(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 101489577 B
(45)授权公告日 2013.10.16

(21)申请号 200780026891.6
(22)申请日 2007.05.23
(30)优先权数据
60/809,850 2006.06.01 US
(85)PCT申请进入国家阶段日
2009.01.15
(86)PCT申请的申请数据
PCT/CA2007/000895 2007.05.23
(87)PCT申请的公布数据
WO2007/137400 EN 2007.12.06
(73)专利权人 蒙特利尔心脏病学研究所
地址 加拿大魁北克
(72)发明人 吉恩－克劳德·塔迪芙
(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262
代理人 杨淑媛 郑霞
(51)Int.Cl.
A61K 38/17(2006.01)
A61K 31/661(2006.01)
A61K 31/688(2006.01)
A61P 9/10(2006.01)

(56)对比文件
CN 1280501 A,2001.01.17, 说明书第1,3,13,67、权利要求29,33,.
CN 1596121 A,2005.03.16, 权利要求1,5,7、说明书第9－10页.
CN 1280501 A,2001.01.17, 说明书第1,3,13,67、权利要求29,33,.
Marie-Claude Drolet.Experimental Aortic Valve Stenosis in Rabbits.《Journal of the American College of Cardiology》.2003, 第41卷(第7期),1211－1217.

审查员 毛颖

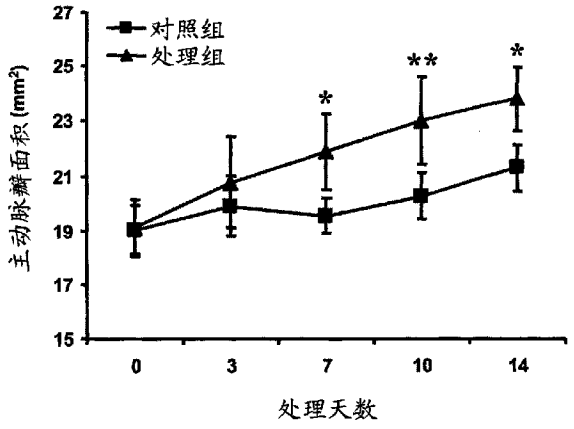
权利要求书1页 说明书14页
序列表1页 附图3页

(54)发明名称

治疗心瓣膜病的方法和化合物

(57)摘要

一种治疗瓣膜狭窄的方法。所述方法包括向哺乳动物施用治疗有效量的脂质(特别是胆固醇)逆向传送激动剂。最优选一种载脂蛋白A-1模拟肽/磷脂复合体,其肽由SEQ ID NO1的氨基酸序列定义。



CN 101489577 B

1. 一种脂质逆向传送激动剂在制备用于预防、治疗或逆转有相应需要的受治疗者的主动脉瓣狭窄的药物中的用途，其中所述脂质逆向传送激动剂是载脂蛋白 A-1 模拟肽 / 磷脂复合体，且其中所述载脂蛋白 A-1 模拟肽的序列是 SEQ ID NO:1。

2. 根据权利要求 1 所述的用途，其中所述载脂蛋白 A-1 模拟肽与卵鞘磷脂和 1,2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱复合。

3. 根据权利要求 2 所述的用途，其中所述载脂蛋白 A-1 模拟肽、所述卵鞘磷脂和所述 1,2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱以 1:1:1 的重量比存在。

4. 根据权利要求 1 所述的用途，其中所述药物被制成用于肠胃外施用。

5. 根据权利要求 1 或 4 所述的用途，其中，当被施用时，所述药物被制成以从 1mg 到 .5g 每千克所述受治疗者体重的载脂蛋白 A-1 模拟肽 / 磷脂复合体剂量注射。

6. 根据权利要求 1 或 4 所述的用途，其中，当被施用时，所述药物被制成以 25mg 每千克所述受治疗者体重的载脂蛋白 A-1 模拟肽 / 磷脂复合体剂量注射。

治疗心瓣膜病的方法和化合物

[0001] 本申请要求于2006年6月1日提交的美国临时专利申请序列号60/809,850的优先权,其全部内容通过引用并入本文。

发明领域

[0002] 本发明涉及医学方法和化合物的普遍领域,且特别涉及治疗心瓣膜病的方法和化合物。

[0003] 发明背景

[0004] 心脏的功能是提供心血管系统中血液循环所需要的能量。在各器官的血液流动是被动的,且只有通过心脏的泵作用(pumping action)保持动脉压高于静脉压时发生。右心脏泵提供血液在肺血管中流动所需的能量,左心脏泵提供引起在系统脏器(systemic organs)中流动的能量。

[0005] 静脉血经由上下腔静脉(superior and inferior venae cavae)从系统脏器回到右心房。血液穿过三尖瓣进入右心室,再泵过肺动脉瓣经肺动脉进入肺循环。含氧的肺静脉血在肺静脉中流至左心房,再经过二尖瓣进入左心室。从此处,血液泵过主动脉瓣进入主动脉并分配到系统脏器。

[0006] 因此,在正常的运转下,富含氧气的血液由心脏的左心室通过主动脉泵入身体的脉管系统的动脉中。当心脏泵动时,位于左心室和主动脉之间的主动脉瓣张开和闭合以控制血液流动方向。更加具体地,在心搏或收缩期间,主动脉瓣张开允许血液从左心室流入主动脉。而在心搏之间或舒张期间,主动脉瓣关闭形成密封,防止血液渗漏回心室。

[0007] 所述瓣的结构设计只允许一个方向的流动,且依据穿过他们的压力方 向的不同被动地张开和关闭。通常,主动脉瓣是由三个纤维性瓣叶或尖(leaflets or cusps)组成。在血液心室射血期间,所述瓣叶逆主动脉壁强制张开,而在舒张期期间落回,他们的自由边缘接合以防止血液回到心脏。

[0008] 每个主动脉瓣尖后的主动脉壁向外凸起,形成三个称为主动脉窦(sinuses of Valsalva)的结构。两个最前面的瓣膜主动脉尖由于来自各自主动脉窦的左和右的冠状动脉的起源而被称为左和右冠状尖,且剩余的后面的瓣膜尖被称为非冠状尖。

[0009] 因为许多原因中的任何一个,主动脉瓣以某种方式损坏和变狭窄是可以发生的。当这发生时,所述主动脉瓣不能够张开到它的正常程度,而且阻碍了从心脏进入主动脉的血液流动。这导致了通常被称作主动脉瓣狭窄的心脏病症。

[0010] 主动脉瓣狭窄的一般病因学包括先天畸形、风湿热、老龄患者中的钙化变性(degeneration with calcification)。二尖瓣是最普通的先天畸形,而且通常在主动脉尖中的一个上有缝隙,其表明连合的发育是失败的。很少见地,出生时可以为单瓣或四尖瓣(unicuspid or quadricuspid valve)。尽管二尖瓣最初并非是狭窄的,但是纤维化和加厚(thickening)最终导致钙化且缩小的孔尺寸。的确,机械剪切应力(mechanical sheer stress)通常会导致钙化损伤(calcific injury)。

[0011] 风湿热损伤所述瓣叶的边缘,且最终连合融合和钙化。发现超过50%的有主动脉

瓣狭窄的成人有二尖瓣，但是纤维化和钙化可以使辨别是二尖瓣还是三尖瓣变得困难。

[0012] 在有变性主动脉瓣狭窄的老龄患者中，钙沉积物通常发生在窦和环上，而瓣叶边缘通常没有钙化。

[0013] 目前，提出了许多关于主动脉瓣狭窄的细胞病理生理学理论。这些理论包括心血管风险因子激发对损伤的应答、机械剪切应力、自身免疫现象引起的变性、慢性增加的心搏量以及改变的钙代谢（例如在肾衰竭、Paget 病等中发生的）。

[0014] 不论其病因学为何，主动脉瓣狭窄导致了左心室收缩压的升高。心室 腔内收缩性高血压被心壁 (myocardial wall) 的向心型肥大补偿，允许壁应力保持正常。低顺应性的、增厚的左心室变得更加依赖于心房对舒张期充盈的贡献，以致当心房收缩消失时（例如在心房纤维性颤动或房室分离期间），左心室的工作情况恶化。在舒张期期间，增厚左心室异常的舒张和增加的硬度也导致舒张功能障碍以及左心室和左心房舒张压的升高。

[0015] 心肌衰竭最终由慢性严重性心瓣堵塞以及收缩状态的减少 (depressionof contractile state) 发展而来。左心室扩张也可以发生在一些患者。心肌氧耗量因左心室收缩压的升高以及左心室质量的增加而保持在高水平。此外，增加的左心室舒张压减少了心肌灌注所需要的压力梯度。因此，严重的主动脉瓣狭窄产生了其中减少的氧气供应不足以满足高心肌需氧量的疾患 (condition)，其导致心内膜下缺血。

[0016] 最终，在心肌变力状态减少下，射血分数降至正常范围以下（有或没有相关的左心室扩张）。左心室舒张末期压的进一步升高（继发于伴随或未伴随收缩功能障碍的舒张功能障碍）导致了肺静脉高血压。在有灌注缺损 (underperfused) 的心内膜下心肌的主动脉瓣狭窄中，增加的心肌需氧量可以引起心绞痛、心律不齐以及甚至是猝死。

[0017] 在严重的主动脉瓣狭窄的情况中，任何主要症状的发展表示重大的生命危险也表示需要进行手术治疗。症状出现后平均生命期望值为 2-3 年，如果症状与心脏衰竭相关，期望值会更少。由于症状（而且有可能是猝死）通常伴随着强体力活动，因此主动脉瓣狭窄的患者应该避免强体力活动和竞技性运动，即使它只有轻微至中等的严重性。因此，主动脉瓣狭窄不但与高死亡率相关，而且与高发病率相关。

[0018] 钙化主动脉瓣狭窄可以解释大部分主动脉瓣狭窄的病例。所述疾患以在主动脉瓣叶的上面或上表面建立钙化小结为特征。这些小结降低了瓣叶的屈曲性，因此限制了他们移动以及完全张开的能力。

[0019] 三种技术被用于治疗主动脉瓣狭窄，即瓣膜置换术、术中的脱钙或清创术，或者心脏瓣和球囊瓣膜成形术 (balloon valvuloplasty)。

[0020] 在开胸手术中的瓣膜置换术是目前对于症状性主动脉瓣狭窄的标准 治疗。对于单独的主动脉瓣膜置换，十年存活率是相当不错的，甚至是对老年患者。然而，这种技术要求患者足够健康以经受胸骨切开术（开胸）和开胸手术。这一过程的手术死亡率（特别是老年人）是相当高的。

[0021] 有两种类型的修复心脏瓣，即仅由非来自生物有机体的材料组成的机械瓣和全部或部分由生物材料组成的生物修复瓣 (bio-prosthetic valves)。目前使用的机械瓣具有球笼结构、倾斜的盘结构 (1 或 2 盘）或者是有铰链的瓣叶结构。

[0022] 生物修复瓣通常包括一个支撑支架和多个瓣叶。所述瓣叶通常由生物材料组成，而支架当存在时通常包括至少部分非生物材料。瓣叶的生物材料可以为自体组织，例如心

包、阔筋膜或者心瓣膜。可选择地，所述材料可以来源于同源组织（例如用于人移植的非自体人组织）或可以是异源的。

[0023] 各种类型的修复心脏瓣均有优点和缺点。机械心脏瓣使用持久，且因此更有可能产生持久功能，但是由于血栓栓塞的危险，需要长期小心抗凝。然而，长期抗凝治疗会引起大出血的危险，其发生率同血栓事件的残留危险 (residual risk) 的发生率相似。

[0024] 生物修复瓣起始地接近自然瓣的血液动力学性质。它们出现继发于血栓的并发症的风险比机械瓣小。然而，这种瓣发生钙化的风险显著高于机械瓣。因为功能退化 (functionally compromised) 的生物修复心脏瓣的处理经常需要置换新的瓣（且因此二次开胸手术），所以生物修复心脏瓣的有效生命期望的限制对患者和医疗系统的经济损耗都是严重的医学问题。

[0025] 此外，所有修复心脏瓣都有稍微狭窄。继发于血栓形成或钙化的修复功能障碍可以导致增加堵塞或引起反流。反流也可以由瓣周漏 (perivalvularleak) 引起，这个漏位于所述瓣的缝合环区域。与瓣功能障碍相关的波动可以引起溶血和贫血。甚至是正常功能的修复瓣也会在一些患者中引起溶血。

[0026] 在使用修复心脏瓣的患者中，心内膜炎是另一个潜在且主要的并发症。在牙、胃肠和泌尿生殖外科手术以及菌血症相关的其他操作法之前必须施用抗生素预防。

[0027] 此外，一些患者的主动脉尺寸不是足够的大以轻易容纳传统的置换瓣。因此对于相当数量的患者，瓣膜置换是不可能的、不切实际的或者不受欢迎的。

[0028] 主动脉瓣的术中机械脱钙或清创术在机械置换瓣出现之前已经应用多年。在这一技术中，手术中进入主动脉，但与人工置换瓣不同的是，外科医生使用合适的外科工具清除钙化沉积物。最近，已经证实超声清创术有效地清除钙化沉积物。然而，这一技术同样需要患者足够健康以从胸腔手术中生存和恢复，以及包括这种手术伴随而来的所有的花费和风险。

[0029] 用于治疗主动脉瓣狭窄的第三种技术包括经皮球囊主动脉瓣成形术。在这一过程中，一个可膨胀气球导管被送进主动脉瓣，通过膨胀挤压和粉碎钙化小结以尝试提高瓣叶的活动性。尽管这一过程避免了前面两种技术所具有的许多的风险和缺点，但是一年内再狭窄是非常普通的，这也限制了所述技术针对那些不适合做手术或拒绝做手术的患者的临时缓解症状的应用。

[0030] 因此，需要一种针对主动脉瓣狭窄和其他心瓣膜病的非手术疗法。

[0031] 发明概述

[0032] 本发明显著不同于现有技术和当前趋势的是：通过提供一种使用脂质逆向传送激动剂 (reverse lipid transport agonist) 的方法不但可以预防主动脉瓣狭窄的发展，而且减轻狭窄程度。

[0033] 因此，本发明的目的是提供一种心瓣膜病的新颖非手术疗法。

[0034] 在广泛方面，本发明提供了一种预防或治疗受治疗者瓣膜狭窄的方法，所述方法包括向需要其的受治疗者施用治疗有效量的脂质逆向传送激动剂。例如，所述脂质传送激动剂是胆固醇逆向传送激动剂。

[0035] 在本发明的一些实施方案中，所述瓣膜狭窄是主动脉瓣狭窄、钙化瓣狭窄或任何其他的瓣膜狭窄。

[0036] 在本发明的一些实施方案中，所述脂质逆向传送激动剂是选自由 HDL、具有 HDL- 样生理学功效的肽、复合脂质的具有 HDL- 样生理学功效的肽、HDL- 模拟剂、CETP 调质 (modulator)、SRB1 调质、LXR/RXR 激动剂、ABCA1 激动剂、PPAR 激动剂和载脂蛋白 A-I(ApoA-1) 模拟肽 / 磷脂复合体组成的组。

[0037] 在这后面的实例中，施用所述 ApoA-1 模拟肽 / 磷脂复合体可以包括对受治疗者注射 ApoA-1 模拟肽 / 磷脂复合体。在这一实例中，剂量的例子是从约 1μg 到约 10g 每千克受治疗者体重，约 1mg 到约 .5g 每千克受治疗者体重，和约 25mg 每千克受治疗者体重。

[0038] 例如，ApoA-1 模拟肽具有如下所述的 SEQ ID NO :1 序列，ApoA-1 模拟肽可以同卵鞘磷脂以及 1,2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷脂酰胆碱 (1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphatidylcholine)(DPPC) 复合。

[0039] 在某些实施方案中，所述受治疗者为哺乳动物，例如人。

[0040] 在另一广泛方面，本发明提供了一种预防或治疗受治疗者瓣膜钙化的方法，所述方法包括向需要其的受治疗者施用治疗有效量的脂质逆向传送激动剂。

[0041] 在又另一广泛方面，本发明提供了一种控制受治疗者瓣膜狭窄的方法，所述方法包括增加需要其的受治疗者的胆固醇逆向传送。

[0042] 在又另一广泛方面，本发明提供了一种预防或逆转 (reversing) 瓣膜狭窄的方法，所述方法包括向需要其的患者施用脂质逆向传送激动剂。

[0043] 在又另一广泛方面，本发明提供了一种控制受治疗者瓣膜狭窄的方法，所述方法包括向需要其的受治疗者施用治疗有效量的脂质逆向传送激动剂。

[0044] 例如，控制所述瓣膜狭窄可以包括降低瓣膜狭窄发展速率，或至少部分逆转瓣膜狭窄。

[0045] 在又另一广泛方面，本发明提供了脂质逆向传送激动剂用于控制受治疗者瓣膜狭窄的应用。

[0046] 在又另一广泛方面，本发明提供了脂质逆向传送激动剂用于制备控制 受治疗者瓣膜狭窄的药物组合物物质的应用。

[0047] 在变化方案中，所述方法包括施用治疗有效量的一种化合物，此后被称为化合物 A，其模拟载脂蛋白 A-1(ApoA-1) 的生物性质。化合物 A 和其他合适的化合物在发表于 2001 年 9 月 11 日美国专利号为 6,287,590 和发表于 2003 年 1 月 14 日美国专利号为 6,506,799 中描述，在此其全部内容通过引用并入。的确，可以相信鉴于当前关于这些专利中所述化合物和分子的作用的知识，这些化合物和分子可以得到与本文所述那些相似的结果。

[0048] 有利地，所提议的方法代替了相对侵入性的或相对无效的针对心瓣膜病的已有疗法。同时，除了延缓心瓣膜病的发展，所提议的方法也逆转瓣膜狭窄。因此，所提议的疗法不但具有延缓或阻止主动脉瓣狭窄和其他心瓣膜病发展的潜力，同时导致主动脉瓣狭窄和其他心瓣膜病的消退。

[0049] 主动脉瓣狭窄 (AVS) 是最普通的心瓣膜病，且标准治疗疗法仍然是开胸手术的心脏瓣膜置换。为了验证脂质逆向传送激动剂是否具有预防或治疗 AVS 的潜力，ApoA-1 模拟肽输注被试验以确定它们是否诱导了 AVS 的消退。为此目的，十五只雄性新西兰白兔获得了富含胆固醇的饮食和维生素 D_2，直到通过超声心动描记术检测到显著的 AVS。然后动物们随机地获得盐水 (对照组，n = 8) 或 ApoA-1 模拟肽 (处理组，n = 7)，共 2 周每周 3 次。

执行一系列超声心动图和死后瓣组织学(post mortem valve histology)分析。与对照组相比,处理组的主动脉瓣面积显著增加,为治疗后7天(21.9±3.6mm^{2}vs.19.6±1.8mm^2,P=0.019)(14.2%和3.9%的增加)、10天(23.0±4.1mm^{2}vs.20.3±2.4mm^2,P=0.006)(19.8 % vs.7.6 %)和14天(23.8±3.1mm^{2}vs.21.3±2.4mm^2,P=0.012)(24.6 % vs.12.9%)。在处理组中,经过14天的处理,主动脉瓣的厚度减少了21%,而在对照组中没有变化(0.094±0.034cmvs.0.075±0.033cm)(P=0.0006)。处理组的瓣叶和主动脉窦的基部的损伤程度比对照组小(52.8±12.5% vs.66.7±9.9%,P=0.032)。同样观察到了减少钙化面积的强趋势(1.6±2.0% vs.6.9±6.7%,P=0.063)。因此,ApoA-1模拟肽的输注导致了实验AVS的消退。

[0050] 本发明其他目的、优点和特征通过对其优选实施方案的后续非限定性描述的阅读会变得更加清楚,所述优选实施方案仅通过与附图相关的例子 给出。

[0051] 附图简述

[0052] 在附图中:

[0053] 图1表明在ApoA-1模拟肽处理期间通过超声心动图测量获得的主动脉瓣面积值。第"0"天对应于胆固醇加维生素D_2饮食结束和ApoA-1模拟肽处理期开始时,$^*P \leqslant 0.05$;$^{**}P \leqslant 0.01$.(b),主动脉瓣厚度值,$^{***}P \leqslant 0.001$;

[0054] 图2表明在ApoA-1模拟肽处理期间通过超声心动图测量获得的主动脉瓣厚度值。第"0"天对应于胆固醇加维生素D_2饮食结束和ApoA-1模拟肽处理期开始时,$^*P \leqslant 0.05$;$^{**}P \leqslant 0.01$,$^{***}P \leqslant 0.001$;

[0055] 图3表示在对照组和处理组中,主动脉瓣中的损伤面积(LA)对分析区域(ROA)的百分比对比,$^*P=0.032$。

[0056] 图4表示两组中主动脉瓣面积(AVA)同主动脉瓣中损伤面积(LA)对分析区域(ROA)的百分比之间的关系;以及

[0057] 图5表示两组中超声心动描记术中主动脉瓣的厚度与动物主动脉窦面积中钙化面积的百分比之间的关系。注意,在图的左侧底部,一个对照动物的值(方块)被两个三角隐藏。

[0058] 发明详述

[0059] 本发明描述涉及许多公开文件,其全部内容通过引用并入。组织病理学、实验和临床数据表明钙化主动脉瓣狭窄(AVS)是一个主动性疾病过程(active disease process)并伴随着脂蛋白沉积、炎症和主动性瓣叶钙化(1)。虽然AVS与动脉粥样硬化之间有相似,但是它们的生理病理学和治疗显著不同。就生理病理学而言,二叶主动脉瓣(bicuspid aortic valve)是存在的,而且大约一半患者的AVS是由它引起的,而动脉粥样硬化并非由于结构先天畸形。风湿性心脏病也可以引起AVS,但是它与动脉粥样硬化没有关联。 老年人的钙化AVS是西方国家最常见的类型,通常导致独立的主动脉瓣置换且不需要相关的冠状动脉架桥手术。就医学治疗而言,已经证明他汀类药物(statins)可以保护冠心病的患者,阻止动脉粥样硬化的发展或诱导其消退(3);相反,近期随机临床试验表明,加强的他汀类药物治疗不能阻止AVS的发展(4)。相似地,在许多大规模的临床试验中已经表明血管紧张肽转变酶抑制剂具有心肌保护,但没有成功的延缓AVS的发展。总之,动脉粥样硬化和AVS是不同的疾病,影响不同的患者人群。

[0060] HDL-胆固醇的血浆水平与冠心病之间负相关。对动物进行实验动脉粥样硬化的研究已经证明 ApoA-1Milano/ 磷脂复合体快速地移动胆固醇，因而减少动脉粥样硬化斑块负荷 (5,6)。此外，两个临床研究表明输注再造的 HDL 可以诱导冠状动脉粥样硬化的迅速改善 (7,8)。我们已经假设以 HDL 为基础的疗法也可以诱导 AVS 的消退。如果这能够安全地完成，AVS 的医学治疗以及消退可以转变我们对这种常见疾病的临床疗法。载脂蛋白 A-1(ApoA-1) 是 HDL 的一个结构组分，它可以介导其许多有益效果包括加强胆固醇的逆向传送 (9)。在我们的研究中，使用的肽在脂质存在下能够形成两亲性 α 螺旋，例如 ApoA-1(10,11)。因此，我们已经测试了模拟新生的 HDL 的与磷脂复合的这种 ApoA-1 模拟肽在前文所述的兔模型中诱导钙化 AVS 消退的能力 (12)。

[0061] 众所周知，血浆中脂蛋白的主要功能是运输脂质，例如胆固醇和甘油三酯。为在血浆中运输，胆固醇，通常是胆固醇酯以及甘油三酯被包含在脂蛋白粒子中，在其中它们形成疏水核。所述核被包含磷脂、未酯化的胆固醇和被称为载脂蛋白的蛋白质的表面包衣所包围。后者负责脂质的运输而且，此外，一些可以和脂质代谢中的许多酶相互作用。目前，鉴定了至少 10 种载脂蛋白，即 :A-1、A-2、A-4、B-48、B-100、C-I、C-II、C-III、D 和 E。

[0062] 我们已经假设通过适当化合物的使用来针对增加脂质逆向传送机制效率的策略，其可能是心瓣膜病治疗的方法。这也可能清除钙化沉积物，因而有效治愈瓣膜狭窄。

[0063] 用于检验这一假设的化合物 (此后称为化合物 A) 是一种脂蛋白，其模拟载脂蛋白 A-1(ApoA-1) 的生物性质。这种类型的化合物 (一种 Apo A-I 模拟物或激动剂) 在 2002 年 4 月 23 日授予 Dasseux 等人的美国专利号为 6,376,464 名为“Lipid complexes of APO A-1agonist compounds(APO A-1 激动剂化合物的脂质复合体)”的专利中进一步详细描述。本文件在此全部通过引用并入。

[0064] 简单地说，这些化合物包括肽或其类似物，它们在脂质存在下能够形成两亲性 α 螺旋并模拟 ApoA-1 的活性。因此它们被称作 ApoA-1 激动剂。所述激动剂具有作为它们主要特征的由 15-29 个氨基酸残基，优选 22 个氨基酸残基或其类似物组成的“核心”肽，其中肽的至少一个酰胺键被取代的酰胺、酰胺的电子等排物或模拟酰胺 (amide mimetic) 代替。

[0065] 这些 ApoA-1 激动剂部分地依据下述发现 :改变 22-mer 共有序列的基本序列中某些被认为对活性关键的氨基酸残基，产生表现出活性的合成肽，其活性接近，或者在某些实施方案中甚至超过天然 ApoA-1 的活性，所述 22-mer 共有序列公开于 Venkatachalapathi 等，1991，Mol.Conformationand Biol.Interactions，Indian Acad.Sci.B：585-596(PVLDEFREKLNEELEALKQKLK ;此后“Segrest 共有 22-mer”或“共有 22-mer”)。发现使用疏水 Leu 残基取代 Segrest 共有 22-mer 肽的三个带电荷的氨基酸残基 (Glu-5、Lys-9 和 Glu-13) 提供了模拟 ApoA-1 的结构和功能特性达到了本领域前所未有程度的肽。

[0066] 化合物 A 包含具有以下序列的肽 :

[0067] H-Pro-Val-Leu-Asp-Leu-Phe-Arg-Glu-Leu-Leu-Asn-Glu-Leu-Leu-Glu-Ala-Leu-Lys-Gln-Lys-Leu-Lys-OH(SEQ ID NO :1)

[0068] 以及该肽由 Polypeptide Laboratories(Torrance,CA,USA) 合成。使用高效液相色谱法评估纯度，且质谱分析超过 98％。所述肽与卵鞘磷脂和 1,2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷脂酰胆碱 (DPPC)(Avanti Polar Lipids)(10) 以 1 ： 1 ： 1 的重量比复合，所述复合通过将各成分在盐水中混合，并进行多次加热和冷却循环直到溶液变得十分澄清而完

成。低压冻干所述包含复合体的溶液以等份试样长期保存。每周在保持 4℃且无菌的条件下重建新鲜溶液。在大鼠中测试复合体的生物活性，所述生物活性指在静脉注射所述肽后转移 胆固醇以及提高血液中 HDL- 胆固醇的能力（数据未显示）。

[0069] 根据它们已知的生物活性和结构，可以认为其他的化合物，例如上文提到的美国专利号 6,376,464 中出现的化合物，将表现出与化合物 A 相似的效果。

[0070] 术语一种状态、疾病、失调或病症的“治疗 (treating)”或“治疗 (treatment)”包括：

[0071] (1) 预防或延缓受治疗者的状态、疾病、失调或病症的临床症状的出现，所述受治疗者可以是受到状态、疾病、失调或病症的折磨或易受到状态、疾病、失调或病症的感染，但并未经历或者表现出状态、疾病、失调或病症的临床或亚临床症状；

[0072] (2) 抑制所述状态、疾病、失调或病症，即阻止或减轻状态、疾病、失调或病症或至少其一种临床或亚临床症状的发展；或

[0073] (3) 缓解所述状态、疾病、失调或病症，即导致所述状态、疾病、失调或病症或至少其一种临床或亚临床症状的消退。

[0074] 受治疗者从治疗中获得的益处是统计学显著的或者至少是所述受治疗者或医生可以感觉到的。

[0075] 所述术语“受治疗者”包括哺乳动物（特别是人）和其他动物，如家畜（如，家养宠物包括猫和狗）以及非家畜（如野生动物）。

[0076] “治疗有效量”是指一种化合物的量，当施用于受治疗者以治疗状态、疾病、失调或病症时，可足以实现所述治疗。所述“治疗有效量”根据以下因素变化：化合物、状态、疾病、失调或病症和其严重性以及接受治疗的受治疗者的年龄、体重、身体状况和响应度。

[0077] 药物组合物

[0078] 本发明的药物组合物包括至少一种本发明的化合物和药学上可接受的赋形剂（如药学上可接受的载体或稀释剂）。优选地，所述药物组合物包括治疗有效量的本发明所述的化合物。本发明所述的化合物可与药学上可接受的赋形剂（如载体或稀释剂）结合，或被载体稀释，或被封入载体，该 载体可以为胶囊、香囊 (sachet)、纸或其他容器的形式。

[0079] 合适载体的例子包括且不限于：水、盐溶液、醇、聚乙二醇、多羟乙氧基蓖麻油、花生油、橄榄油、明胶、乳糖、白土、蔗糖、糊精、碳酸镁、糖、环糊精、直链淀粉、硬脂酸镁、滑石、明胶、琼脂、果胶、阿拉伯树胶、硬脂酸或纤维素的低级烷基醚、硅酸、脂肪酸、脂肪酸胺、脂肪酸甘油一酸酯和甘油二酯、季戊四醇脂肪酸酯、聚氧乙烯、羟甲基纤维素和聚乙烯吡咯烷酮。

[0080] 所述载体或稀释剂可以包括一种持续释放的材料，如单独或与蜡混合的甘油单硬脂酸酯或甘油二硬脂酸酯。

[0081] 所述药物组合物也可以包括一种或多种药学上可接受的助剂、润湿剂、乳化剂、悬浮剂、防腐剂、影响渗透压的盐、缓冲剂、甜味剂、调味剂、着色剂、或前述的任何组合。本发明所述药物组合物可以通过使用本领域所熟知的步骤配制，以对受治疗者提供施用后活性成分的快速、持续、或延缓释放。

[0082] 本发明所述药物组合物可以通过常规技术制备，如在Remington：TheScience and Practice of Pharmacy,20th Ed.,2003(Lippincott Williams &Wilkins) 中描述的。例

如，所述活性化合物可以同载体混合，或被载体稀释，或被封入载体，其可以为安瓿、胶囊、香囊、纸或其他容器的形式。当载体作为稀释剂时，它可以是固体、半固体、或者液体材料，其作为所述活性化合物的运载体、赋形剂或介质。所述活性化合物可以被吸附在颗粒状固体容器（如在香囊中）上。

[0083] 所述药物组合物可以为常规形式，例如，胶囊、片剂、气溶胶、溶液、悬浮液或用于局部应用的产品。

[0084] 施用途径可以是任何将本发明的活性化合物有效地运送到合适或期望的作用部位的途径。合适的施用途径包括且不限于：口服、鼻、肺、含服、皮下、皮内、经皮、胃肠外、直肠、贮库(depot)，皮下、静脉内、尿道内、肌肉内、鼻内、眼（如用眼用溶液）或局部（如用局部软膏）。

[0085] 实施例

[0086] 在兔中已经建立主动脉瓣狭窄的复合动物模型。所述模型引起的以钙化为特点的主动脉瓣狭窄与在人临床环境中观察到的相似。

[0087] 方法

[0088] 动物和实验

[0089] 使用根据 Drolet 等的描述 (12) 所修改的一种动物模型。用一种富含 0.5％胆固醇的饮食 (Harlan，Indianapolis，Indiana) 加上含有维生素 D_2(50000UI 每天；Sigma，Markham，Canada) 的饮用水喂养十五只雄性新西兰白兔 (2.7-3.0kg，年龄 12-13 周）直到出现显著的AVS，所述显著AVS可以通过主动脉瓣面积(AVA)或跨瓣速率比(transvalvular velocities ratio)(V_1/V_2) 的减少≥ 10％来定义，可以通过超声心动描记术检测 (12.9±2.4 周）。

[0090] 然后所述动物恢复标准饮食（没有维生素 D_2) 来模拟胆固醇降低，且随机地被分配到接受盐水（对照组，n ＝ 8) 或所述 ApoA-1 模拟肽（处理组，n ＝ 7)。兔通过耳缘静脉注射盐水或复合磷脂（化合物 A) 的 ApoA-1 模拟肽 (25mg/kg)2 周，每周 3 次。在全部随机处理期间，每 3 至 4 天连续地（见超声心动描记术方法）执行超声心动图。最后输注后两天，所述动物接受最后的超声心动图并处死，然后采集主动脉瓣进行组织学分析。处理前和处死前通过其耳动脉获得在基线的血液样本。全部胆固醇、HDL 胆固醇、甘油三酯和钙水平通过自动滤光光度计系统 (automated filter photometersystem)(Dimension RxL Max，Dade Behring，IL) 测量。

[0091] 动物护理和程序遵守加拿大动物饲养协会的准则 (Canadian Council onAnimal care guidelines)，并被动物研究机构道德委员会 (institutional ethicscommittee for animal research) 批准。

[0092] 超声心动描记术

[0093] 在以下时间执行经胸廓的超声心动图的研究：在基线，在高胆固醇的饮食直到产生显著的 AVS 的 8 周中从开始以每周为基础进行一次，以及用 ApoA-1 模拟肽或盐水对照处理后 4、7、10 和 14 天。研究用 S12 探针使用标准的超声心动图系统 (Sonos 5500，Philips Medical Imaging，MA) 执行。 肌肉内注射氯胺酮 (45mg/kg) 和咪达唑仑 (0.75mg/kg) 用于镇静。

[0094] 主动脉瓣的胸骨旁长轴和短轴图被记录下来以评估瓣叶形态学。在放大的胸骨

旁长轴图中测量左心室流出道 (LVOT) 的直径，且 LVOT 的截面积 (CSA_{LVOT}) 根据以下计算：$CSA_{LVOT} = \pi (D_{LVOT}/2)^2$。在顶端 5 腔图中用最接近于主动脉瓣的脉冲波 Doppler 采样以获得 LVOT 的速率 (V1) 和速率时间积分 (VTI_{LVOT})。在同一图中，使用穿过主动脉瓣的连续波 (CW)Doppler 询问获得跨瓣最大速率 (V2) 和 VTI(VTI_{AO})。在前处理期计算 V1/V2 比来确定 AVS 的发展。通过以下的连续等式获得在每个时间点的主动脉瓣面积 (AVA)：$AVA = CSA_{LVOT} \times (VTI_{LVOT}/VTI_{AO})$。中间部位的主动脉瓣厚度在舒张末期在放大的胸骨旁长轴图中分别在基线、随机治疗前和最后的超声心动图的检查时进行测量。

[0095] 三个连续心动周期的均值被用于每次测量。通过在继续研究前回顾以前的记录，特别注意到在系列检测中的获得相似的成像平面。整个方案中所有的超声心动图的成像和测量是由对随机处理安排未知的同一有经验的研究者进行。

[0096] 组织形态测定

[0097] 升主动脉和主动脉瓣纵向打开且 3 个瓣膜尖被分开。两个瓣膜尖立即在包埋剂 (OCT Tissue-Tek ;Sakura,USA) 中冷冻，且在 -80℃下保存。第三个瓣膜尖在 4℃下在 10％缓冲福尔马林中浸入固定 24 小时且包埋入石蜡中。从每个瓣膜尖的中间三分之一获得的染色的或免疫组织化学标记的组织切片用以计算机为基础的数字成像系统 (Image Pro Plus,5.1 版本）来分析，所述以计算机为基础的数字成像系统使用了连接到数字摄影机 (Qcolor3,Olympus) 的光学显微镜 (BX41,Olympus)。分析区域 (ROA) 是由从瓣叶基部开始的 1000μm 的主动脉窦和从瓣叶基部开始的 500μm 的瓣叶组成。测量损伤面积 (LA) 和瓣叶损伤长度 (LLL)。

[0098] 组织化学

[0099] 制备苏木精 - 根皮红 (phloxin)- 番红 (safran)、von Kossa 和天狼猩红 (Siriusred)(F3B,BDH,UK) 染色的切片分别用于常规检查、组织钙化和胶原蛋白 研究。如前所述 (13)，在偏振光下确定用天狼猩红苦味酸染色的切片的胶原蛋白纤维 I 型和 III 型的数量。为了免疫组织化学评估，所有切片用抗兔巨噬细胞的鼠 IgG2a 单克隆抗体 (RAM11, Dako, Canada)(1 ： 100 稀释）或兔平滑肌细胞 α - 肌动蛋白 (Clone 1A4, Dako, Canada)(1 ： 200 稀释）预培养。应用物种 - 适当 (species-appropriate) 的生物素化二级抗体，随后应用链霉亲和素辣根过氧化酶复合体，用偶氮乙基咔唑 (azoethylcarbazol)(AEC) 显像，并通过迈尔氏 (Mayer′ s) 苏木精复染色。在 40X 放大获得的数字影像上确定 ROA 中平滑肌细胞、巨噬细胞和钙化面积的数量。每个切片的影像均在同样光照设置下数字化捕捉，其针对所有样本，在同样的颜色阈下执行自动化的以计算机为基础的分析。数据表示为 ROA 中标记面积的百分比。

[0100] 为了评估组织游离胆固醇，在 PBS(pH7.4) 中固定于 4％多聚甲醛的 5μm 的冷冻切片用菲律宾菌素染色 (13)。在室温下，切片在溶解于 DMSO 的菲律宾菌素复合体 (Sigma, Canada) 中培养 1 小时并用 PBS 稀释，固定在 Vectashield(Vector Laboratories,USA) 上，通过使用具有 DAPI 滤光装置的 Zeiss Axiovert 200M 显微镜的荧光显微镜方法观察。使用安装有 0.63×C 支座转接器 (C-mount adapter) 的 AxioCam MRm 数字照相机获取图像。菲律宾菌素数据表示为荧光强度的任意单位。

[0101] 统计分析

[0102] 数据表示为均值 ± 标准偏差。在“前处理”时期，使用重复测量方差分析 (ANOVA)

模型研究跨时间和组间（处理组 vs. 对照组）的超声心动图和血清的测量。使用以时间、组、组 × 时间相互作用作为独立变量的模型，且只在出现显著的组 × 时间相互作用时开始在给定的时间点对比各组。否则，根据所述模型主要的组的影响来得出整体结论。在随机处理时期，使用重复测量协方差分析 (ANCOVA) 模型研究跨时间和组之间（处理组 vs. 对照组）的超声心动图和血清的测量，调整反应变量的基线值。所述 ANCOVA 模型也包括组 × 时间相互作用，且只在出现显著的组 × 时间相互作用时开始在给定的时间点对比各组。否则，根据所述模型主要的组的影响确定整体结论。使用 Student t- 检验对比处理组和对照组之间的组织学变量。使用 Pearson 相关系数评估组织形态测定和超声心动图的变量之间的关系。所有 的分析使用 SAS release 8.2(SAS Institute Inc., Cary, NC) 执行，且在 0.05 显著性水平进行。

[0103] 结果

[0104] 血脂和钙血

[0105] 在前处理时期（高胆固醇的饮食期间），组之间的总胆固醇 (P = 0.942)、HDL- 胆固醇 (P = 0.787)、甘油三酯 (P = 0.906) 和钙血 (P = 0.727) 的血清水平没有显著差异。在 2 周的处理期间，两组中的总胆固醇水平仍然是统计相似的 (P = 0.470)。对照组和处理组的值分别为在随机化时 20.46±3.52mmol/L 和 20.13±5.18mmol/L 以及在处理结束时 13.78±6.24mmol/L 和 17.57±10.32mmol/L。在处理期间，各组的 HDL- 胆固醇水平没有统计显著差异 (P = 0.374)。HDL- 胆固醇在随机化时为 0.50±0.20mmol/L 和 0.50±0.15mmol/L 以及在处理结束时为 0.39±0.17mmol/L 和 0.45±0.17mmol/L。在此期间，甘油三酯水平也相似 (P = 0.544)。在处理期间，各组的钙血没有显著差异 (P = 0.832)，在各组中随机化前的值为 3.31±0.29mmol/L 和 3.15±0.37mmol/L 以及在处理结束时为 3.22±0.11mmol/L 和 3.22±0.12mmol/L。

[0106] 在高胆固醇的饮食和维生素 D_2 补充期间 AVS 的发展

[0107] 通过胆固醇加维生素 D_2 饮食的 AVS 诱导时间对对照组和处理组是相似的 (12.8±2.2vs.13.0±2.9 星期 ;P = 0.852)。在基线和在高胆固醇的饮食期结束时的 AVA 之间具有显著差异 (P < 0.0001)。两组中的 AVA 减少，且对照兔和处理兔的值几乎相同（在对照组中为从在基线 24.2±4.1mm^2 到 19.0±2.7mm^2 以及在处理组中为从 24.7±3.9mm^2 到 19.1±2.6mm^2）。因此各组在 AVS 发展期间 AVA 没有显著差异 (P = 0.852)。因此，在随机处理前对照组和处理组中的 AVA 减少了 20.5±4.2% 和 21.6±3.7%。

[0108] 在基线和在高胆固醇的饮食期结束时测量的 V_1/V_2 比也具有显著差异 (P < 0.0001)。在这些时间点之间 V_1/V_2 比的减少在各组间没有显著差异 (P = 0.914)。

[0109] 处理时 AVS 的发展 - 超声心动描记术

[0110] 如图 1 所示，在处理期间（从 AVS 检测到处理 2 星期后），观察到 AVA 显著的组 × 时间相互作用 (P = 0.013)。使用重复测量 ANCOVA 模型，超声心动图测量反映出在处理 7 天 (21.9±3.6mm^2vs.19.6±1.8mm^2, P = 0.019) (14.2±3.5% vs.3.9±3.4% 的相对增加)、10 天 (23.0±4.1mm^2vs.20.3±2.4mm^2, P = 0.006) (19.8±3.5% vs.7.6±4.2% 的相对增加)、以及 14 天 (23.8±3.1mm^2vs.21.3±2.4mm^2, P = 0.012) (24.6±2.0% vs.12.9±3.5% 的相对增加）后与对照组相比，处理组中的 AVA 显著增加。

[0111] 主动脉瓣厚度通过超声心动描记术评估，且在随机治疗前和 14 天处理后测量。同

样观察到主动脉瓣厚度的显著的组 × 时间相互作用 (P = 0.005)。在随机化时间点没有发现各组之间的显著差异,但是观察到在处理 14 天后与对照组相比处理组中的主动脉瓣厚度显著减少。在处理兔中,主动脉瓣厚度在随机化前为 0.094±0.034cm 以及在处理结束时 0.075±0.033cm,而在对照中同样的时间点其为 0.080±0.024cm 和 0.080±0.026cm。

[0112] 组织学

[0113] 所有的动物表现出主动脉瓣损伤。损伤在于新组织帽 (cap ofneotissue),所述新组织帽是由多层泡沫细胞逐渐被源于损伤约一半深处缺少泡沫细胞的纤维化材料代替所形成。损伤一般从窦管 (sinotubular) 区域发展,覆盖整个主动脉窦且延伸到瓣尖基部并上到靠近瓣叶小动脉支 (leafletarterialis) 的一半到三分之二。相反地,在瓣叶心室支 (ventricularis) 上的损伤不常见也不严重。

[0114] 组织形态测定

[0115] 如图 3 所示,用 ApoA-1 模拟肽处理的组与对照组相比,每 ROA 的 LA 的百分比显著减少 (52.8±12.5% /ROA vs.66.7±9.9% /ROA,P = 0.032)。有趣地是,当将两组中组织形态测定的 LA/ROA 的百分比同超声心动描记术确定的 AVA 汇集起来时,发现 LA/ROA 的百分比同 AVA 之间存在负相关 (r = -0.54,P = 0.039,图 4。相似地,来自两组的汇集的数据的分析反映了 AVA 同% LLL(即,损伤占总瓣叶长度的百分比或 LLL/ 总瓣叶长度 ×100) 之间的负相关 (r = -0.70,P = 0.004)。然而,处理组和对照组之间的% LLL 差 异没有达到统计显著 (55.7±24.3% vs.72.3±11.7%,P = 0.109)。

[0116] 组织化学

[0117] 在大多数动物中观察到钙化病灶。在主动脉窦的损伤核心中具有钙沉积物的兔的百分比为 :处理组 57% (4/7) 和对照组 88% (7/8)。在 von Kossa 染色上被钙化占据的主动脉窦面积的百分比的量反应了一个强趋势,所述趋势为与对照组相比,处理组中有 77% 的减少 (1.6±2.0% vs.6.9±6.7% ;P = 0.063)。通过使用来自两研究组中的汇集数据,所述窦面积中的钙化病灶面积的百分比同超声心动描记术确定的主动脉瓣厚度显著相关 (r = 0.63,P = 0.012)(图 5)。

[0118] 通过菲律宾菌素染色检测的游离胆固醇出现在几乎所有对照动物的整个主动脉瓣损伤区域,而在大多数用 ApoA-1 模拟肽处理的动物中,损伤的腔边缘的荧光信号趋于减弱。与对照相比,被处理动物中的损伤腔边缘的第一个 10μm 中荧光信号的评估显示游离胆固醇减少 41%,但是这种差异并没有达到统计显著 (221±54vs.377±229 荧光强度任意单位,P = 0.231)。巨噬细胞区域 (34.5%) 是 α- 肌动蛋白正相区 (17.1%) 的大约 2 倍大,各组之间没有显著差异。在 ROA 中,胶原 III 型纤维 (绿光) 的百分比高于胶原 I 型纤维 (红 - 黄)(对照中 III 型 19.7±5.5% /ROA vs.I 型 6.6±4.1% /ROA,P = 0.00009 ;处理兔中 III 型 19.1±11.3% /ROA vs.I 型 5.5±5.6% /ROA,P = 0.015)。然而,在 ROA 中胶原纤维 (I 和 III 型) 的百分比在各组之间是相似的 (分别地 P = 0.671 和 P = 0.883)。

[0119] 讨论

[0120] 这些实验证明 ApoA-1 模拟肽的输注导致实验 AVS 显著消退。相比于对照组,ApoA-1 模拟肽的输注诱导了 AVA 的更大改善以及主动脉瓣厚度的显著减少。通过超声心动描记术,这些 AVS 严重性的有益变化伴随着组织学切片中瓣叶基部区域损伤程度的显著减少以及减少钙化的强趋势。

[0121] 使用由 Drolet 等 (12) 开发的 AVS 兔模型，其允许模拟临床情况，在所述模型中主动脉瓣钙化显著地且可重复地发生。在大约 13 星期的富含胆固醇的饮食和维生素 D_2 的补充后，超声心动图测试表明 AVA 21％的减少。二维影像显示了增加的瓣厚度和与瓣膜硬化和钙化区域相容的回音 (echogenicity)。组织学检验确定了在主动脉窦和瓣叶基部的瓣膜增厚和钙沉积。所述研究提供了 ApoA-1 模拟肽对实验钙化 AVS 的有益效果的超声心动图和组织学证据。最早在主动处理开始后 7 天可以观察到 AVA 的增加，在 14 天达到 24％的改善。伴随着 ApoA-1 模拟肽的输注，AVA 几乎确实恢复到开始所述高胆固醇的饮食前表现的正常值。相反地，对照组中富含胆固醇饮食和维生素 D_2 补充的中止（模拟脂质降低）仅导致了 AVA 的轻微增加，其证明了所述肽的有益效果。如超声心动描记术所示，在用肽处理仅 14 天后，主动脉瓣厚度也显著减少。有趣地，由超声心动描记术确定的 AVA 同组织学中损伤程度的指数负相关 (correlate inversely)。ApoA-1 模拟肽的输注也导致了瓣叶基部附近组织学分析区域中损伤面积百分比的显著减少。此外，瓣膜钙化程度在任意选择的 0.05 水平几乎达到统计显著的巨大减少可能具有临床重要性，因为老年人的钙化 AVS 是在发达国家中最常见的狭窄形式。这说明主动脉瓣钙化的出现不但没有阻止获得肽的有益结果而且这种方法甚至可以消退瓣膜钙化自身。所述发现也可以应用于二尖瓣和 / 或环的钙化。

[0122] 与磷脂复合的 ApoA-1 模拟肽以和天然 ApoA-1 相似的方式刺激胆固醇逆向传送 (14)。与对照组相比（于处理 2 星期后观察），用肽处理的兔的总胆固醇的更高循环水平可以表明加强的组织胆固醇的移动。

[0123] 这个实施例证明对人使用任何合适的 HDL 为基础的疗法可以获得相似的结果，举例来说，例如一种或多种 HDL 或具有 HDL- 样效果的肽（有或没有脂质）的输注或推注、口服施用 HDL- 模拟剂、和 / 或施用胆固醇酯转移蛋白 (CETP) 调质、或 B 族 1 型 (class B, member 1) 清道夫受体 (SRB1) 调质或肝 X 受体 (LXR) / 类视黄醇 X 受体 (RXR) 激动剂、或 ATP- 结合盒转运蛋白 1(ABCA1) 激动剂、或过氧化物酶体增生物激活受体 (PPAR) 激动剂、以及其他。

[0124] 虽然本文所述的实验涉及调节主动脉瓣狭窄，但是本领域普通技术人员将很容易理解这些实验可以预测对人或其他哺乳动物的生物效果，和 / 或可作为在人或其他哺乳动物中使用本发明来研究其他相似瓣膜疾病的 模型。

[0125] 尽管此前通过其优选实施方案对本发明进行了描述，但可以在没有偏离如附加的权利要求书所定义的本发明的精神和性质下对其进行改动。

[0126] 参考文献

[0127] 1.Freeman RV, Otto CM. Spectrum of calcific aortic valve disease : pathogenesis, disease progression, and treatment strategies(钙化主动脉瓣病的系列 : 发病机理、疾病进展和治疗策略). Circulation 2005 ;111 :3316-26.

[0128] 2.Carabello BA. Aortic stenosis(主动脉瓣狭窄). N Engl J Med 2002 ;346 : 677-82.

[0129] 3.Nissen SE, Nicholls SJ, Sipahi I. Effect of very high intensity statintherapy on regression of coronary atherosclerosis. The ASTEROID trial(针对冠状动脉粥样硬化的消退的甚高强度他汀类药物治疗的效果。ASTEROID 试验). JAMA. 2006 ;295 :1556-65.

[0130] 4.Cowell SJ,Newby DE,Prescott RJ等.Scottish Aortic Stenosis andLipid Lowering Trial,Impact on Regression(SALTIRE)Investigators.Arandomized trial of intensive lipid-lowering therapy in calcific aorticstenosis(苏格兰主动脉瓣狭窄和降脂试验,对消退(SALTIRE)调查者的影响。一种针对钙化主动脉瓣狭窄的加强降脂疗法的随机化试验).N Engl JMed 2005;352:2389-97.

[0131] 5.Ameli S,Hultgardh-Nilsson A,Cercek B等.Recombinantapolipoprotein A-I Milano reduces intimal thickening after balloon injury inhypercholesterolemic rabbits(重组载脂蛋白A-I Milano减少高胆固醇兔的泡沫化损伤后的内膜增厚).Circulation 1994;90:1935-41.

[0132] 6.Shah PK,Yano J,Reyes O等.High-dose recombinant apolipoproteinA-I(milano)mobilizes tissue cholesterol and rapidly reduces plaque lipid andmacrophage content in apolipoprotein e-deficient mice.Potential implicationsfor acute plaque stabilazation(高剂量重组载脂蛋白A-I(Milano)转移组织胆 固醇和快速减少载脂蛋白e-不足(e-deficient)小鼠的斑块脂质(plaque lipid)和巨噬细胞含量。对急性硬化斑稳定的潜在影响).Circulation 2001;103:3047-50.

[0133] 7.Nissen SE,Tsunoda T,Tuzcu EM等.Effect of recombinant ApoA-1Milano on coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndromes:a randomized controlled trial(重组ApoA-1 Milano对有急性冠状动脉综合征的冠状动脉粥样硬化患者的效果:一种随机化对照试验).JAMA 2003;290:2292-300.

[0134] 8.Tardif JC,Grégoire J,L'Allier PL等.Effects of reconstitutedhigh-density lipoprotein infusions on coronary atherosclerosis:a randomizedcontrolled trial(针对冠状动脉粥样硬化的重组高密度脂蛋白输注的效果:一种随机化对照试验).JAMA 2007;297:1675-82.

[0135] 9.Meyers CD,Kashyap ML.Pharmacologic augmentation of high-densitylipoproteins:mechanisms of currently available and emerging therapies(高密度脂蛋白的药理学增加:目前存在和新兴的疗法的机理).Curr Opin Cardiol2005;20:307-12.

[0136] 10.Khan M,Lalwani ND,Drake SL,Crockatt JG,Dasseux JLH.Single-dose intravenous infusion of ETC-642,a 22-Mer ApoA-1 analogue andphospholipids complex,elevates HDL-C in atherosclerosis patients(单剂量静脉内输注ETC-642(一种22-Mer ApoA-1类似物和磷脂复合体)提高动脉粥样硬化患者的HDL-C).Circulation 2003;108(Suppl):IV-563-4.

[0137] 11.Bodary PF,Shen Y,Westrick RJ等.Gene transfer of an APO-A-Imimetic peptide reduces atherosclerosis in mice(一种APO-A-I模拟肽的基因转移减少小鼠的动脉粥样硬化).J Am Coll Cardiol 2004;43(Suppl A):465A-6.

[0138] 12.Drolet MC,Arsenault M,Couet J.Experimental aortic valve atenosisin rabbits(兔的实验主动脉瓣狭窄).J Am Coll Cardiol 2003;41:1211-7.

[0139] 13.Busseuil D,Zeller M,Cottin Y等.Late neointimal tissue growth behind the stent after intravascular gamma-radiation(血管内γ辐射后支架后部的后新生

内膜组织生长).Int J Radiat Oncol Biol Phys 2004;58:259-66.

[0140] 14.Navab M,Anantharamaiah GM,Reddy ST 等 .Apolipoprotein A-Imimetic peptides(载脂蛋白 A-I 模拟肽).Arterioscler Thromb Vasc Biol 2005;25:1325-31.

[0141] 15.Navab M,Anantharamaiah GM,Reddy ST 等.Human apolipoproteinA-I and A-I mimetic peptides:potential for atherosclerosis reversal(人载脂蛋白 A-I 和 A-I 模拟肽:对动脉粥样硬化逆转(atherosclerosis reversal)的潜力)。Curr Opin Lipidol 2004;15:645-9.

序列表

<110> 蒙特利尔心脏病学研究所
吉恩－克劳德．塔迪芙

<120> 治疗心瓣膜病的方法和化合物

<130>20111-87

<150>60/809,850
<151>2006-06-01

<160>1

<170>PatentIn 版本 3.3

<210>1
<211>22
<212>PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽

<400>1

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu Ala
1 5 10 15
Leu Lys Gln Lys Lcu Lys
20

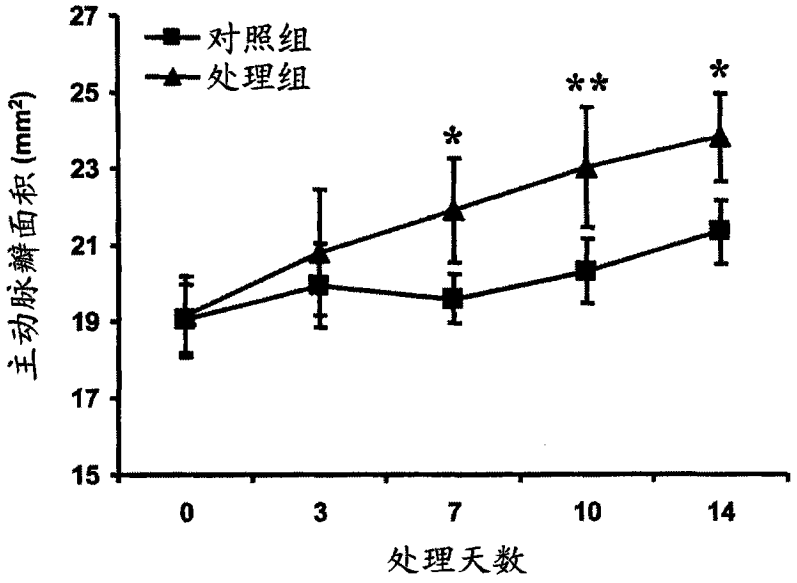

对照组
处理组
主动脉瓣面积 (mm²)
27
25
23
21
19
17
15
*
**
*
0
3
7
10
14
处理天数

图 1

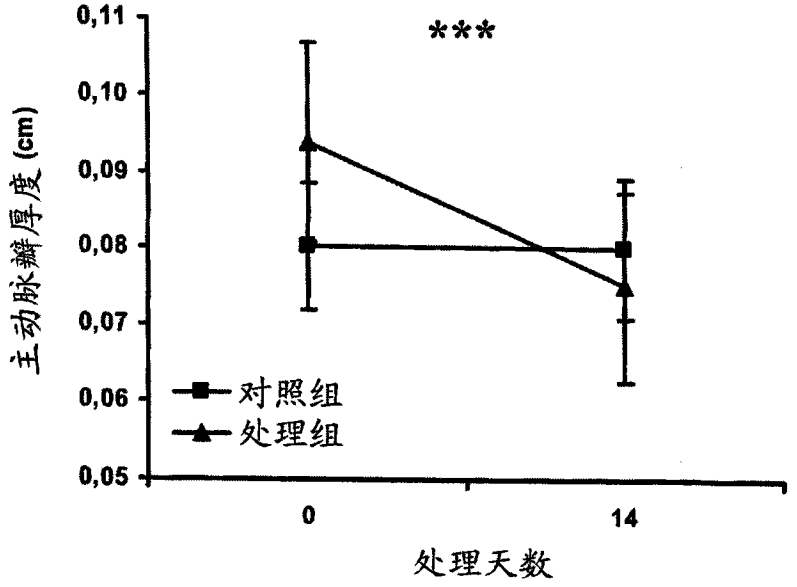

主动脉瓣厚度 (cm)
0,11
0,10
0,09
0,08
0,07
0,06
0,05
***
对照组
处理组
0
14
处理天数

图 2

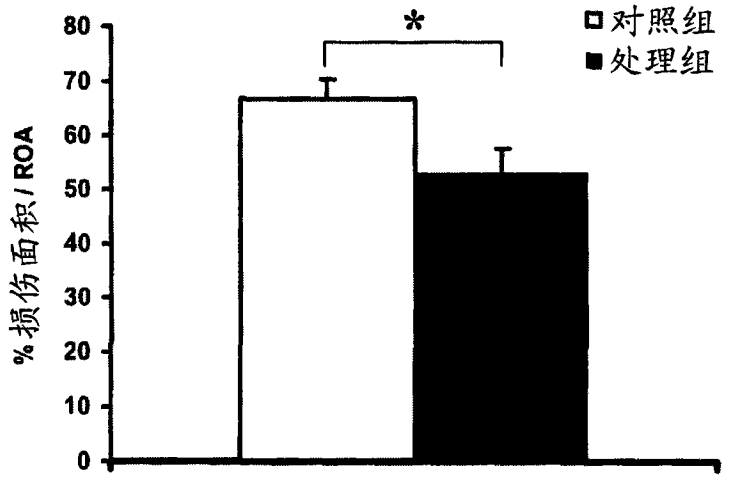

*
对照组
处理组
% 损伤面积 / ROA
80
70
60
50
40
30
20
10
0

图 3

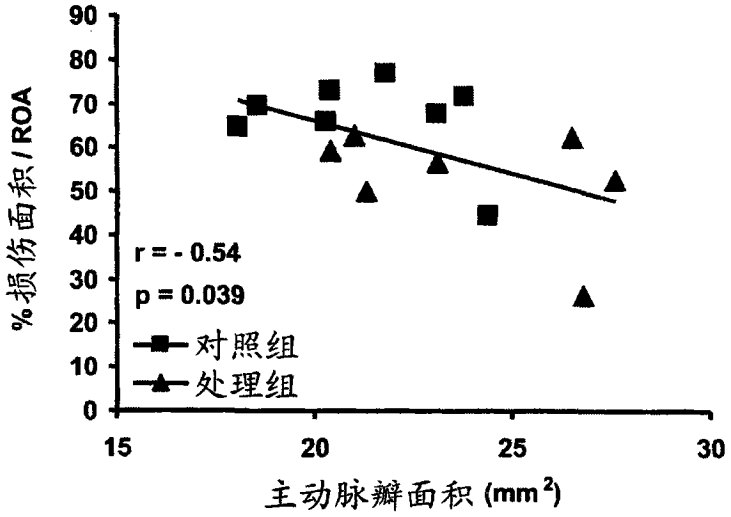

% 损伤面积 / ROA
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
r = - 0.54
p = 0.039
对照组
处理组
15
20
25
30
主动脉瓣面积 (mm 2)

图 4

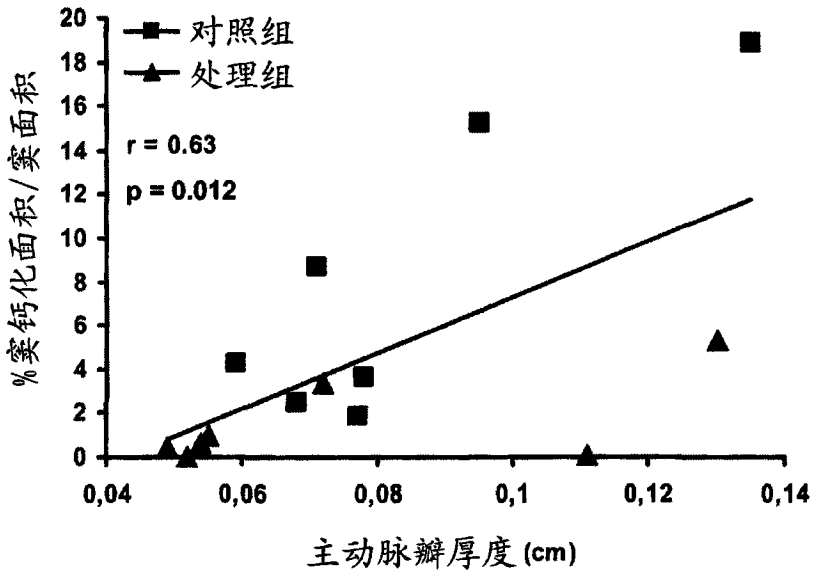

对照组
处理组
r = 0.63
p = 0.012
%窦钙化面积/窦面积
主动脉瓣厚度 (cm)
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
0,04
0,06
0,08
0,1
0,12
0,14

图 5