된 기법을 이용하여 용이하게 구축할 수 있다(예를 들면, 미국 특허 제5,173,414호 및 제5,139,941호; PCT 공보 WO 제92/01070호 및 WO 제93/03769호; Lebkowski et al., Mol. Cell. Biol., 8:3988-3996 (1988); Vincent et al. (1990) Vaccine 90 (Cold Spring Harbor Laboratory Press); Carter, Current Opinion in Biotechnology 3:533-539 (1992); Muzyczka, Current Topics in MicroBiol., and Immunol., 158:97-129 (1992); Kotin, Human Gene Therapy, 5:793-801 (1994); Shelling et al., Gene Therapy, 1:165-169 (1994); Zhou et al., J. Exp. Med., 179:1867-1875 (1994) 참조]. 추가의 적합한 벡터로는 예를 들면 문헌[Kim et al., Cancer Gene Ther., 9(9):725-36 (2002)]에 기재되어 있는 E1B 유전자 약독화 복제 아데노바이러스 및 예를 들면 문헌[Pascual et al., J. Immunol., 160(9):4465-72 (1998)]에 기재되어 있는 비복제 아데노바이러스 벡터를 들 수 있다. 예시적인 벡터를 문헌[Okayama et al., Mol. Cell Biol., 3:280 (1983)]에 개시된 바대로 구축할 수 있다.
- [0287] 본 발명의 방법에 따른 유전자 전달에 문헌[Michael et al., J. Biol. Chem., 268:6866-6869 (1993)] 및 문헌[Wagner et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:6099-6103 (1992)]에 기재되어 있는 아데노바이러스 키메라



백터와 같은 분자 접합 백터를 또한 사용할 수 있다.

[0288] 예시적인 일 실시양태에서, 레트로바이러스는 유전자 전달 시스템을 위한 편리한 및 효과적인 플랫폼을 제공한다. 본 발명의 폴리펩티드를 코딩하는 선택된 뉴클레오티드 서열을 백터로 삽입하고 당해 분야에 공지된 기법을 이용하여 레트로바이러스 입자에서 패키징한다. 이후, 재조합 바이러스를 단리하여 피험자에게 전달할 수 있다. 적합한 백터로는 예를 들면 문헌[Scherr et al., *Cnrr. Gene Ther.*, 2(1):45-55 (2002)]에 기재되어 있는 렌티 바이러스 백터를 들 수 있다. 추가의 예시적 레트로바이러스 시스템이 기재되어 있다(예를 들면, 미국 특허 제 5,219,740호; Miller et al., *BioTechniques*, 7:980-990 (1989); Miller, *Human Gene Therapy*, 1:5-14 (1990); Scarpa et al., *Virology*, 180:849-852 (1991); Burns et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:8033-8037 (1993); Boris-Lawrie et al., *Curr. Opin. Genet. Develop.*, 3:102-109 (1993)).

[0289] 다른 공지된 바이러스 기반 전달 시스템은 예를 들면 문헌[Fisher-Hoch et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86:317-321 (1989); Flexner et al., *Ann. NY. Acad. Sci.*, 569:86-103 (1989); Flexner et al., *Vaccine*, 8:17-21 (1990); 미국 특허 제4,603,112호, 제4,769,330호 및 제5,017,487호; WO 제89/01973호; 미국 특허 제 4,777,127호; GB 제2,200,651호; EP 제0,345,242호; WO 제91/02805호; Berkner, *BioTechniques*, 6:616-627 (1988); Rosenfeld et al., *Science*, 252:431-434 (1991); Kolls et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91:215-219 (1994); Kass-Eisler et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:11498-11502 (1993); Guzman et al., *Circulation*, 88:2838-2848 (1993); Guzman et al., *Or. Re.*, 73:1202-1207 (1993); Lotze et al., *Cancer Gene Ther.*, 9(8):692-9 (2002)]에 기재되어 있다.

## [0290] X. 조사 도구로서의 및 진단 방법에서의 사용

[0291] 본 발명의 폴리펩티드 및 펩티드 모방체는 또한 조사 도구로서 유용하다. 예를 들면, 특히 폴리펩티드 또는 이의 펩티드 모방체를 검출 가능한 잔기, 예를 들면 방사능 라벨, 형광 라벨 등으로 표지할 때 동물 및 동물 모델에서 지단백질-수용체 상호작용을 조사하기 위해 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 사용할 수 있다. 또한, 지질 대사 경로를 설명하기 위한 적절한 동물 모델을 확인하기 위해 본 발명의 폴리펩티드를 또한 사용할 수 있다. 예를 들면, 지질 과산화화 축상동맥경화증의 진행에 기여하는 동물 모델을 확인하기 위해 폴리펩티드를 사용할 수 있다. 또한, 다른 화합물(예를 들면, 폴리펩티드 변이체 및 다른 펩티드 모방체 포함)의 항축상동맥경화 가능성을 평가하기 위해 본 발명의 폴리펩티드를 사용할 수 있다.

[0292] 몇몇 경우에, ABCA를 발현하는 세포 및 조직에 대한 치료제를 표적으로 하기 위해 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 사용한다.

[0293] 다른 실시양태에서, 비정상 콜레스테롤 유출 또는 ABCA와 관련된 질환 및 질병의 진단 방법에서 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 사용할 수 있다. 예를 들면, 콜레스테롤 역수송 결핍증을 진단하기 위한 분석 및 펩티드 치료에 대한 반응자로 예견되는 개인을 확인하기 위한 분석에서 펩티드를 사용할 수 있다. 상기 진단 분석으로는 시험관내 분석을 들 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 폴리펩티드, 예를 들면 서열 번호 1-33 중 임의의 것을 피험자로부터 얻은 혈장과 혼합하고 세포에 노출시켜 피험자가 치료에 반응하는지의 여부를 보여주는 분석에서 콜레스테롤 유출을 평가할 수 있다(예를 들면, 펩티드의 부재 하의 혈장 매개 유출과 비교하여 펩티드의 존재 하의 유출의 큰 증가는 피험자가 반응할 것이라는 것을 제시한다). 유사하게, 본 발명의 폴리펩티드, 예를 들면 서열 번호 1-33 중 임의의 것을 피험자로부터 얻은 혈장과 혼합하여 HDL 하위부류 분포의 변화를 검출하고/하거나 펩티드의 존재 하의 혈장의 항산화 특성의 변화를 검출할 수 있다.

[0294] 몇몇 실시양태에서, 생체내 영상화 방법에 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 사용한다. 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 검출 가능한 잔기에 접합하여 피험자(예를 들면, 인간과 같은 포유동물)에게 투여한다. 검출 가능한 잔기의 검출에 의해 예를 들면 축상동맥경화성 병변 또는 아밀로이드 경화반을 비롯하여 관심 있는 세포, 조직 또는 기관의 영상화가 가능하다.

[0295] "영상화"란 용어는 본원에 기재된 바대로 또는 당업자에게 공지된 바대로 생체내, 생체외 또는 시험관내 검출 가능한 잔기의 영상을 생성하기 위한 절차 또는 양식을 의미한다. 영상화 양식의 예로는 자기 공명, 핵자기 공명, 방사선 신틸로그램 촬영, 양전자 방출 단층 촬영, 컴퓨터 단층 촬영, 근적외선 형광, X선, 초음파, 자외선 또는 가시광선을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다(예를 들면, 문헌[Dahnherth, *Radiology Review Manual* (4th ed. 1999); Brant et al., *Fundamentals of Diagnostic Radiobiology* (2nd ed. 1999); Weissleder et al., *Primer of Diagnostic Imaging* (2nd ed. 1997); Buddinger et al., *Medical Magnetic Resonance A Primer*, Society of Magnetic Resonance, Inc. (1988); Weissleder et al., *Nature Biotech.*, 17:375-378



(1999)] 참조).

- [0296] 본원에서 사용되는 "검출 가능한 잔기"란 구는 본원에 기재되거나 당업자에게 공지된 절차 또는 양식에 의해 생체내, 생체의 또는 시험관내 영상화될 수 있고/있거나 검출될 수 있는 잔기 또는 라벨을 의미한다. 본원에서 사용되는 바대로, 검출 가능한 잔기를 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체에 직접적으로 또는 간접적으로 연결할 수 있다. 링커는 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체를 하나의 검출 가능한 잔기에 연결하도록 작용할 수 있다. 또는, 링커는 폴리펩티드를 하나 이상의 검출 가능한 잔기에 연결할 수 있다. 마찬가지로, 검출 가능한 잔기는 하나 이상의 링커에 연결될 수 있다. 하나의 폴리펩티드에 부착된 복수의 검출 가능한 잔기를 사용하여 (예를 들면, 이의 방사선비투과성, 예코발생도 또는 이완도를 증가시켜) 검출 가능한 잔기의 측정 가능성을 증가시킬 수 있거나, 또는 하나 이상의 영상화 양식에서 폴리펩티드가 검출되게 할 수 있다.
- [0297] 일반적으로 검출 가능한 잔기, 링커 및/또는 폴리펩티드 상에 위치하는 하나 이상의 작용기와 상호작용을 포함하는 공유 또는 비공유 방식에 의해 검출 가능한 잔기를 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체에 연결할 수 있다. 이러한 목적에 사용할 수 있는 화학적 반응성 작용기의 예로 아미노, 하이드록실, 설프하이드릴, 카르복시 및 카르보닐 기 및 탄수화물 기, 인접 디알, 티오에테르, 2-아미노 알콜, 2-아미노 티올, 구아니디닐, 이미다졸릴 및 페놀성 기를 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 몇몇 실시양태에서, 예를 들면 생분해성 또는 화학적으로 민감한 또는 효소 분해 부위가 통합된 스페이서 암(spacer arm)을 포함하는 불안정 연결을 사용한다. 특정한 링커는 본 발명의 중요한 양태가 아니다. 당해 분야에 공지된 임의의 링커가 적절한 기간, 즉 폴리펩티드가 원하는 표적에서 검출되기에 충분한 기간 동안 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체 및 검출 가능한 잔기를 함께 연결하는 한, 이 링커를 사용할 수 있다.
- [0298] 본 발명의 방법에서 사용되는 검출 가능한 잔기는 본원에 기재되거나 당업자에게 공지된 영상화 절차에 직접적으로 또는 간접적으로 검출할 수 있는 임의의 잔기일 수 있다. 예를 들면, (예를 들면, 방사능 붕괴, 형광 여기, 스핀 공명 여기 등에 의한) 검출 가능한 방사선을 방출하거나, 이를 방출하도록 야기할 수 있는 잔기, 국부 전자기장에 영향을 미치는 잔기(예를 들면, 상자성, 초상자성, 페리자성 또는 강자성 종), 방사선 에너지를 흡수 또는 산란시키는 잔기(예를 들면, 발색단, 입자(가스 또는 액체 함유 소낭 포함), 중원소 및 이의 화합물 등 포함) 및 검출 가능한 물질을 발생시키는 잔기(예를 들면, 가스 미세기포 발생자)의 검출 가능한 잔기를 사용할 수 있다.
- [0299] 영상화 양식에 의해 검출 가능한 매우 광범위한 물질이 선행 기술로부터 공지되어 있고 검출 가능한 잔기를 이용하고자 하는 영상화 양식에 따라 선택할 수 있다. 따라서, 예를 들면 초음파 영상화를 위해, 예코 발생 물질 또는 예코 발생 물질을 생성시킬 수 있는 물질이 통상적으로 선택될 수 있고; X선 영상화를 위해, 검출 가능한 잔기는 일반적으로 중원자(예를 들면, 원자 중량 38 이상)일 수 있거나, 이를 포함할 수 있고; MR 영상화를 위해, 검출 가능한 잔기는 비-제로 핵 스핀 동위원소(예컨대, <sup>19</sup>F) 또는 홀전자 스핀을 가져 상자성, 초상자성, 페리자성 또는 강자성 특성을 갖는 물질일 수 있고; 광 영상화를 위해, 검출 가능한 잔기는 광 산란체(예를 들면, 조절 또는 비조절 입자), 광 흡수기 또는 광 발광기일 수 있고; 자기 측정 영상화를 위해, 검출 가능한 잔기는 검출 가능한 자기 특성을 가질 수 있고; 전기 임피던스 영상화를 위해, 검출 가능한 잔기는 전기 임피던스에 영향을 미칠 수 있고; 신티그램 촬영, SPECT, PET 등을 위해, 검출 가능한 잔기는 방사선 핵종일 수 있다.
- [0300] 진단 영상화 문헌으로부터 널리 공지된 적합한 검출 가능한 잔기의 예로는 예를 들면 자성 산화철 입자, 가스 함유 소낭, 킬레이트화 상자성 금속(예컨대 Gd, Dy, Mn, Fe 등)(예를 들면, 미국 특허 제5,228,446호; 제4,647,447호; 제4,863,715호; 제4,770,183호 및 제5,387,080호; PCT 공보 WO 제97/25073호, WO 제96/09840호, WO 제85/02772호, WO 제92/17212호, WO 제97/29783호, WO 제91/15243호, WO 제93/05818호, WO 제96/23524호, WO 제95/26205호 및 WO 제96/17628호; 제EP-A-554213호; 및 GB 제9624918.0호 참조); PCT 공보 WO 제91/14460호, WO 제89/00557호, WO 제92/17215호, WO 제96/40287호 및 WO 제96/22914호; 및 미국 특허 제4,647,447호, 제5,367,080호 및 제5,364,613호에 기재되어 있는 금속 방사선 핵종, 상자성 금속 이온, 형광 금속 이온, 중금속 이온 및 클러스터 이온; 비금속 원자 잔기, 예를 들면 <sup>123</sup>I, <sup>131</sup>I 및 <sup>18</sup>F 등 및 중원자, 예컨대 I; 문헌 [Matsuoka, Topics in Applied Chemistry: Infrared absorbing dyes (1990); Waring et al., Topics in Applied Chemistry: The Chemistry and Application of dyes (1990); "Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals" Haugland, Molecular Probes Inc, 1996, 제DE-A-4445065호, 제DE-A-4326466호, 제JP-A-3/228046호, Narayanan et al., J. Org. Chem., 60:2391-2395 (1995), Lipowska et al., Heterocyclic Comm., 1:427-430 (1995), Fabian et al., Chem. Rev., 92:1197 (1992); PCT 공보 WO 제96/23525호: Strekowska et al., J. Org. Chem., 57:4578-4580 (1992); 및 PCT 공보 WO 제96/17628호]에 기재되어 있는 유기 발색 또는

플루오로포릭(fluorophoric) 잔기; 문헌[Waring and Hallas, The Chemistry and Application of Dyes, Topics in Applied Chemistry (1990); Haugland, Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals (6th ed. 1996)]에 기재되어 있는 가시 염료를 들 수 있다.

[0301] 리간드에 연결된 검출 가능한 잔기를 검출하기에 적합한 영상화 양식의 예로는 자기 공명, 핵자기 공명, 방사선 신티그램 촬영, 양전자 방출 단층 촬영, 컴퓨터 단층 촬영, 근적외선 형광, X선, 초음파, 자외선 또는 가시광선을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않고, 검출 가능한 잔기의 영상은 특이적 세포의 프로테아제의 활성을 나타낸다(예를 들면, 문헌[Dahnert, Radiology Review Manual (4th ed. 1999); Brant et al., Fundamentals of Diagnostic Radiobiology, (2nd ed. 1999); Weissleder et al., Primer of Diagnostic Imaging, (2nd ed. 1997); Buddinger et al., Medical Magnetic Resonance A Primer, Society of Magnetic Resonance, Inc. (1988); Weissleder et al., Nature Biotech., 17:375-378 (1999)] 참조).

[0302] 몇몇 상황에서, 링커가 투여 후 생체 분해되는 것이 바람직할 수 있다. 적절하게 생분해성 링커를 선택함으로써, 폴리펩티드 및/또는 검출 가능한 잔기에 대한 생체 분포 및 생체 제거 패턴을 변경시킬 수 있다. 폴리펩티드 및/또는 검출 가능한 잔기가 영상화 절차가 종료된 후 보유되는 경우 생물학적으로 활성이거나 부작용을 발휘하는 경우, 폴리펩티드 및/또는 검출 가능한 잔기의 적절한 생체 제거 또는 대사 분해를 보장하는 링커에 생분해성을 설계하는 것이 바람직할 수 있다. 따라서, 링커는 분해시 폴리펩티드 또는 거대분자 구조의 단편으로부터의 검출 가능한 잔기의 방출로 인해 변형된 생체 분포 패턴을 갖는 분해 생성물을 생성시키는 생분해성 기능을 포함할 수 있다. 예의 방식에 의해, 킬레이트화 금속 이온 잔기를 보유하는 링커의 경우, 링커가 분해시 검출 가능한 잔기를 포함하는 배설 가능한 킬레이트 화합물을 방출하는 생분해성 작용을 통합하도록 할 수 있다. 따라서, 생분해성 작용은, 원하는 경우, 링커 구조 내에, 바람직하게는 (a) 분지 부위, (b) 리간드 또는 검출 가능한 잔기에 대한 부착 부위에 또는 그 근처에 또는 (c) 생체 분해가 생리학적으로 용인 가능한 또는 신속히 배설 가능한 단편을 생성시키게 하는 부위에서 통합될 수 있다.

## [0303] XI. 키트

[0304] 다른 양태에서, 본 발명은 치료, 즉 질환 또는 질병, 즉 이상지질혈증, 고콜레스테롤혈증 및 염증과 관련된 병증의 완화 또는 예방을 위한 키트를 제공한다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명은 치료, 즉 죽상동맥경화증의 1종 이상의 증상의 완화를 위한 또는 죽상동맥경화증에 대한 위험이 있는 피험자(예를 들면, 인간 또는 동물)의 예방학적 치료를 위한 키트를 제공한다. 키트는 바람직하게는 1종 이상의 본 발명의 폴리펩티드(또는 펩티드 모방체)를 포함하는 용기를 포함한다. 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체는 단위 제형(예를 들면, 정제, 캡슐, 패치, 좌제 등)으로 제공될 수 있고/있거나 임의로 1종 이상의 약학적으로 허용되는 부형제와 배합될 수 있다.

[0305] 키트는 임의로 이상지질혈증, 고콜레스테롤혈증 및 염증과 관련된 질환 또는 병증(예컨대, 심장 질환 및/또는 죽상동맥경화증)의 치료에 사용되는 1종 이상의 다른 제제를 더 포함할 수 있다. 상기 제제로는 "병용 요법"의 섹션과 관련하여 상기 기재된 것을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 예를 들면, 특정한 실시양태에서, 키트는 베타 차단제, 혈관확장제, 아스피린, 스타틴류, ace 억제제 또는 ace 수용체 억제제(ARB) 등을 포함한다.

[0306] 또한, 키트는 임의로 방법의 실행에 대한 또는 본 발명의 "치료제" 또는 "예방제"의 사용에 대한 지시(즉, 프로토콜)를 제공하는 라벨 및/또는 지시 자료를 포함할 수 있다. 바람직한 지시 자료는 예를 들면 죽상동맥경화증에 대한 위험이 있는 개인에서 죽상동맥경화증의 1종 이상의 증상을 경감시키기 위한 및/또는 상기 1종 이상의 증상의 발병 또는 증가를 예방하기 위한 1종 이상의 본 발명의 폴리펩티드 또는 펩티드 모방체의 용도를 기재한다. 지시 자료는 또한 임의로 바람직한 용량/치료 섭생, 금기 사항 등을 교시할 수 있다.

[0307] 지시 자료가 통상적으로 서면 또는 인쇄 자료를 포함하는 경우, 이것은 상기의 것으로 제한되지 않는다. 이러한 지시를 저장할 수 있고 그 지시를 최종 사용자에게 전달할 수 있는 임의의 매체가 본 발명에 의해 고려된다. 이러한 매체로는 전자 저장 매체(예를 들면, 자기 디스크, 테이프, 카트리지, 칩 등), 광학 매체(예를 들면, CD ROM) 등을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 상기 매체는 상기 지시 자료를 제공하는 인터넷 사이트의 주소를 포함할 수 있다.

[0308] 특정 실시예의 방식으로 본 발명을 보다 자세히 기재하였다. 하기 실시예는 예시 목적으로 제공되었으며, 임의의 방식으로 본 발명을 제한하고자 의도되지 않았다. 당업자라면 실질적으로 동일한 결과를 생성시키도록 변경 또는 변형될 수 있는 각종 중요하지 않은 매개변수를 용이하게 인식할 수 있을 것이다.

## [0309] XII. 실시예

[0310] 실시예 1

[0311] 22합체 펩티드의 콜레스테롤 유출 활성

[0312] ABCA1 콜레스테롤 유출을 자극하는 데 있어서의 효율을 증가시키도록 행해진 조성 변화를 반영하는 군에서 펩티드의 목록을 작성하였다. 합성 쿼트 번호에 해당하는 숫자로 서열을 확인하였다.

[0313] N257-11은 생물학적 활성을 갖는 성공적으로 조작된 22합체 펩티드에 해당한다. 펩티드 N257-11의 아미노산 서열은 ELREKLEAWREAFEEFFARFKS(도 1, 이것은 펩티드의 나선 바퀴 다이어그램을 나타냄)이다. N257-11은 일반적으로 높은 커패시티로 ABCA1 콜레스테롤 유출을 자극하였지만, 활성에 높은 농도가 필요하여서 펩티드는 약한 유출 효율을 나타냈다.

[0314] 펩티드 시리즈 번호: N257-11

[0315] ABCA1 콜레스테롤 유출 활성을 갖는 22합체 펩티드

[0316] ELREKLEAWREAFEEFFARFKS

[0317] 8 시간 유출 데이터 (J774 거대세포 ± cAMP, ABCA1을 상향 조절)

[0318] 콜레스테롤 유출(%) / 8 시간

-cAMP	0.91±0.1	펩티드는 ABCA1 콜레스테롤 유출을 자극한다.
+cAMP	6.99±1.4	Km은 대략 10-20 μg/ml이다

[0319]

[0320] 실시예 2

[0321] 20합체, 21합체 및 22합체 펩티드의 콜레스테롤 유출 활성

[0322] 시리즈 N356을 포함하는 펩티드를 아미노산 치환 설계하여 모 N257-11의 펩티드의 콜레스테롤 유출 효율을 증가시켰다. 일 치환(R10→F, N356-1의 펩티드)은 비극성 표면이 140°로 확장되도록 의도되었고; 이것은 모 펩티드에서 추정되는 염-브릿지 중 하나를 파괴시켰다. 이 변화는 콜레스테롤 유출을 자극하는 데 있어서 N257-11보다 강력한 펩티드를 생성시켰지만, 농도 의존 곡선은 천연 단백질에 일반적이지 않은 역치형 반응을 나타냈다.

[0323] 시리즈 N965에서의 펩티드는 시리즈 N257 및 N356의 복합 설계에 기초하고, 이것을 염-브릿지 입체구조, 광범위한 비극성 표면 및 극성 표면 상의 산성 잔기의 중요한 지형적 위상을 유지시키도록 조작하였다. 후속 조작(N1154 시리즈)에 의해, 모든 페닐알라닌 잔기를 대체하기 위한 모든 류신 잔기의 사용을 비롯하여, 생물학적 활성 펩티드를 인공적으로 조작하기 위해 아미노산을 비교적 적게 선택하여 사용할 수 있다는 것을 놀랍게도 발견하였다.

[0324] [표 A] 펩티드 시리즈 번호: N356

[0325] N257-11 설계에 기초한 22합체, 21합체 및 20합체 펩티드

[0326] 콜레스테롤 유출의 효율을 증가시키도록 설계된 치환.

[0327] ELREKLEAWREAFEEFFARFKS 모 N257-11 서열(상기 기재됨)

서열	시리즈 번호	아미노산 수
ELREKLEAWREAFEEFFARFKS	N356-1	22합체
ELREKLEAWRELFEEFFARFKS	N356-2	22합체
ELREKLEAWFELFEEFFARFKS	N356-3	22합체
ELREKLEAWFELFAEFFARFKS	N356-4	22합체
ELREKLEAWFELFAEFFARFK	N356-5	21합체
ELREKLEAWFELFAEFFARF	N356-6	20합체
ELRAKLEAWFEAFAEFFARF	N356-7	20합체

[0328]

[0329] 밀줄친 잔기는 목록에서 제1 서열(즉, N257-11)에 행해진 변화를 나타낸다.

[0330] **결과**

[0331] **N356 펩티드 시리즈: 콜레스테롤 유출 데이터**

[0332] (J774 거대세포 +cAMP, ABCA1을 상향 조절)

[0333] 콜레스테롤 유출(%) / 8 시간

	N356-1	N356-2	N356-3	N356-4	N356-5	N356-6	N356-7
-cAMP	0.86± 0.06	1.27± 0.14	0.82± 0.07	1.72± 0.14	2.18± 0.17	2.09± 0.15	2.78± 0.40
+cAMP	4.16± 0.38	6.52± 0.37	3.94± 0.50	4.25± 0.60	5.97± 0.47	4.04± 0.72	7.00± 0.94

[0334]

[0335] 농도 의존(콜레스테롤 유출 효율)

[0336] 콜레스테롤 유출(%) / 4 시간

μg/ml	N356-1	N356-2	N356-3	N356-4	N356-5	N356-6	N356-7
0.1	0	0	0	0.14	0.02	0.01	0.15
0.3	0	0	0.57	0.61	0.31	0.23	0.23
1.0	0.23	0.02	1.20	1.89	1.59	0.67	1.17
3.0	4.71	1.30	4.34	5.68	4.27	4.07	4.99
10	5.61	5.70	5.13	6.06	3.86	3.78	5.49
30	3.50	5.92	3.24	6.52	3.20	3.91	5.66

[0337]

[0338] **[표 B] 펩티드 시리즈 번호: N965**

[0339] N257-11 & N365 설계에 기초한 22합체, 21합체 및 20합체 펩티드

서열	시리즈 번호	아미노산 수
EVREKLEAWFEAFREFAERFKS	N965-1	22합체
EVREKLEAWFELFREFAERFKS	N965-2	22합체
EVREKLEAWFELFREFAERFLS	N965-3	22합체
EVREKLEAWFELFREFLERFKS	N965-4	22합체
EVREKLEAWFELFREFLERFLS	N965-5	22합체
EVREKLEAWFELFREFLERFL	N965-6	21합체
EVREKLEAWFELFREFLERF	N965-7	20합체
ELREKLEAWFELFREFLERF	N965-8	20합체
ELREKLEAWRELFEFFARFLS	N965-9	22합체

[0340]

[0341] 밀줄친 잔기는 목록에서 제1 서열(즉, N965-1)에 행해진 변화를 나타낸다.

[0342] **결과**

[0343] **N965 펩티드 시리즈: 콜레스테롤 유출 데이터**

[0344] (J774 거대세포 +cAMP, ABCA1을 상향 조절)

[0345] 콜레스테롤 유출(%)/8 시간

	N965-1	N965-2	N965-3	N965-4	N965-5	N965-6	N965-7	N965-8	N965-9
-cAMP	1.75± 0.20	1.28± 0.18	1.45± 0.12	1.52± 0.07	2.91± 0.44	3.15± 0.36	1.50± 0.14	2.29± 0.16	1.06± 0.19
+cAMP	9.90± 1.04	6.97± 0.77	3.85± 0.65	4.76± 0.33	5.52± 0.38	6.18± 0.34	4.03± 0.37	5.26± 0.95	2.94± 0.34

[0346]

[0347] 농도 의존(콜레스테롤 유출 효율)

[0348] 콜레스테롤 유출(%)/4 시간

μg/ml	N965-1	N965-2	N965-3	N965-4	N965-5	N965-6	N965-7	N965-8	N965-9
0.1	0	0	0.23	0.29	0.12	0.11	0.03	0.15	0.03
0.3	0.13	0.13	0.47	0.67	0.90	0.49	0.30	0.52	0.41
1.0	0	0.01	1.06	2.70	2.13	1.59	1.39	1.72	0.72
3.0	0.44	2.23	3.48	4.72	4.89	1.98	4.94	4.60	2.45
10	2.90	5.96	3.05	4.00	4.06	2.22	3.65	3.62	1.77
30	6.01	3.98	2.53	2.94	3.82	2.75	2.66	3.66	1.41

[0349]

[0350] [표 C] 펩티드 시리즈 번호: N1154

[0351] N965-8에 기초한 20합체 펩티드

[0352] ELREKLEAWFELFREFLERF 모 N965-8(ATI-185)

서열	시리즈 번호	아미노산 수
ELRERLEAWFELFREFLERF	N1154-1	20합체
ELRDKLEAWFDLFREFLERF	N1154-2	20합체
DLRDKLEAWFDLFRDFLDRF	N1154-3	20합체
ELRDRLEAWFDLFREFLERF	N1154-4	20합체
DLRDRLEAWFDLFRDFLDRF	N1154-5	20합체
ELREKLEAWLELLRELLERL	N1154-6	20합체
ELRERLEAWLELLRELLERL	N1154-7	20합체
ELRDKLEAWLDLLRELLERL	N1154-8	20합체
DLRDKLEAWLDLLRDLLDRL	N1154-9	20합체
ELRDRLEAWLDLLRELLERL	N1154-10	20합체
DLRDRLEAWLDLLRDLLDRL	N1154-11	20합체

[0353]

[0354] 밑줄친 잔기는 ATI-185에 행해진 변화를 나타낸다.

[0355] **결과**

[0356] N1154 펩티드 1-5: 콜레스테롤 유출 데이터

[0357] (J774 거대세포 +cAMP, ABCA1을 상향 조절)

[0358] 콜레스테롤 유출(%)/8 시간

	N1154-1	N1154-2	N1154-3	N1154-4	N1154-5
-cAMP	1.85±0.28	1.47±0.15	1.61±0.34	2.59±0.35	3.06±1.01
+cAMP	5.20±0.25	3.00±0.21	3.29±0.44	11.4±0.70	9.88±0.53

[0359]



[0360] 농도 의존(콜레스테롤 유출 효율)

[0361] 콜레스테롤 유출(%) / 4 시간

$\mu\text{g/ml}$	N1154-1	N1154-2	N1154-3	N1154-4	N1154-5
0.1	0.10	0.03	0	0	0
0.3	0.41	0.51	0.19	1.30	1.92
1.0	2.06	2.17	1.31	3.51	2.77
3.0	5.11	2.59	2.66	4.14	5.28
10	4.44	2.14	2.12	5.02	5.29
30	3.67	1.66	2.21	3.65	3.53

[0362]

[0363] N1154 펩티드 6-11: 콜레스테롤 유출 데이터

[0364] (J774 거대세포 +cAMP, ABCA1을 상향 조절)

[0365] 콜레스테롤 유출(%) / 8 시간

	N1154-6	N1154-7	N1154-8	N1154-9	N1154-10	N1154-11
-cAMP	$1.17 \pm 0.09$	$1.23 \pm 0.10$	$1.31 \pm 0.08$	$1.81 \pm 0.14$	$2.66 \pm 0.41$	$4.20 \pm 0.75$
+cAMP	$4.29 \pm 0.68$	$4.14 \pm 0.84$	$4.38 \pm 0.43$	$4.83 \pm 0.32$	$8.25 \pm 0.33$	$9.04 \pm 1.96$

[0366]

[0367] 농도 의존(콜레스테롤 유출 효율)

[0368] 콜레스테롤 유출(%) / 4 시간

$\mu\text{g/ml}$	N1154-6	N1154-7	N1154-8	N1154-9	N1154-10	N1154-11
0.1	0.18	0.23	0	0.08	0.58	0.58
0.3	0.46	0.83	0.48	0.43	1.00	1.34
1.0	2.51	2.26	1.51	1.81	2.12	2.56
3.0	4.73	4.14	3.41	3.48	5.25	4.84
10	3.56	3.24	2.99	3.31	4.15	4.17
30	2.71	3.28	3.02	4.35	3.70	5.55

[0369]

[0370] 실시예 3

[0371] 1차 아미노산 서열 및 강력한 ABCA1 콜레스테롤 유출 펩티드 서열 번호 2(20합체)의 돌출된  $\alpha$ -나선 구조(도 2). A 패널은 펩티드의 양친매성 성질을 보여주는 나선 바퀴 다이어그램을 나타낸다. B 패널은 극성 표면의 장축을 절단하고 편평하게 한 펩티드를 보여주는 나선 망상 다이어그램을 나타낸다. 흑색 원은 산성 아미노산을 나타내고, 부분 흑색 원은 양이온 잔기를 나타낸다. 패널 둘 다에서의 숫자는 아미노산의 1차 서열을 의미한다.

[0372] 실시예 4

[0373] 이 실시예는 서열 번호 2 대 전장 아포A-I의 콜레스테롤 유출 활성을 보여주는 것이다. [ $^3\text{H}$ ] 콜레스테롤로 표지된 J774 거대세포를 사용하여 본 발명의 펩티드의 콜레스테롤 유출 활성을 평가하였다. 24웰 배양판에 플레이팅된 J774 세포를 1% FBS 중의 [ $^3\text{H}$ ] 콜레스테롤 1  $\mu\text{Ci/ml}$ 로 (48 시간) 표지하였다. 몇몇 웰에 cAMP 유사체(0.3 mM)를 (12~18 시간) 첨가하여 ABCA1 발현을 상향 조절하였다. cAMP 처리 이후, 세포를 세정하고, 이후 혈청 비함유 배지 중의 펩티드에 노출시켰다. 그 결과를 도 3에 도시하였다. A 패널은 농도에 대한 콜레스테롤 유출의 의존성(지질 비함유 서열 번호 2의 펩티드(사각형) 및 지질 비함유 아포지단백질(아포)A-I (원형))을 보여주는 데이터를 제공하고; cAMP 처리 세포를 사용하였다. 혈청 비함유 배지 단독에 배경 유출을 공제하여 8 시간에 배지 중에 나타난 세포 [ $^3\text{H}$ ] 콜레스테롤의 백분율을 나타냈다. 값은 평균 $\pm$ SD; 아포A-I, n=8; 서열 번호 2의 펩티드, n=3이었다. 미하엘리스-멘텐(Michaelis-Menten) 방정식을 이용한 농도 의존 곡선 및 4 시간 유출 데이터로부터 콜레스테롤 유출 자극에 대한 효율을 반영하는  $K_m$  값을 (Prism 4 소프트웨어) 계산하였다. 서열 번호 2의 펩티드는 질량 기준으로 아포A-I 과 비교하여 콜레스테롤 유출을 약 5배 더 효과적으로 자극하였다(각각  $K_m=0.7 \pm 0.3$  대 아포A-I  $K_m=3.4 \pm 0.6 \mu\text{g/ml}$ ). 물 기준으로, 펩티드의 유출 효율은 아포A-I 과 거의 동일하였다( $K_m=0.26 \pm 0.11$  대 아포A-I  $K_m=0.12 \pm 0.02$ ).

[0374] 도 3의 B 패널은, 아포A-I 과 유사한, 지질 비함유 서열 번호 2의 펩티드가 ABCA1 의존 방식으로 콜레스테롤 유출을 자극한다는 것을 보여준다. [ $^3\text{H}$ ]콜레스테롤로 표지되고 cAMP 존재 하에 처리된 J774 세포(흑색 막대) 및 [ $^3\text{H}$ ]콜레스테롤로 표지되고 cAMP 부재 하에 처리된 J774 세포(흰색 막대)를 둘 다 30  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 서열 번호 2의 펩티드 또는 아포A-I 에 노출시켰다. 배지로의 콜레스테롤 유출(%) (8 시간)을 나타냈다. 값은 2회 실험을

대표한다.

[0375] 실시예 5

[0376] 이 실시예는, 20합체 서열 번호 2의 펩티드와 유사한, 잔기 KS가 C 말단에 첨가된 서열 번호 2의 22합체 유사체가 ABCA1 콜레스테롤 유출을 자극한다는 것을 입증하는 것이다.

[0377] 서열 번호 2 ELREKLEAWFELFREFLERF

[0378] 서열 번호 31 ELREKLEAWFELFREFLERFKS

[0379] 실시예 4에 기재된 바대로 [<sup>3</sup>H]콜레스테롤로 표지되고 cAMP(0.3 mM)로 처리된 J774 세포를 세정하고 혈청 비함유 배지 중의 지질 비함유 펩티드에 노출시켰다. 그 결과를 도 4에 도시하였다. 서열 번호 2의 펩티드(흰색 막대) 또는 서열 번호 31의 펩티드(흑색 막대)에 반응하여 배지 중에 나타난 세포 [<sup>3</sup>H]콜레스테롤의 백분율(8 시간)을 나타냈다. 단일 실험으로부터 값을 얻었다. 각 농도에 대해 2개 웰을 사용하였다. 2개 웰은 12% 이하로 차이가 발생했다.

[0380] 실시예 6

[0381] 이 실시예는 ABCA1 콜레스테롤 유출 활성화에 부정적으로 영향을 미치는 일 없이 20합체 펩티드(서열 번호 2)에서 트립토판(W)에 대해 류신(L) 또는 페닐알라닌(F)을 치환할 수 있다는 것을 입증하는 것이다.

[0382] 서열 번호 32 ELREKLEALFELFREFLERF

[0383] 서열 번호 33 ELREKLEAFFELFREFLERF

[0384] 실시예 4에 기재된 바대로 J774 세포를 [<sup>3</sup>H]콜레스테롤로 표지하고 펩티드에 노출시켰다. A 패널(도 5)은 서열 번호 2, 서열 번호 32 및 서열 번호 33의 펩티드에 반응하여 배지 중에 나타난 세포 [<sup>3</sup>H]콜레스테롤의 백분율(8 시간)을 나타냈다. 30 μg/ml 혈청 비함유 배지에서 지질 비함유 형태로 펩티드를 사용하였다. 각 펩티드/조건에 대해 3개 웰을 사용하여 단일 실험으로부터 값을 얻었다. 평균±SD를 나타냈다. 펩티드는 ABCA1 반응에 대해 유도된 세포로부터 cAMP를 갖지 않는 낮은 수치의 콜레스테롤 유출(흰색 막대)과 비교하여 비교적 높은 수치의 콜레스테롤 유출(즉, +cAMP, 흑색 막대)을 자극하였다. B 패널은 서열 번호 32 및 서열 번호 33의 펩티드의 농도에 미치는 콜레스테롤 유출의 의존성을 보여주고; cAMP 처리 세포를 사용하였다. 각 조건에 대해 2개 웰로 단일 실험으로부터 값을 얻었다.

[0385] 실시예 7

[0386] 이 실시예는 활성화에 부정적으로 영향을 미치는 일 없이 콜레스테롤 유출 펩티드의 비극성 표면 상의 류신에 대해 발린을 치환할 수 있다는 것을 보여주는 것이다. 실시예 4에 기재된 바대로 J774 세포를 [<sup>3</sup>H]콜레스테롤로 표지하였다. 분석 결과를 도 6에 도시하였다. A 패널은 서열 번호 2(20합체) 및 서열 번호 31(22합체)의 펩티드에 반응하여 배지 중에 나타난 세포 [<sup>3</sup>H]콜레스테롤의 백분율(8 시간)을 나타내고, 각각 1차 서열에서 2번 위치에서 류신(L) 대신 발린(V)을 포함하였다. 30 μg/ml 혈청 비함유 배지에서 지질 비함유 형태로 펩티드를 사용하였다. 각 펩티드/조건에 대해 3개 웰을 사용하여 단일 실험으로부터 값을 얻었다. 평균±SD를 나타냈다. 펩티드는 ABCA1 반응에 대해 유도된 세포로부터 cAMP를 갖지 않는 낮은 수치의 콜레스테롤 유출(흰색 막대)과 비교하여 비교적 높은 수치의 콜레스테롤 유출(즉, +cAMP, 흑색 막대)을 자극하였다. B 패널은 (범례로 나타낸) 펩티드의 농도에 미치는 콜레스테롤 유출의 의존성을 보여주는 데이터를 제공하고; cAMP 처리 세포를 사용하였다. 각 조건에 대해 2개 웰로 단일 실험으로부터 값을 얻었다.

[0387] 실시예 8

[0388] 이 실시예는 ABCA1 콜레스테롤 유출의 자극은 펩티드에서 소수성 류신 잔기의 수에 의해 영향을 받는다는 것을 보여주는 것이다.

[0389] 실시예 4에 기재된 바대로 J774 세포를 [<sup>3</sup>H]콜레스테롤로 표지하였다. 서열 번호 31의 펩티드에서 중요한 12번 및 17번 위치에 류신(L)에 대해 알라닌(A)을 치환하여 실험을 수행하였다. 그 결과를 도 7에 도시하였다. A 패널은 펩티드에 반응하여 배지 중에 나타난 세포 [<sup>3</sup>H] 콜레스테롤의 백분율(8 시간)을 보여주는 데이터를 제공하고; 대조군 펩티드는 2번 위치에서 L 대신 V를 포함하는 서열 번호 31(사각형)에 대응하고; 이 펩티드는 전체 3

개의 류신(L) 잔기를 포함하였다. 3개 및 4개의 L 잔기를 갖는 펩티드는 동일한 콜레스테롤 유출 활성을 보유하였다(도 6, 즉 L2→V를 갖는 서열 번호 2 및 L2→V를 갖지 않는 서열 번호 2). 반대로, 3개 미만의 L 잔기를 갖는 펩티드는 콜레스테롤 유출을 약하게 자극하였다. B 패널은 펩티드의 농도에 대한 콜레스테롤 유출의 의존성을 보여주는 데이터를 제공한다. 설명한 바대로, 소수성 L 잔기의 수는 본 발명의 펩티드에 콜레스테롤 유출 효율을 부여하였고; cAMP 처리 세포를 사용하였다.

#### [0390] 실시예 9

이 실시예는 ABCA1 콜레스테롤 유출 활성에 부정적으로 영향을 미치는 일 없이 비극성 표면 상의 류신 잔기 또는 류신 잔기와 이소류신 잔기의 조합에 의해 본 발명의 펩티드를 조작할 수 있다는 것을 입증하는 것이다.

실시예 4에 기재된 바대로 J774 세포를 [<sup>3</sup>H]콜레스테롤로 표지하였다. 서열 번호 2의 펩티드의 비극성 표면 상의 소수성 페닐알라닌(F) 잔기에 대해 이소류신(I) 또는 류신(L)을 치환하여 실험을 수행하였다. F→L 치환에 의해 (W9 제외한) 모든 L 잔기를 갖는 비극성 표면을 디스플레이하는 펩티드가 생성되었다. 그 결과를 도 8에 도시하였다. A 패널은 서열 번호 2의 펩티드 대 F→L 치환을 갖는 서열 번호 2의 펩티드에 반응하여 배지 중에 나타난 세포 [<sup>3</sup>H] 콜레스테롤의 백분율(8 시간)을 보여준다. B 패널은, F→I 치환을 갖는 서열 번호 2의 펩티드를 사용하였다는 것을 제외하고, A 패널에서와 유사한 실험을 보여준다. A 패널 및 B 패널 둘 다에서 30 µg/ml 혈청 비함유 배지에서 지질 비함유 형태로 펩티드를 사용하였다. C 패널은 펩티드의 농도에 대한 콜레스테롤 유출의 의존성을 보여주고, 이것은 ABCA1 콜레스테롤 유출의 자극이 방향족(페닐알라닌) 잔기에 의존하지 않는다는 것을 시사하고; cAMP 처리 세포를 사용하였다.

#### [0393] 실시예 10

이 실시예는 ABCA1 콜레스테롤 유출을 자극하는 능력에 부정적으로 영향을 미치는 일 없이 비극성 표면 상의 페닐알라닌 잔기의 수를 증가시켜 본 발명의 펩티드를 조작할 수 있다는 것을 입증하는 것이다.

실시예 4에 기재된 바대로 J774 세포를 [<sup>3</sup>H]콜레스테롤로 표지하였다. 서열 번호 2의 펩티드의 비극성 표면 상의 류신(L)에 대해 소수성 페닐알라닌(F) 잔기를 치환하여 실험을 수행하였다. 2번, 6번, 12번 및 17번 위치에 서의 L→F 치환에 의해 (W9 제외한) 모든 F 잔기를 갖는 비극성 표면을 디스플레이하는 펩티드가 생성되었다. 그 결과를 도 9에 도시하였다. A 패널은 서열 번호 2의 펩티드 대 L→F 치환을 갖는 서열 번호 2의 펩티드에 반응하여 배지 중에 나타난 세포 [<sup>3</sup>H] 콜레스테롤의 백분율(8 시간)을 보여준다. 30 µg/ml 혈청 비함유 배지에서 지질 비함유 형태로 펩티드를 사용하였다. B 패널은 L→F 치환을 갖는 서열 번호 2의 펩티드 및 L→F 치환을 갖지 않는 서열 번호 2의 펩티드의 농도에 대한 콜레스테롤 유출의 의존성을 보여주고; cAMP 처리 세포를 사용하였다.

#### [0396] 실시예 11

이 실시예는 ABCA1 콜레스테롤 유출을 자극하는 능력에 부정적으로 영향을 미치는 일 없이 본 발명의 펩티드의 류신 및 페닐알라닌 잔기를 이소류신으로 대체할 수 있다는 것을 입증하는 것이다.

실시예 4에 기재된 바대로 J774 세포를 [<sup>3</sup>H]콜레스테롤로 표지하였다. 서열 번호 2의 펩티드의 비극성 표면 상의 모든 류신(L) 잔기(2번, 6번, 12번, 17번 위치)에 대해 또는 모든 류신(L) 및 페닐알라닌(F) 잔기(10번, 13번, 16번, 20번 위치)에 대해 소수성 이소류신(I)을 치환하여 실험을 수행하였다. 후자의 L&F→I 치환에 의해 (W9 제외한) 모든 I 잔기를 갖는 비극성 표면을 디스플레이하는 펩티드가 생성되었다. 그 결과를 도 10에 도시하였다. A 패널은 서열 번호 2의 펩티드 대 L→I 및 L&F→I 치환을 갖는 서열 번호 2의 펩티드에 반응하여 배지 중에 나타난 세포 [<sup>3</sup>H] 콜레스테롤의 백분율(8 시간)을 보여준다. 30 µg/ml 혈청 비함유 배지에서 지질 비함유 형태로 펩티드를 사용하였다. B 패널은, 범례로 나타난 것처럼, 이소류신 치환을 갖는 서열 번호 2의 펩티드 및 이소류신 치환을 갖지 않는 서열 번호 2의 펩티드의 농도에 대한 콜레스테롤 유출의 의존성을 보여주고; cAMP 처리 세포를 사용하였다.

#### [0399] 실시예 12

이 실시예는 ABCA1 콜레스테롤 유출을 자극하는 능력에 부정적으로 영향을 미치는 일 없이 펩티드에서 양으로 하전된 리신에 대해 양으로 하전된 아르기닌을 치환할 수 있다는 것을 입증하는 것이다.

- [0401] 실시예 4에 기재된 바대로 J774 세포를 [<sup>3</sup>H]콜레스테롤로 표지하였다. 서열 번호 2의 펩티드의 극성 표면 상의 5번 위치에서 리신(K)에 대해 아르기닌(R)을 치환하여 실험을 수행하였다. 그 결과를 도 11에 도시하였다. A 패널은 서열 번호 2의 펩티드 대 K5→R 치환을 갖는 서열 번호 2의 펩티드에 반응하여 배지 중에 나타난 세포 [<sup>3</sup>H] 콜레스테롤의 백분율(8 시간)을 보여준다. 30  $\mu$ g/ml 혈청 비함유 배지에서 지질 비함유 형태로 펩티드를 사용하였다. B 패널은 K5→R 치환을 갖는 서열 번호 2의 펩티드 및 K5→R 치환을 갖지 않는 서열 번호 2의 펩티드의 농도에 대한 콜레스테롤 유출의 의존성을 보여주고; cAMP 처리 세포를 사용하였다.
- [0402] **실시예 13**
- [0403] 이 실시예는 ABCA1 콜레스테롤 유출을 자극하는 능력에 부정적으로 영향을 미치는 일 없이 본 발명의 펩티드에서 음으로 하전된 글루탐산에 대해 음으로 하전된 아스파르트산을 치환할 수 있다는 것을 입증하는 것이다.
- [0404] 실시예 4에 기재된 바대로 J774 세포를 [<sup>3</sup>H]콜레스테롤로 표지하였다. 서열 번호 2의 펩티드의 극성 표면 상의 4번, 11번 위치에서 또는 4번, 11번 + 1번, 7번, 15번, 18번 위치에서 글루탐산(E)에 대해 아스파르트산(D)을 치환하여 실험을 수행하였다. 4번, 11번 + 1번, 7번, 15번, 18번 위치에서의 치환에 의해 모든 산성 잔기가 D인 펩티드가 생성되었고, 이것은 모든 산성 잔기가 E인 서열 번호 2와 대조되었다. 그 결과를 도 12에 도시하였다. A 패널은 서열 번호 2의 펩티드 대 E→D 치환을 갖는 서열 번호 2의 펩티드에 반응하여 배지 중에 나타난 세포 [<sup>3</sup>H] 콜레스테롤의 백분율(8 시간)을 보여준다. 30  $\mu$ g/ml 혈청 비함유 배지에서 지질 비함유 형태로 펩티드를 사용하였다. B 패널은 E→D 치환을 갖는 서열 번호 2의 펩티드의 농도에 대한 콜레스테롤 유출의 의존성을 보여주고; cAMP 처리 세포를 사용하였다.
- [0405] **실시예 14**
- [0406] 이 실시예는 아스파르트산 잔기 및 글루탐산 잔기가 펩티드에서 상호 교환될 수 있고 둘 중 어느 잔기도 다른 아미노산 치환과의 조합으로 사용될 수 있다는 것을 입증하는 것이다.
- [0407] 실시예 4에 기재된 바대로 J774 세포를 [<sup>3</sup>H]콜레스테롤로 표지하였다. 서열 번호 2의 펩티드 또는 다양한 다른 치환, 예컨대 K5→R 및 모든 류신 잔기(즉, F10, 13, 16, 20→L)를 갖는 서열 번호 2의 펩티드의 극성 표면 상의 4번, 11번 위치에서 또는 4번, 11번 + 1번, 7번, 15번, 18번 위치에서 글루탐산(E)에 대해 아스파르트산(D)을 치환하여 실험을 수행하였다. 그 결과를 도 13에 도시하였다. 30  $\mu$ g/ml 혈청 비함유 배지에서 지질 비함유 형태로 펩티드를 사용하였다. cAMP 처리 세포로부터 얻은 데이터를 나타냈다. 그 결과를 서열 번호 2의 펩티드를 사용하여 얻은 대조군 활성의 백분율(8 시간)로 나타냈다.
- [0408] **실시예 15**
- [0409] 이 실시예는 ABCA1 콜레스테롤 유출을 자극하는 펩티드의 능력에 부정적으로 영향을 미치는 일 없이 12번 위치에서 류신(L)에 대해 트립토판(W) 또는 페닐알라닌(F)을 치환할 수 있다는 것을 입증하는 것이다.
- [0410] 실시예 4에 기재된 바대로 J774 세포를 [<sup>3</sup>H]콜레스테롤로 표지하였다. 서열 번호 2의 펩티드에서 W9 및 L12의 위치를 교환(W9↔L12 스와핑)하거나, 서열 번호 2의 펩티드에서 12번 위치에서 류신(L)에 대해 페닐알라닌(F)을 치환(L12→F)하거나, 대응하는 L12→F 펩티드를 취하고 잔기 F12를 W9로 교환(즉, W9↔F12 스와핑)하여 실험을 수행하였다. 또한, 서열 번호 2의 펩티드에서의 설명된 아미노산 치환을 실시예 7에 기재되어 있는 L2→V 치환을 포함하는 서열 번호 2의 펩티드로 조작하였다. 그 결과를 도 14에 도시하였다. A 패널은 서열 번호 2의 펩티드 대 설명된 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 2의 펩티드에 반응하여 배지 중에 나타난 세포 [<sup>3</sup>H] 콜레스테롤의 백분율(8 시간)을 보여준다. B 패널은, 모든 서열 번호 2 기초 펩티드를 E4,11→D 및 K5→R 치환에 의해 억제하였다는 것을 제외하고는, A 패널에 대해 수행된 것과 유사한 실험을 보여준다. 30  $\mu$ g/ml 혈청 비함유 배지에서 지질 비함유 형태로 펩티드(A 패널 및 B 패널)를 사용하였다. cAMP 처리 세포로부터 얻은 데이터를 나타냈다. 그 결과를 서열 번호 2의 펩티드를 사용하여 얻은 대조군 활성의 백분율로 나타냈다.
- [0411] **실시예 16**
- [0412] 이 실시예는 ABCA1 콜레스테롤 유출을 자극하는 능력에 부정적으로 영향을 미치는 일 없이 모든 D-아미노산 또는 역서열을 갖는 본 발명의 펩티드를 사용할 수 있다는 것을 입증하는 것이다.
- [0413] 실시예 4에 기재된 바대로 J774 세포를 [<sup>3</sup>H]콜레스테롤로 표지하였다. 모든 D-아미노산으로 이루어지거나 1차



아미노산 서열을 역전시켜 이루어지는 서열 번호 2의 펩티드를 사용하여 실험을 수행하였다. 그 결과를 도 15에 도시하였다. 도 15는 대조군 서열 번호 2의 펩티드(L-아미노산) 대 D-아미노산 및 역서열 펩티드 모방체(L-아미노산)으로 이루어진 서열 번호 2의 펩티드에 반응하여 배지 중에 나타난 세포 [ $^3\text{H}$ ] 콜레스테롤의 백분율(8 시간)을 보여준다. 30  $\mu\text{g/ml}$  혈청 비함유 배지에서 지질 비함유 형태로 펩티드를 사용하였다.

[0414] **실시예 17**

[0415] 이 실시예는 극성 표면 상의 알라닌 치환은 ABCA1 콜레스테롤 유출을 자극하는 본 발명의 펩티드의 능력을 양호하게 증가시킨다는 것을 입증하는 것이다.

[0416] 실시예 4에 기재된 바대로 J774 세포를 [ $^3\text{H}$ ]콜레스테롤로 표지하였다. E4 및 E11의 위치를 A8과 교환( $\text{E} \leftrightarrow \text{A}$  스와핑)하거나, 4번 및 11번 위치에서 글루탐산(E)에 대해 알라닌(A)을 치환하여 실험을 수행하였다. 그 결과를 도 16에 도시하였다. A 패널은 서열 번호 2의 펩티드 대  $\text{E} \leftrightarrow \text{A}$  교환을 갖는 서열 번호 2의 펩티드에 반응하여 배지 중에 나타난 세포 [ $^3\text{H}$ ] 콜레스테롤의 백분율(8 시간)을 보여준다. 교환( $\text{E4} \leftrightarrow \text{A8}$  및  $\text{E11} \leftrightarrow \text{A8}$ ) 둘 다에 의해 서열 번호 2의 펩티드의 유출 활성이 감소하였고, 이것은 8번 위치에서의 A가 활성에 중요하다는 것을 나타낸다. B 패널은,  $\text{E} \rightarrow \text{A}$  치환을 갖는 서열 번호 2의 펩티드를 사용하였다는 제외하고는, A 패널에 대해 수행된 것과 유사한 실험을 보여준다. 30  $\mu\text{g/ml}$  혈청 비함유 배지에서 지질 비함유 형태로 펩티드(A 패널 및 B 패널)를 사용하였다. C 패널은 서열 번호 2의 펩티드 및 극성 표면 상의  $\text{E} \rightarrow \text{A}$  치환의 수가 증가하는 서열 번호 2의 펩티드의 농도에 대한 콜레스테롤 유출의 의존성을 보여준다. 알라닌 치환(B 패널 및 C 패널)은 ABCA1 콜레스테롤 유출을 효과적으로 자극하는 서열 번호 2의 펩티드의 능력을 크게 증가시켰다. 이것은 알라닌 치환을 펩티드의 비극성 표면으로 조작할 때의 빈약한 결과(유출 활성 감소)와 대조된다(도 7).

[0417] **실시예 18**

[0418] 이 실시예는 ABCA1 콜레스테롤 유출을 자극하는 능력에 부정적으로 영향을 미치는 일 없이 아르기닌 14(R14) 및 글루탐산 18(E18)에 대해 알라닌을 치환할 수 있다는 것을 입증하는 것이다.

[0419] 실시예 4에 기재된 바대로 J774 세포를 [ $^3\text{H}$ ]콜레스테롤로 표지하였다. 추정되는 염-브릿지 쌍을 나타내는 14번 및 18번 위치에서 각각 아르기닌 및 글루탐산에 대해 알라닌(A)을 치환하여 실험을 수행하였다. 보존적 L17→F 치환을 갖는 서열 번호 2의 펩티드로 치환을 조작하였다. 그 결과를 도 17에 도시하였다. A 패널은 펩티드에 반응하여 배지 중에 나타난 세포 [ $^3\text{H}$ ] 콜레스테롤의 백분율(8 시간)을 보여준다. 30  $\mu\text{g/ml}$  혈청 비함유 배지에서 지질 비함유 형태로 펩티드를 사용하였다. B 패널은 (설명된) 알라닌 치환을 갖는 서열 번호 2의 펩티드의 농도에 대한 콜레스테롤 유출의 의존성을 보여준다. 이 펩티드는 모 서열 번호 2의 펩티드와 유사한 높은 효율(즉, 3  $\mu\text{g/ml}$ 에서 최대 유출)로 콜레스테롤을 자극하였다(도 3 및 도 4).

[0420] **실시예 19**

[0421] 이 실시예는 본 발명의 펩티드, 예를 들면 서열 번호 2의 펩티드 및 본원에 기재된 서열 번호 2의 치환을 포함하는 펩티드를 인지질과 제제화하여 ABCA1 의존 및 비의존 메커니즘을 통해 높은 수치의 세포 콜레스테롤 유출을 보조하는 복합체를 생성할 수 있다는 것을 입증하는 것이다.

[0422] ELDRLEAWLDLLRELLERL (서열 번호 12)

[0423] ELREKLEAWFELFREFLERF (서열 번호 2)

[0424] (실시예 13에 기재된) 서열 번호 12에 대응되는 20합체 펩티드를 변경된 담즙산염 투석 절차를 사용하여 1-팔미토일-2-올레오일-포스파티딜콜린(POPC)과 제제화하였다. 콜레스테롤 유출을 평가하는 실험의 결과를 도 18에 도시하였다. A 패널은 비변성 구배(4~20%) 겔 전기영동에 의해 측정된 펩티드:POPC 복합체의 입자 크기를 나타내는 겔 사진을 보여준다. 1 레인은 펩티드:POPC 복합체에 해당하고, 2 레인은 지질 비함유 펩티드에 해당한다. B 패널은, [ $^3\text{H}$ ]콜레스테롤로 표지되고 cAMP 존재 하에 처리된 J774 거대세포(흑색 막대) 및 [ $^3\text{H}$ ]콜레스테롤로 표지되고 cAMP 부재 하에 처리된 J774 거대세포(흰색 막대)를 사용하여 판단할 때, 펩티드:POPC 복합체의 콜레스테롤 유출 활성을 보여준다. 비교 목적을 위해, 지질 비함유 서열 번호 12의 펩티드에 반응하는 콜레스테롤 유출을 나타냈다. 지질 비함유 펩티드 및 펩티드:POPC 복합체의 농도는 (펩티드 질량 기준으로) 50  $\mu\text{g/ml}$ 이었다. 값은 평균 $\pm$ SD, n=3이었다.



[0425] 실시예 20

[0426] 이 실시예는, 이 실시예에서의 서열 번호 12에 예시된 바대로, 본 발명의 펩티드가 고지방 서구식 식이를 급식 받은 아포지단백질 E 결핍 마우스에서 발생한 죽상동맥경화증을 감소시킨다는 것을 입증하는 것이다.

[0427] 17주령의 수컷 아포지단백질 E 결핍(아포E-/-) 마우스에 전체 26 주 동안 고지방 서구식 식이를 급식하였다. 고지방 식이에서 마지막 6 주 동안, 마우스에 식염수(대조군) 또는 POPC와 제제화된 서열 번호 12의 펩티드를 하루걸러 복강내(ip) 주사 투여하였다. 펩티드:POPC의 용량은 펩티드 질량에 기초하여 30 mg/kg BW이었다. 그 결과를 도 19에 도시하였다. A 패널은, 병변으로 덮인 대동맥의 백분율로서, 대조군 및 펩티드 처리 마우스에서 죽상동맥경화증의 정도를 보여주는 데이터를 제공한다. B 패널은 Oil Red O 염색에 의해 측정된 대동맥동 경화반의 지질 함량을 보여준다. 값은 패널 둘 다에서 군마다 평균±SEM, n=7 마우스이었다.

[0428] 실시예 21

[0429] 이 실시예는 미엘로퍼옥시다제(MPO) 유도 산화 생성물에 내성을 부여하는 아미노산 치환의 이용을 입증하는 것이다.

[0430] 서열 번호 2 및 서열 번호 12에 대응되는 펩티드를 37°C에서 18 시간 동안 아크롤레인(아크롤레인:펩티드 물 비 = 25:1)에 노출시켰다. 대조군 펩티드를 아크롤레인의 부재 하에 유사하게 항온처리하였다. 이후, 대조군 및 아크롤레인 처리 펩티드를 투석하고 콜레스테롤 유출 실험에 사용하였다. 이 실험의 결과를 도 20에 도시하였다. A 패널은 아크롤레인의 존재 및 부재 하에 항온처리된 서열 번호 2의 펩티드의 콜레스테롤 유출 활성을 보여준다. 아크롤레인은 서열 번호 2의 펩티드의 활성을 크게 감소시켰다. B 패널은 서열 번호 12의 펩티드의 콜레스테롤 유출 활성을 보여주고, 이것은 아크롤레인의 보통의 효과를 보여준다. ABCA1을 상향 조절하는 cAMP로 처리된 J774 거대세포를 패널 둘 다에서 사용하였다. 2 µg/ml 혈청 비함유 배지에서 펩티드를 사용하여 콜레스테롤 유출 분석을 수행하였다.

[0431] 실시예 22

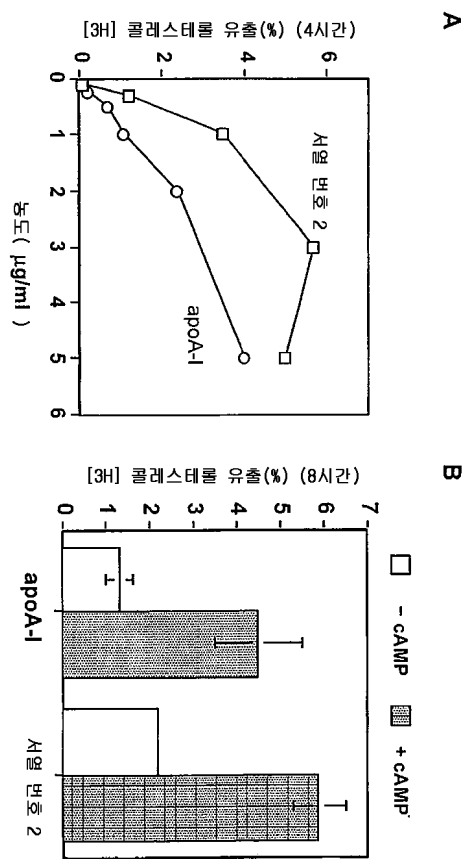
[0432] 본 발명의 펩티드는 특별한 HDL 소집단을 포함하는 매우 특이적인 메커니즘을 통해 인간 혈장에서 프리β-1 HDL 형성을 유도한다.

[0433] 서열 번호 2에 대응되는 펩티드를 30 µg/ml의 최종 농도에서 인간 혈장에 첨가하였다(즉, 펩티드:아포A-I 물 비 약 1:5). 이후, 펩티드를 갖는 혈장 및 펩티드를 갖지 않는 혈장을 37°C에서 5 분 동안 항온처리하였다. 항온처리 후, 혈장 샘플을 1차원으로 아가로스 겔 전기영동한 후, 2차원으로 본래의 구배 겔 전기영동하였다. 생성된 겔 상의 단백질을 니트로셀룰로스로 옮기고 아포A-I 항체를 사용하여 웨스턴 블롯 분석에 의해 분석하였다. 그 결과를 도 21에 도시하였다. 비히클 단독(흰색 막대), 모든 D-아미노산으로 이루어지는 서열 번호 2의 펩티드(회색 막대) 및 모든 L-아미노산으로 이루어지는 서열 번호 2의 펩티드(흑색 막대) 처리 혈장에서의 HDL 소집단의 분포를 나타냈다. 펩티드 처리에 의해 프리β-1 HDL이 우선적으로 증가하였다. α-HDL 소집단의 감소는 펩티드가 특별한 HDL 종과 특이적으로 상호작용하여 프리β-1 아포A-I 입자를 생성시킨다는 것을 나타낸다.

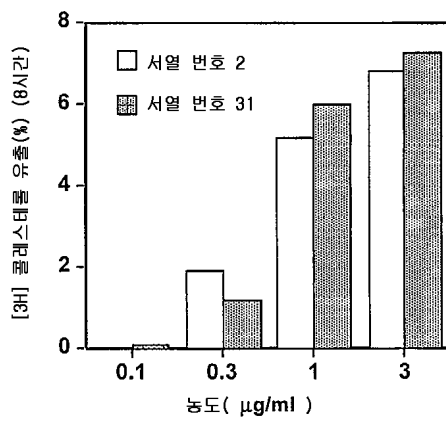
[0434] 상기 설명은 예시이며 제한이 아닌 것으로 의도되는 것으로 이해되어야 한다. 당업자라면 상기 설명을 읽을 때 많은 실시양태를 명확히 알 것이다. 따라서, 상기 설명을 참조하여 본 발명의 범위를 결정해서는 안 되고, 대신 특허청구범위를 참조하여 이 특허청구범위가 권한 부여한 등가물의 완전한 범위에 따라 본 발명의 범위를 결정해야 한다. 특허 출원 및 공보를 비롯하여 모든 논문 및 참조문헌의 개시내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조문헌으로 포함된다.



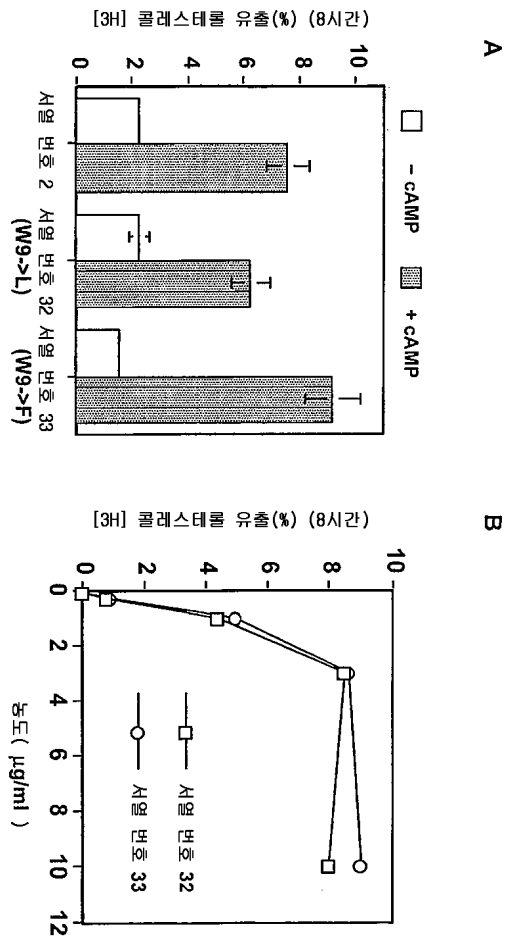
도면3



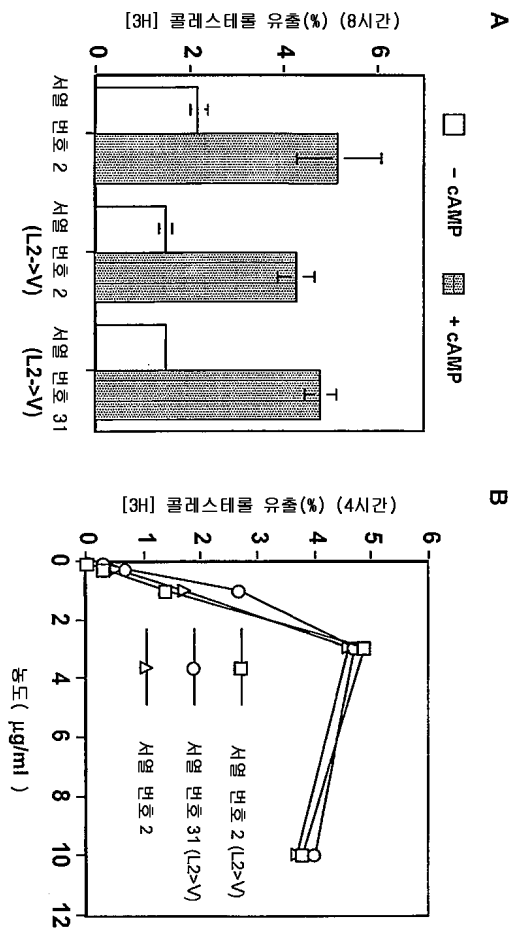
도면4



도면5

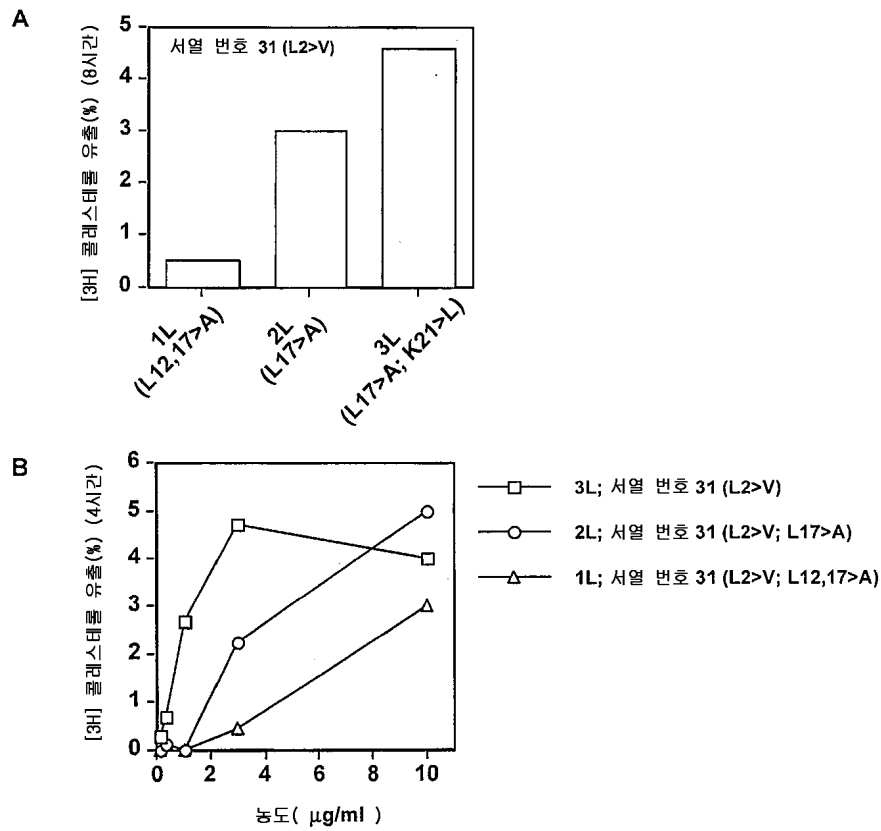


도면6

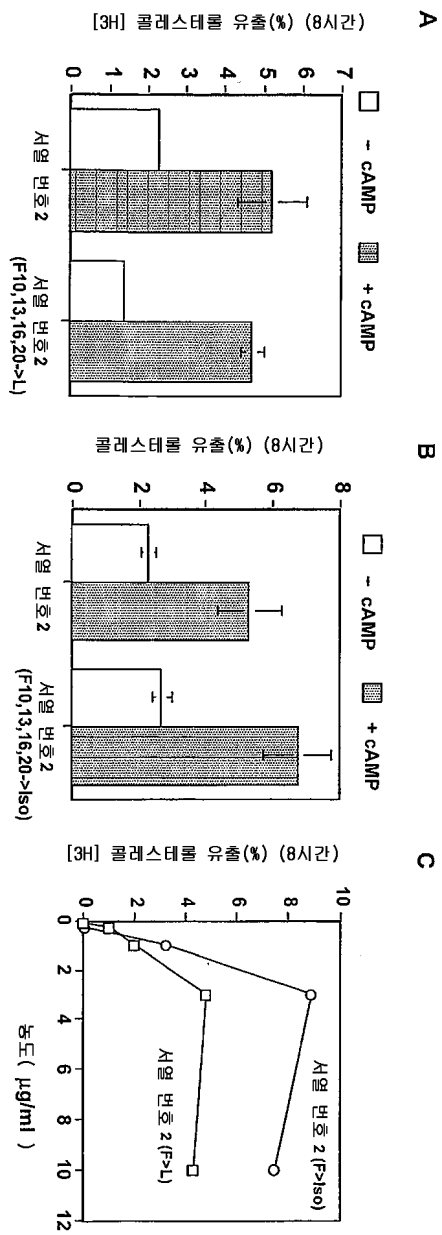




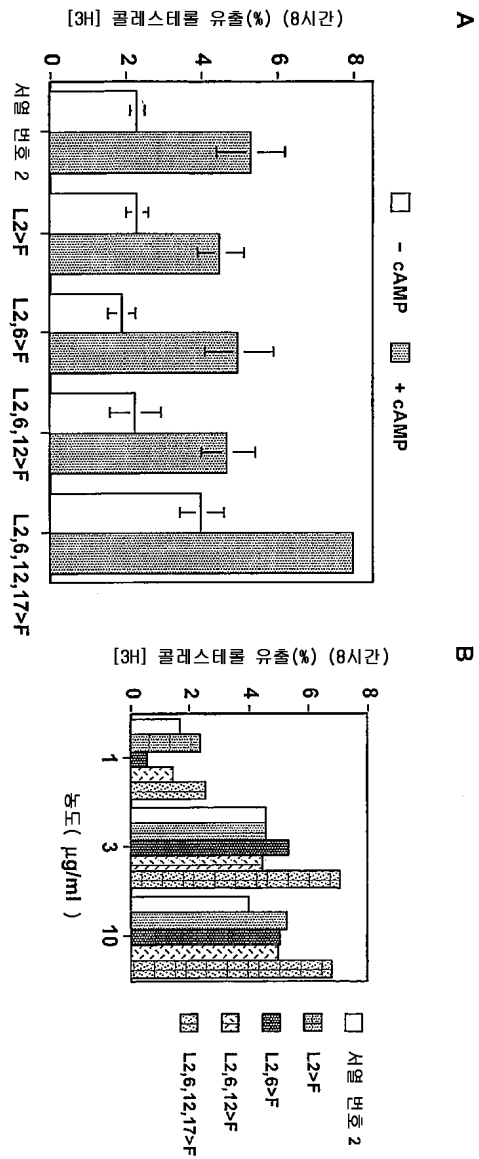
도면7



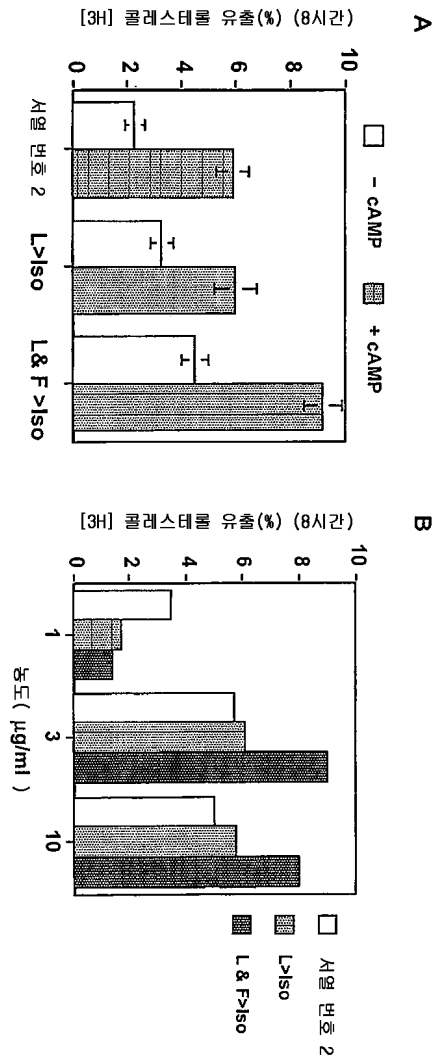
도면8



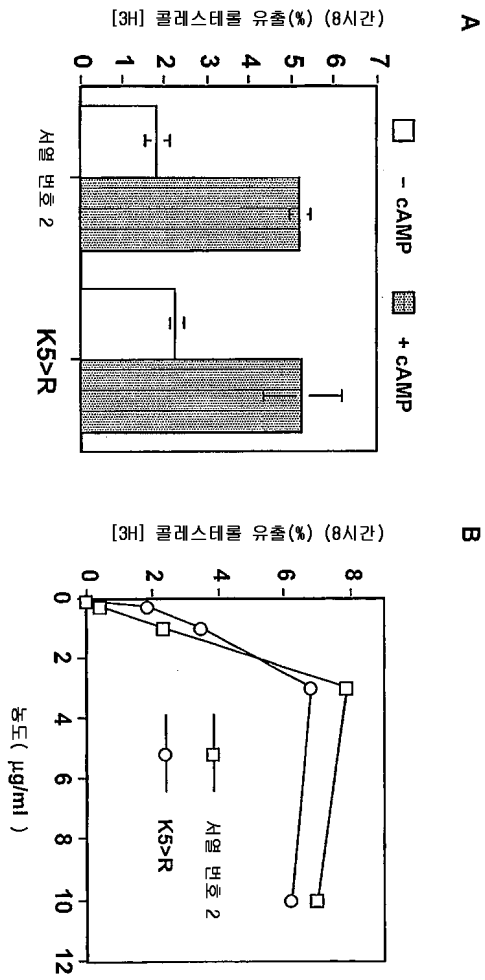
도면9



도면10

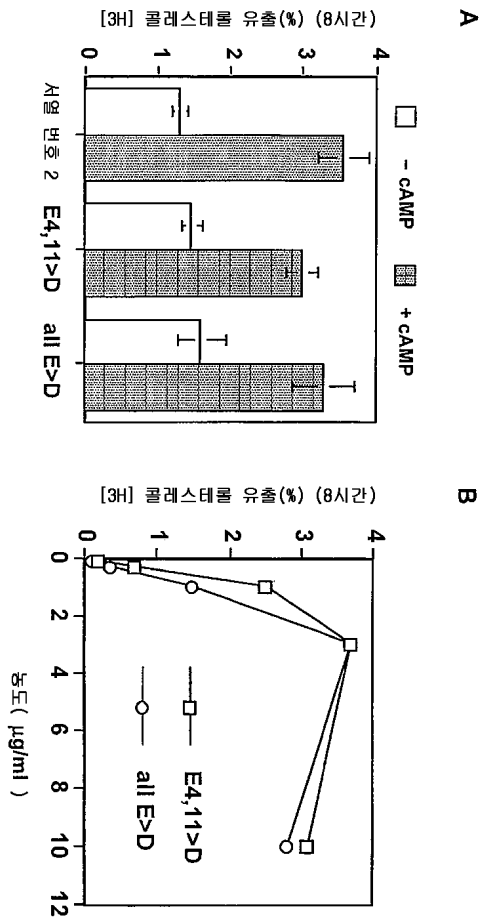


도면11

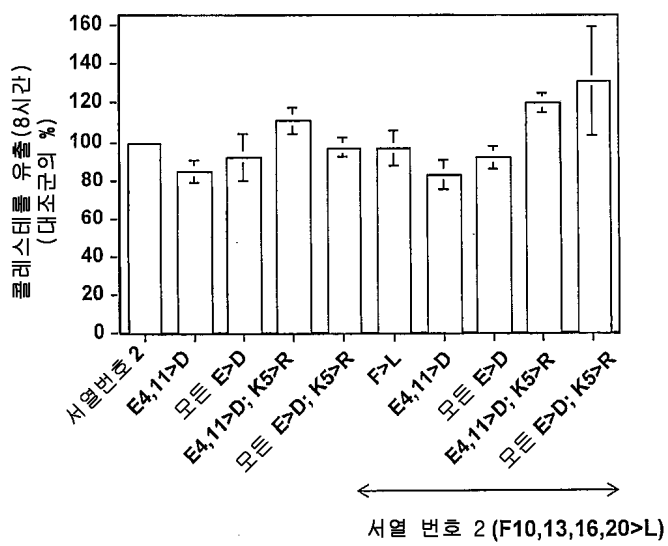




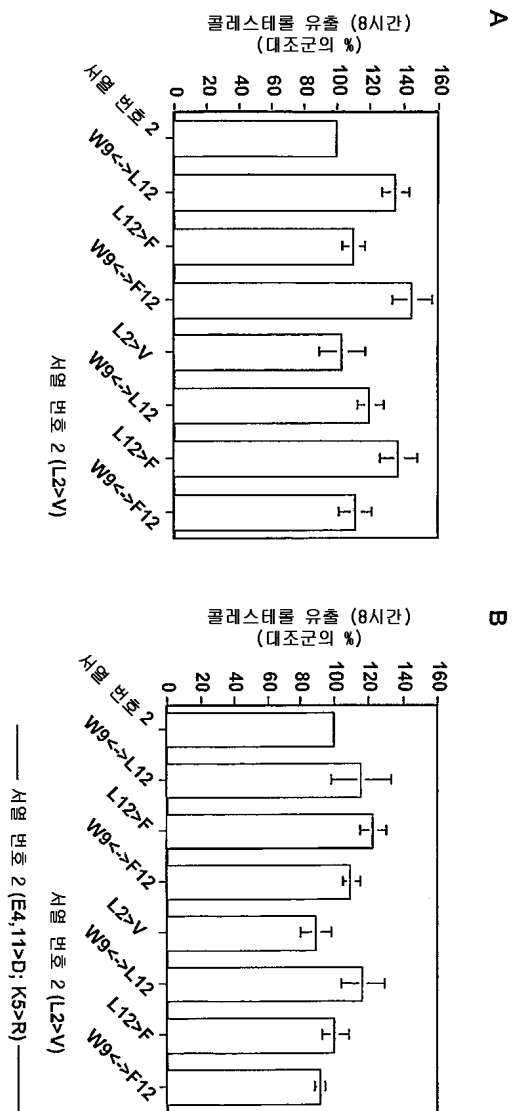
도면12



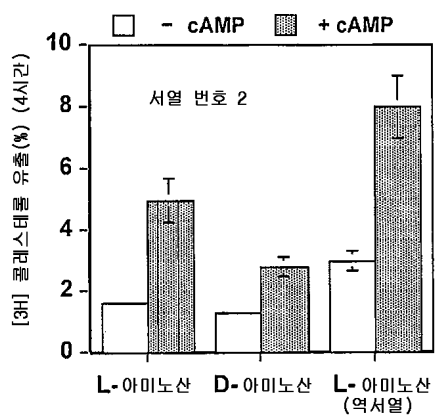
도면13



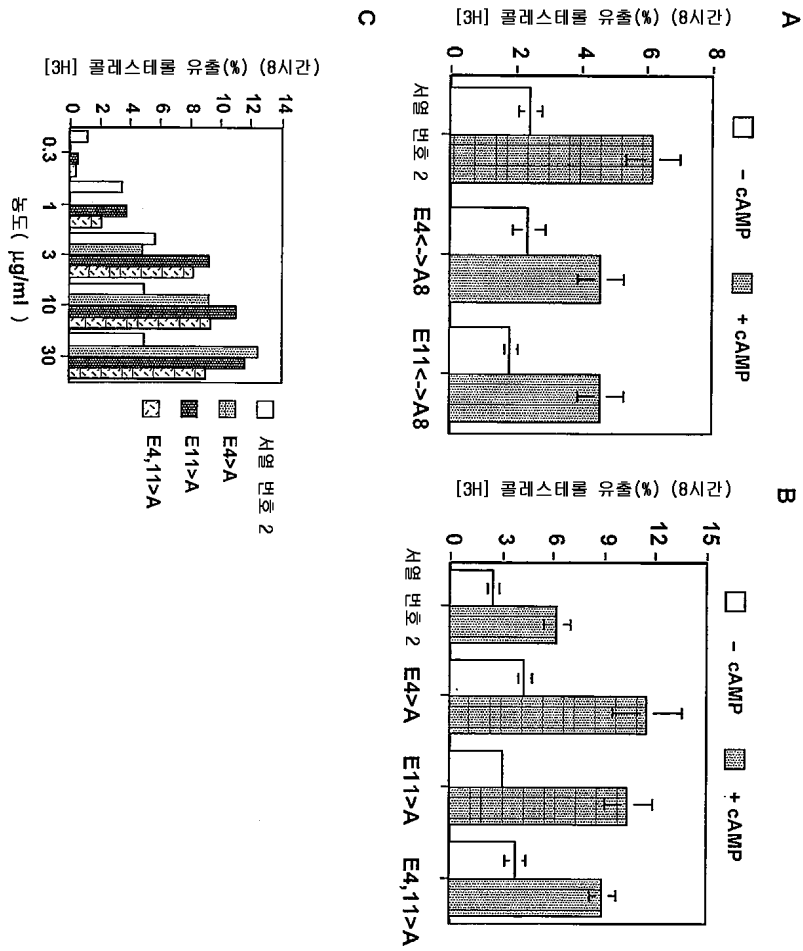
도면14



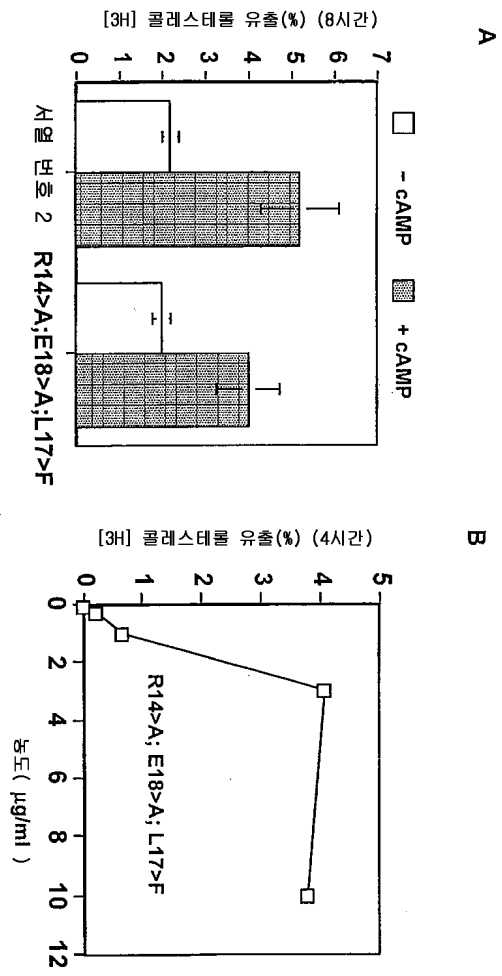
도면15



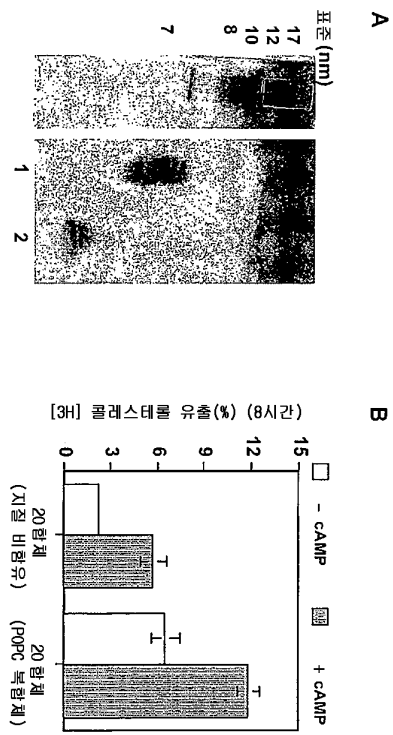
도면16



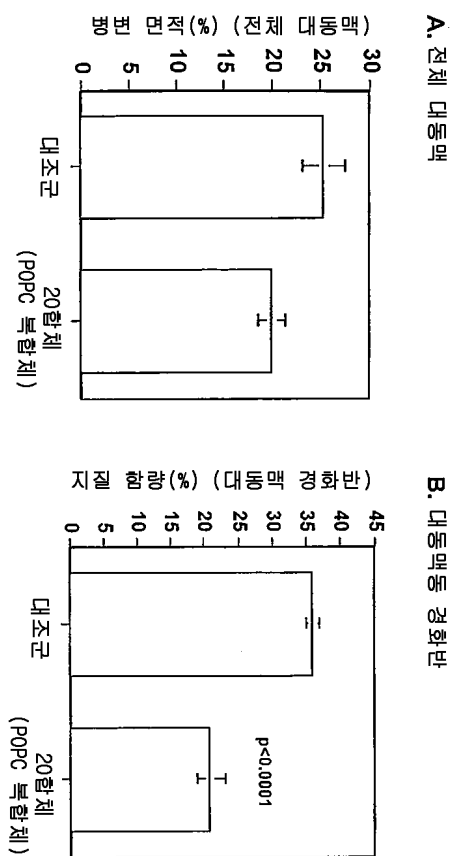
도면17



도면18

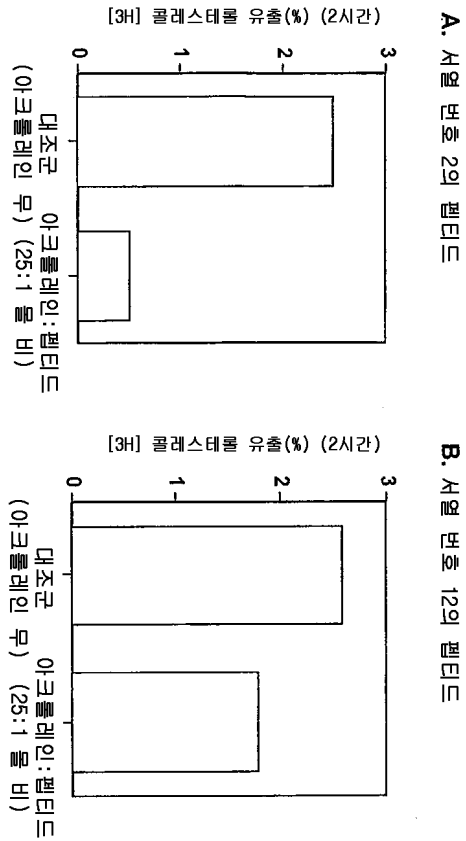


도면19

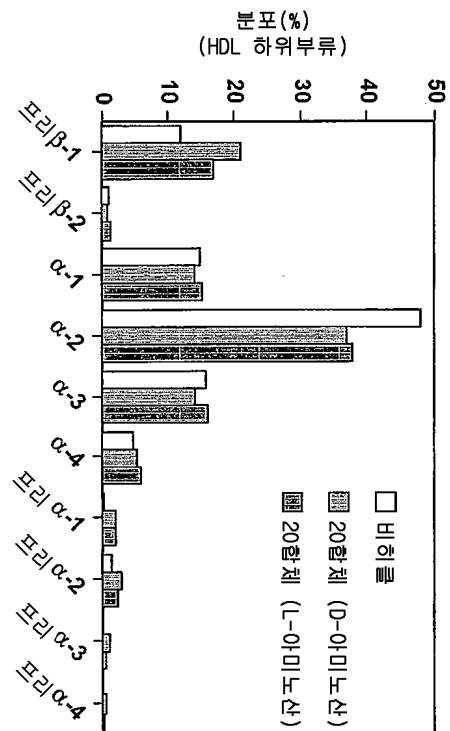




도면20



도면21



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Bielicki, John K.  
 Johansson, Jan  
 The Regents of the University of California

<120> Improved Peptide Mediators of  
 Cholesterol Efflux

<130> 014939-006610PC

<140> WO PCT/U09/47694

<141> 2009-06-17

<150> US 61/073,708

<151> 2008-06-18

<160> 62

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand

for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)  
 having cholesterol efflux activity

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = Glu or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Phe, Leu, Trp, Ile, Val or Ala

<220>

<221> VARIANT

<222> (3)...(3)

<223> Xaa = Arg, Lys or Cys

<220>

<221> VARIANT

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Glu, Asp, Ala or Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Arg, Lys or Cys

<220>

<221> VARIANT

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = Phe, Leu, Ile or Trp

<220>

<221> VARIANT

<222> (7)...(7)

<223> Xaa = Glu or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> (8)...(8)

<223> Xaa = Ala, Gly or Val

<220>

<221> VARIANT

<222> (9)...(10)

<223> Xaa = Phe, Leu, Ile or Trp

<220>

<221> VARIANT

<222> (11)...(11)

<223> Xaa = Glu, Asp, Ala or Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> (12)...(13)

<223> Xaa = Phe, Leu, Trp, Ile, Val or Ala

<220>

<221> VARIANT

<222> (14)...(14)

<223> Xaa = Arg, Ala, Glu or Cys

<220>

<221> VARIANT

<222> (15)...(15)

<223> Xaa = Glu or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> (16)...(17)

<223> Xaa = Phe, Leu, Trp, Ile, Val or Ala

<220>

<221> VARIANT

<222> (18)...(18)

<223> Xaa = Glu, Asp, Ala or Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> (19)...(19)

<223> Xaa = Arg, Lys or Cys

<220>

<221> VARIANT

<222> (20)...(20)

<223> Xaa = Phe, Leu, Trp, Ile, Val or Ala

<400> 1

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa

20

<210> 2

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand

for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)

having cholesterol efflux activity

<400> 2

Glu Leu Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Arg Glu Phe

1 5 10 15

Leu Glu Arg Phe

20

<210> 3

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphoteric alpha-helix peptide ligand

for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)

having cholesterol efflux activity

<400> 3

Glu Leu Arg Glu Arg Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Arg Glu Phe

1 5 10 15

Leu Glu Arg Phe

20

<210> 4

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphoteric alpha-helix peptide ligand

for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)

having cholesterol efflux activity

<400> 4

Glu Leu Arg Asp Lys Leu Glu Ala Trp Phe Asp Leu Phe Arg Glu Phe

1 5 10 15

Leu Glu Arg Phe

20

<210> 5

<211> 20



<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand  
for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)

having cholesterol efflux activity

<400> 5

Asp Leu Arg Asp Lys Leu Asp Ala Trp Phe Asp Leu Phe Arg Asp Phe

1 5 10 15

Leu Asp Arg Phe

20

<210> 6

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand  
for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)  
having cholesterol efflux activity

<400> 6

Glu Leu Arg Asp Arg Leu Glu Ala Trp Phe Asp Leu Phe Arg Glu Phe

1 5 10 15

Leu Glu Arg Phe

20

<210> 7

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand  
for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)  
having cholesterol efflux activity

<400> 7

Asp Leu Arg Asp Arg Leu Asp Ala Trp Phe Asp Leu Phe Arg Asp Phe  
 1 5 10 15

Leu Asp Arg Phe  
 20

<210

> 8

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand  
 for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)  
 having cholesterol efflux activity

<400> 8

Glu Leu Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Leu Glu Leu Leu Arg Glu Leu  
 1 5 10 15

Leu Glu Arg Leu  
 20

<210> 9

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand

for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)  
 having cholesterol efflux activity

<400> 9

Glu Leu Arg Glu Arg Leu Glu Ala Trp Leu Glu Leu Leu Arg Glu Leu  
 1 5 10 15

Leu Glu Arg Leu  
 20

<210> 10

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand  
for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)  
having cholesterol efflux activity

<400> 10

Glu Leu Arg Asp Lys Leu Glu Ala Trp Leu Asp Leu Leu Arg Glu Leu

1 5 10 15

Leu Glu Arg Leu

20

<210> 11

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand  
for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)  
having cholesterol efflux activity

<400> 11

Asp Leu Arg Asp Lys Leu Asp Ala Trp Leu Asp Leu Leu Arg Asp Leu

1 5 10 15

Leu Asp Arg Leu

20

<210> 12

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand  
for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)  
having cholesterol efflux activity

<400> 12

Glu Leu Arg Asp Arg Leu Glu Ala Trp Leu Asp Leu Leu Arg Glu Leu

1 5 10 15

Leu Glu Arg Leu

20

<210> 13

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand

for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)

having cholesterol efflux activity

<400> 13

Asp Leu Arg Asp Arg Leu Asp Ala Trp Leu Asp Leu Leu Arg Asp Leu

1 5 10 15

Leu Asp Arg Leu

20

<210> 14

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand

for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)

having cholesterol efflux activity

<400> 14

Glu Val Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Ala Phe Arg Glu Phe

1 5 10 15

Ala Glu Arg Phe Lys Ser

20

<210> 15

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amipathic alpha-helix peptide ligand  
for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)  
having cholesterol efflux activity

<400> 15

Glu Val Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Arg Glu Phe

1	5	10	15
Ala Glu Arg Phe Lys Ser			
20			

<210> 16

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amipathic alpha-helix peptide ligand  
for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)  
having cholesterol efflux activity

<400> 16

Glu Val Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Arg Glu Phe

1	5	10	15
Ala Glu Arg Phe Leu Ser			
20			

<210> 17

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amipathic alpha-helix peptide ligand  
for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)  
having cholesterol efflux activity

<400> 17

Glu Val Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Arg Glu Phe

1	5	10	15
---	---	----	----



Leu Glu Arg Phe Lys Ser

20

<210> 18

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand  
for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)  
having cholesterol efflux activity

<400> 18

Glu Val Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Arg Glu Phe

1 5 10 15

Leu Glu Arg Phe Leu Ser

20

<210> 19

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand  
for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)

having cholesterol efflux activity

<400> 19

Glu Val Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Arg Glu Phe

1 5 10 15

Leu Glu Arg Phe Leu

20

<210> 20

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand  
for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)  
having cholesterol efflux activity

<400> 20

Glu Val Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Arg Glu Phe

1	5	10	15
Leu Glu Arg Phe			
20			

<210> 21

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand  
for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)  
having cholesterol efflux activity

<400> 21

Glu Ile Arg Glu Lys Ile Glu Ala Trp Ile Glu Ile Ile Arg Glu Ile

1	5	10	15
Ile Glu Arg Ile			
20			

<

210> 22

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand  
for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)  
having cholesterol efflux activity

<400> 22

Glu Leu Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Glu Glu Phe

1	5	10	15
Phe Ala Arg Phe Lys Ser			

20

<210> 23

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand

for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)

having cholesterol efflux activity

<400> 23

Glu Leu Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Ala Glu Phe

1 5 10 15

Phe Ala Arg Phe Lys Ser

20

<210> 24

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand

for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)

having cholesterol efflux activity

<400> 24

Glu Leu Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Ala Glu Phe

1 5 10 15

Phe Ala Arg Phe Lys

20

<210> 25

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand

for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)  
 having cholesterol efflux activity  
 <400> 25  
 Glu Leu Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Ala Glu Phe  
 1 5 10 15

Phe Ala Arg Phe  
 20

<210> 26

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand  
 for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)  
 having cholesterol efflux activity

<400> 26

Glu Leu Arg Ala Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Ala Phe Ala Glu Phe  
 1 5 10 15  
 Phe Ala Arg Phe  
 20

<210> 27

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand  
 for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)  
 having cholesterol efflux activity

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = Glu or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Leu, Ile or Val

<220>

<221> VARIANT

<222> (3)...(3)

<223> Xaa = Lys or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Asp, Glu or Ala

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Lys or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = Phe, Leu, Ile or Trp

<220>

<221> VARIANT

<222> (7)...(7)

<223> Xaa = Glu or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> (9)...(9)

<223> Xaa = Trp, Phe or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> (10)...(10)

<223> Xaa = Phe, Leu, Ile or Trp

<220>

<221> VARIANT

<222> (11)...(11)

<223> Xaa = Asp, Glu or Ala

<220>

<221> VARIANT

<222> (12)...(13)

<223> Xaa = Phe, Leu, Ile or Trp

<220>

<221> VARIANT

<222> (14)...(14)

<223> Xaa = Arg, Glu or Ala

<220>

<221> VARIANT

<222> (15)...(15)

<223> Xaa = Glu or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> (16)...(17)

<223> Xaa = Phe, Leu, Ile or Trp

<220>

<221> VARIANT

<222> (18)...(18)

<223> Xaa = Glu or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> (19)...(19)

<223> Xaa = Lys or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> (20)...(20)

<223> Xaa = Phe, Leu, Ile or Trp

<400> 27

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1

5

10

15

Xaa Xaa Xaa Xaa



20

<210> 28

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand  
for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)  
having cholesterol efflux activity

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = Asp or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Lys or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> (7)...(7)

<223> Xaa = Asp or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> (9)...(9)

<223> Xaa = Trp, Leu or Phe

<220>

<221> VARIANT

<222> (10)...(10)

<223> Xaa = Phe or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> (12)...(13)

<223> Xaa = Phe or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> (15)...(15)

<223> Xaa = Asp or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> (16)...(17)

<223> Xaa = Phe or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> (18)...(18)

<223> Xaa = Asp or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> (20)...(20)

<223> Xaa = Phe or Leu

<400> 28

Xaa Leu Arg Ala Xaa Leu Xaa Ala Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Arg Xaa Xaa

1 5 10 15

Xaa Xaa Arg Xaa

20

<210> 29

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand

for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)

having cholesterol efflux activity

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = Asp or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Asp or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Lys or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> (7)...(7)

<223> Xaa = Asp or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> (9)...(9)

<223> Xaa = Phe, Leu or Trp

<220>

<221> VARIANT

<222> (10)...(10)

<223> Xaa = Phe or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> (11)...(11)

<223> Xaa = Asp or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> (12)...(13)

<223> Xaa = Phe or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> (15)...(15)

<223> Xaa = Asp or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> (16)...(17)

<223> Xaa = Phe or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> (18)...(18)

<223> Xaa = Asp or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> (20)...(20)

<223> Xaa = Phe or Leu

<400> 29

Xaa Leu Arg Xaa Xaa Leu Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Xaa Xaa

1 5 10 15

Xaa Xaa Arg Xaa

20

<210> 30

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand  
for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)  
having cholesterol efflux activity

<220>

<221> VARIANT

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Asp or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Lys or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> (9)...(9)

<223> Xaa = Trp, Phe or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> (10)...(10)

<223> Xaa = Phe or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> (11)...(11)

<223> Xaa = Asp or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> (13)...(13)

<223> Xaa = Phe or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> (16)...(16)

<223> Xaa = Phe or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> (20)...(20)

<223> Xaa = Phe or Leu

<400> 30

Glu Leu Arg Xaa Xaa Leu Glu Ala Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Arg Glu Xaa

1 5 10 15

Leu Glu Arg Xaa

20

<210> 31

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand

for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)

having cholesterol efflux activity

<400> 31

Glu Leu Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Arg Glu Phe

1 5 10 15

Leu Glu Arg Phe Lys Ser

20

<210> 32

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand

for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)

having cholesterol efflux activity

<400> 32

Glu Leu Arg Glu Lys Leu Glu Ala Leu Phe Glu Leu Phe Arg Glu Phe

1 5 10 15

Leu Glu Arg Phe

20

<210> 33

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide ligand

for ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)

having cholesterol efflux activity

<400> 33

Glu Leu Arg Glu Lys Leu Glu Ala Phe Phe Glu Leu Phe Arg Glu Phe

1 5 10 15

Leu Glu Arg Phe

20

<210> 34

<211> 22



<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N257-11

ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 34

Glu Leu Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Arg Glu Ala Phe Glu Glu Phe

1 5 10 15

Phe Ala Arg Phe Lys Ser

20

<210> 35

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N356-1

ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 35

Glu Leu Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Ala Phe Glu Glu Phe

1 5 10 15

Phe Ala Arg Phe Lys Ser

20

<210> 36

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N356-2

ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 36

Glu Leu Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Arg Glu Leu Phe Glu Glu Phe  
1 5 10 15

Phe Ala Arg Phe Lys Ser  
20

<210> 37

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N356-3  
ligand for ATP-binding cassette transporter A1  
(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 37

Glu Leu Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Glu Glu Phe  
1 5 10 15

Phe Ala Arg Phe Lys Ser  
20

<210> 38

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N356-4  
ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 38

Glu Leu Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Ala Glu Phe  
1 5 10 15

Phe Ala Arg Phe Lys Ser  
20

<210> 39

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N356-5

ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 39

Glu Leu Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Ala Glu Phe

1 5 10 15

Phe Ala Arg Phe Lys

20

<210> 40

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N356-6

ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 40

Glu Leu Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Ala Glu Phe

1 5 10 15

Phe Ala Arg Phe

20

<210> 41

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N356-7

ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 41

Glu Leu Arg Ala Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Ala Phe Ala Glu Phe

1 5 10 15

Phe Ala Arg Phe

20

<210> 42

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N965-1

ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 42

Glu Val Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Ala Phe Arg Glu Phe

1 5 10 15

Ala Glu Arg Phe Lys Ser

20

<210> 43

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N965-2

ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 43

Glu Val Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Arg Glu Phe

1 5 10 15

Ala Glu Arg Phe Lys Ser

20

<210> 44

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphoteric alpha-helix peptide N965-3

ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 44

Glu Val Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Arg Glu Phe

1 5 10 15

Ala Glu Arg Phe Leu Ser

20

<210> 45

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphoteric alpha-helix peptide N965-4

ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 45

Glu Val Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Arg Glu Phe

1 5 10 15

Leu Glu Arg Phe Lys Ser

20

<210> 46

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphoteric alpha-helix peptide N965-5

ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 46

Glu Val Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Arg Glu Phe

1 5 10 15

Leu Glu Arg Phe Leu Ser

20

<210> 47

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N965-6

ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 47

Glu Val Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Arg Glu Phe

1 5 10 15

Leu Glu Arg Phe Leu

20

<210> 48

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N965-7

ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 48

Glu Val Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Arg Glu Phe

1 5 10 15

Leu Glu Arg Phe

20

<210> 49

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>



<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N965-8

ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 49

Glu Leu Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Arg Glu Phe

1 5 10 15

Leu Glu Arg Phe

20

<210> 50

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N965-9

ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 50

Glu Leu Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Arg Glu Leu Phe Glu Glu Phe

1 5 10 15

Phe Ala Arg Phe Leu Ser

20

<210> 51

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N1154-1

ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 51

Glu Leu Arg Glu Arg Leu Glu Ala Trp Phe Glu Leu Phe Arg Glu Phe

1 5 10 15

Leu Glu Arg Phe

20

<210> 52

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N1154-2

ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 52

Glu Leu Arg Asp Lys Leu Glu Ala Trp Phe Asp Leu Phe Arg Glu Phe

1 5 10 15

Leu Glu Arg Phe

20

<210> 53

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N1154-3

ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 53

Asp Leu Arg Asp Lys Leu Asp Ala Trp Phe Asp Leu Phe Arg Asp Phe

1 5 10 15

Leu Asp Arg Phe

20

<210> 54

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N1154-4

ligand for ATP-binding cassette transporter A1  
(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 54

Glu Leu Arg Asp Arg Leu Glu Ala Trp Phe Asp Leu Phe Arg Glu Phe

1 5 10 15

Leu Glu Arg Phe

20

<210> 55

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N1154-5

ligand for ATP-binding cassette transporter A1  
(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 55

Asp Leu Arg Asp Arg Leu Asp Ala Trp Phe Asp Leu Phe Arg Asp Phe

1 5 10 15

Leu Asp Arg Phe

20

<210> 56

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N1154-6

ligand for ATP-binding cassette transporter A1  
(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 56

Glu Leu Arg Glu Lys Leu Glu Ala Trp Leu Glu Leu Leu Arg Glu Leu

1 5 10 15

Leu Glu Arg Leu

20

<210> 57

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N1154-7

ligand for ATP-binding cassette transporter A1  
(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 57

Glu Leu Arg Glu Arg Leu Glu Ala Trp Leu Glu Leu Leu Arg Glu Leu

1 5 10 15

Leu Glu Arg Leu

20

<210> 58

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N1154-8

ligand for ATP-binding cassette transporter A1  
(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 58

Glu Leu Arg Asp Lys Leu Glu Ala Trp Leu Asp Leu Leu Arg Glu Leu

1 5 10 15

Leu Glu Arg Leu

20

<210> 59

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N1154-9

ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 59

Asp Leu Arg Asp Lys Leu Asp Ala Trp Leu Asp Leu Leu Arg Asp Leu

1 5 10 15

Leu Asp Arg Leu

20

<210> 60

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N1154-10

ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 60

Glu Leu Arg Asp Arg Leu Glu Ala Trp Leu Asp Leu Leu Arg Glu Leu

1 5 10 15

Leu Glu Arg Leu

20

<210> 61

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic amphipathic alpha-helix peptide N1154-11

ligand for ATP-binding cassette transporter A1

(ABCA1) having cholesterol efflux activity

<400> 61

Asp Leu Arg Asp Arg Leu Asp Ala Trp Leu Asp Leu Leu Arg Asp Leu

1 5 10 15

Leu Asp Arg Leu

20

<210> 62

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic Factor Xa cleavage site

<400> 62

Met His Ile Glu Gly Arg

1

5