



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105050613 A

(43) 申请公布日 2015. 11. 11

(21) 申请号 201380067076. X

(72) 发明人 D·特拉维斯·威尔逊

(22) 申请日 2013. 10. 22

哈尼·N·萨巴赫

(30) 优先权数据

(74) 专利代理机构 北京同达信恒知识产权代理有限公司 11291

61/716, 867 2012. 10. 22 US

61/822, 752 2013. 05. 13 US

61/839, 743 2013. 06. 26 US

61/839, 750 2013. 06. 26 US

代理人 黄志华 石磊

(51) Int. Cl.

A61K 38/00(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 06. 19

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2013/066228 2013. 10. 22

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/066419 EN 2014. 05. 01

(71) 申请人 康德生物医疗技术公司

地址 摩纳哥摩纳哥城

申请人 亨利福特医疗集团

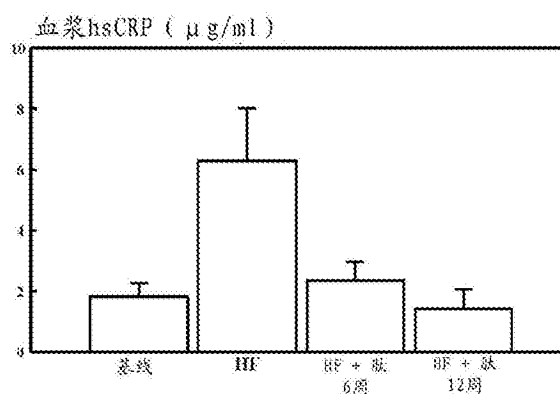
权利要求书9页 说明书58页 附图6页

(54) 发明名称

降低与心脏衰竭相关的风险和与其相关的因素的方法

(57) 摘要

本公开提供了预防或治疗哺乳动物受试者的心脏衰竭、减少与心脏衰竭相关的风险因素、和/或降低心脏衰竭的可能性或严重性的方法。本公开还提供了预防或治疗哺乳动物受试者的LV重塑、和/或降低LV重塑的可能性或严重性的方法。这些方法包括向受试者施用有效量的芳香族阳离子肽。在一些实施方案中,这些方法包括向受试者施用有效量的芳香族阳离子肽以在有需要的受试者中降低C-反应蛋白、肿瘤坏死因子 α 、白介素6、反应性氧物质、Nt-BNP原、和/或心肌钙蛋白I的水平,和/或降低MLCL AT1和/或ALCAT 1的表达水平。在一些实施方案中,这些方法包括向受试者施用有效量的芳香族阳离子肽以在有需要的受试者中增加Taz1的表达和/或增加mK ATP的活性。



1. 一种降低有需要的哺乳动物受试者中 C- 反应蛋白的水平的方法,所述方法包括:向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

2. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述受试者已经被诊断患有心脏衰竭。

3. 如权利要求 3 所述的方法,其中所述心脏衰竭由以下引起:高血压;缺血性心脏病;暴露于心脏毒性化合物;心肌炎;甲状腺病;病毒感染;牙龈炎;药物滥用;酒精滥用;心包炎;动脉粥样硬化;血管病;肥厚型心肌病;急性心肌梗塞;左心室收缩功能不全;冠状动脉绕道手术;饥饿;饮食失调;或遗传缺陷。

4. 如权利要求 1 至 3 中任一项所述的方法,其中所述肽是经口、局部、全身、静脉内、皮下、腹膜内或肌肉内施用。

5. 如权利要求 1 至 4 中任一项所述的方法,其进一步包括独立地、依序或同时将心血管剂施用于所述受试者。

6. 如权利要求 5 所述的方法,其中所述心血管剂选自由以下组成的群组:抗心律失常剂、血管舒张剂、抗心绞痛剂、皮质类固醇、强心苷、利尿剂、镇静剂、血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂、血管紧张素 II 拮抗剂、血栓溶解剂、钙通道阻断剂、血栓烷受体拮抗剂、自由基清除剂、抗血小板药、 β -肾上腺素受体阻断药、 α -受体阻断药、交感神经抑制剂、洋地黄制剂、肌力调节药以及抗高血脂药。

7. 如权利要求 1 至 6 中任一项所述的方法,其中所述医药学上可接受的盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。

8. 一种预防、治疗或改善具有水平升高的 C- 反应蛋白的哺乳动物受试者的心脏衰竭的方法,所述方法包括:向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

9. 如权利要求 8 所述的方法,其中所述受试者具有至少一个与心脏衰竭相关的风险因素,所述风险因素选自由以下组成的群组:高血压;冠状动脉病;心脏病发作;不规则心跳;糖尿病;服用糖尿病药物罗格列酮或吡格列酮;睡眠呼吸暂停;先天性心脏缺陷;病毒感染;饮酒;肥胖;吸烟;久坐的生活方式;高胆固醇;心脏衰竭的家族史;压力;以及肾病。

10. 如权利要求 8 至 9 中任一项所述的方法,其进一步包括独立地、依序或同时将心血管剂施用于所述受试者。

11. 如权利要求 10 所述的方法,其中所述心血管剂选自由以下组成的群组:抗心律失常剂、血管舒张剂、抗心绞痛剂、皮质类固醇、强心苷、利尿剂、镇静剂、血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂、血管紧张素 II 拮抗剂、血栓溶解剂、钙通道阻断剂、血栓烷受体拮抗剂、自由基清除剂、抗血小板药、 β -肾上腺素受体阻断药、 α -受体阻断药、交感神经抑制剂、洋地黄制剂、肌力调节药以及抗高血脂药。

12. 如权利要求 8 至 11 中任一项所述的方法,其中所述医药学上可接受的盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。

13. 一种降低有需要的哺乳动物受试者中 TNF- α 的水平的方法,所述方法包括:向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

14. 如权利要求 13 所述的方法,其中所述受试者已经被诊断患有心脏衰竭。

15. 如权利要求 14 所述的方法,其中所述心脏衰竭由以下引起:高血压;缺血性心脏

病 ; 暴露于心脏毒性化合物 ; 心肌炎 ; 甲状腺病 ; 病毒感染 ; 牙龈炎 ; 药物滥用 ; 酒精滥用 ; 心包炎 ; 动脉粥样硬化 ; 血管病 ; 肥厚型心肌病 ; 急性心肌梗塞 ; 左心室收缩功能不全 ; 冠状动脉绕道手术 ; 饥饿 ; 饮食失调 ; 或遗传缺陷。

16. 如权利要求 13 至 15 中任一项所述的方法, 其中所述肽是经口、局部、全身、静脉内、皮下、腹膜内或肌肉内施用。

17. 如权利要求 13 至 17 中任一项所述的方法, 其进一步包括独立地、依序或同时将心血管剂施用于所述受试者。

18. 如权利要求 17 所述的方法, 其中所述心血管剂选自由以下组成的群组 : 抗心律失常剂、血管舒张剂、抗心绞痛剂、皮质类固醇、强心苷、利尿剂、镇静剂、血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制剂、血管紧张素 II 拮抗剂、血栓溶解剂、钙通道阻断剂、血栓烷受体拮抗剂、自由基清除剂、抗血小板药、 β -肾上腺素受体阻断药、 α -受体阻断药、交感神经抑制剂、洋地黄制剂、肌力调节药以及抗高血脂药。

19. 如权利要求 13 至 18 中任一项所述的方法, 其中所述医药学上可接受的盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。

20. 一种预防、治疗或改善具有水平升高的 TNF- α 的哺乳动物受试者的心脏衰竭的方法, 所述方法包括 : 向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

21. 如权利要求 20 中任一项所述的方法, 其中所述受试者具有至少一个与心脏衰竭相关的风险因素, 所述风险因素选自由以下组成的群组 : 高血压 ; 冠状动脉病 ; 心脏病发作 ; 不规则心跳 ; 糖尿病 ; 服用糖尿病药物罗格列酮或吡格列酮 ; 睡眠呼吸暂停 ; 先天性心脏缺陷 ; 病毒感染 ; 饮酒 ; 肥胖 ; 吸烟 ; 久坐的生活方式 ; 高胆固醇 ; 心脏衰竭的家族史 ; 压力 ; 以及肾病。

22. 如权利要求 20 至 21 中任一项所述的方法, 其进一步包括独立地、依序或同时将心血管剂施用于所述受试者。

23. 如权利要求 22 所述的方法, 其中所述心血管剂选自由以下组成的群组 : 抗心律失常剂、血管舒张剂、抗心绞痛剂、皮质类固醇、强心苷、利尿剂、镇静剂、血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制剂、血管紧张素 II 拮抗剂、血栓溶解剂、钙通道阻断剂、血栓烷受体拮抗剂、自由基清除剂、抗血小板药、 β -肾上腺素受体阻断药、 α -受体阻断药、交感神经抑制剂、洋地黄制剂、肌力调节药以及抗高血脂药。

24. 如权利要求 20 至 23 中任一项所述的方法, 其中所述医药学上可接受的盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。

25. 一种降低有需要的哺乳动物受试者中白介素 -6 的水平的方法, 所述方法包括 : 向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

26. 如权利要求 25 所述的方法, 其中所述受试者已经被诊断患有心脏衰竭。

27. 如权利要求 26 所述的方法, 其中所述心脏衰竭由以下引起 : 高血压 ; 缺血性心脏病 ; 暴露于心脏毒性化合物 ; 心肌炎 ; 甲状腺病 ; 病毒感染 ; 牙龈炎 ; 药物滥用 ; 酒精滥用 ; 心包炎 ; 动脉粥样硬化 ; 血管病 ; 肥厚型心肌病 ; 急性心肌梗塞 ; 左心室收缩功能不全 ; 冠状动脉绕道手术 ; 饥饿 ; 饮食失调 ; 或遗传缺陷。

28. 如权利要求 25 至 27 中任一项所述的方法, 其中所述肽是经口、局部、全身、静脉内、皮下、腹膜内或肌肉内施用。

29. 如权利要求 25 至 28 中任一项所述的方法, 其进一步包括独立地、依序或同时将心血管剂施用于所述受试者。

30. 如权利要求 29 所述的方法, 其中所述心血管剂选自自由以下组成的群组: 抗心律失常剂、血管舒张剂、抗心绞痛剂、皮质类固醇、强心苷、利尿剂、镇静剂、血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制剂、血管紧张素 II 拮抗剂、血栓溶解剂、钙通道阻断剂、血栓烷受体拮抗剂、自由基清除剂、抗血小板药、 β -肾上腺素受体阻断药、 α -受体阻断药、交感神经抑制剂、洋地黄制剂、肌力调节药以及抗高血脂药。

31. 如权利要求 25 至 30 中任一项所述的方法, 其中所述医药学上可接受的盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。

32. 一种预防、治疗或改善具有水平升高的白介素 -6 的哺乳动物受试者的心脏衰竭的方法, 所述方法包括: 向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 或其医药学上可接受的盐。

33. 如权利要求 32 所述的方法, 其中所述受试者具有至少一个与心脏衰竭相关的风险因素, 所述风险因素选自自由以下组成的群组: 高血压; 冠状动脉病; 心脏病发作; 不规则心跳; 糖尿病; 服用糖尿病药物罗格列酮或吡格列酮; 睡眠呼吸暂停; 先天性心脏缺陷; 病毒感染; 饮酒; 肥胖; 吸烟; 久坐的生活方式; 高胆固醇; 心脏衰竭的家族史; 压力; 以及肾病。

34. 如权利要求 32 至 33 中任一项所述的方法, 其进一步包括独立地、依序或同时将心血管剂施用于所述受试者。

35. 如权利要求 34 所述的方法, 其中所述心血管剂选自自由以下组成的群组: 抗心律失常剂、血管舒张剂、抗心绞痛剂、皮质类固醇、强心苷、利尿剂、镇静剂、血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制剂、血管紧张素 II 拮抗剂、血栓溶解剂、钙通道阻断剂、血栓烷受体拮抗剂、自由基清除剂、抗血小板药、 β -肾上腺素受体阻断药、 α -受体阻断药、交感神经抑制剂、洋地黄制剂、肌力调节药以及抗高血脂药。

36. 如权利要求 32 至 36 中任一项所述的方法, 其中所述医药学上可接受的盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。

37. 一种降低有需要的哺乳动物受试者中反应性氧物质的水平的方法, 所述方法包括: 向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 或其医药学上可接受的盐。

38. 如权利要求 37 所述的方法, 其中所述受试者已经被诊断患有心脏衰竭。

39. 如权利要求 38 所述的方法, 其中所述心脏衰竭由以下引起: 高血压; 缺血性心脏病; 暴露于心脏毒性化合物; 心肌炎; 甲状腺病; 病毒感染; 牙龈炎; 药物滥用; 酒精滥用; 心包炎; 动脉粥样硬化; 血管病; 肥厚型心肌病; 急性心肌梗塞; 左心室收缩功能不全; 冠状动脉绕道手术; 饥饿; 饮食失调; 或遗传缺陷。

40. 如权利要求 37 至 39 中任一项所述的方法, 其中所述肽是经口、局部、全身、静脉内、皮下、腹膜内或肌肉内施用。

41. 如权利要求 37 至 40 中任一项所述的方法, 其进一步包括独立地、依序或同时将心血管剂施用于所述受试者。

42. 如权利要求 41 所述的方法, 其中所述心血管剂选自自由以下组成的群组: 抗心律失常剂、血管舒张剂、抗心绞痛剂、皮质类固醇、强心苷、利尿剂、镇静剂、血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制剂、血管紧张素 II 拮抗剂、血栓溶解剂、钙通道阻断剂、血栓烷受体拮抗剂、自由基清除剂、抗血小板药、 β -肾上腺素受体阻断药、 α -受体阻断药、交感神经抑制剂、洋地黄制剂、肌力调节药以及抗高血脂药。

43. 如权利要求 37 至 42 中任一项所述的方法, 其中所述医药学上可接受的盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。

44. 一种预防、治疗或改善具有水平升高的反应性氧物质的哺乳动物受试者的心脏衰竭的方法, 所述方法包括: 向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

45. 如权利要求 44 所述的方法, 其中所述受试者具有至少一个与心脏衰竭相关的风险因素, 所述风险因素选自自由以下组成的群组: 高血压; 冠状动脉病; 心脏病发作; 不规则心跳; 糖尿病; 服用糖尿病药物罗格列酮或吡格列酮; 睡眠呼吸暂停; 先天性心脏缺陷; 病毒感染; 饮酒; 肥胖; 吸烟; 久坐的生活方式; 高胆固醇; 心脏衰竭的家族史; 压力; 以及肾病。

46. 如权利要求 44 至 45 中任一项所述的方法, 其进一步包括独立地、依序或同时将心血管剂施用于所述受试者。

47. 如权利要求 46 所述的方法, 其中所述心血管剂选自自由以下组成的群组: 抗心律失常剂、血管舒张剂、抗心绞痛剂、皮质类固醇、强心苷、利尿剂、镇静剂、血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制剂、血管紧张素 II 拮抗剂、血栓溶解剂、钙通道阻断剂、血栓烷受体拮抗剂、自由基清除剂、抗血小板药、 β -肾上腺素受体阻断药、 α -受体阻断药、交感神经抑制剂、洋地黄制剂、肌力调节药以及抗高血脂药。

48. 如权利要求 44 至 47 中任一项所述的方法, 其中所述医药学上可接受的盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。

49. 一种降低有需要的哺乳动物受试者中 C-反应蛋白、反应性氧物质、白介素-6、TNF- α 以及心肌钙蛋白 I 中的一者或多者的水平的方法, 所述方法包括: 向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

50. 如权利要求 49 所述的方法, 其中所述受试者已经被诊断患有心脏衰竭。

51. 如权利要求 50 所述的方法, 其中所述心脏衰竭由以下引起: 高血压; 缺血性心脏病; 暴露于心脏毒性化合物; 心肌炎; 甲状腺病; 病毒感染; 牙龈炎; 药物滥用; 酒精滥用; 心包炎; 动脉粥样硬化; 血管病; 肥厚型心肌病; 急性心肌梗塞; 左心室收缩功能不全; 冠状动脉绕道手术; 饥饿; 饮食失调; 或遗传缺陷。

52. 如权利要求 49 至 51 中任一项所述的方法, 其中所述肽是经口、局部、全身、静脉内、皮下、腹膜内或肌肉内施用。

53. 如权利要求 49 至 52 中任一项所述的方法, 其进一步包括独立地、依序或同时将心血管剂施用于所述受试者。

54. 如权利要求 53 所述的方法, 其中所述心血管剂选自自由以下组成的群组: 抗心律失常剂、血管舒张剂、抗心绞痛剂、皮质类固醇、强心苷、利尿剂、镇静剂、血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制剂、血管紧张素 II 拮抗剂、血栓溶解剂、钙通道阻断剂、血栓烷受体拮抗剂、自由基清除剂、抗血小板药、 β -肾上腺素受体阻断药、 α -受体阻断药、交感神经抑制剂、洋地

黄制剂、肌力调节药以及抗高血脂药。

55. 如权利要求 49 至 54 中任一项所述的方法, 其中所述医药学上可接受的盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。

56. 一种预防、治疗或改善具有水平升高的 C- 反应蛋白、反应性氧物质、白介素 -6、TNF- α 以及心肌钙蛋白 I 中的一者或多者的哺乳动物受试者的心脏衰竭的方法, 所述方法包括: 向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

57. 如权利要求 56 所述的方法, 其中所述受试者具有至少一个与心脏衰竭相关的风险因素, 所述风险因素选自由以下组成的群组: 高血压; 冠状动脉病; 心脏病发作; 不规则心跳; 糖尿病; 服用糖尿病药物罗格列酮或吡格列酮; 睡眠呼吸暂停; 先天性心脏缺陷; 病毒感染; 饮酒; 肥胖; 吸烟; 久坐的生活方式; 高胆固醇; 心脏衰竭的家族史; 压力; 以及肾病。

58. 如权利要求 56 至 57 中任一项所述的方法, 其进一步包括独立地、依序或同时将心血管剂施用于所述受试者。

59. 如权利要求 58 所述的方法, 其中所述心血管剂选自由以下组成的群组: 抗心律失常剂、血管舒张剂、抗心绞痛剂、皮质类固醇、强心苷、利尿剂、镇静剂、血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制剂、血管紧张素 II 拮抗剂、血栓溶解剂、钙通道阻断剂、血栓烷受体拮抗剂、自由基清除剂、抗血小板药、 β -肾上腺素受体阻断药、 α -受体阻断药、交感神经抑制剂、洋地黄制剂、肌力调节药以及抗高血脂药。

60. 如权利要求 56 至 59 中任一项所述的方法, 其中所述医药学上可接受的盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。

61. 一种预防、改善或治疗具有水平升高的 C- 反应蛋白、反应性氧物质、白介素 -6、TNF- α 以及心肌钙蛋白 I 中的一者或多者的哺乳动物受试者的 LV 重塑的方法, 所述方法包括: 向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

62. 一种改进具有水平升高的 C- 反应蛋白、反应性氧物质、白介素 -6、TNF- α 以及心肌钙蛋白 I 中的一者或多者的哺乳动物受试者的 LV 功能的方法, 所述方法包括: 向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

63. 如权利要求 61 至 62 中任一项所述的方法, 其中所述哺乳动物受试者已经罹患或可能罹患心脏衰竭、心肌梗塞、或其它狭窄或血管事件。

64. 如权利要求 61 至 63 中任一项所述的方法, 其中所述医药学上可接受的盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。

65. 一种降低有需要的哺乳动物受试者中 Nt-BNP 原和 / 或心肌钙蛋白 I 的水平的方法, 所述方法包括: 向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

66. 如权利要求 65 所述的方法, 其中所述受试者已经罹患急性心肌梗塞。

67. 如权利要求 65 所述的方法, 其中 Nt-BNP 原和 / 或心肌钙蛋白 I 的降低是 LV 重塑的有效预防、治疗或改善的指标。

68. 一种降低有需要的哺乳动物受试者中心肌钙蛋白 I 的水平的方法, 所述方法包括: 向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的

盐。

69. 如权利要求 68 所述的方法,其中所述受试者已经被诊断患有心脏衰竭。

70. 如权利要求 69 所述的方法,其中所述心脏衰竭由以下引起:高血压;缺血性心脏病;暴露于心脏毒性化合物;心肌炎;甲状腺病;病毒感染;牙龈炎;药物滥用;酒精滥用;心包炎;动脉粥样硬化;血管病;肥厚型心肌病;急性心肌梗塞;左心室收缩功能不全;冠状动脉绕道手术;饥饿;饮食失调;或遗传缺陷。

71. 如权利要求 68 至 70 中任一项所述的方法,其中所述肽是经口、局部、全身、静脉内、皮下、腹膜内或肌肉内施用。

72. 如权利要求 68 至 71 中任一项所述的方法,其进一步包括独立地、依序或同时将心血管剂施用于所述受试者。

73. 如权利要求 72 所述的方法,其中所述心血管剂选自由以下组成的群组:抗心律失常剂、血管舒张剂、抗心绞痛剂、皮质类固醇、强心苷、利尿剂、镇静剂、血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂、血管紧张素 II 拮抗剂、血栓溶解剂、钙通道阻断剂、血栓烷受体拮抗剂、自由基清除剂、抗血小板药、 β -肾上腺素受体阻断药、 α -受体阻断药、交感神经抑制剂、洋地黄制剂、肌力调节药以及抗高血脂药。

74. 如权利要求 68 至 73 中任一项所述的方法,其中所述医药学上可接受的盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。

75. 一种预防、治疗或改善具有水平升高的心肌钙蛋白 I 的哺乳动物受试者的心脏衰竭的方法,所述方法包括:向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

76. 如权利要求 75 所述的方法,其中所述受试者具有至少一个与心脏衰竭相关的风险因素,所述风险因素选自由以下组成的群组:高血压;冠状动脉病;心脏病发作;不规则心跳;糖尿病;服用糖尿病药物罗格列酮或吡格列酮;睡眠呼吸暂停;先天性心脏缺陷;病毒感染;饮酒;肥胖;吸烟;久坐的生活方式;高胆固醇;心脏衰竭的家族史;压力;以及肾病。

77. 如权利要求 75 至 76 中任一项所述的方法,其进一步包括独立地、依序或同时将心血管剂施用于所述受试者。

78. 如权利要求 77 所述的方法,其中所述心血管剂选自由以下组成的群组:抗心律失常剂、血管舒张剂、抗心绞痛剂、皮质类固醇、强心苷、利尿剂、镇静剂、血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂、血管紧张素 II 拮抗剂、血栓溶解剂、钙通道阻断剂、血栓烷受体拮抗剂、自由基清除剂、抗血小板药、 β -肾上腺素受体阻断药、 α -受体阻断药、交感神经抑制剂、洋地黄制剂、肌力调节药以及抗高血脂药。

79. 如权利要求 75 至 78 中任一项所述的方法,其中所述医药学上可接受的盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。

80. 一种减少有需要的哺乳动物受试者中 MLCL AT1 或 ALCAT1 的表达的方法,所述方法包括:向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2' 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

81. 如权利要求 80 中任一项所述的方法,其中所述受试者已经被诊断患有心脏衰竭。

82. 如权利要求 81 所述的方法,其中所述心脏衰竭由以下引起:高血压;缺血性心脏病;暴露于心脏毒性化合物;心肌炎;甲状腺病;病毒感染;牙龈炎;药物滥用;酒精滥用;

心包炎 ; 动脉粥样硬化 ; 血管病 ; 肥厚型心肌病 ; 急性心肌梗塞 ; 左心室收缩功能不全 ; 冠状动脉绕道手术 ; 饥饿 ; 饮食失调 ; 或遗传缺陷。

83. 如权利要求 80 至 82 中任一项所述的方法, 其中所述肽是经口、局部、全身、静脉内、皮下、腹膜内或肌肉内施用。

84. 如权利要求 80 至 83 中任一项所述的方法, 其进一步包括独立地、依序或同时将心血管剂施用于所述受试者。

85. 如权利要求 84 所述的方法, 其中所述心血管剂选自自由以下组成的群组 : 抗心律失常剂、血管舒张剂、抗心绞痛剂、皮质类固醇、强心苷、利尿剂、镇静剂、血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制剂、血管紧张素 II 拮抗剂、血栓溶解剂、钙通道阻断剂、血栓烷受体拮抗剂、自由基清除剂、抗血小板药、 β -肾上腺素受体阻断药、 α -受体阻断药、交感神经抑制剂、洋地黄制剂、肌力调节药以及抗高血脂药。

86. 如权利要求 80 至 86 中任一项所述的方法, 其中所述医药学上可接受的盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。

87. 一种增加有需要的哺乳动物受试者中 Taz1 的表达的方法, 所述方法包括 : 向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

88. 如权利要求 87 中任一项所述的方法, 其中所述受试者已经被诊断患有心脏衰竭。

89. 如权利要求 88 所述的方法, 其中所述心脏衰竭由以下引起 : 高血压 ; 缺血性心脏病 ; 暴露于心脏毒性化合物 ; 心肌炎 ; 甲状腺病 ; 病毒感染 ; 牙龈炎 ; 药物滥用 ; 酒精滥用 ; 心包炎 ; 动脉粥样硬化 ; 血管病 ; 肥厚型心肌病 ; 急性心肌梗塞 ; 左心室收缩功能不全 ; 冠状动脉绕道手术 ; 饥饿 ; 饮食失调 ; 或遗传缺陷。

90. 如权利要求 87 至 89 中任一项所述的方法, 其中所述肽是经口、局部、全身、静脉内、皮下、腹膜内或肌肉内施用。

91. 如权利要求 87 至 90 中任一项所述的方法, 其进一步包括独立地、依序或同时将心血管剂施用于所述受试者。

92. 如权利要求 91 所述的方法, 其中所述心血管剂选自自由以下组成的群组 : 抗心律失常剂、血管舒张剂、抗心绞痛剂、皮质类固醇、强心苷、利尿剂、镇静剂、血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制剂、血管紧张素 II 拮抗剂、血栓溶解剂、钙通道阻断剂、血栓烷受体拮抗剂、自由基清除剂、抗血小板药、 β -肾上腺素受体阻断药、 α -受体阻断药、交感神经抑制剂、洋地黄制剂、肌力调节药以及抗高血脂药。

93. 如权利要求 87 至 92 中任一项所述的方法, 其中所述医药学上可接受的盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。

94. 一种降低具有表达增加的 MLCL AT1 或 ALCAT1 和 / 或表达减少的 Taz1 的哺乳动物受试者的心脏衰竭风险的方法, 所述方法包括 : 向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

95. 一种稳定患有或疑似患有心脏衰竭的哺乳动物受试者的心磷脂重塑的方法。

96. 如权利要求 95 所述的方法, 其中所述哺乳动物受试者具有表达增加的 MLCL AT1 或 ALCAT1 和 / 或表达减少的 Taz1。

97. 如权利要求 95 所述的方法, 其中所述心磷脂是 18:2 心磷脂物质。

98. 一种降低有需要的哺乳动物受试者中心肌钙蛋白 I 的水平的方法, 所述方法包括 :

向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

99. 如权利要求 98 所述的方法, 其中所述受试者已经被诊断患有心脏衰竭。

100. 如权利要求 99 所述的方法, 其中所述心脏衰竭由以下引起: 高血压; 缺血性心脏病; 暴露于心脏毒性化合物; 心肌炎; 甲状腺病; 病毒感染; 牙龈炎; 药物滥用; 酒精滥用; 心包炎; 动脉粥样硬化; 血管病; 肥厚型心肌病; 急性心肌梗塞; 左心室收缩功能不全; 冠状动脉绕道手术; 饥饿; 饮食失调; 或遗传缺陷。

101. 如权利要求 98 至 100 中任一项所述的方法, 其中所述肽是经口、局部、全身、静脉内、皮下、腹膜内或肌肉内施用。

102. 如权利要求 98 至 101 中任一项所述的方法, 其进一步包括独立地、依序或同时将心血管剂施用于所述受试者。

103. 如权利要求 102 所述的方法, 其中所述心血管剂选自以下组成的群组: 抗心律失常剂、血管舒张剂、抗心绞痛剂、皮质类固醇、强心苷、利尿剂、镇静剂、血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制剂、血管紧张素 II 拮抗剂、血栓溶解剂、钙通道阻断剂、血栓烷受体拮抗剂、自由基清除剂、抗血小板药、 β -肾上腺素受体阻断药、 α -受体阻断药、交感神经抑制剂、洋地黄制剂、肌力调节药以及抗高血脂药。

104. 如权利要求 98 至 102 中任一项所述的方法, 其中所述医药学上可接受的盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。

105. 一种预防、治疗或改善具有水平升高的心肌钙蛋白 I 的哺乳动物受试者的心脏衰竭的方法, 所述方法包括: 向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

106. 如权利要求 105 所述的方法, 其中所述受试者具有至少一个与心脏衰竭相关的风险因素, 所述风险因素选自以下组成的群组: 高血压; 冠状动脉病; 心脏病发作; 不规则心跳; 糖尿病; 服用糖尿病药物罗格列酮或吡格列酮; 睡眠呼吸暂停; 先天性心脏缺陷; 病毒感染; 饮酒; 肥胖; 吸烟; 久坐的生活方式; 高胆固醇; 心脏衰竭的家族史; 压力; 以及肾病。

107. 如权利要求 105 至 106 中任一项所述的方法, 其进一步包括独立地、依序或同时将心血管剂施用于所述受试者。

108. 如权利要求 107 所述的方法, 其中所述心血管剂选自以下组成的群组: 抗心律失常剂、血管舒张剂、抗心绞痛剂、皮质类固醇、强心苷、利尿剂、镇静剂、血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制剂、血管紧张素 II 拮抗剂、血栓溶解剂、钙通道阻断剂、血栓烷受体拮抗剂、自由基清除剂、抗血小板药、 β -肾上腺素受体阻断药、 α -受体阻断药、交感神经抑制剂、洋地黄制剂、肌力调节药以及抗高血脂药。

109. 如权利要求 105 至 108 中任一项所述的方法, 其中所述医药学上可接受的盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。

110. 一种增加有需要的受试者中线粒体 ATP 敏感性钾通道 (mK ATP) 活性的方法, 所述方法包括: 向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

111. 如权利要求 110 中任一项所述的方法, 其中所述受试者已经被诊断患有心脏衰

竭。

112. 如权利要求 111 所述的方法,其中所述心脏衰竭由以下引起:高血压;缺血性心脏病;暴露于心脏毒性化合物;心肌炎;甲状腺病;病毒感染;牙龈炎;药物滥用;酒精滥用;心包炎;动脉粥样硬化;血管病;肥厚型心肌病;急性心肌梗塞;左心室收缩功能不全;冠状动脉绕道手术;饥饿;饮食失调;或遗传缺陷。

113. 如权利要求 110 至 112 中任一项所述的方法,其中所述肽是经口、局部、全身、静脉内、皮下、腹膜内或肌肉内施用。

114. 如权利要求 110 至 113 中任一项所述的方法,其中所述医药学上可接受的盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。

115. 一种降低具有减小的 mK ATP 活性的哺乳动物受试者的心脏衰竭风险的方法,所述方法包括:向所述受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

116. 一种稳定患有或疑似患有心脏衰竭的哺乳动物受试者中的线粒体的方法。

117. 如权利要求 115 所述的方法,其中所述哺乳动物受试者具有活性减小的 mK ATP。

降低与心脏衰竭相关的风险和与其相关的方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求 2012 年 10 月 22 日提交的美国申请号 61/716,867、2013 年 5 月 13 日提交的美国申请号 61/822,752、2013 年 6 月 26 日提交的美国申请号 61/839,743、2013 年 6 月 26 日提交的美国申请号 61/839,750 的优先权。上文所列的这些申请的全部内容特此以全文引用的方式并入。

技术领域

[0003] 本发明技术大体上涉及用于预防或治疗心脏衰竭、减少与心脏衰竭相关的风险因素、和 / 或降低心脏衰竭的可能性 (风险) 或严重性、和 / 或预防或治疗左心室重塑的组合物和方法。详细地说,本发明技术涉及施用有效量的芳香族阳离子肽以在哺乳动物受试者中降低或标准化 C- 反应蛋白、TNF- α 、IL-6 或反应性氧物质 (“ROS”)、脑利钠肽、心肌钙蛋白 I 的水平,和 / 或减少 ALCAT 1、MLCL AT1 的表达。本发明技术还涉及施用有效量的芳香族阳离子肽以增加和 / 或标准化 Taz1 的表达和 / 或线粒体 ATP 敏感性钾通道活性。

背景技术

[0004] 提供以下描述以帮助读者理解。所提供的信息或所引用的参考文献都不应被承认是本发明的现有技术。

[0005] 心脏衰竭是全世界死亡率和发病率的主要原因。在美国,其影响近 500 万人并且是唯一处于上升中的主要心血管病症。据估计,在美国每年诊断出 400,000 至 700,000 例新病例,并且在美国归因于这种病状的死亡数自 1979 年以来已经增加了一倍以上,当前平均每年 250,000 例。尽管心脏衰竭影响所有年龄的人,但心脏衰竭风险随着年龄而增加并且在老年人当中最常见。因此,预期伴有心脏衰竭的人数随着老年人口在接下来的几十年中增长而显著增加。心脏衰竭的原因已经与各种病症联系起来,包括冠状动脉病、动脉粥样硬化、陈旧性心肌梗塞、高血压、异常心脏瓣膜、心肌病或心肌炎、先天性心脏病、严重肺病、糖尿病、严重贫血、甲状腺功能亢进、心律失常或节律紊乱。

[0006] 心脏衰竭 (HF), 也被称为充血性心脏衰竭, 通常特征为减少的心输出量、降低的心收缩力、异常的舒张顺应性、减少的心搏量、以及肺充血。心脏衰竭的临床表现反映了心肌收缩状态的下降和心输出量的减少。除了心收缩力的缺乏以外, HF 疾病病况还可能由左心室衰竭、右心室衰竭、双心室衰竭、收缩功能不全、舒张功能不全以及肺效应引起。与心脏病相关的心肌收缩功能的进行性下降常常导致关键器官的灌注不足。

[0007] 在心肌梗塞之后, 存在促使 LV 扩张、心脏衰竭以及死亡的动态和进行性左心室 (LV) 重塑。LV 重塑增加 LV 壁压力, 这导致需氧量的增加。为了帮助补偿心肌的损失和减少的心搏量, LV 显现整体扩张并且 LV 的非梗塞壁显现离心性肥厚。随着心室扩张, 扩张过程最初有助于补偿减少的心搏量。然后, 最终进行性扩张和肥厚导致充血性心脏衰竭。心肌梗塞后一年死亡的最强预测因子之一是左心室的体积。

发明内容

[0008] 本发明技术大体上涉及芳香族阳离子肽治疗或预防心脏衰竭的用途。本发明技术还涉及通过施用治疗有效量的芳香族阳离子肽或其医药学上可接受的盐,例如 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 来降低有需要的受试者中 C-反应蛋白、TNF- α 、IL-6 或反应性氧物质 (“ROS”)、脑利钠肽以及心肌钙蛋白 I 的水平。在一些实施方案中,降低 C-反应蛋白、TNF- α 、IL-6、ROS 或心肌钙蛋白 I 的水平适用于在受试者中治疗或预防心脏衰竭、减少与心脏衰竭相关的风险因素、和 / 或降低心脏衰竭的可能性 (风险) 或严重性。

[0009] 本发明技术还涉及经由将治疗有效量的芳香族阳离子肽施用于有需要的受试者来治疗或预防哺乳动物的左心室重塑。在一些实施方案中,芳香族阳离子肽稳定心脏组织中的线粒体生物发生。在一些实施方案中,将芳香族阳离子肽施用于有需要的受试者引起脑利钠肽的降低 (如 NT-BNP 原的降低所测量), 其与 LV 重塑的减少相关联。在一些实施方案中,将芳香族阳离子肽施用于有需要的受试者引起心肌钙蛋白 I 的降低, 其与 LV 重塑的减少相关联。

[0010] 在一个方面,本公开提供了治疗或预防心脏衰竭,其包括向哺乳动物受试者施用治疗有效量的芳香族阳离子肽或其医药学上可接受的盐,例如 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂。在一些实施方案中,芳香族阳离子肽是具有以下的肽:

[0011] 至少一个净正电荷;

[0012] 最少四个氨基酸;

[0013] 最多约二十个氨基酸;

[0014] 净正电荷的最小数 (p_m) 与氨基酸残基的总数 (r) 之间的关系,其中 $3p_m$ 为小于或等于 $r+1$ 的最大数;以及芳香族基团的最小数 (a) 与净正电荷的总数 (p_t) 之间的关系,其中 $2a$ 为小于或等于 p_t+1 的最大数,除了当 a 为 1 时, p_t 也可以为 1。在特定实施方案中,哺乳动物受试者是人类。

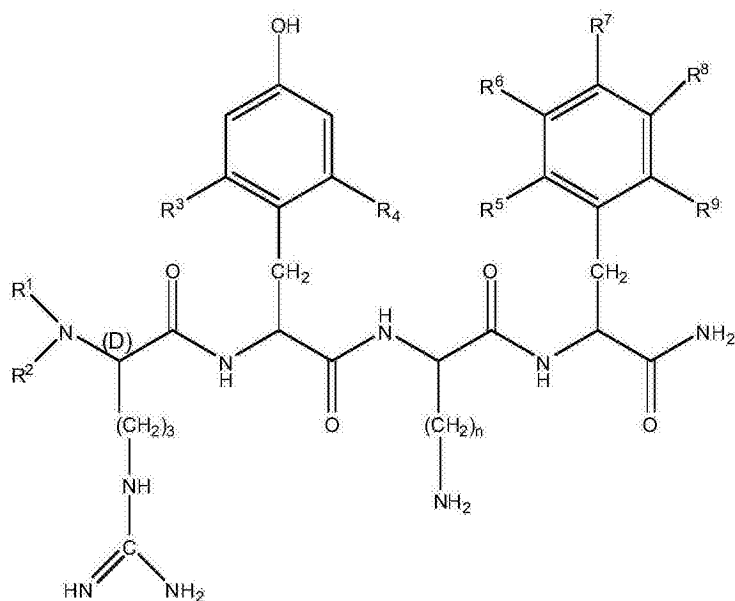
[0015] 在一些实施方案中, $2p_m$ 为小于或等于 $r+1$ 的最大数,并且 a 可以等于 p_t 。芳香族阳离子肽可以是具有最少两个或最少三个正电荷的水溶性肽。

[0016] 在一些实施方案中,肽包含一个或多个非天然存在的氨基酸,例如一个或多个 D-氨基酸。在一些实施方案中,在 C 端处氨基酸的 C 端羧基被酰胺化。在某些实施方案中,肽具有最少四个氨基酸。肽可以具有最多约 6 个、最多约 9 个、或最多约 12 个氨基酸。

[0017] 在一些实施方案中,肽在 N 端处包含酪氨酸或 2', 6'-二甲基酪氨酸 (二甲基酪氨酸由 Dmt 表示) 残基。举例来说,肽可以具有式 Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH₂ 或 2', 6'-Dmt-D-Arg-Phe-Lys-NH₂。在另一个实施方案中,肽在 N 端处包含苯丙氨酸或 2', 6'-二甲基苯丙氨酸残基。举例来说,肽可以具有式 Phe-D-Arg-Phe-Lys-NH₂ 或 2', 6'-Dmp-D-Arg-Phe-Lys-NH₂。在一个特定实施方案中,芳香族阳离子肽具有式 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂。

[0018] 在一些实施方案中,肽是由式 I 定义:

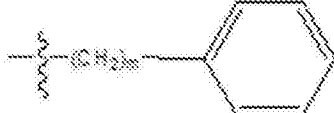
[0019]

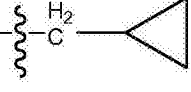


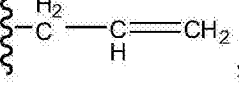
[0020] 其中 R^1 和 R^2 各自独立地选自

[0021] (i) 氢；

[0022] (ii) 直链或支链 C_1 - C_6 烷基；

[0023] (iii)  其中 $m = 1$ 至 3 ；

[0024] (iv) ；

[0025] (v) ；

[0026] R^3 和 R^4 各自独立地选自

[0027] (i) 氢；

[0028] (ii) 直链或支链 C_1 - C_6 烷基；

[0029] (iii) C_1 - C_6 烷氧基；

[0030] (iv) 氨基；

[0031] (v) C_1 - C_4 烷基氨基；

[0032] (vi) C_1 - C_4 二烷基氨基；

[0033] (vii) 硝基；

[0034] (viii) 羟基；

[0035] (ix) 卤素，其中“卤素”包涵氯、氟、溴以及碘；

[0036] R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 以及 R^9 各自独立地选自

[0037] (i) 氢；

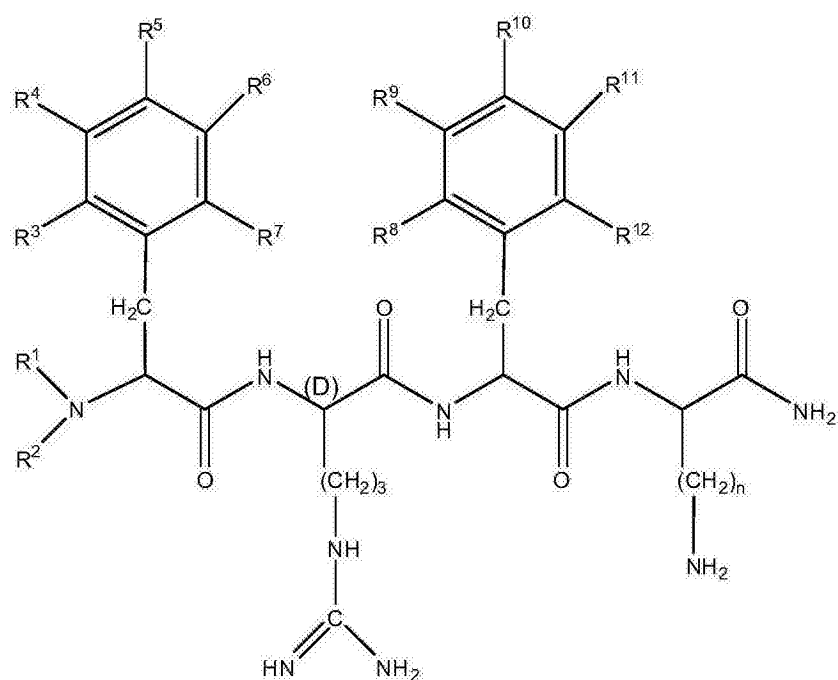
[0038] (ii) 直链或支链 C_1 - C_6 烷基；

[0039] (iii) C_1 - C_6 烷氧基；

[0040] (iv) 氨基；

- [0041] (v) C_1 - C_4 烷基氨基；
 [0042] (vi) C_1 - C_4 二烷基氨基；
 [0043] (vii) 硝基；
 [0044] (viii) 羟基；
 [0045] (ix) 卤素，其中“卤素”包涵氯、氟、溴以及碘；并且
 [0046] n 为 1 至 5 的整数。
 [0047] 在一些实施方案中， R^1 和 R^2 为氢； R^3 和 R^4 为甲基； R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 以及 R^9 全部为氢；并且 n 为 4。
 [0048] 在一些实施方案中，肽是由式 II 定义：

[0049]



[0050] 其中 R^1 和 R^2 各自独立地选自

- [0051] (i) 氢；
 [0052] (ii) 直链或支链 C_1 - C_6 烷基；

[0053] (iii) 其中 $m = 1$ 至 3；

[0054] (iv) ；

[0055] (v) ；

[0056] R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 以及 R^{12} 各自独立地选自

- [0057] (i) 氢；
 [0058] (ii) 直链或支链 C_1 - C_6 烷基；
 [0059] (iii) C_1 - C_6 烷氧基；

- [0060] (iv) 氨基；
- [0061] (v) C_1 - C_4 烷基氨基；
- [0062] (vi) C_1 - C_4 二烷基氨基；
- [0063] (vii) 硝基；
- [0064] (viii) 羟基；
- [0065] (ix) 卤素，其中“卤素”包涵氯、氟、溴以及碘；并且
- [0066] n 为 1 至 5 的整数。
- [0067] 在一些实施方案中， R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 以及 R^{12} 全部为氢；并且 n 为 4。在另一个实施方案中， R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 以及 R^{11} 全部为氢； R^8 和 R^{12} 为甲基； R^{10} 为羟基；并且 n 为 4。
- [0068] 在一个方面，本发明技术提供了降低有需要的哺乳动物受试者中 C- 反应蛋白、TNF- α 、白介素 -6、反应性氧物质以及心肌钙蛋白 I 中的一者或多者的水平的方法。在一些实施方案中，这种方法包括向受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。
- [0069] 另外或替代地，在另一个方面，本发明技术提供了预防、治疗或改善具有水平升高的 C- 反应蛋白、TNF- α 、白介素 -6、反应性氧物质以及心肌钙蛋白 I 中的一者或多者的哺乳动物受试者的心脏衰竭的方法。在一些实施方案中，这种方法包括向受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。
- [0070] 在一些实施方案中，受试者已经被诊断患有心脏衰竭。在一些实施方案中，心脏衰竭由以下引起：高血压；缺血性心脏病；暴露于心脏毒性化合物；心肌炎；甲状腺病；病毒感染；牙龈炎；药物滥用；酒精滥用；心包炎；动脉粥样硬化；血管病；肥厚型心肌病；急性心肌梗塞；左心室收缩功能不全；冠状动脉绕道手术；饥饿；饮食失调；或遗传缺陷。
- [0071] 在一些实施方案中，受试者具有至少一个与心脏衰竭相关的风险因素，所述风险因素选自由以下组成的群组：高血压；冠状动脉病；心脏病发作；不规则心跳；糖尿病；服用糖尿病药物罗格列酮 (rosiglitazone) 或吡格列酮 (pioglitazone)；睡眠呼吸暂停；先天性心脏缺陷；病毒感染；饮酒；肥胖；吸烟；久坐的生活方式；高胆固醇；心脏衰竭的家族史；压力；以及肾病。
- [0072] 在一些实施方案中，肽是经口、局部、全身、静脉内、皮下、腹膜内或肌肉内施用。
- [0073] 另外或替代地，在一些实施方案中，施用肽以独立地、依序或同时将心血管剂施用于受试者。在一些实施方案中，心血管剂是以下药剂中的一者或多者：抗心律失常剂、血管舒张剂、抗心绞痛剂、皮质类固醇、强心苷 (cardioglycoside)、利尿剂、镇静剂、血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制剂、血管紧张素 II 拮抗剂、血栓溶解剂、钙通道阻断剂、血栓烷受体拮抗剂、自由基清除剂、抗血小板药、 β -肾上腺素受体阻断药、 α -受体阻断药、交感神经抑制剂、洋地黄制剂、肌力调节药 (inotrope) 以及抗高血脂药。
- [0074] 在一些实施方案中，肽是呈医药学上可接受的盐形式的 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂。在一些实施方案中，盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。
- [0075] 另外或替代地，在一些方面，提供了一种改进哺乳动物受试者的 LV 功能的方法。在一些实施方案中，受试者具有水平升高的 C- 反应蛋白、反应性氧物质、白介素 -6、TNF- α 以及心肌钙蛋白 I 中的一者或多者。在一些实施方案中，这种方法包括：向受试者施用治疗

有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

[0076] 在一些实施方案中,哺乳动物受试者已经罹患或可能罹患心脏衰竭、心肌梗塞、或其它狭窄或血管事件。

[0077] 在一些实施方案中,肽是呈医药学上可接受的盐形式的 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂。在一些实施方案中,盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。

[0078] 在一个方面,本发明技术提供了降低有需要的哺乳动物受试者中 Nt-BNP 原和 / 或心肌钙蛋白 I 的水平的方法,这种方法包括:向受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。在一些实施方案中,受试者已经罹患急性心肌梗塞。在一些实施方案中,Nt-BNP 原和 / 或心肌钙蛋白 I 的降低是 LV 重塑的有效预防、治疗或改善的指标。

[0079] 在一个方面,本发明技术提供了减少有需要的哺乳动物受试者中 MLCL AT1 或 ALCAT1 的表达的方法。在一些实施方案中,这种方法包括向受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。在一些实施方案中,受试者已经被诊断患有心脏衰竭。

[0080] 在另一个方面,本发明技术提供了增加有需要的哺乳动物受试者中 Taz1 的表达的方法。在一些实施方案中,这种方法包括向受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。在一些实施方案中,受试者已经被诊断患有心脏衰竭。

[0081] 在另一个方面,本发明技术提供了降低具有表达增加的 MLCL AT1 或 ALCAT1 和 / 或表达减少的 Taz1 的哺乳动物受试者的心脏衰竭风险的方法。在一些实施方案中,这种方法包括向受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

[0082] 在另一个方面,本发明技术提供了稳定患有或疑似患有心脏衰竭的哺乳动物受试者的心磷脂重塑的方法。在一些实施方案中,哺乳动物受试者具有表达增加的 MLCL AT1 或 ALCAT1 和 / 或表达减少的 Taz1。在一些实施方案中,心磷脂是 18:2 心磷脂物质。

[0083] 在一个方面,本发明技术提供了降低有需要的哺乳动物受试者中心肌钙蛋白 I 的水平的方法。在一些实施方案中,这种方法包括向受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

[0084] 另外或替代地,在另一个方面,本发明技术提供了预防、治疗或改善具有水平升高的心肌钙蛋白 I 的哺乳动物受试者的心脏衰竭的方法。在一些实施方案中,这种方法包括向受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

[0085] 在一些实施方案中,受试者已经被诊断患有心脏衰竭。在一些实施方案中,心脏衰竭由以下引起:高血压;缺血性心脏病;暴露于心脏毒性化合物;心肌炎;甲状腺病;病毒感染;牙龈炎;药物滥用;酒精滥用;心包炎;动脉粥样硬化;血管病;肥厚型心肌病;急性心肌梗塞;左心室收缩功能不全;冠状动脉绕道手术;饥饿;饮食失调;或遗传缺陷。

[0086] 在一些实施方案中,受试者具有至少一个与心脏衰竭相关的风险因素,所述风险因素选自由以下组成的群组:高血压;冠状动脉病;心脏病发作;不规则心跳;糖尿病;服用糖尿病药物罗格列酮或吡格列酮;睡眠呼吸暂停;先天性心脏缺陷;病毒感染;饮酒;肥胖;吸烟;久坐的生活方式;高胆固醇;心脏衰竭的家族史;压力;以及肾病。

[0087] 在一些实施方案中,肽是经口、局部、全身、静脉内、皮下、腹膜内或肌肉内施用。

[0088] 另外或替代地,在一些实施方案中,施用肽以独立地、依序或同时将心血管剂施用于受试者。在一些实施方案中,心血管剂是以下药剂中的一者或多者:抗心律失常剂、血管舒张剂、抗心绞痛剂、皮质类固醇、强心苷、利尿剂、镇静剂、血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂、血管紧张素 II 拮抗剂、血栓溶解剂、钙通道阻断剂、血栓烷受体拮抗剂、自由基清除剂、抗血小板药、 β -肾上腺素受体阻断药、 α -受体阻断药、交感神经抑制剂、洋地黄制剂、肌力调节药以及抗高血脂药。

[0089] 在一些实施方案中,肽是呈医药学上可接受的盐形式的 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂。在一些实施方案中,盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。

[0090] 在另一个方面,本发明技术提供了增加有需要的受试者中线粒体 ATP 敏感性钾通道(mK ATP)活性的方法,这种方法包括向受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

[0091] 另外或替代地,在一些方面,本发明技术提供了降低具有减小的 mK ATP 活性的哺乳动物受试者的心脏衰竭风险的方法,这种方法包括向受试者施用治疗有效量的肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐。

[0092] 在一些实施方案中,受试者已经被诊断患有心脏衰竭。在一些实施方案中,心脏衰竭由以下引起:高血压;缺血性心脏病;暴露于心脏毒性化合物;心肌炎;甲状腺病;病毒感染;牙龈炎;药物滥用;酒精滥用;心包炎;动脉粥样硬化;血管病;肥厚型心肌病;急性心肌梗塞;左心室收缩功能不全;冠状动脉绕道手术;饥饿;饮食失调;或遗传缺陷。在一些实施方案中,肽是经口、局部、全身、静脉内、皮下、腹膜内或肌肉内施用。在一些实施方案中,医药学上可接受的盐包括乙酸盐或三氟乙酸盐。

[0093] 在另一个方面,本发明技术提供了稳定患有或疑似患有心脏衰竭的哺乳动物受试者中的线粒体的方法。在一些实施方案中,哺乳动物受试者具有活性减小的 mK ATP。

附图说明

[0094] 图 1 是示出与基线水平和未处理的对照相比,用芳香族阳离子肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂处理 6 周或 12 周之后如通过高灵敏度检测所测定的 C-反应蛋白的水平图。

[0095] 图 2 是示出与基线水平和未处理的对照相比,用芳香族阳离子肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂处理 6 周或 12 周之后 ROS 的水平图。

[0096] 图 3 是示出与基线水平和未处理的对照相比,用芳香族阳离子肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂处理 6 周或 12 周之后白介素-6(IL-6)的水平图。

[0097] 图 4 是示出与基线水平和未处理的对照相比,用芳香族阳离子肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂处理 6 周或 12 周之后肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 的水平图。

[0098] 图 5 是示出与基线水平和未处理的对照相比,用芳香族阳离子肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂处理 6 周或 12 周之后 NT-BNP 原(N 端脑利钠肽原)的水平图。

[0099] 图 6 是示出在心脏衰竭模型中 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂对心磷脂物质

18:2-18:2-18:2-18:2 的心磷脂含量的影响的图形。

[0100] 图 7A 是示出在心脏衰竭模型中 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂对 Taz1 表达的影响的图形。

[0101] 图 7B 是示出在心脏衰竭模型中 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂对 MLCL AT1 表达的影响的图形。

[0102] 图 7C 是示出在心脏衰竭模型中 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂对 ALCAT1 表达的影响的图形。

具体实施方式

[0103] 应了解,下文在各种细节层面上描述本发明的某些方面、模式、实施方案、变化以及特征以提供对本发明的实质性理解。下文提供如本说明书中所用的某些术语的定义。除非另有定义,否则本文所用的所有技术和科学术语一般具有与本发明所属领域的一般技术人员通常所理解的含义相同的含义。

[0104] 除非内容另有明确指示,否则如本说明书和随附权利要求书中所用的单数形式“一 (a/an)”和“所述”包括复数个参考物。举例来说,提及“细胞”包括两个或更多个细胞的组合,等等。

[0105] 如本文所用的向受试者“施用”药剂、药物或肽包括向受试者引入或递送化合物以执行其预期功能的任何途径。施用可以经由任何适合的途径来进行,包括经口、鼻内、肠道外(静脉内、肌肉内、腹膜内或皮下),或局部。施用包括自行施用和由他人施用。

[0106] 如本文所用的术语“氨基酸”包括天然存在的氨基酸和合成氨基酸,以及按类似于天然存在的氨基酸的方式发挥功能的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。天然存在的氨基酸是由遗传密码编码的那些,以及稍后加以修饰的那些氨基酸,例如羟基脯氨酸、 γ -羧基谷氨酸以及 O-磷酸丝氨酸。氨基酸类似物指的是具有与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构,即,结合至氢、羧基、氨基以及 R 基团的 α -碳的化合物,例如高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砷、甲硫氨酸甲基砷。所述类似物具有修饰的 R 基团(例如,正亮氨酸)或修饰的肽骨架,但保留与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构。氨基酸模拟物指的是具有不同于氨基酸的一般化学结构的结构,但按类似于天然存在的氨基酸的方式发挥功能的化合物。氨基酸在本文中可以由其通常已知的三字母符号或由 IUPAC-IUB 生物化学命名委员会(Biochemical Nomenclature Commission)推荐的单字母符号来提及。

[0107] 如本文所用的关于施用的术语“长期”指的是施用治疗剂,诸如芳香族阳离子肽,持续约 3 天、约 4 天、约 5 天、约 6 天、约 1 周、约 2 周、约 3 周、4 周、5 周、6 周、约 2 个月、约 3 个月、约 6 个月、约 9 个月、约 1 年或更长时间。在一些实施方案中,长期施用包括每天一次、每天两次、每天 3 至 5 次、每隔一天、每隔两天、每周一次或每月一次施用。

[0108] 如本文所用的术语“有效量”或“治疗有效量”指的是足以达成所需治疗和/或预防作用的量,例如,使得受试者中例如 C-反应蛋白、白介素 6、ROS、TNF- α 、心肌钙蛋白 I、Nt-BNP 原、MLCL AT1 或 ALCAT1 中的一者或多者的水平降低(例如,标准化)的量,和/或足以预防、改善或治疗左心室(LV)重塑和/或改进 LV 功能的量,和/或使得有需要的受试者中例如 Taz1 的表达水平升高(例如,标准化)和/或 mK ATP 增加的量。在治疗或预防应用的情形中,在一些实施方案中,施用于受试者的组合物的量将取决于 C-反应蛋白、白介素

6、ROS、TNF- α 、Nt-BNP 原或心肌钙蛋白 I 的水平, MLCL AT 1、ALCAT1 或 Taz1 的表达, 和 / 或受试者中 mK ATP 的活性, 疾病的类型和严重性, 以及个体的特征, 诸如一般健康状况、年龄、性别、体重以及对药物的耐受性。在一些实施方案中, 其还将取决于疾病的程度、严重性以及类型。技术人员将能够取决于这些和其它因素来确定适当剂量。组合物还可以与一种或多种额外的治疗化合物组合施用。在本文所描述的方法中, 可以将芳香族阳离子肽施用于具有心脏衰竭的一个或多个征象或症状或风险因素, 诸如心肥大、呼吸急促、肝肿大以及心肌梗塞的受试者。举例来说, 在一些实施方案中, 芳香族阳离子肽的治疗有效量包括在施用后受试者中 C-反应蛋白、白介素 6、ROS、TNF- α 和 / 或心肌钙蛋白 I 的水平降低的水平。另外或替代地, 在一些实施方案中, 治疗有效量预防、改善或治疗 LV 重塑和 / 或改进 LV 功能。另外或替代地, 在一些实施方案中, 芳香族阳离子肽的治疗有效量包括在施用后有需要的受试者中 MLCL AT1 或 ALCAT1 的表达减少的水平。另外或替代地, 在一些实施方案中, 芳香族阳离子肽的治疗有效量包括在施用后有需要的受试者中 Taz1 的表达增加的水平。另外或替代地, 在一些实施方案中, 芳香族阳离子肽的治疗有效量包括 mK ATP 的活性增加的水平。在一些实施方案中, 治疗有效量还降低或改善心脏衰竭的生理效应、和 / 或心脏衰竭的风险因素、和 / 或心脏衰竭的可能性。在一些实施方案中, 芳香族阳离子肽的有效量是足以使受试者中脑利钠肽的水平降至例如那个受试者的正常或对照水平的量。

[0109] 如本文所用的术语“充血性心脏衰竭”(CHF)、“慢性心脏衰竭”、“急性心脏衰竭”以及“心脏衰竭”可互换使用, 并且指的是特征为异常低的心输出量的任何病状, 其中心脏不能按足够的速率或以足够的体积泵送血液。当心脏不能足够地泵送血液至身体的其余部分时, 或当一个或多个心脏瓣膜变得狭窄或在其它方面无能时, 血液可以返回至肺中, 导致肺充满了流体。如果这种反向流在延长的时段内发生, 那么可以造成心脏衰竭。心脏衰竭的典型症状包括呼吸短促(呼吸困难)、疲劳、衰弱、当平躺时呼吸困难, 以及腿、脚踝或腹部肿胀(水肿)。心脏衰竭的原因与各种病症有关, 包括冠状动脉病、全身高血压、心肌病或心肌炎、先天性心脏病、异常心脏瓣膜或瓣膜性心脏病、严重肺病、糖尿病、严重贫血、甲状腺功能亢进、心律失常或节律紊乱, 以及心肌梗塞。充血性心脏衰竭的主要征象是心肥大(扩大的心脏)、呼吸急促(呼吸快速; 在左侧衰竭的情况下发生)以及肝肿大(扩大的肝; 在右侧衰竭的情况下发生)。

[0110] 如本文所用的术语“高血压性心肌病”指的是由高血压(hypertension/high blood pressure)的效应引起的心脏衰弱。不受控的高血压随着时间引起心肌衰弱。随着高血压性心肌病恶化, 其可能导致充血性心脏衰竭。高血压性心肌病的早期症状包括咳嗽、衰弱以及疲劳。高血压性心肌病的额外症状包括腿肿胀、体重增加、当平躺时呼吸困难、活动时呼吸短促增加, 以及半夜呼吸短促时觉醒。

[0111] 如本文所用的术语“左心室(LV)重塑”具有本领域的技术人员已知的含义, 并且指的是通常在心肌梗塞之后的病状。在心肌梗塞之后, 存在促使 LV 扩张、心脏衰竭以及死亡的动态和进行性 LV 重塑。在心肌梗塞(MI)的第一周内, 坏死区变薄并拉伸(梗塞膨展), 促成梗塞区的区域扩张。这种现象增加 LV 壁压力, 由此增加需氧量。为了帮助补偿心肌的损失和减少的心搏量, LV 显现整体扩张并且 LV 的非梗塞壁显现离心性肥厚, 借此以周向或纵向方式增添肌节。随着心室扩张, 这个过程最初有助于补偿减少的心搏量, 但最终进行性扩张和肥厚导致充血性心脏衰竭。MI 后一年死亡的最强预测因子之一是左心室的体积; 扩

张越大,死亡机率越高。非梗塞心肌和梗塞边缘区处的心肌的代谢和功能异常可能促成 LV 重塑现象。线粒体结构和功能的异常可以导致支持衰弱的心脏所需的非常肌中 ATP 的产生减少。因此,在一些实施方案中,芳香族阳离子肽,诸如 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂, 适用于在心脏衰竭受试者中治疗、改善和 / 或预防 LV 重塑,和 / 或稳定和 / 或增强剩余的存活心肌的功能。举例来说但并非限制,在一些实施方案中,芳香族阳离子肽降低 Nt-BNP 原和 / 或心肌钙蛋白 I,其中 Nt-BNP 原和 / 或心肌钙蛋白 I 的降低与 LV 重塑的减少或逆转相关联。

[0112] 如本文所用的 CRP、或 TNF- α 、或 IL-6、或 ROS、或 Nt-BNP 原、或心肌钙蛋白 I 水平、和 / 或 MLCL AT1、ALCAT 1 或 Taz1 表达、和 / 或 mK ATP 活性的“标准化”水平指的是降低受试者的 CRP 水平、或 TNF- α 水平、或 IL-6 水平、或 ROS 水平、或 Nt-BNP 原水平、或心肌钙蛋白 I、或 MLCL AT1、或 ALCAT 1 水平和 / 或增加 Taz1 表达或 mK ATP 活性至受试者的基线水平或基线范围,或降低受试者的水平至确定为“正常”或“对照”水平的水平或范围,例如,经由受试者随时间或适当群体(例如,由年龄、种族、疾病病况、药物治疗方案、体重、性别等匹配)的对照研究和 / 或对照取样。如本文所用的“对照水平”指的是对于受试者或对于受试者的适当群体被视为平均或正常的水平。

[0113] 如本文所用的“降低”受试者的 CRP 水平、或 TNF- α 水平、或 IL-6 水平、或 ROS 水平、或 Nt-BNP 原水平、或心肌钙蛋白 I 水平、或 MLCL AT1 表达水平、或 ALCAT1 表达水平意味着降低受试者中 CRP、或 TNF- α 、或 IL-6、或 ROS、或 Nt-BNP 原、或心肌钙蛋白 I 的水平、或 MLCL AT1 或 ALCAT1 表达水平(例如,受试者的血液 CRP 水平)。在一些实施方案中,降低 CRP 水平、或 TNF- α 水平、或 IL-6 水平、或 ROS 水平、或 Nt-BNP 原水平、或心肌钙蛋白 I 水平、或 MLCL AT1 或 ALCAT1 水平是降低约 1%、约 5%、约 10%、约 15%、约 20%、约 25%、约 30%、约 35%、约 40%、约 45%、约 50%、约 55%、约 60%、约 65%、约 70%、约 75%、约 80%、约 85%、约 90%、约 95%或更多。

[0114] 如本文所用的“增加”受试者的 Taz1 表达水平或 mK ATP 活性意味着在受试者中增加 Taz1 的水平(例如,受试者的左心室心肌中的 Taz1 表达水平)或增加 mK ATP 的活性。在一些实施方案中,增加 Taz1 表达水平和 / 或 mK ATP 活性是例如从基线或对照水平增加约 1%、约 5%、约 10%、约 15%、约 20%、约 25%、约 30%、约 35%、约 40%、约 45%、约 50%、约 55%、约 60%、约 65%、约 70%、约 75%、约 80%、约 85%、约 90%、约 95%、约 100%、或约 110%或更多。替代地或另外,在一些实施方案中,增加 Taz1 表达水平是以使 Taz1 的降低削减约 0.25 倍至约 0.5 倍、或约 0.5 倍至约 0.75 倍、或约 0.75 倍至约 1.0 倍、或约 1.0 倍至约 1.5 倍来测量,例如,如与基线或对照水平相比较。

[0115] “分离”或“纯化”的多肽或肽基本上不含来自这种药剂所来源的细胞或组织来源的细胞物质或其它污染多肽,或当以化学方式合成时基本上不含化学前体或其它化学品。举例来说,分离的芳香族阳离子肽将不含会干扰药剂的诊断或治疗用途的物质。所述干扰物质可以包括酶、激素以及其它蛋白质性和非蛋白质性溶质。

[0116] 如本文所用的术语“多肽”、“肽”以及“蛋白质”在本文中可互换使用以意指包含经肽键或修饰的肽键(即,肽电子等排体)彼此连接的两个或更多个氨基酸的聚合物。多肽指的是短链,通常被称作肽、糖肽或寡聚物,并且指的是较长链,一般被称作蛋白质。多肽可以含有除 20 个基因编码的氨基酸以外的氨基酸。多肽包括通过天然过程(诸如翻译后

加工)或通过本领域中熟知的化学修饰技术而修饰的氨基酸序列。

[0117] 如本文所用的术语“同时”治疗使用指的是经由相同途径并且同时或基本上同时施用至少两种活性成分。

[0118] 如本文所用的术语“独立”治疗使用指的是经由不同途径同时或基本上同时施用至少两种活性成分。

[0119] 如本文所用的术语“依序”治疗使用指的是在不同时间施用至少两种活性成分,施用途是相同或不同的。更详细地说,依序使用指的是在开始施用另一种或其它活性成分之前完全施用一种活性成分。因此,有可能在施用其它活性成分之前经几分钟、几小时或几天施用一种活性成分。在这种情况下不存在同时治疗。

[0120] 如本文所用的术语“治疗(treat/treatment)”或“缓和”指的是治疗性治疗,其中目的在于阻止或减缓(减轻)靶向的病理病状或病症。如果在根据本文所描述的方法接受治疗量的芳香族阳离子肽之后,受试者显示心脏衰竭的一个或多个征象和症状,诸如心输出量、心肌收缩力、心肥大、呼吸急促和/或肝肿大的可观测和/或可测量的减少或缺乏,那么这个受试者的心脏衰竭被成功地“治疗”。如本文所用的治疗心脏衰竭还指的是治疗构成心脏衰竭的基础的任何一种或多种病状,包括(但不限于)降低的心收缩力、异常的舒张顺应性、减少的心搏量、肺充血以及减少的心输出量。这些术语还应用于具有高于对照或“正常”水平的 C-反应蛋白、白介素 6、ROS、TNF- α 、心肌钙蛋白 I 水平、Nt-BNP 原、MLCL AT1 和/或 ALCAT 1 的那些受试者中 C-反应蛋白、白介素 6、ROS、TNF- α 、心肌钙蛋白 I 水平、Nt-BNP 原、MLCL AT1 和/或 ALCAT 1 的降低。这些术语还应用于具有低于对照或“正常”水平的 Taz1 或较低活性的 mK ATP 的那些受试者中 Taz1 表达的增加和/或增加的 mK ATP 活性。另外或替代地,这些术语应用于与 LV 重塑相关的一个或多个征象和症状的可观测和/或可测量的减少或缺乏,诸如 LV 心搏量、改进的 LV 射血分数、改进的缩短分数、减少的梗塞膨展、改进的血液动力学、LV 心肌中减少的疤痕形成、以及减小的肺体积。还应了解,所描述的医学病状的治疗或预防的各种模式意图意味着“实质性的”,其包括完全以及不到完全的治疗或预防,并且其中达成某种生物学上或医学上相关的结果。

[0121] 如本文所用的病症或病状的“预防(prevention/prevent)”指的是在统计样品中,相对于未处理的对照样品减少经过处理的样品中病症或病状的发生率,或相对于未处理的对照样品延迟病症或病状的一个或多个症状的发作或降低其严重性的化合物。如本文所用的预防心脏衰竭包括防止心脏衰竭起始、延迟心脏衰竭起始、防止心脏衰竭发展或进展、减缓心脏衰竭发展或进展、延迟心脏衰竭发展或进展,以及将心脏衰竭的进程从晚期逆转至未及晚期。如本文所用的心脏衰竭的预防还包括预防心脏衰竭复发。如本文所用的预防 LV 重塑包括防止 LV 重塑起始、延迟 LV 重塑起始、防止 LV 重塑发展或进展、减缓 LV 重塑发展或进展、延迟 LV 重塑发展或进展,以及将 LV 重塑的进程从晚期逆转至未及晚期。

[0122] 如本文所用的“净电荷”指的是存在于肽中的氨基酸所携带的正电荷数与负电荷数的平衡。在本说明书中,应了解,净电荷是在生理 pH 下测量。在生理 pH 下带正电的天然存在的氨基酸包括 L-赖氨酸、L-精氨酸以及 L-组氨酸。在生理 pH 下带负电的天然存在的氨基酸包括 L-天冬氨酸和 L-谷氨酸。

[0123] 如本文所用的术语“医药学上可接受的盐”指的是对于施用于患者,诸如哺乳动物可接受的从碱或酸制备的盐(例如,对于给定的给药方案具有可接受的哺乳动物安全性的

盐)。然而,应了解,盐不需要是医药学上可接受的盐,诸如并不意图施用于患者的中间化合物的盐。医药学上可接受的盐可以来源于医药学上可接受的无机或有机碱以及来源于医药学上可接受的无机或有机酸。另外,当肽含有诸如胺、吡啶或咪唑的碱性部分与诸如羧酸或四唑的酸性部分时,可以形成两性离子并且其包括于如本文所用的术语“盐”内。

[0124] C- 反应蛋白

[0125] 如本文所用的“C- 反应蛋白”(CRP)指的是由五个相同的亚单元组成的五聚多肽,其为蛋白质的正五聚蛋白(pentraxin)家族的成员。CRP 亚单元以 224- 氨基酸多肽原表示;去除 18 氨基酸前导序列以形成成熟的 206- 氨基酸 CRP 单元。224- 氨基酸 CRP 前体的例示性的非限制性序列提供于下表 1 中(入藏号分别为 NP_000558 和 CAA39671)。

[0126]

表 1: 例示性的 CRP 前体氨基酸序列

SEQ ID NO: 1

mekllcflvl tslshafgqt dmsrkafvfp kesdtsyvsl kapltkplka ftvelhfyte lsstrgysif syatkrqdne ilifwskdig
ysftvggsei lfevpevtva pvhictswes asgivefwvd gkprvrkslk kgytvgaeas iilgqe qdsf ggnfegsqsl
vgdignvnmw dfvlspdein tiylggpfsp nvlwnralky evqgevftkp qlwp

SEQ ID NO: 2

mekllcflvl tslshafgqt dmsrkafvfp kesdtsyvsl kapltkplka ftvelhfyte lsstrgtvfs rmpprdktmr fffwskdig
ysftvggsei lfevpevtva pvhictswes asgivefwvd gkprvrkslk kgytvgaeas iilgqe qdsf ggnfegsqsl
vgdignvnmw dfvlspdein tiylggpfsp nvlwnralky evqgevftkp qlwp

[0127] CRP 是急性期反应物,其由肝响应炎性刺激而产生并且在血液中循环。CRP 水平响应急性或慢性发炎而升高,诸如(但不限于)因感染(例如,细菌、病毒或真菌)所致的发炎、风湿性和其它发炎性疾病、恶性病、组织损伤或坏死。血浆 CRP 水平在严重创伤、细菌感染、发炎、手术或肿瘤性增生之后可以增加(例如,100 倍或更多倍)。CRP 水平在组织损伤后几小时内快速增加,并且表明 CRP 是先天免疫系统的一部分并且为宿主防御作贡献。关于 CRP 功能和免疫系统,CRP 已经显示增加 LDL 摄入巨噬细胞中并且增强巨噬细胞形成泡沫细胞的能力;抑制内皮细胞中的内皮一氧化氮合成酶表达;增加纤溶酶原激活物抑制剂-1 表达和活性;活化巨噬细胞以分泌组织因子;上调内皮细胞中粘附分子的表达以吸引单核细胞至损伤部位。因此,已经利用 CRP 水平作为发炎和免疫反应的标志。

[0128] 另外,CRP 水平已经与血管硬化和心血管疾病或心血管事件(诸如心脏衰竭和心肌梗塞)相关联。因为心血管疾病至少一部分是发炎过程,所以已经例如在动脉硬化和后续血管病症的情形中研究 CRP。举例来说,发现 CRP 的长期、低水平增加预测了未来心血管事件的风险,包括心肌梗塞、缺血性发作、外周血管病以及心脏性猝死。基于多个流行病学和干预研究,微小的 CRP 升高(如通过高灵敏度 CRP 检测“hsCRP”所测定)已经显示与未来的心血管风险相关联。HsCRP 在下文更详细地论述。

[0129] 除了作为心血管风险标志的作用之外,CRP 还已经显示直接参与动脉粥样化形成,并且在动脉粥样硬化斑块中已经发现高水平的 CRP mRNA。已经显示,CRP 是由动脉粥样硬化病变的人动脉平滑肌细胞响应炎性细胞因子而产生;因此,局部产生的 CRP 可以直接参与动脉粥样化形成的各方面,促进心血管并发症的发展。

[0130] 在一些实施方案中,用芳香族阳离子肽,诸如 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂治疗降低已经罹患心脏衰竭或处于罹患心脏衰竭风险下的哺乳动物受试者的心肌中的 C- 反应蛋白水平。

[0131] 在一些实施方案中,C- 反应蛋白水平降低约 0.25 倍至约 0.5 倍、或约 0.5 倍至约 0.75 倍、或约 0.75 倍至约 1.0 倍、或约 1.0 倍至约 1.5 倍、或约 1.5 倍至约 2.0 倍、或约 2.0 倍至约 3.0 倍、或约 3.0 倍至约 5.0 倍、或约 5.0 倍至约 6.0 倍。

[0132] 测定 CRP 水平

[0133] 存在三大类由美国食品和药物管理局 (U.S. Food and Drug Administration, FDA) 认可的 CRP 检测:(1) 常规 C- 反应蛋白 (CRP) 检测;(2) 高灵敏度 C- 反应蛋白 (hsCRP) 检测;以及 (3) 心脏 C- 反应蛋白 (cCRP) 检测。

[0134] 常规 CRP 检测

[0135] 常规 CRP 检测通常包括定性、半定量以及定量检测,其适用于评估感染、组织损伤以及炎性疾病。这些检测提供了关于炎性疾病的诊断、疗法以及监测的信息。如先前所论述,CRP 是细胞因子诱导的“急性期”蛋白质之一,其血液水平在对感染和非感染性发炎过程的一般、非特异性反应期间升高。对于常规 CRP 检测,测试值通常在高于 10mg/L 的水平下被视为临床上显著的。在表观健康者的血液中 CRP 水平低于 5mg/L,而在各种病状中,在急性发炎事件后四至八小时内常常超过这个临界值,其中 CRP 值达到约 20 至 500mg/L。CRP 相比红细胞沉降率 (ESR) 和白细胞计数是急性发炎过程的更灵敏并且更可靠的指标。血液 CRP 水平相比 ESR 更快速地升高,并且在疾病已经消退之后 CRP 值快速下降并且常常在 ESR 已经返回至正常之前的几天达到参考区间。

[0136] 高灵敏度 CRP 检测

[0137] 高灵敏度 CRP 检测具有延伸至低于大多数常规 CRP 检测典型具有的测量范围的测量范围。这种较低的测量范围扩展了适用性以包括例如(但不限于)评估被认为与其它方面看似健康的个体中的发炎相关的病状,以及评估罹患心脏衰竭或处于心脏衰竭风险下的个体的心脏风险。hsCRP 检测通常测量从小于 1mg/L(例如,低至 0.04mg/ml) 至大于或等于 10mg/L 的 CRP 水平。如本文所用并且如本领域中常见的“高灵敏度 CRP”或“hsCRP”指的是检测,并且还指的是如通过 hsCRP 检测所测定的 CRP 水平。因此,陈述“受试者的 hsCRP 水平小于 1mg/L”意味着如通过高灵敏度 CRP 检测所测定的受试者的 CRP 水平小于 1mg/L。因此,受试者的 CRP 水平小于 1mg/L。

[0138] 心脏 C- 反应蛋白 (cCRP) 检测

[0139] 按照 FDA 指南,心脏 CRP 检测适用于用作处于未来心血管疾病的风险下的个体的鉴别和分层的辅助。当与急性冠状动脉综合症的传统临床实验室评估联合使用时,cCRP 可以适用作患有稳定性冠状动脉病或急性冠状动脉综合症的患者的复发事件的预后的独立标志。心脏 CRP 检测,如同 hsCRP 检测一样,具有延伸至低于大多数常规 CRP 检测典型具有的测量范围的测量范围。hsCRP 与 cCRP 之间的差异不是分析物本身或甚至检测方法,而是 FDA 为了支持在冠状动脉病评估中扩展的预期用途所需要的额外性能验证。因此,cCRP 检测是 hsCRP 检测的一个种类。虽然 hsCRP 检测适用于关联心脏风险并且在本领域中如此使用,但其根本不被 FDA 认可用于所述用途。

[0140] 样品来源 C- 反应蛋白

[0141] 虽然 C-反应蛋白水平通常经由受试者的血液样品（例如，全血、血浆、血清）来测试，但本公开并不意图受样品类型所限制。举例来说，在一些实施方案中，C-反应蛋白水平是通过评估已知或疑似含有 C-反应蛋白的受试者的任何流体或组织样品来测定。非限制性实例包括血浆、血清、全血、尿液、唾液、精液、脑脊髓液、心包液、腹膜液、胸膜液、滑液、粪便样品以及鼻抽吸液。

[0142] 白介素-6

[0143] 白介素-6 (IL-6) 属于调控干细胞、造血作用、血栓形成、巨噬细胞功能、神经元功能、急性期反应、骨代谢以及心脏肥厚中所涉及的多效性和进化保守的细胞因子的家族。这个家族除 IL-6 之外包括细胞因子 IL-11、心肌营养素-1 (cardiotrophin-1)、制瘤素-M (oncostatin-M)、白血病抑制因子以及睫状神经营养因子，其除了其细胞因子特异性受体之外全部利用通用的信号转导组分，被称为 gp130。最近，已经报道了在心脏衰竭中升高的可溶性 IL-6 受体 (IL-6R) 水平。循环 IL-6 对仓鼠模型中和人类心房条状物中分离的乳头肌标本发挥负性变力影响，这潜在地受一氧化氮、 β -肾上腺素受体路径以及神经酰胺-鞘磷脂路径调节。升高的血清 IL-6 水平与左心室功能受损的患者中降低的收缩力、升高的前负荷、升高的心率以及降低的后负荷相关联。

[0144] 关于 IL-6 产生的来源，新近的鼠类转基因和敲除数据表明，心脏内 IL-6/gp130 系统存在并且是对血液动力学超负荷的补偿反应中的主要组分。人心肌已经表明是在心肌梗塞、缺血、再灌注、排斥以及心脏衰竭期间 IL-6 的来源。参看 Wollert, K. 和 Drexler, H., “白介素-6 在衰竭心脏中的作用 (The role of interleukin-6 in the failing heart)”, Heart Fail Rev., 6(2):95-103 (2001)。

[0145] 在一些实施方案中，用芳香族阳离子肽，诸如 D-Arg-2' 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 治疗降低已经罹患心脏衰竭或处于罹患心脏衰竭风险下的哺乳动物受试者的心肌中的 IL-6 水平。

[0146] 在一些实施方案中，IL-6 水平降低约 0.25 倍至约 0.5 倍、或约 0.5 倍至约 0.75 倍、或约 0.75 倍至约 1.0 倍、或约 1.0 倍至约 1.5 倍、或约 1.5 倍至约 2.0 倍、或约 2.0 倍至约 3.0 倍、或约 3.0 倍至约 5.0 倍、或约 5.0 倍至约 8.0 倍。

[0147] 肿瘤坏死因子 α

[0148] 肿瘤坏死因子 α (TNF- α 或 TNF- α) 是全身发炎中所涉及的细胞因子并且是一组刺激急性期反应的细胞因子的成员。其主要由活化的巨噬细胞产生，不过其可以由许多其它细胞类型产生，如 CD4⁺ 淋巴细胞、NK 细胞以及神经元。

[0149] 在患有晚期充血性心脏衰竭 (CHF) 的患者中，已经发现循环 TNF- α 和可溶性 TNF 受体的水平升高。TNF 系统的活化在 CHF 中的病理生理学涉入似乎主要依赖于其对心脏和内皮的影响。TNF- α 直接与间接地发挥负性变力影响，后者通过一氧化氮产生的增强来介导。此外，TNF- α 已经表明触发心肌细胞的凋亡过程。这与 TNF- α 在 CHF 中所起到的有害作用是一致的，进一步由 TNF 活化与从无症状性转变至症状性 CHF 之间的时态关联的证据来支持。参看 Ceconi 等，“充血性心脏衰竭中的肿瘤坏死因子：新世纪的疾病机制？(Tumor necrosis factor in congestive heart failure: a mechanism of disease for the new millennium?)” Proq. Cardiovasc. Dis., 41 (增刊 1):25-30 (1998)。

[0150] 在一些实施方案中，用芳香族阳离子肽，诸如 D-Arg-2' 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 治疗

降低已经罹患心脏衰竭或处于罹患心脏衰竭风险下的哺乳动物受试者的心肌中的 TNF- α 水平。

[0151] 在一些实施方案中, TNF- α 水平降低约 0.25 倍至约 0.5 倍、或约 0.5 倍至约 0.75 倍、或约 0.75 倍至约 1.0 倍、或约 1.0 倍至约 1.5 倍、或约 1.5 倍至约 2.0 倍、或约 2.0 倍至约 3.0 倍、或约 3.0 倍至约 5.0 倍、或约 5.0 倍至约 8.0 倍。

[0152] 反应性氧物质

[0153] 反应性氧物质 (ROS) 是含有氧的化学反应性分子。实例包括氧离子和过氧化物。ROS 作为氧正常代谢的天然副产物而形成并且在细胞信号传导和内环境稳定中具有重要作用。然而, 在环境压力的时期, ROS 水平可以急剧增加。增加的 ROS 可以导致对细胞结构的显著损害, 累计称为氧化压力。

[0154] 有证据表明, 源自氧的自由基涉及于 CHF 的发病机理中。研究表明, 高毒性的自由基物质损害亚细胞膜, 导致兴奋-收缩偶联的破坏并且最终导致心肌功能不全。另外, 这些自由基破坏一氧化氮, 一种负责维持心血管张力的有效信号传导分子。抗氧化剂在最小化由于在缺血/再灌注损伤和 CHF 期间过度产生自由基而发生的损害方面提供了很大的前景。

[0155] 在一些实施方案中, 用芳香族阳离子肽, 诸如 D-Arg-2' 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 治疗降低已经罹患心脏衰竭或处于罹患心脏衰竭风险下的哺乳动物受试者的心肌中的 ROS 水平。

[0156] 在一些实施方案中, ROS 降低约 0.25 倍至约 0.5 倍、或约 0.5 倍至约 0.75 倍、或约 0.75 倍至约 1.0 倍、或约 1.0 倍至约 1.5 倍、或约 1.5 倍至约 2.0 倍、或约 2.0 倍至约 3.0 倍、或约 3.0 倍至约 5.0 倍、或约 5.0 倍至约 8.0 倍。

[0157] 脑利钠肽

[0158] 脑利钠肽 (BNP) 是由心脏的心室响应心肌细胞的过度拉伸而分泌的 32-氨基酸多肽。BNP 的释放由钙离子调节。人类中的 BNP 主要在心室中产生。

[0159] BNP 作为由人类基因 NPPB 编码的 134-氨基酸前激素原 (前 BNP 原) 而合成。去除 25-残基 N 端信号肽产生激素原, BNP 原, 其在细胞内作为 O-连接糖蛋白储存。BNP 原随后被特异性转化酶, 即, 弗林蛋白酶 (furin) 或科林蛋白酶 (corin) 裂解成 NT-BNP 原, 其为 76-氨基酸生物非活性多肽, 以及 BNP, 其为生物活性 32-氨基酸多肽。BNP 原和 NT-BNP 原以等摩尔量分泌至血液中。

[0160] BNP 按类似于心房利钠肽 (ANP) 的方式但以低 10 倍的亲和力结合并活化心房利钠因子。然而, BNP 的生物半衰期是 ANP 的两倍长, 并且 NT-BNP 原的生物半衰期甚至更长, 使得这些肽相比 ANP 是用于诊断性血液测试的更好靶。

[0161] BNP 的生理作用类似于 ANP 的生理作用并且包括全身血管阻力和中心静脉压的降低以及利钠作用的增加。BNP 和 ANP 的净效应是血容量的减小, 其降低全身血压和后负荷, 使得心输出量增加, 这部分地归因于较高的射血分数。

[0162] BNP 或 NT-BNP 原可以用于心脏衰竭的筛选和预后。升高的 BNP 或 NT-BNP 原水平可以指示心脏衰竭的风险或指示急性心脏衰竭的发生。另外, 两者通常都是在患有左心室功能不全的患者中增加, 在例如用 ACE 抑制剂或 β 阻断剂治疗后 BNP 浓度的降低可以反映 LV 重塑过程的逆转或阻止。

[0163] 在一些实施方案中,用芳香族阳离子肽,诸如 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂治疗降低已经罹患心脏衰竭或处于罹患心脏衰竭风险下的哺乳动物受试者的心肌中的 NT-BNP 原。

[0164] 在一些实施方案中,NT-BNP 原降低约 0.25 倍至约 0.5 倍、或约 0.5 倍至约 0.75 倍、或约 0.75 倍至约 1.0 倍、或约 1.0 倍至约 1.5 倍、或约 1.5 倍至约 2.0 倍。

[0165] 心肌钙蛋白 I

[0166] 肌钙蛋白是三种调控蛋白(肌钙蛋白 C、肌钙蛋白 I 以及肌钙蛋白 T)的复合物,其对于骨骼和心肌而非平滑肌中的肌肉收缩是不可或缺的。来自心肌的肌钙蛋白 T 和肌钙蛋白 I 同种型在结构上不同于骨骼肌中所发现的对应同种型。

[0167] 肌钙蛋白 T 结合至原肌球蛋白,其联锁形成肌钙蛋白-原肌球蛋白复合物。肌钙蛋白 I 结合至细肌丝中的肌动蛋白以保持肌钙蛋白-原肌球蛋白复合物处于适当位置并且降低肌钙蛋白 C 对钙的亲和力,由此抑制肌钙蛋白-原肌球蛋白相互作用。肌钙蛋白 C 结合至钙离子并且在肌肉收缩的 Ca²⁺依赖性调控中起主要作用。

[0168] 因为心肌钙蛋白(cTn)在结构上不同于骨骼肌钙蛋白,所以 cTn 亚单元可以作为心肌损伤的特异性生物标志来测量。cTn 由于肌细胞坏死、肌细胞凋亡或心肌钙蛋白降解而释放,其全部将指示心脏功能不全的恶化和/或心脏衰竭的发展。多个研究已经评估了各种 HF 群体中升高的循环 cTn 与不良临床结果之间的关联。尽管研究设计、患者群体以及检测特征有变化,但在 cTn 升高与恶化的结果之间已经存在一致的关联。Kociol 等, Journal of the American College of Cardiology, 56(14):1071-78(2010 年 9 月)。

[0169] 另外,研究显示,水平升高的心肌钙蛋白 I 可以促使心脏衰竭发展。参看例如 Göser 等, Circulation, 114:1693-1702(2006)。水平升高的心肌钙蛋白 I 导致心肌钙蛋白自体抗体形成。增加的心肌钙蛋白自体抗体增加心脏发炎并且增加炎症细胞因子的表达。增加的心肌钙蛋白自体抗体产生特征为心肌纤维化、左心室扩张以及心脏功能受损的心肌病表型。

[0170] 在一些实施方案中,用芳香族阳离子肽,诸如 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂治疗降低已经罹患心脏衰竭或处于罹患心脏衰竭风险下的哺乳动物受试者的心肌中的心肌钙蛋白 I。

[0171] 在一些实施方案中,心肌钙蛋白 I 降低约 0.25 倍至约 0.5 倍、或约 0.5 倍至约 0.75 倍、或约 0.75 倍至约 1.0 倍、或约 1.0 倍至约 1.5 倍、或约 1.5 倍至约 2.0 倍。

[0172] 线粒体 ATP 敏感性钾通道(mK ATP)

[0173] 还原形式的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)在衰竭心脏中增加并且导致线粒体 ATP 敏感性钾通道(mK ATP)的活化降低。降低的 mK ATP 活性导致线粒体环境中的离子失调,随后基质收缩并且 ATP 产生减少。mK ATP 的活性增加或“开放”通过促进基质膨胀而改进氧化磷酸化,维持线粒体内膜的结构,保持外膜对 ADP 的低渗透性,并且允许线粒体与肌纤维 ATP 酶之间的“有效”能量转移。

[0174] 在一些实施方案中,用芳香族阳离子肽,诸如 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂治疗增加已经罹患心脏衰竭或处于罹患心脏衰竭风险下的哺乳动物受试者的心肌中的 mK ATP 活性。

[0175] 在一些实施方案中,mK ATP 活性增加约 0.25 倍至约 0.5 倍、或约 0.5 倍至约 0.75

倍、或约 0.75 倍至约 1.0 倍、或约 1.0 倍至约 1.5 倍、或约 1.5 倍至约 2.0 倍。

[0176] 心磷脂

[0177] 心磷脂是线粒体内膜的重要组分,其中心磷脂占总脂质组成的约 20%。在哺乳动物细胞中,心磷脂几乎仅在线粒体内膜中发现,其中心磷脂对于线粒体代谢中所涉及的酶的最佳功能是必需的。

[0178] 心磷脂是二磷脂酰甘油脂质的一个种类,其包含两个与甘油骨架连接的磷脂酰甘油以形成二聚结构。心磷脂具有四个烷基并且潜在地携带两个负电荷。由于心磷脂中存在四个不同的烷基链,所以这种分子具有很高复杂性的潜力。然而,在大多数动物组织中,心磷脂含有 18- 碳脂肪烷基链与在这些链中的每一者上的 2 个不饱和键。已经提出,呈四酰基链构型的 (18:2) 是心磷脂对哺乳动物线粒体中的内膜蛋白的高亲和力的重要结构要求。然而,使用分离的酶制品的研究指示这种构型的重要性可能取决于所检查的蛋白质而变化。

[0179] 分子中的两个磷酸中的每一者可以捕获一个质子。尽管其具有对称结构,但一个磷酸的电离在与电离两者不同的酸度水平下发生,其中 $pK_1 = 3$ 并且 $pK_2 > 7.5$ 。因此,在正常生理条件 (pH 约 7.0) 下,分子可能仅携带一个负电荷。磷酸上的羟基 (-OH 和 -O-) 形成稳定的分子内氢键,从而形成双环共振结构。这种结构捕集一个质子,其有助于氧化磷酸化。

[0180] 在由复合物 IV 催化的氧化磷酸化过程中,大量质子从膜的一侧转移至另一侧,引起大的 pH 变化。不希望受理论约束,已经表明,心磷脂在线粒体膜内发挥质子捕集功能,从而严格地定位质子库并且使线粒体膜间腔中的 pH 降至最低。据信这种功能是归因于心磷脂的独特结构,如上文所描述,其可以在携带负电荷的同时在双环结构内捕集质子。因此,心磷脂可以充当电子缓冲库以释放或吸收质子来维持线粒体膜附近的 pH。

[0181] 另外,心磷脂已经显示在细胞凋亡中起作用。细胞凋亡级联中的早期事件涉及心磷脂。如下文更详细地论述,心磷脂特异性加氧酶产生心磷脂氢过氧化物,其使得脂质经历构象变化。氧化的心磷脂然后从线粒体内膜易位至线粒体外膜,据信其在线粒体外膜处形成孔隙,细胞色素 c 经由这个孔隙释放至细胞溶质中。细胞色素 c 可以结合至 IP₃ 受体,从而刺激钙释放,其进一步促进细胞色素 c 的释放。当细胞质钙浓度达到毒性水平时,细胞死亡。另外,线粒体外细胞色素 c 与凋亡活化因子相互作用,使得凋亡复合物形成以及蛋白水解半胱天冬酶级联活化。

[0182] 对于心磷脂所提出的其它作用为:1) 参与膜的物理特性的稳定 (Schlame 等, 2000 ;Koshkin 和 Greenberg, 2002 ;Ma 等, 2004), 这些物理特性如膜流动性和渗透稳定性;以及 2) 经由与膜蛋白的直接相互作用参与蛋白质功能 (Schlame 等, 2000 ;Palsdottir 和 Hunte, 2004)。已经发现心磷脂与诸如细胞色素 bc₁ 复合物 (复合物 III) 的内膜蛋白复合物有紧密关联。同样地,其已经被定位至二聚细胞色素 c 氧化酶的接触位点,并且在 ADP/ATP 载体 (AAC ;关于评述,参看 Palsdottir 和 Hunte, 2004) 中也已经发现心磷脂结合位点。新近的工作还表明心磷脂在形成呼吸链超复合物 (呼吸体) 中的作用。

[0183] 主要四酰基分子种类是在心磷脂分子的四个脂肪酰基位置中的每一者处的 18:2 (被称作 18:2-18:2-18:2-18:2 心磷脂物质)。心磷脂的重塑是用亚油酸获得心磷脂的这种富集所必需的,因为心磷脂合成酶对胞苷 -5'-二磷酸 -1,2-二酰基 -sn-甘油不具

有分子种类底物特异性。另外,心磷脂前体的种类模式是足够相似的以暗示心磷脂合成路径的酶不是分子种类选择性的。心磷脂的分子组成的变化与各种疾病病况相关联。

[0184] 心磷脂的重塑经由至少三种酶而发生。线粒体心磷脂是通过脱酰化-再酰化周期来重塑,在这个周期中新合成的心磷脂被快速脱酰化成单溶血心磷脂 (MLCL) 并且然后再酰化回心磷脂。MLCL AT1 负责脱酰化并且 ALCAT1 负责再酰化。除了这些线粒体和微粒体酰基转移酶活性之外,线粒体心磷脂可以由线粒体心磷脂转酰酶来重塑。塔法兹 (Tafazzin, TAZ1) 是用亚油酸特异性地重塑线粒体心磷脂的心磷脂转酰酶。

[0185] Taz1

[0186] 塔法兹 (Taz1) 是在人类中由 TAZ 基因编码的蛋白质。Taz1 发挥磷脂-溶血磷脂转酰酶的功能。Taz1 在心脏和骨骼肌中高度表达并且涉及于心磷脂的代谢中。

[0187] Taz1 涉及于线粒体的内膜维持中。这些蛋白质涉及于维持心磷脂的水平,这对于线粒体中的能量产生是必需的。

[0188] TAZ 基因中的一些突变引起被称为 X-连锁扩张型心肌病的病状。这是心脏变得衰弱并扩大以致无法有效地泵送血液,从而导致心脏衰竭的病状。下降的心脏功能可以负性影响许多身体系统并且导致腿和腹部肿胀、肺中有流体以及凝血风险增加。

[0189] TAZ 基因中的另一个突变引起被称为孤立性左心室心肌致密化不全 (INVM) 的病状。这种病状在心脏的左下腔室 (左心室) 未正确地发育时发生。心肌衰弱并且无法有效地泵送血液,常常导致心脏衰竭。有时还可能发生异常心律 (心律失常)。

[0190] 在一些实施方案中,用芳香族阳离子肽,诸如 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂ 治疗增加已经罹患心脏衰竭或处于罹患心脏衰竭风险下的哺乳动物受试者的心肌中 Taz1 的表达。

[0191] 在一些实施方案中, Taz1 表达水平增加约 0.25 倍至约 0.5 倍、或约 0.5 倍至约 0.75 倍、或约 0.75 倍至约 1.0 倍、或约 1.0 倍至约 1.5 倍。

[0192] MLCL AT1

[0193] 单溶血心磷脂酰基转移酶 (MLCL AT1) 催化哺乳动物组织中 MLCL 酰化成心磷脂。

[0194] 在一些实施方案中,用芳香族阳离子肽,诸如 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂ 治疗减少已经罹患心脏衰竭或处于罹患心脏衰竭风险下的哺乳动物受试者的心肌中 MLCL AT1 的表达。

[0195] 在一些实施方案中,降低 MLCL AT1 表达水平是通过约 1 倍至约 1.5 倍降低、或约 1.5 倍至约 2.0 倍降低、或约 2.0 倍至约 2.5 倍降低、或约 2.5 倍至约 3.0 倍降低来测量的降低。

[0196] ALCAT1

[0197] 酰基-CoA 溶血心磷脂酰基转移酶 1 (ALCAT1) 最初被鉴别为微粒体溶血心磷脂酰基转移酶。ALCAT1 对溶血磷脂酰肌醇 (LPI) 和溶血磷脂酰甘油 (LPG) 具有酰基转移酶活性。

[0198] ALCAT1 识别作为底物的单溶血心磷脂与二溶血心磷脂,优选亚油酰基-CoA 和油酰基-CoA 作为酰基供体。ALCAT1 充当心磷脂的重塑酶。

[0199] 在一些实施方案中,用芳香族阳离子肽,诸如 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂ 治疗减少已经罹患心脏衰竭或处于罹患心脏衰竭风险下的哺乳动物受试者的心肌中 ALCAT1 的

表达。

[0200] 在一些实施方案中,降低 ALCAT1 表达水平是通过约 1 倍至约 1.5 倍降低、或约 1.5 倍至约 2.0 倍降低、或约 2.0 倍至约 2.5 倍降低、或约 2.5 倍至约 3.0 倍降低来测量的降低。

[0201] 芳香族阳离子肽

[0202] 本发明技术涉及在有需要的受试者中降低 CRP、TNF- α 、IL-6、ROS、心肌钙蛋白 I、Nt-BNP 原、MLCL AT1 以及 ALCAT1 中的一者或多者的水平和 / 或增加 Taz1 表达和 / 或增加 mK ATP 活性的方法,这是通过施用如本文所公开的芳香族阳离子肽来实现。在一些实施方案中,降低 CRP、TNF- α 、IL-6、ROS、心肌钙蛋白 I、Nt-BNP 原、MLCL AT1 以及 ALCAT1 中的一者或多者的水平和 / 或增加 Taz1 表达和 / 或增加 mK ATP 活性适用于在受试者中治疗或预防心脏衰竭和相关病状、减少与心脏衰竭相关的风险因素、和 / 或降低心脏衰竭的可能性 (风险) 或严重性。

[0203] 本发明技术还涉及预防、改善或治疗有需要的受试者的 LV 重塑的方法,这是通过施用如本文所公开的芳香族阳离子肽来实现。在一些实施方案中,受试者具有水平升高的 C- 反应蛋白、反应性氧物质、白介素 -6、TNF- α 、心肌钙蛋白 I、Nt-BNP 原、MLCL AT1 以及 ALCAT1 中的一者或多者。在一些实施方案中,Nt-BNP 原和 / 或心肌钙蛋白 I 的降低用作生物标志以指示 LV 重塑的减少或阻止。在一些实施方案中,受试者具有水平降低的 mK ATP 活性或表达减少的 Taz1。

[0204] 本发明技术还涉及增加有需要的受试者中线粒体 ATP 敏感性钾通道 (mK ATP) 的活性或 Taz1 的表达的方法,这是通过施用如本文所公开的芳香族阳离子肽来实现。在一些实施方案中,增加 mK ATP 的活性或 Taz1 的表达适用于在受试者中治疗或预防心脏衰竭和相关病状、减少与心脏衰竭相关的风险因素、和 / 或降低心脏衰竭的可能性 (风险) 或严重性。

[0205] 芳香族阳离子肽是水溶性和高极性的。尽管有这些特性,但肽可以容易地穿透细胞膜。芳香族阳离子肽通常包括经肽键共价连接的最少三个氨基酸或最少四个氨基酸。存在于芳香族阳离子肽中的氨基酸的最大数目为经肽键共价连接的约二十个氨基酸。氨基酸的最大数目适宜为约十二个,更优选地为约九个,并且最优选地为约六个。

[0206] 芳香族阳离子肽的氨基酸可以是任何氨基酸。如本文所用的术语“氨基酸”用于指代含有至少一个氨基和至少一个羧基的任何有机分子。通常,至少一个氨基在相对于羧基的 α 位置处。氨基酸可以是天然存在的。天然存在的氨基酸包括例如通常在哺乳动物蛋白质中发现的二十个最常见的左旋 (L) 氨基酸,即,丙氨酸 (Ala)、精氨酸 (Arg)、天冬酰胺 (Asn)、天冬氨酸 (Asp)、半胱氨酸 (Cys)、谷氨酰胺 (Gln)、谷氨酸 (Glu)、甘氨酸 (Gly)、组氨酸 (His)、异亮氨酸 (Ile)、亮氨酸 (Leu)、赖氨酸 (Lys)、甲硫氨酸 (Met)、苯丙氨酸 (Phe)、脯氨酸 (Pro)、丝氨酸 (Ser)、苏氨酸 (Thr)、色氨酸 (Trp)、酪氨酸 (Tyr) 以及缬氨酸 (Val)。其它天然存在的氨基酸包括例如在与蛋白质合成不相关的代谢过程中合成的氨基酸。举例来说,氨基酸鸟氨酸和瓜氨酸是在哺乳动物代谢中在尿素产生期间合成。天然存在的氨基酸的另一个实例包括羟基脯氨酸 (Hyp)。

[0207] 肽任选地含有一个或多个非天然存在的氨基酸。最佳地,肽不具有天然存在的氨基酸。非天然存在的氨基酸可以是左旋的 (L-)、右旋的 (D-) 或其混合物。非天然存在的氨基酸是在活生物体中的正常代谢过程中不会合成,并且不会天然地存在于蛋白质中的那些

氨基酸。另外,非天然存在的氨基酸适宜地也不会被通用蛋白酶识别。非天然存在的氨基酸可以存在于肽中的任何位置处。举例来说,非天然存在的氨基酸可以在 N 端、C 端,或在 N 端与 C 端之间的任何位置处。

[0208] 非天然氨基酸可以例如包含天然氨基酸中未发现的烷基、芳基或烷基芳基。非天然烷基氨基酸的一些实例包括 α -氨基丁酸、 β -氨基丁酸、 γ -氨基丁酸、 δ -氨基戊酸以及 ϵ -氨基己酸。非天然芳基氨基酸的一些实例包括邻氨基苯甲酸、间氨基苯甲酸和对氨基苯甲酸。非天然烷基芳基氨基酸的一些实例包括邻氨基苯乙酸、间氨基苯乙酸和对氨基苯乙酸,以及 γ -苯基- β -氨基丁酸。非天然存在的氨基酸包括天然存在的氨基酸的衍生物。天然存在的氨基酸的衍生物可以例如包括添加一个或多个化学基团至天然存在的氨基酸中。

[0209] 举例来说,可以将一个或多个化学基团添加至苯丙氨酸或酪氨酸残基的芳香族环的 2'、3'、4'、5' 或 6' 位置、或色氨酸残基的苯并环的 4'、5'、6' 或 7' 位置中的一者或多者处。这种基团可以是可以添加至芳香族环中的任何化学基团。所述基团的一些实例包括支链或无支链 C_1 - C_4 烷基,诸如甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基、异丁基或叔丁基; C_1 - C_4 烷基氧基(即,烷氧基);氨基; C_1 - C_4 烷基氨基和 C_1 - C_4 二烷基氨基(例如,甲基氨基、二甲基氨基);硝基;羟基;卤基(即,氟、氯、溴或碘)。天然存在的氨基酸的非天然存在的衍生物的一些特定实例包括正缬氨酸(Nva)和正亮氨酸(Nle)。

[0210] 肽中的氨基酸修饰的另一个实例是肽的天冬氨酸或谷氨酸残基的羧基的衍生化。衍生化的一个实例是用氨或用伯胺或仲胺进行酰胺化,这种胺如甲胺、乙胺、二甲胺或二乙胺。衍生化的另一个实例包括用例如甲醇或乙醇进行酯化。另一个所述修饰包括赖氨酸、精氨酸或组氨酸残基的氨基的衍生化。举例来说,所述氨基可以被酰化。一些适合的酰基包括例如苯甲酰基,或包含上文所提及的任何 C_1 - C_4 烷基的烷酰基,诸如乙酰基或丙酰基。

[0211] 非天然存在的氨基酸适宜对通用蛋白酶具抗性或不敏感。对蛋白酶具抗性或不敏感的非天然存在的氨基酸的实例包括右旋(D-)形式的任何上文所提及的天然存在的 L-氨基酸,以及 L-和/或 D-非天然存在的氨基酸。D-氨基酸通常不存在于蛋白质中,不过其在通过除了细胞的正常核糖体蛋白合成机制以外的方式合成的某些肽抗生素中发现。如本文所用的 D-氨基酸被视为非天然存在的氨基酸。

[0212] 为了使蛋白酶敏感性降至最低,肽应具有少于五个、优选地少于四个、更优选地少于三个、并且最优选地少于两个由通用蛋白酶识别的相连的 L-氨基酸,而与氨基酸是天然存在的还是非天然存在的无关。最佳地,肽仅具有 D-氨基酸,并且没有 L-氨基酸。如果肽含有氨基酸的蛋白酶敏感序列,那么至少一个氨基酸优选地是非天然存在的 D-氨基酸,从而赋予蛋白酶抗性。蛋白酶敏感序列的一个实例包括两个或更多个容易被通用蛋白酶裂解的相连的碱性氨基酸,这些蛋白酶如肽链内切酶和胰蛋白酶。碱性氨基酸的实例包括精氨酸、赖氨酸以及组氨酸。

[0213] 芳香族阳离子肽与肽中氨基酸残基的总数相比在生理 pH 下应具有净正电荷的最小数。在生理 pH 下净正电荷的最小数将在下文被称作 (p_m)。肽中氨基酸残基的总数将在下文被称作 (r)。下文所论述的净正电荷的最小数全部是在生理 pH 下。如本文所用的术语“生理 pH”指的是在哺乳动物身体的组织和器官的细胞中的正常 pH。举例来说,人类的生理 pH 通常为约 7.4,但哺乳动物中的正常生理 pH 可以为约 7.0 至约 7.8 的任何 pH。

[0214] 通常,肽具有带正电的N端氨基和带负电的C端羧基。电荷在生理 pH 下相互抵消。作为计算净电荷的一个实例,肽 Tyr-Arg-Phe-Lys-Glu-His-Trp-D-Arg 具有一个带负电的氨基酸(即,Glu)和四个带正电的氨基酸(即,两个 Arg 残基、一个 Lys 以及一个 His)。因此,上述肽具有三个净正电荷。

[0215] 在一个实施方案中,芳香族阳离子肽具有在生理 pH 下净正电荷的最小数(p_m)与氨基酸残基的总数(r)之间的关系,其中 $3p_m$ 为小于或等于 $r+1$ 的最大数。在这个实施方案中,净正电荷的最小数(p_m)与氨基酸残基的总数(r)之间的关系如下:

[0216] 表 2. 氨基酸数和净正电荷 ($3p_m \leq r+1$)

[0217]

(r)	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
(p_m)	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5	6	6	6	7

[0218] 在另一个实施方案中,芳香族阳离子肽具有净正电荷的最小数(p_m)与氨基酸残基的总数(r)之间的关系,其中 $2p_m$ 为小于或等于 $r+1$ 的最大数。在这个实施方案中,净正电荷的最小数(p_m)与氨基酸残基的总数(r)之间的关系如下:

[0219] 表 3. 氨基酸数和净正电荷 ($2p_m \leq r+1$)

[0220]

(r)	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
(p_m)	2	2	3	3	4	4	5	5	6	6	7	7	8	8	9	9	10	10

[0221] 在一个实施方案中,净正电荷的最小数(p_m)与氨基酸残基的总数(r)是相等的。在另一个实施方案中,肽具有三个或四个氨基酸残基以及最少一个净正电荷、适宜地最少两个净正电荷并且更优选地最少三个净正电荷。

[0222] 芳香族阳离子肽与净正电荷的总数(p_t)相比具有芳香族基团的最小数也是重要的。芳香族基团的最小数将在下文被称作(a)。具有芳香族基团的天然存在的氨基酸包括氨基酸组氨酸、色氨酸、酪氨酸以及苯丙氨酸。举例来说,六肽 Lys-Gln-Tyr-D-Arg-Phe-Trp 具有两个净正电荷(由赖氨酸和精氨酸残基贡献)和三个芳香族基团(由酪氨酸、苯丙氨酸以及色氨酸残基贡献)。

[0223] 芳香族阳离子肽还应具有芳香族基团的最小数(a)与在生理 pH 下净正电荷的总数(p_t)之间的关系,其中 $3a$ 为小于或等于 p_t+1 的最大数,除了当 p_t 为 1 时, a 也可以为 1。在这个实施方案中,芳香族基团的最小数(a)与净正电荷的总数(p_t)之间的关系如下:

[0224] 表 4. 芳香族基团和净正电荷 ($3a \leq p_t+1$ 或 $a = p_t = 1$)

[0225]

(p_t)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
(a)	1	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5	6	6	6	7

[0226] 在另一个实施方案中,芳香族阳离子肽具有芳香族基团的最小数(a)与净正电荷的总数(p_t)之间的关系,其中 $2a$ 为小于或等于 p_t+1 的最大数。在这个实施方案中,芳香族

氨基酸残基的最小数 (a) 与净正电荷的总数 (p_t) 之间的关系如下：

[0227] 表 5. 芳香族基团和净正电荷 ($2a \leq p_t + 1$ 或 $a = p_t = 1$)

[0228]

(p_t)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
(a)	1	1	2	2	3	3	4	4	5	5	6	6	7	7	8	8	9	9	10	10

[0229] 在另一个实施方案中, 芳香族基团数 (a) 与净正电荷的总数 (p_t) 是相等的。

[0230] 羧基、尤其 C 端氨基酸的末端羧基适宜用例如氨进行酰胺化以形成 C 端酰胺。或者, C 端氨基酸的末端羧基可以用任何伯胺或仲胺进行酰胺化。伯胺或仲胺可以例如为烷基、尤其支链或无支链 C_1 - C_4 烷基、或芳基胺。因此, 在肽的 C 端处的氨基酸可以被转化成酰胺基、N- 甲基酰胺基、N- 乙基酰胺基、N, N- 二甲基酰胺基、N, N- 二乙基酰胺基、N- 甲基-N- 乙基酰胺基、N- 苯基酰胺基或 N- 苯基-N- 乙基酰胺基。不存在于芳香族阳离子肽的 C 端处的天冬酰胺、谷氨酰胺、天冬氨酸以及谷氨酸残基的游离羧酸酯基也可以被酰胺化, 无论其存在于肽内的任何位置。在这些内部位置处的酰胺化可以使用氨或上文所描述的任何伯胺或仲胺。

[0231] 在一个实施方案中, 芳香族阳离子肽是具有两个净正电荷和至少一个芳香族氨基酸的三肽。在一个特定实施方案中, 芳香族阳离子肽是具有两个净正电荷和两个芳香族氨基酸的三肽。

[0232] 芳香族阳离子肽包括 (但不限于) 以下肽实例：

[0233]

表 6 : 例示性肽
$2', 6' - \text{Dmp-D-Arg-}2', 6' - \text{Dmt-Lys-NH}_2$
$2', 6' - \text{Dmp-D-Arg-Phe-Lys-NH}_2$
$2', 6' - \text{Dmt-D-Arg-PheOrn-NH}_2$
$2', 6' - \text{Dmt-D-Arg-Phe-Ahp (2- 氨基庚酸) -NH}_2$
$2', 6' - \text{Dmt-D-Arg-Phe-Lys-NH}_2$
$2', 6' - \text{Dmt-D-Cit-PheLys-NH}_2$
Ala-D-Phe-D-Arg-Tyr-Lys-D-Trp-His-D-Tyr-Gly-Phe
Arg-D-Leu-D-Tyr-Phe-Lys-Glu-D-Lys-Arg-D-Trp-Lys-D-Phe-Tyr-D-Arg-Gly
Asp-Arg-D-Phe-Cys-Phe-D-Arg-D-Lys-Tyr-Arg-D-Tyr-Trp-D-His-Tyr-D-Phe-Lys-Phe
Asp-D-Trp-Lys-Tyr-D-His-Phe-Arg-D-Gly-Lys-NH ₂

D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH ₂
D-Glu-Asp-Lys-D-Arg-D-His-Phe-Phe-D-Val-Tyr-Arg-Tyr-D-Tyr-Arg-His-Phe-NH ₂
D-His-Glu-Lys-Tyr-D-Phe-Arg
D-His-Lys-Tyr-D-Phe-Glu-D-Asp-D-Asp-D-His-D-Lys-Arg-Trp-NH ₂
D-Tyr-Trp-Lys-NH ₂
Glu-Arg-D-Lys-Tyr-D-Val-Phe-D-His-Trp-Arg-D-Gly-Tyr-Arg-D-Met-NH ₂
Gly-Ala-Lys-Phe-D-Lys-Glu-Arg-Tyr-His-D-Arg-D-Arg-Asp-Tyr-Trp-D-His-Trp-His-D-Lys-Asp.
Gly-D-Phe-Lys-His-D-Arg-Tyr-NH ₂
His-Tyr-D-Arg-Trp-Lys-Phe-D-Asp-Ala-Arg-Cys-D-Tyr-His-Phe-D-Lys-Tyr-His-Ser-NH ₂
Lys-D-Arg-Tyr-NH ₂
Lys-D-Gln-Tyr-Arg-D-Phe-Trp-NH ₂
Lys-Trp-D-Tyr-Arg-Asn-Phe-Tyr-D-His-NH ₂
Met-Tyr-D-Arg-Phe-Arg-NH ₂
Met-Tyr-D-Lys-Phe-Arg
Phe-Arg-D-His-Asp
Phe-D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-NH ₂
Phe-D-Arg-His
Phe-D-Arg-Lys-Trp-Tyr-D-Arg-His
Phe-D-Arg-Phe-Lys-NH ₂
Phe-Phe-D-Tyr-Arg-Glu-Asp-D-Lys-Arg-D-Arg-His-Phe-NH ₂
Phe-Tyr-Lys-D-Arg-Trp-His-D-Lys-D-Lys-Glu-Arg-D-Tyr-Thr
Thr-Gly-Tyr-Arg-D-His-Phe-Trp-D-His-Lys
Thr-Tyr-Arg-D-Lys-Trp-Tyr-Glu-Asp-D-Lys-D-Arg-His-Phe-D-Tyr-Gly-Val-Ile-D-His-Arg-Tyr-Lys-NH ₂
Trp-D-Lys-Tyr-Arg-NH ₂
Trp-Lys-Phe-D-Asp-Arg-Tyr-D-His-Lys
Tyr-Asp-D-Lys-Tyr-Phe-D-Lys-D-Arg-Phe-Pro-D-Tyr-His-Lys

Tyr-D-Arg-Phe-Lys-Glu-NH ₂

Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH ₂

[0234]

Tyr-D-His-Phe-D-Arg-Asp-Lys-D-Arg-His-Trp-D-His-Phe

Tyr-His-D-Gly-Met

Val-D-Lys-His-Tyr-D-Phe-Ser-Tyr-Arg-NH ₂

[0235] 在一个实施方案中,肽具有 μ -阿片受体激动剂活性(即,其活化 μ -阿片受体)。具有 μ -阿片受体激动剂活性的肽通常是在 N 端(即,第一氨基酸位置)处具有酪氨酸残基或酪氨酸衍生物的那些肽。适合的酪氨酸衍生物包括 2'-甲基酪氨酸(Mmt);2',6'-二甲基酪氨酸(2',6'-Dmt);3',5'-二甲基酪氨酸(3',5'-Dmt);N,2',6'-三甲基酪氨酸(Tmt);以及 2'-羟基-6'-甲基酪氨酸(Hmt)。

[0236] 在一个实施方案中,具有 μ -阿片受体激动剂活性的肽具有式 Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH₂。Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH₂ 具有由氨基酸酪氨酸、精氨酸以及赖氨酸贡献的三个净正电荷,并且具有由氨基酸苯丙氨酸和酪氨酸贡献的两个芳香族基团。Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH₂ 的酪氨酸可以是修饰的酪氨酸衍生物(诸如在 2',6'-二甲基酪氨酸中)以产生具有式 2',6'-Dmt-D-Arg-Phe-Lys-NH₂ 的化合物。2',6'-Dmt-D-Arg-Phe-Lys-NH₂ 具有 640 的分子量并且在生理 pH 下携带三个净正电荷。2',6'-Dmt-D-Arg-Phe-Lys-NH₂ 容易地以能量非依赖性方式穿透若干哺乳动物细胞类型的质膜(Zhao 等, J. Pharmacol Exp Ther., 304:425-432, 2003)。

[0237] 或者,在其它情况下,芳香族阳离子肽不具有 μ -阿片受体激动剂活性。举例来说,在长期治疗期间,诸如在慢性疾病病况或病状中,活化 μ -阿片受体的芳香族阳离子肽的使用可能有禁忌。在这些情况下,芳香族阳离子肽的潜在不良或成瘾作用可以排除在人类患者或其它哺乳动物的治疗方案中使用活化 μ -阿片受体的芳香族阳离子肽。潜在不良作用可以包括镇静、便秘以及呼吸抑制。在所述情况下,不活化 μ -阿片受体的芳香族阳离子肽可以为适当的治疗。不具有 μ -阿片受体激动剂活性的肽一般在 N 端(即,氨基酸位置 1)处不具有酪氨酸残基或酪氨酸衍生物。在 N 端处的氨基酸可以是除酪氨酸之外的任何天然存在或非天然存在的氨基酸。在一个实施方案中,在 N 端处的氨基酸是苯丙氨酸或其衍生物。例示性的苯丙氨酸衍生物包括 2'-甲基苯丙氨酸(Mmp)、2',6'-二甲基苯丙氨酸(2',6'-Dmp)、N,2',6'-三甲基苯丙氨酸(Tmp)以及 2'-羟基-6'-甲基苯丙氨酸(Hmp)。

[0238] 不具有 μ -阿片受体激动剂活性的芳香族阳离子肽的一个实例具有式 Phe-D-Arg-Phe-Lys-NH₂。或者, N 端苯丙氨酸可以是苯丙氨酸衍生物,诸如 2',6'-二甲基苯丙氨酸(2',6'-Dmp)。在氨基酸位置 1 处含有 2',6'-二甲基苯丙氨酸的 Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH₂ 具有式 2',6'-Dmp-D-Arg-Phe-Lys-NH₂。在一个实施方案中,2',6'-Dmt-D-Arg-Phe-Lys-NH₂ 的氨基酸序列经过重排以使得 Dmt 不在 N 端处。不具有 μ -阿片受体激动剂活性的这种芳香族阳离子肽的一个实例具有式 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂。

[0239] 本文所列的肽的适合的取代变体包括保守性氨基酸取代。氨基酸可以根据其物理化学特征如下分组：

[0240] (a) 非极性氨基酸 :Ala (A)、Ser (S)、Thr (T)、Pro (P)、Gly (G)、Cys (C) ；

[0241] (b) 酸性氨基酸 :Asn (N)、Asp (D)、Glu (E)、Gln (Q) ；

[0242] (c) 碱性氨基酸 :His (H)、Arg (R)、Lys (K) ；

[0243] (d) 疏水性氨基酸 :Met (M)、Leu (L)、Ile (I)、Val (V) ；以及

[0244] (e) 芳香族氨基酸 :Phe (F)、Tyr (Y)、Trp (W)、His (H) 。

[0245] 肽中的氨基酸被同一组中的另一个氨基酸取代被称作保守性取代并且可以保留原始肽的物理化学特征。相比之下，肽中的氨基酸被不同组中的另一个氨基酸取代一般更有可能改变原始肽的特征。

[0246] 活化 μ -阿片受体的肽的实例包括（但不限于）表 7 中所示的芳香族阳离子肽。

[0247] 表 7. 具有 μ -阿片活性的肽类似物

[0248]

氨基酸位置 1	氨基酸位置 2	氨基酸位置 3	氨基酸位置 4	C 端修饰
Tyr	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Tyr	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
Tyr	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
Tyr	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂

[0249]

氨基酸位置 1	氨基酸位置 2	氨基酸位置 3	氨基酸位置 4	C 端修饰
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	Lys-NH(CH ₂) ₂ -NH-dns	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	Lys-NH(CH ₂) ₂ -NH-atn	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	dnsLys	NH ₂
2',6'Dmt	D-Cit	Phe	Lys	NH ₂
2',6'Dmt	D-Cit	Phe	Ahp	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	Ahp(2-氨基庚酸)	NH ₂
Bio-2',6'Dmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
3',5'Dmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
3',5'Dmt	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
3',5'Dmt	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
3',5'Dmt	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂
Tyr	D-Arg	Tyr	Lys	NH ₂
Tyr	D-Arg	Tyr	Orn	NH ₂
Tyr	D-Arg	Tyr	Dab	NH ₂
Tyr	D-Arg	Tyr	Dap	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Tyr	Lys	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Tyr	Orn	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Tyr	Dab	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Tyr	Dap	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	2'6'Dmt	Lys	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	2'6'Dmt	Orn	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	2'6'Dmt	Dab	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	2'6'Dmt	Dap	NH ₂
3',5'Dmt	D-Arg	3'5'Dmt	Arg	NH ₂
3',5'Dmt	D-Arg	3'5'Dmt	Lys	NH ₂
3',5'Dmt	D-Arg	3'5'Dmt	Orn	NH ₂
3',5'Dmt	D-Arg	3'5'Dmt	Dab	NH ₂
Tyr	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
Tyr	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Lys	Phe	Lys	NH ₂
Tyr	D-Lys	Phe	Orn	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	Phe	Dab	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	Phe	Lys	NH ₂
3',5'Dmt	D-Lys	Phe	Orn	NH ₂
3',5'Dmt	D-Lys	Phe	Dab	NH ₂

[0250]

氨基酸位置 1	氨基酸位置 2	氨基酸位置 3	氨基酸位置 4	C 端修饰
3',5'Dmt	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
3',5'Dmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Lys	Tyr	Lys	NH ₂
Tyr	D-Lys	Tyr	Orn	NH ₂
Tyr	D-Lys	Tyr	Dab	NH ₂
Tyr	D-Lys	Tyr	Dap	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	Tyr	Lys	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	Tyr	Orn	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	Tyr	Dab	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	Tyr	Dap	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	2'6'Dmt	Lys	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	2'6'Dmt	Orn	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	2'6'Dmt	Dab	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	2'6'Dmt	Dap	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	dnsDap	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	atnDap	NH ₂
3',5'Dmt	D-Lys	3'5'Dmt	Lys	NH ₂
3',5'Dmt	D-Lys	3'5'Dmt	Orn	NH ₂
3',5'Dmt	D-Lys	3'5'Dmt	Dab	NH ₂
3',5'Dmt	D-Lys	3'5'Dmt	Dap	NH ₂
Tyr	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Dab	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Dap	Phe	Arg	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	Arg	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
2',6'Dmt	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂
2',6'Dmt	D-Dab	Phe	Arg	NH ₂
3',5'Dmt	D-Dap	Phe	Arg	NH ₂
3',5'Dmt	D-Arg	Phe	Arg	NH ₂
3',5'Dmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
3',5'Dmt	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Lys	Tyr	Arg	NH ₂
Tyr	D-Orn	Tyr	Arg	NH ₂
Tyr	D-Dab	Tyr	Arg	NH ₂
Tyr	D-Dap	Tyr	Arg	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	2'6'Dmt	Arg	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	2'6'Dmt	Arg	NH ₂
2',6'Dmt	D-Orn	2'6'Dmt	Arg	NH ₂
2',6'Dmt	D-Dab	2'6'Dmt	Arg	NH ₂
3',5'Dmt	D-Dap	3'5'Dmt	Arg	NH ₂

[0251]

氨基酸位置 1	氨基酸位置 2	氨基酸位置 3	氨基酸位置 4	C 端修饰
3',5'Dmt	D-Arg	3'5'Dmt	Arg	NH ₂
3',5'Dmt	D-Lys	3'5'Dmt	Arg	NH ₂
3',5'Dmt	D-Orn	3'5'Dmt	Arg	NH ₂
Mmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Mmt	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
Mmt	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
Mmt	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂
Tmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Tmt	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
Tmt	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
Tmt	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂
Hmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Hmt	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
Hmt	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
Hmt	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Lys	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Orn	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Dab	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Lys	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Orn	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Dab	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Lys	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Orn	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Dab	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Mmt	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂
Mmt	D-Dab	Phe	Arg	NH ₂
Mmt	D-Dap	Phe	Arg	NH ₂
Mmt	D-Arg	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Dab	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Dap	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Arg	Phe	Arg	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂

[0252]

氨基酸位置 1	氨基酸位置 2	氨基酸位置 3	氨基酸位置 4	C 端修饰
Hmt	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂
Hmt	D-Dab	Phe	Arg	NH ₂
Hmt	D-Dap	Phe	Arg	NH ₂
Hmt	D-Arg	Phe	Arg	NH ₂

[0253] Dab = 二氨基丁酸

[0254] Dap = 二氨基丙酸

[0255] Dmt = 二甲基酪氨酸

[0256] Mmt = 2'-甲基酪氨酸

[0257] Tmt = N, 2', 6'-三甲基酪氨酸

[0258] Hmt = 2'-羟基, 6'-甲基酪氨酸

[0259] dnsDap = β -丹酰基-L- α , β -二氨基丙酸

[0260] atnDap = β -氨基萘酰基-L- α , β -二氨基丙酸

[0261] Bio = 生物素

[0262] 不活化 μ -阿片受体的肽的实例包括(但不限于)表8中所示的芳香族阳离子肽。

[0263] 表8. 缺乏 μ -阿片活性的肽类似物

[0264]

氨基酸位置 1	氨基酸位置 2	氨基酸位置 3	氨基酸位置 4	C 端修饰
D-Arg	Dmt	Lys	Phe	NH ₂
D-Arg	Dmt	Phe	Lys	NH ₂
D-Arg	Phe	Lys	Dmt	NH ₂
D-Arg	Phe	Dmt	Lys	NH ₂
D-Arg	Lys	Dmt	Phe	NH ₂
D-Arg	Lys	Phe	Dmt	NH ₂
Phe	Lys	Dmt	D-Arg	NH ₂
Phe	Lys	D-Arg	Dmt	NH ₂
Phe	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Phe	D-Arg	Dmt	Lys	NH ₂
Phe	D-Arg	Lys	Dmt	NH ₂
Phe	Dmt	D-Arg	Lys	NH ₂
Phe	Dmt	Lys	D-Arg	NH ₂
Lys	Phe	D-Arg	Dmt	NH ₂
Lys	Phe	Dmt	D-Arg	NH ₂
Lys	Dmt	D-Arg	Phe	NH ₂
Lys	Dmt	Phe	D-Arg	NH ₂

[0265]

氨基酸位 置 1	氨基酸位 置 2	氨基酸位 置 3	氨基酸位 置 4	C 端修饰
Lys	D-Arg	Phe	Dmt	NH ₂
Lys	D-Arg	Dmt	Phe	NH ₂
D-Arg	Dmt	D-Arg	Phe	NH ₂
D-Arg	Dmt	D-Arg	Dmt	NH ₂
D-Arg	Dmt	D-Arg	Tyr	NH ₂
D-Arg	Dmt	D-Arg	Trp	NH ₂
Trp	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Trp	D-Arg	Tyr	Lys	NH ₂
Trp	D-Arg	Trp	Lys	NH ₂
Trp	D-Arg	Dmt	Lys	NH ₂
D-Arg	Trp	Lys	Phe	NH ₂
D-Arg	Trp	Phe	Lys	NH ₂
D-Arg	Trp	Lys	Dmt	NH ₂
D-Arg	Trp	Dmt	Lys	NH ₂
D-Arg	Lys	Trp	Phe	NH ₂
D-Arg	Lys	Trp	Dmt	NH ₂
Cha	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Ala	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂

[0266] Cha = 环己基丙氨酸

[0267] 表 7 和 8 中所示的肽的氨基酸可以呈 L- 或 D- 构型。

[0268] 肽可以通过本领域中熟知的任何方法来合成。以化学方式合成蛋白质的适合方法包括例如 Stuart 和 Young, Solid Phase Peptide Synthesis, 第二版, Pierce Chemical Company (1984) 以及 Methods Enzymol., 289, Academic Press, Inc., New York (1997) 中所描述的那些。

[0269] 芳香族阳离子肽的预防和治疗用途

[0270] 概要. 本文所描述的芳香族阳离子肽适用于预防或治疗疾病。具体地说, 本公开提供了治疗具有或疑似具有升高的 CRP 水平 (例如, 通过 hsCRP 检测所测定)、升高的 TNF- α 水平、升高的 IL-6 水平、或升高的 ROS 水平、升高的心肌钙蛋白 I 水平、升高的 Nt-BNP 原水平、升高的 MLCL AT1 表达水平、升高的 ALCAT 1 表达水平、和 / 或 mK ATP 活性的降低、和 / 或 Taz1 表达的降低中的一者或多者的受试者的预防与治疗方法。举例来说, 在一些实施方案中, 本公开提供了治疗患有心脏衰竭或处于 (易患) 心脏衰竭风险下, 以及具有或疑似具有升高的 CRP 水平 (例如, 通过 hsCRP 所测定)、升高的 TNF- α 水平、升高的 IL-6 水平、升高的 ROS 水平、升高的心肌钙蛋白 I 水平、升高的 Nt-BNP 原水平、升高的 MLCL AT1 表达水平、升高的 ALCAT 1 表达水平、和 / 或 mK ATP 活性的降低和 / 或 Taz1 表达的降低的受试者的预防与治疗方法。因此, 本发明方法提供了对受试者的心脏衰竭的预防和 / 或治疗, 这是通过将有效量的芳香族阳离子肽施用于有需要的受试者以降低或标准化 CRP 水平、TNF- α 水平、IL-6 水平、ROS 水平、心肌钙蛋白 I 水平、MLCL AT1 表达水平、ALCAT 1 表达水平、和 / 或 Nt-BNP 原中的一者或多者, 和 / 或增加或标准化受试者的 Taz1 表达水平

和 / 或 mK ATP 活性来实现。

[0271] 另外,本公开提供了治疗处于 LV 重塑风险下或罹患 LV 重塑的受试者的预防与治疗方法, LV 重塑例如归因于升高的 CRP、TNF- α 、IL-6、ROS、心肌钙蛋白 I、MLCL AT1 或 ALCAT 1、和 / 或 mK ATP 活性的降低和 / 或 Taz1 表达的降低。因此,本发明方法提供了对受试者的 LV 重塑的预防和 / 或治疗,这是通过将有效量的芳香族阳离子肽施用于有需要的受试者来实现。

[0272] 在一些实施方案中, CRP 水平、TNF- α 水平、IL-6 水平、或 ROS 水平、或 Nt-BNP 原水平、或心肌钙蛋白 I 水平、或 MLCL AT1 表达、或 ALCAT 1 表达中的一者或多者的升高用以指示没有心血管疾病的任何既往史的受试者的未来血管事件。另外或替代地,在一些实施方案中,降低的 mK ATP 活性或降低的 Taz 1 表达用以指示没有心血管疾病的任何既往史的受试者的未来血管事件。在一些实施方案中, CRP 水平、TNF- α 水平、IL-6 水平、或 ROS、或 Nt-BNP 原水平、或心肌钙蛋白 I 水平、或 MLCL AT1 表达、或 ALCAT 1 表达、mK ATP 活性、或 Taz1 表达中的一者或多者的测定增进初级心血管疾病预防中的风险评估和治疗结果。在一些实施方案中, CRP 水平、TNF- α 水平、IL-6 水平、或 ROS 水平、或 Nt-BNP 原水平、或心肌钙蛋白 I 水平、或 MLCL AT1 表达、或 ALCAT 1 表达、或 Taz1 表达、或 mK ATP 活性中的一者或多者充当用于评估例如在经皮冠状动脉介入术之后复发性心脏事件(诸如心肌梗塞或再狭窄)的可能性的独立标志。在一些实施方案中, CRP 水平、TNF- α 水平、IL-6 水平、或 ROS 水平、或 Nt-BNP 原水平、或心肌钙蛋白 I 水平、或 mK ATP 活性、或 MLCL AT1 表达、或 ALCAT 1 表达、或 Taz1 表达中的一者或多者用于心脏风险分层和评估中,并且是诸如急性冠状动脉综合症、中风、外周动脉病以及心肌梗塞后并发症(诸如心脏衰竭)的病状中的预后因素。在一些实施方案中, CRP 水平、TNF- α 水平、IL-6 水平以及 ROS 水平、或 Nt-BNP 原水平、或心肌钙蛋白 I 水平、或 mK ATP 活性、或 MLCL AT1 表达、或 ALCAT 1 表达、或 Taz1 表达中的一者或多者用于确定患有稳定性冠状动脉心脏病和 / 或急性冠状动脉综合症的患者的心脏事件的复发可能性。在一些实施方案中, CRP 水平、TNF- α 水平、IL-6 水平、或 ROS 水平、或 Nt-BNP 原水平、或心肌钙蛋白 I 水平、或 mK ATP 活性、或 MLCL AT1 表达、或 ALCAT 1 表达、或 Taz1 表达中的一者或多者是经历经皮冠状动脉介入术的受试者的早期并发症以及后期临床狭窄和死亡率的预测因子。在一些实施方案中, CRP 水平、TNF- α 水平、IL-6 水平、或 ROS 水平、或 Nt-BNP 原水平、或心肌钙蛋白 I 水平、或 mK ATP 活性、或 MLCL AT1 表达、或 ALCAT 1 表达、或 Taz1 表达中的一者或多者在急性冠状动脉综合症、稳定性心绞痛、不稳定性心绞痛以及急性心肌梗塞中增加预后价值。在一些实施方案中,测量 CRP 水平、TNF- α 水平、IL-6 水平、或 ROS 水平、或 Nt-BNP 原水平、或心肌钙蛋白 I 水平、或 mK ATP 活性、或 MLCL AT1 表达、或 ALCAT 1 表达、或 Taz1 表达中的一者或多者在 LV 重塑中增加预后价值。

[0273] 因此,在一些实施方案中,使用如本文所公开的芳香族阳离子肽,诸如 D-Arg-2', 6' Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐(诸如乙酸盐或三氟乙酸盐)对具有升高的 CRP 水平、TNF- α 水平、IL-6 水平、ROS 水平、心肌钙蛋白 I 水平、或 MLCL AT1 表达、和 / 或 ALCAT 1 表达中的一者或多者的受试者的治疗性和 / 或预防性治疗降低了升高的 CRP 水平、TNF- α 水平、IL-6 水平、ROS 水平、心肌钙蛋白 I 水平、MLCL AT1 表达、和 / 或 ALCAT 1 表达中的一者或多者,从而降低上文所描述的的心脏、狭窄 / 血管事件中的任一者(例如, LV 重塑)的风险。另外或替代地,在一些实施方案中,使用如本文所公开的芳香族

阳离子肽, 诸如 D-Arg-2', 6' Dmt-Lys-Phe-NH₂ 或其医药学上可接受的盐 (诸如乙酸盐或三氟乙酸盐) 对具有降低的 mK ATP 活性和 / 或降低的 Taz1 表达的受试者的治疗性和 / 或预防性治疗增加了 mK ATP 活性和 / 或 Taz1 表达, 从而降低上文所描述的心脏、狭窄 / 血管事件中的任一者 (例如, LV 重塑) 的风险。在一些实施方案中, CRP 水平、TNF- α 水平、IL-6 水平、ROS 水平、Nt-BNP 原水平、或心肌钙蛋白 I 水平、或 Nt-BNP 原水平、或 mK ATP 活性、或 MLCL AT1 表达、或 ALCAT 1 表达、或 Taz1 表达中的一者或多者在用芳香族阳离子肽治疗后得以标准化。

[0274] 治疗方法。以下论述仅作为实例而呈现, 并且并不意图将所公开的方法和组合物限于特定疾病或疾病病况。应了解, 降低受试者的 CRP 水平、或 TNF- α 水平、或 IL-6 水平、或 ROS 水平、心肌钙蛋白 I 水平、MLCL AT1 表达、或 ALCAT 1 表达中的一者或多者和 / 或在受试者中增加 mK ATP 活性和 / 或增加 Taz1 表达将降低许多负性心脏、狭窄或血管事件 (例如, LV 重塑) 的风险。在一些实施方案中, 本发明技术包括出于治疗目的来治疗具有或疑似具有升高的 CRP 水平、或 TNF- α 水平、或 IL-6 水平、或 ROS 水平、或心肌钙蛋白 I 水平、或 MLCL AT1 表达、或 ALCAT 1 表达、和 / 或降低的 mK ATP 活性、和 / 或降低的 Taz1 表达的受试者的 LV 重塑的方法。在治疗应用中, 以足以治愈或至少部分遏制疾病的症状, 包括其并发症和在疾病发展中的中间病理表型的量, 将组合物或药物施用于疑似或已经罹患这种疾病的受试者。这样的话, 在一些实施方案中, 本发明技术提供了治疗遭受心脏衰竭或 LV 重塑的具有或疑似具有升高的 CRP 水平、TNF- α 水平、IL-6 水平、ROS 水平、心肌钙蛋白 I 水平、MLCL AT1 表达、和 / 或 ALCAT 1 表达、和 / 或降低的 mK ATP、和 / 或降低的 Taz1 表达的个体的方法。

[0275] 罹患心脏衰竭的受试者可以通过本领域中已知的诊断或预后检测中的任一者或其组合来鉴别。举例来说, 心脏衰竭的典型症状包括呼吸短促 (呼吸困难)、疲劳、衰弱、当平躺时呼吸困难, 以及腿、脚踝或腹部肿胀 (水肿)。在一些实施方案中, 受试者还可能展现升高的 CRP 水平、TNF- α 水平、IL-6 水平、ROS 水平、NT-BNP 原水平、心肌钙蛋白 I 水平、MLCL AT1 表达、和 / 或 ALCAT 1 表达、和 / 或降低的 mK ATP、和 / 或降低的 Taz1 表达。受试者还可能罹患其它病症, 包括冠状动脉病、全升高血压、心肌病或心肌炎、先天性心脏病、异常心脏瓣膜或瓣膜性心脏病、严重肺病、糖尿病、严重贫血、甲状腺功能亢进、心律失常或节律紊乱, 以及心肌梗塞。充血性心脏衰竭的主要征象是心肥大 (扩大的心脏)、呼吸急促 (呼吸快速; 在左侧衰竭的情况下发生) 以及肝肿大 (扩大的肝; 在右侧衰竭的情况下发生)。因冠状动脉阻塞而引起的急性心肌梗塞 (“AMI”) 是可能最终导致心脏衰竭的常见起始事件。然而, 患有 AMI 的受试者不一定显现心脏衰竭。同样地, 罹患心脏衰竭的受试者不一定罹患 AMI。

[0276] 罹患 LV 重塑的受试者可以通过本领域中已知的诊断或预后检测中的任一者或其组合来鉴别。举例来说, LV 重塑的典型症状包括减少的 LV 心搏量、降低的 LV 射血分数、较差缩短分数、增加的梗塞膨展、较差血液动力学、LV 心肌中增加的疤痕形成、以及增大的肺体积。LV 重塑的症状还包括与心脏衰竭相关的症状, 诸如呼吸短促、疲劳以及四肢肿胀。在一些实施方案中, 芳香族阳离子肽的“治疗有效量”包括升高的 CRP 水平、TNF- α 水平、IL-6 水平、ROS 水平、心肌钙蛋白 I 水平、MLCL AT1 表达、和 / 或 ALCAT 1 表达的生理效应在最低限度上得以改善的水平。另外或替代地, 在一些实施方案中, 芳香族阳离子肽的治疗有效

量包括降低的 mK ATP 水平和 / 或降低的 Taz1 表达的生理效应在最低限度上得以改善的水平。另外或替代地, 在一些实施方案中, 芳香族阳离子肽的治疗有效量包括 LV 重塑的生理效应在最低限度上得以改善的水平。

[0277] 预防方法. 在一些方面, 本发明提供了一种在具有或疑似具有升高的 CRP 水平、TNF- α 水平、或 IL-6 水平、或 ROS 水平、心肌钙蛋白 I 水平、MLCL AT1 表达、和 / 或 ALCAT 1 表达、和 / 或降低的 mK ATP、和 / 或降低的 Taz1 表达中的一者或多者的受试者中预防心脏衰竭或降低心脏衰竭的可能性或严重性的方法, 这是通过向受试者施用降低 (例如, 标准化) CRP 水平、TNF- α 水平、IL-6 水平、ROS 水平、心肌钙蛋白 I 水平、MLCL AT1 表达、ALCAT 1 表达中的一者或多者, 和 / 或增加 (例如, 标准化) mK ATP, 和 / 或增加 Taz1 表达的芳香族阳离子肽来实现。处于心脏衰竭风险下的受试者可以通过例如本文所描述的诊断或预后检测中的任一者或其组合来鉴别。在预防应用中, 以足以消除或降低疾病风险、减轻疾病严重性、或延迟疾病发作的量, 将芳香族阳离子肽的医药组合物或药物施用于易患疾病或病状或以其它方式处于疾病或病状风险下的受试者, 这种疾病包括疾病的生物化学、组织学和 / 或行为症状、其并发症以及在疾病发展期间所呈现的中间病理表型。施用预防性芳香族阳离子剂可以在疾病或病症所特有的症状表现之前发生, 以使得疾病或病症得以预防, 或者其进程得以延迟。适当化合物可以基于上文所描述的筛选检测来确定。

[0278] 被诊断患有心脏衰竭或处于心脏衰竭风险下的受试者可以展现以下非限制性风险因素中的一者或多者: 高血压; 冠状动脉病; 心脏病发作; 不规则心跳; 糖尿病; 一些糖尿病药物 (例如, 已经发现罗格列酮和吡格列酮增加心脏衰竭的风险); 睡眠呼吸暂停; 先天性心脏缺陷; 病毒感染; 饮酒; 肥胖; 生活方式 (例如, 吸烟、久坐的生活方式); 高胆固醇; 家族史; 压力; 以及肾病。

[0279] 左心室功能的改进

[0280] 患有 HF 的患者常常具有水平升高的促炎性细胞因子和趋化因子, 其为涉及于不良左心室 (LV) 重塑、神经激素活化、自主神经和血管张力受损以及冠状动脉粥样硬化发展中的化合物 (Sola 等“阿托伐他汀 (Atorvastatin) 改进非缺血性心脏衰竭的左心室收缩功能和发炎血清标志 (Atorvastatin Improves Left Ventricular Systolic Function and Serum Markers of Inflammation in Nonischemic Heart Failure)”J. Am. Coll. Cardiol. 47(2):332-337(2006))。较高水平的这些发炎标志, 包括 TNF- α 、IL-6 以及 CRP, 还与不良心血管发病率和死亡率相关联。在一些实施方案中, 用芳香族阳离子肽, 例如 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 降低促炎性细胞因子, 例如 TNF- α 、IL-6 以及 CRP, 会减少 LV 重塑。

[0281] 在一些实施方案中, 用芳香族阳离子肽, 例如 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 降低促炎性细胞因子, 例如 TNF- α 、IL-6 以及 CRP, 会改进处于 HF 风险下、或罹患 HF 或其它狭窄或血管事件的受试者的 LV 功能。在一些实施方案中, LV 功能的改进 (与未处理的受试者相比) 是通过减少的 LV 心搏量、增加的 LV 射血分数、改进的缩短分数、减少的梗塞膨展、良好的血液动力学、LV 心肌中减少的疤痕形成、减小的肺体积或其组合来测量。

[0282] 在急性心肌梗塞和 HF 中, ROS 在缺血心肌中、尤其在再灌注之后产生。ROS 直接损伤细胞膜并且导致细胞死亡。ROS 还刺激信号转导以在缺血区域中和心肌周围精制炎性细胞因子, 例如 TNF- α 、IL-1 β 以及 IL-6, 作为宿主反应。炎性细胞因子在与 ROS 的链式反

应中还调控细胞存活和细胞死亡。

[0283] 在一些实施方案中,用芳香族阳离子肽,例如 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂降低 ROS 会改进心肌梗塞之后或处于 HF 风险下的受试者的 LV 功能。在一些实施方案中, LV 功能的改进(与未处理的受试者相比)是通过减少的 LV 心搏量、增加的 LV 射血分数、改进的缩短分数、减少的梗塞膨展、良好的血液动力学、LV 心肌中减少的疤痕形成、减小的肺体积或其组合来测量。

[0284] 在急性心肌梗塞和 HF 中,心肌钙蛋白 I 在缺血心肌中产生。心肌钙蛋白 I 可以导致心肌钙蛋白自体抗体增加。增加的心肌钙蛋白自体抗体可以增加心脏发炎并且增加炎症细胞因子的表达。

[0285] 在一些实施方案中,用芳香族阳离子肽,例如 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂降低心肌钙蛋白 I 会改进心肌梗塞之后或处于 HF 风险下的受试者的 LV 功能。在一些实施方案中, LV 功能的改进(与未处理的受试者相比)是通过减少的 LV 心搏量、增加的 LV 射血分数、改进的缩短分数、减少的梗塞膨展、良好的血液动力学、LV 心肌中减少的疤痕形成、减小的肺体积或其组合来测量。

[0286] 在急性心肌梗塞和 HF 中,还原形式的 NADPH 的减少导致 mK ATP 活性降低。mK ATP 活性的降低导致线粒体环境中的离子失调,随后基质收缩并且 ATP 产生减少。

[0287] 在一些实施方案中,用芳香族阳离子肽,例如 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂增加 mK ATP 活性会改进心肌梗塞之后或处于 HF 风险下的受试者的 LV 功能。在一些实施方案中, LV 功能的改进(与未处理的受试者相比)是通过减少的 LV 心搏量、增加的 LV 射血分数、改进的缩短分数、减少的梗塞膨展、良好的血液动力学、LV 心肌中减少的疤痕形成、减小的肺体积或其组合来测量。

[0288] 基于芳香族阳离子肽的治疗剂的生物作用的测定

[0289] 在各种实施方案中,进行适合的体外或体内检测以测定特定的基于芳香族阳离子肽的治疗剂的作用以及其施用是否适用于治疗。在各种实施方案中,可以用代表性的动物模型进行体外检测,以确定给定的基于芳香族阳离子肽的治疗剂在降低 CRP 水平、TNF- α 水平、IL-6 水平、ROS 水平、心肌钙蛋白 I 水平、MLCL AT1 表达和 / 或 ALCAT 1 表达中的一者或多者,和 / 或增加 mK ATP 活性,和 / 或增加 Taz1 表达方面是否发挥所需作用,从而预防或治疗心脏衰竭或 LV 重塑。在人类受试者中测试之前,用于疗法中的化合物可以在适合的动物模型系统中测试,包括(但不限于)大鼠、小鼠、鸡、母牛、猴、兔,等等。类似地,对于体内测试,在施用于人类受试者之前可以使用本领域中已知的任何动物模型系统。

[0290] 在使用容量超负荷、压力超负荷、快速起搏、心肌缺血、心脏毒性药物或遗传修饰的模型的不同物种中已经诱导 HF。使用压力超负荷的模型已被最常使用。高血压与 HF 发展的风险增加相关联。在一个小鼠模型中,血管紧张素 II (Ang II) 增加血压并且诱导心肌细胞肥厚、心脏纤维化增加以及心肌细胞松弛受损。通过微量渗透泵输注血管紧张素至小鼠中增加收缩和舒张血压,增加心脏重量和左心室厚度 (LVMI)、以及受损的心肌性能指数 (MPI)。在 HF 诱导之前、期间以及之后的各个时间点监测 CRP 水平、TNF- α 水平、IL-6 水平、ROS 水平和 / 或心肌钙蛋白 I 水平、MLCL AT1、ALCAT1 和 / 或 Taz1 表达水平、和 / 或 mK ATP 活性。

[0291] 在第二个说明性的小鼠模型中, G α q 的持续高水平表达可以引起显著的肌细胞凋

亡,从而到 16 周龄为止导致心脏肥厚和心脏衰竭 (D' Angelo 等, 1998)。β - 肾上腺素能受体 (β AR) 主要偶联至异三聚 G 蛋白 Gs,以刺激腺苷酸环化酶活性。这种缔合产生细胞内 cAMP 和蛋白激酶 A 活化,其调控心收缩力和心率。G α q 的过度表达使得对 β - 肾上腺素能激动剂的响应性降低并且导致 HF。在 HF 诱导之前、期间以及之后的各个时间点监测 CRP 水平、TNF- α 水平、IL-6 水平、ROS 水平和 / 或心肌钙蛋白 I 水平、MLCL AT1、ALCAT1 和 / 或 Taz1 表达水平、和 / 或 mK ATP 活性。

[0292] 通过手术结扎对主动脉的实验性缩窄也被广泛用作 HF 模型。经主动脉缩窄 (TAC) 引起压力超负荷诱导的 HF,伴有左心室 (LV) 质量的增加。TAC 如 Tamavski 0 等 (2004) 所描述,使用 7-0 丝双结缝线以缩窄升主动脉来进行。在 TAC 之后,小鼠在 4 周的时段内显现 HF。在 HF 诱导之前、期间以及之后的各个时间点监测 CRP 水平、TNF- α 水平、IL-6 水平、ROS 水平和 / 或心肌钙蛋白 I 水平、MLCL AT1、ALCAT1 和 / 或 Taz1 表达水平、和 / 或 mK ATP 活性。

[0293] CRP 的预防和治疗用途

[0294] 如上文所提到,众多研究已经将如高灵敏度检测中所测定的 CRP 水平与心脏风险联系起来。一个例示性的风险评估量表示于表 9 中 :

[0295]

表 9: 与心血管风险相关的 hsCRP 水平	
hsCRP 测量	心血管风险
< 1 mg/L	低风险
1 至 3 mg/L	中风险
3 至 10 mg/L	高风险
> 10 mg/L	非特定的升高

[0296] 在一些实施方案中,正常、标准化或对照 CRP 水平小于约 1mg/L。在一些实施方案中,对照、正常或标准化 CRP 水平介于约 1mg/L 与 3mg/L 之间。

[0297] 在一些实施方案中,较低 CRP 水平是通过 hsCRP 检测来测定。在一些实施方案中,减少或降低的 CRP 水平是从高心脏风险水平 (例如,3mg/L 或更高) 至较低风险水平 (例如,1 至 3mg/L 或小于 1mg/L)。在一些实施方案中,降低 CRP 水平是降低约 1mg/L、约 2mg/L、约 3mg/L、约 4mg/L、约 5mg/L、约 6mg/L、约 7mg/L、约 8mg/L 或约 9mg/L。

[0298] ROS 的预防和治疗用途

[0299] 在一些实施方案中,正常、标准化或对照 ROS 水平小于约 3RLU×10⁵/ml。在一些实施方案中,正常、标准化或对照 ROS 水平介于约 3RLU×10⁵/ml 至约 13RLU×10⁵/ml 之间。

[0300] 在一些实施方案中,降低 ROS 水平是降低介于约 1RLU×10⁵/ml 至约 5RLU×10⁵/ml 之间、介于约 5RLU×10⁵/ml 至约 10RLU×10⁵/ml 之间、介于约 10RLU×10⁵/ml 至约 15RLU×10⁵/ml 之间、介于约 15RLU×10⁵/ml 至约 20RLU×10⁵/ml 之间、或介于约 20RLU×10⁵/ml 至约 25RLU×10⁵/ml 之间。

[0301] IL-6 的预防和治疗用途

[0302] 在一些实施方案中,正常、标准化或对照 IL-6 水平小于约 10pg/ml。在一些实施方案中,正常、标准化或对照 IL-6 水平介于约 5pg/ml 至约 13pg/ml 之间。

[0303] 在一些实施方案中,降低 IL-6 水平是降低介于约 1pg/ml 至约 5pg/ml 之间、介于

约 5pg/ml 至约 10pg/ml 之间、介于约 10pg/ml 至约 15pg/ml 之间、或介于约 15pg/ml 至约 20pg/ml 之间。

[0304] TNF- α 的预防和治疗用途

[0305] 在一些实施方案中,正常、标准化或对照 TNF- α 水平小于约 1.5pg/ml。在一些实施方案中,正常、标准化或对照 TNF- α 水平介于约 1pg/ml 至约 2pg/ml 之间。

[0306] 在一些实施方案中,降低 TNF- α 水平是降低约 1pg/ml、或约 2pg/ml、或约 3pg/ml、或约 4pg/ml、或 5pg/ml。

[0307] MLCL AT1、AL CAT1 以及 Taz1 的预防和治疗用途

[0308] 治疗方法:以下论述仅作为实例而呈现,并且并不意图将所公开的方法和组合物限于特定疾病或疾病病况。应了解,在有需要的受试者中降低 MLCL AT1 或 ALCAT1 的表达和/或提高 Taz1 的表达将降低许多负性心脏、狭窄或血管事件的风险。本发明技术的一个方面包括出于治疗目的来治疗具有或疑似具有升高的 MLCL AT1 或 ALCAT1 表达和/或降低的 Taz1 表达的受试者的心脏衰竭的方法。在治疗应用中,以足以治愈或至少部分遏制疾病的症状,包括其并发症和在疾病发展中的中间病理表型的量,将组合物或药物施用于疑似或已经罹患这种疾病的受试者。这样的话,在一些实施方案中,本发明技术提供了治疗遭受心脏衰竭的具有或疑似具有升高的 MLCL AT1 或 ALCAT1 表达水平的个体的方法。替代地或另外,在一些实施方案中,本发明技术提供了治疗遭受心脏衰竭的具有或疑似具有降低的 Taz1 表达的个体的方法。

[0309] 罹患心脏衰竭的受试者可以通过本领域中已知的诊断或预后检测中的任一者或其组合来鉴别。举例来说,心脏衰竭的典型症状包括呼吸短促(呼吸困难)、疲劳、衰弱、当平躺时呼吸困难,以及腿、脚踝或腹部肿胀(水肿)。在一些实施方案中,受试者还可能展现升高的 MLCL AT1 或 ALCAT1 表达和/或降低的 Taz1 表达。受试者还可能罹患其它病症,包括冠状动脉病、全身高血压、心肌病或心肌炎、先天性心脏病、异常心脏瓣膜或瓣膜性心脏病、严重肺病、糖尿病、严重贫血、甲状腺功能亢进、心律失常或节律紊乱,以及心肌梗塞。充血性心脏衰竭的主要征象是心肥大(扩大的心脏)、呼吸急促(呼吸快速;在左侧衰竭的情况下发生)以及肝肿大(扩大的肝;在右侧衰竭的情况下发生)。因冠状动脉阻塞而引起的急性心肌梗塞(“AMI”)是可能最终导致心脏衰竭的常见起始事件。然而,患有 AMI 的受试者不一定显现心脏衰竭。同样地,罹患心脏衰竭的受试者不一定罹患 AMI。

[0310] 预防方法:在一个方面,本发明技术提供了一种预防具有或疑似具有升高的 MLCL AT1 或 ALCAT1 表达和/或降低的 Taz1 表达中的一者或多者的受试者的心脏衰竭的方法,这是通过向受试者施用标准化 MLCL AT1、ALCAT1 或 Taz1 表达水平中的一者或多者的芳香族阳离子肽来实现。处于心脏衰竭风险下的受试者可以通过例如本文所描述的诊断或预后检测中的任一者或其组合来鉴别。在预防应用中,以足以消除或降低疾病风险、减轻疾病严重性、或延迟疾病发作的量,将芳香族阳离子肽的医药组合物或药物施用于易患疾病或病状或以其它方式处于疾病或病状风险下的受试者,这种疾病包括疾病的生物化学、组织学和/或行为症状、其并发症以及在疾病发展期间所呈现的中间病理表型。施用预防性芳香族阳离子剂可以在疾病或病症所特有的症状表现之前发生,以使得疾病或病症得以预防,或者其进程得以延迟。适当化合物可以基于上文所描述的筛选检测来确定。

[0311] 被诊断患有心脏衰竭或处于心脏衰竭风险下的受试者可以展现以下非限制性风

险因素中的一者或多者：高血压；冠状动脉病；心脏病发作；不规则心跳；糖尿病；一些糖尿病药物（例如，已经发现罗格列酮和吡格列酮增加心脏衰竭的风险）；睡眠呼吸暂停；先天性心脏缺陷；病毒感染；饮酒；肥胖；生活方式（例如，吸烟、久坐的生活方式）；高胆固醇；家族史；压力；以及肾病。

[0312] C-反应蛋白作为肽剂量的生物标志

[0313] 在一些实施方案中，C-反应蛋白水平用于确定施用于受试者的芳香族阳离子肽（例如，D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂）的剂量。举例来说，在一些实施方案中，如果受试者中C-反应蛋白的水平小于约1mg/L，那么向受试者不施用或施用低水平的本公开的芳香族阳离子肽（例如，D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂）。在一些实施方案中，如果受试者的C-反应蛋白水平介于约1mg/L至3mg/L之间，那么施用中等水平的本公开的芳香族阳离子肽；并且如果受试者的C-反应蛋白水平介于约3mg/L至10mg/L之间，那么向受试者施用高水平的本公开的芳香族阳离子肽。在一些实施方案中，低剂量的芳香族阳离子肽，诸如D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂，使得血浆浓度小于约50ng/ml。在一些实施方案中，低剂量的芳香族阳离子肽使得血浆浓度为约1、约5、约10、约20、约30、或约40ng/ml。在一些实施方案中，低剂量的芳香族阳离子肽使得血浆浓度介于约10ng/ml至40ng/ml之间、介于约10ng/ml至30ng/ml之间、介于约10ng/ml至20ng/ml之间、介于约20ng/ml至40ng/ml之间、介于约20ng/ml至30ng/ml之间、介于约30ng/ml至40ng/ml之间、介于约30ng/ml至50ng/ml之间、或介于约40ng/ml至50ng/ml之间。在一些实施方案中，中等剂量的芳香族阳离子肽，诸如D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂，使得血浆浓度介于约50ng/ml至500ng/ml之间。在一些实施方案中，中等剂量的芳香族阳离子肽使得血浆浓度为约50ng/ml、约100ng/ml、约150ng/ml、约200ng/ml、约250ng/ml、约300ng/ml、约350ng/ml、约400ng/ml、或约450ng/ml。在一些实施方案中，中等剂量的芳香族阳离子肽使得血浆浓度介于约50ng/ml至100ng/ml之间、介于约50ng/ml至200ng/ml之间、介于约50ng/ml至300ng/ml之间、介于约50ng/ml至400ng/ml之间、介于约100ng/ml至200ng/ml之间、介于约100ng/ml至300ng/ml之间、介于约100ng/ml至400ng/ml之间、介于约100ng/ml至500ng/ml之间、介于约200ng/ml至300ng/ml之间、介于约200ng/ml至400ng/ml之间、介于约200ng/ml至500ng/ml之间、介于约300ng/ml至400ng/ml之间、介于约300ng/ml至500ng/ml之间、或介于约400ng/ml至500ng/ml之间。在一些实施方案中，高剂量的芳香族阳离子肽使得血浆浓度介于约500ng/ml至5000ng/ml之间。在一些实施方案中，高剂量的芳香族阳离子肽使得血浆浓度为约1000ng/ml、约1500ng/ml、约2000ng/ml、约2500ng/ml、约3000ng/ml、约3500ng/ml、约4000ng/ml、或约4500ng/ml。在一些实施方案中，高剂量的芳香族阳离子肽使得血浆浓度介于约500ng/ml至1000ng/ml之间、介于约500ng/ml至2000ng/ml之间、介于约500ng/ml至3000ng/ml之间、介于约500ng/ml至4000ng/ml之间、介于约1000ng/ml至2000ng/ml之间、介于约1000ng/ml至3000ng/ml之间、介于约1000ng/ml至4000ng/ml之间、介于约1000ng/ml至5000ng/ml之间、介于约2000ng/ml至3000ng/ml之间、介于约2000ng/ml至4000ng/ml之间、介于约2000ng/ml至5000ng/ml之间、介于约3000ng/ml至4000ng/ml之间、介于约3000ng/ml至5000ng/ml之间、或介于约4000ng/ml至5000ng/ml。在一些实施方案中，高剂量的芳香族阳离子肽，诸如D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂，使得血浆浓度大于5000ng/ml。举例来说，在一些实施方案中，高剂量的芳香族阳离子肽使得血

浆浓度为约 6000ng/ml、约 7000ng/ml、约 8000ng/ml、约 9000ng/ml、或约 10,000ng/ml。在一些实施方案中,高剂量的芳香族阳离子肽使得血浆浓度介于约 5000ng/ml 至 10,000ng/ml 之间、介于约 5000ng/ml 至 9000ng/ml 之间、介于约 5000ng/ml 至 8000ng/ml 之间、介于约 5000ng/ml 至 7000ng/ml 之间、介于约 5000ng/ml 至 6000ng/ml 之间、介于约 6000ng/ml 至 7000ng/ml 之间、介于约 6000ng/ml 至 8000ng/ml 之间、介于约 6000ng/ml 至 9000ng/ml 之间、介于约 6000ng/ml 至 10,000ng/ml 之间、介于约 7000ng/ml 至 8000ng/ml 之间、介于约 7000ng/ml 至 9000ng/ml 之间、介于约 7000ng/ml 至 10,000ng/ml 之间、介于约 8000ng/ml 至 9000ng/ml 之间、或介于约 9000ng/ml 至 10000ng/ml 之间。如下文所描述,本领域的技术人员应了解,本文所公开的芳香族阳离子肽的剂量、毒性以及治疗功效可以通过标准医药程序在细胞培养物或实验动物中确定。

[0314] 对于预防性或治疗性治疗的肽剂量信息,CRP 水平可以通过本领域中已知的方法中的任一者或其组合来确定。举例来说,在一些实施方案中,进行 hsCRP 或 cCRP 检测。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 CRP 水平介于约 1mg/L 至 3mg/L 之间。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 CRP 水平介于约 3mg/L 至 10mg/L 之间。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 CRP 水平大于 10mg/L。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 CRP 水平是对照水平的约 2 倍。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 CRP 水平是对照水平的约 3 倍。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 CRP 水平是对照的约 4、5 或 6 倍。

[0315] ROS、TNF- α 或 IL-6 作为肽剂量的生物标志

[0316] 血浆中的 TNF- α 和 IL-6 水平通常以 pg/ml 报道并且可以在介于约 0.1pg/ml 至约 2000pg/ml 之间的范围内,这取决于某人所带有的病理生理病状。血浆中的 ROS 总量通常以 RLU(相对光单位/毫升)报道。ROS 水平的范围可以低至约 $1.0\text{RLU} \times 10^5/\text{ml}$ 并且高达约 $200\text{RLU} \times 10^5/\text{ml}$,这取决于某人所带有的生理病状。因此,在一些实施方案中,ROS 水平、TNF- α 和 / 或 IL-6 水平用于确定施用于受试者的芳香族阳离子肽(例如, D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂) 的剂量。举例来说,在一些实施方案中,如果受试者中 ROS、TNF- α 或 IL-6 蛋白质的水平很低(例如,对于 TNF- α 或 IL-6 为约 0.1 至 500pg/ml,或对于 ROS 为约 1 至 $70\text{RLU} \times 10^5/\text{ml}$),那么将施用较低剂量的芳香族阳离子肽。另外或替代地,在一些实施方案中,如果受试者中 ROS、TNF- α 或 IL-6 蛋白质的水平在中等范围内(例如,对于 TNF- α 或 IL-6 为约 500 至 1000pg/ml,或对于 ROS 为约 70 至 $130\text{RLU} \times 10^5/\text{ml}$),那么将施用中等剂量的芳香族阳离子肽。另外或替代地,在一些实施方案中,如果受试者中 ROS、TNF- α 或 IL-6 蛋白质的水平很高(例如,对于 TNF- α 或 IL-6 为约 1000 至 2000pg/ml,或对于 ROS 为约 130 至 $200\text{RLU} \times 10^5/\text{ml}$),那么将施用高剂量的芳香族阳离子肽。

[0317] 对于预防性或治疗性治疗的肽剂量信息,ROS 水平可以通过本领域中已知的方法中的任一者或其组合来确定。举例来说,在一些实施方案中,进行吸光度、荧光或发光检测。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 ROS 水平介于约 $1\text{RLU} \times 10^5/\text{ml}$ 至约 $5\text{RLU} \times 10^5/\text{ml}$ 之间。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 ROS 水平介于约 $5\text{RLU} \times 10^5/\text{ml}$ 至约 $10\text{RLU} \times 10^5/\text{ml}$ 之间、或介于约 $10\text{RLU} \times 10^5/\text{ml}$ 至约 $20\text{RLU} \times 10^5/\text{ml}$ 之间、或介于约 $20\text{RLU} \times 10^5/\text{ml}$ 至约 $30\text{RLU} \times 10^5/\text{ml}$ 之间。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 ROS 水平大于 $30\text{RLU} \times 10^5/\text{ml}$ 。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 ROS 水平是对照水

平的约 1.5 倍。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 ROS 水平是对照水平的约 2 倍。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 ROS 水平是对照的约 3、4、5、6、7、8 倍或更多倍。

[0318] 对于预防性或治疗性治疗的肽剂量信息,IL-6 水平可以通过本领域中已知的方法中的任一者或其组合来确定。举例来说,在一些实施方案中,进行 ELISA 或 HPLC 检测。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 IL-6 水平为约 8pg/ml。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 IL-6 水平介于约 5pg/ml 至 13pg/ml 之间。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 IL-6 水平大于 13pg/ml。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 IL-6 水平是对照水平的约 1.5 倍。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 IL-6 水平是对照水平的约 2 倍。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 IL-6 水平是对照的约 3、4、5、6、7、8 倍或更多倍。

[0319] 对于预防性或治疗性治疗的肽剂量信息,TNF- α 水平可以通过本领域中已知的方法中的任一者或其组合来确定。举例来说,在一些实施方案中,进行 ELISA 或 HPLC 检测。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 TNF- α 水平为约 1pg/ml。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 TNF- α 水平介于约 1.0pg/ml 至 1.5pg/ml 之间。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 TNF- α 水平大于 1.5pg/ml。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 TNF- α 水平是对照水平的约 2 倍。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 TNF- α 水平是对照水平的约 3 倍。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 TNF- α 水平是对照的约 4、5、6、7 或 8 倍或更多倍。

[0320] Nt-BNP 原作为肽剂量的生物标志

[0321] 血浆中的 Nt-BNP 原可以按 pg/ml 报道并且可以在介于约 1pg/ml 至约 3000pg/ml 之间的范围内,这取决于某人所具有的病理生理病状。因此,在一些实施方案中,Nt-BNP 原用于确定施用于受试者的芳香族阳离子肽(例如,D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂)的剂量。举例来说,在一些实施方案中,如果受试者中 Nt-BNP 原的水平很低(例如,约 1 至 1000pg/ml),那么将施用较低剂量的芳香族阳离子肽。另外或替代地,在一些实施方案中,如果受试者中 Nt-BNP 原的水平在中等范围内(例如,约 1000 至 2000pg/ml),那么将施用中等剂量的芳香族阳离子肽。另外或替代地,在一些实施方案中,如果受试者中 Nt-BNP 原的水平很高(例如,约 2000 至 3000pg/ml),那么将施用高剂量的芳香族阳离子肽。

[0322] 对于肽剂量信息,Nt-BNP 原水平可以通过本领域中已知的方法中的任一者或其组合来确定。举例来说,在一些实施方案中,进行 ELISA 或 HPLC 检测。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 Nt-BNP 原水平为约 250pg/ml。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 Nt-BNP 原水平介于约 150pg/ml 至 400pg/ml 之间。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 Nt-BNP 原水平大于 400pg/ml。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 Nt-BNP 原水平是对照水平的约 5 倍。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 Nt-BNP 原水平是对照水平的约 6 倍。在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 Nt-BNP 原水平是对照的约 3、4、5、6、7、8 倍或更多倍。

[0323] 在一些实施方案中,在将芳香族阳离子肽施用于有需要的受试者之后,作为 LV 重塑的减少或阻止的生物标志来测量 Nt-BNP 原水平。举例来说,在一些实施方案中,施用本文所公开的芳香族阳离子肽,例如 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂,使 Nt-BNP 原降低约

30%、约 40%、约 50%、约 60%、约 70%、或约 80%。在一些实施方案中,施用芳香族阳离子肽使 Nt-BNP 原返回至基线水平或接近基线水平。

[0324] 心肌钙蛋白 I 作为肽剂量的生物标志

[0325] 在一些实施方案中,在肽施用之前,受试者的 Nt-BNP 原水平是对照的约 3、4、5、6、7、8 倍或更多倍。

[0326] 在一些实施方案中,在将芳香族阳离子肽施用于有需要的受试者之后,作为 LV 重塑的减少或阻止的生物标志来测量心肌钙蛋白 I 水平。举例来说,在一些实施方案中,施用本文所公开的芳香族阳离子肽,例如 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂, 使心肌钙蛋白 I 降低约 10%、约 20%、约 30%、约 40%、约 50%、约 60%、约 70%、约 80%、或约 90%。在一些实施方案中,施用芳香族阳离子肽使心肌钙蛋白 I 返回至基线水平或接近基线水平。

[0327] 施用模式和有效剂量

[0328] 可以采用本领域的技术人员已知的使细胞、器官或组织与肽接触的任何方法。适合的方法包括体外、离体或体内方法。体内方法通常包括将芳香族阳离子肽,诸如上文所描述的那些施用于哺乳动物,适宜为人类。当体内用于疗法时,将芳香族阳离子肽以有效量(即,具有所需治疗作用的量)施用于受试者。剂量和给药方案将取决于受试者的感染程度、所使用的特定芳香族阳离子肽的特征(例如,其治疗指数)、受试者、以及受试者的病史。

[0329] 有效量可以在临床前试验和临床试验期间通过内科医师和临床医师熟习的方法来确定。可以通过施用医药化合物的许多熟知方法中的任一者将有效量的适用于方法中的肽施用于有需要的哺乳动物。肽可以全身或局部施用。

[0330] 肽可以被配制成医药学上可接受的盐。来源于医药学上可接受的无机碱的盐包括铵、钙、铜、铁、亚铁、锂、镁、锰、亚锰、钾、钠以及锌盐,等等。来源于医药学上可接受的有机碱的盐包括伯胺、仲胺以及叔胺的盐,包括经取代的胺、环胺、天然存在的胺等等,诸如精氨酸、甜菜碱、咖啡碱、胆碱、N, N'-二苯甲基乙二胺、二乙胺、2-二乙氨基乙醇、2-二甲氨基乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-乙基吗啉、N-乙基哌啶、还原葡糖胺、葡糖胺、组氨酸、哈胺(hydrabamine)、异丙胺、赖氨酸、葡甲胺、吗啉、哌嗪、哌啶、多胺树脂、普鲁卡因(procaine)、嘌呤、可可碱、三乙胺、三甲胺、三丙胺、缓血酸胺,等等。来源于医药学上可接受的无机酸的盐包括硼酸、碳酸、氢卤酸(氢溴酸、盐酸、氢氟酸或氢碘酸)、硝酸、磷酸、氨基磺酸以及硫酸的盐。来源于医药学上可接受的有机酸的盐包括以下酸的盐:脂肪族羧酸(例如,柠檬酸、葡糖酸、乙醇酸、乳酸、乳糖酸、苹果酸以及酒石酸)、脂肪族单羧酸(例如,乙酸、丁酸、甲酸、丙酸以及三氟乙酸)、氨基酸(例如,天冬氨酸和谷氨酸)、芳香族羧酸(例如,苯甲酸、对氯苯甲酸、二苯基乙酸、龙胆酸、马尿酸以及三苯基乙酸)、芳香族羧酸(例如,邻羟基苯甲酸、对羟基苯甲酸、1-羟基萘-2-甲酸以及 3-羟基萘-2-甲酸)、抗坏血酸、二羧酸(例如,富马酸、马来酸、草酸以及琥珀酸)、葡糖醛酸、扁桃酸、粘液酸、烟酸、乳清酸、帕莫酸(pamoic acid)、泛酸、磺酸(例如,苯磺酸、樟脑磺酸、乙二磺酸(edisylic acid)、乙烷磺酸、羟乙基磺酸、甲烷磺酸、萘磺酸、萘-1, 5-二磺酸、萘-2, 6-二磺酸以及对甲苯磺酸)、羟萘甲酸(xinafoic acid),等等。在一些实施方案中,盐是乙酸盐或三氟乙酸盐。

[0331] 本文所描述的芳香族阳离子肽可以被并入医药组合物中用于单独或组合施用于

受试者以治疗或预防本文所描述的病症。所述组合物通常包括活性剂和医药学上可接受的载剂。如本文所用的术语“医药学上可接受的载剂”包括与医药施用相容的盐水、溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等张剂和吸收延迟剂，等等。补充活性化合物也可以被并入组合物中。

[0332] 医药组合物通常被配制成与其预期施用途径相容。施用途径的实例包括肠道外（例如，静脉内、皮内、腹膜内或皮下）、经口、吸入、经皮（局部）、眼内、离子导入以及经粘膜施用。用于肠道外、皮内或皮下应用的溶液或悬浮液可以包括以下组分：无菌稀释剂，诸如注射用水、盐水溶液、非挥发性油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其它合成溶剂；抗菌剂，诸如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯；抗氧化剂，诸如抗坏血酸或亚硫酸氢钠；螯合剂，诸如乙二胺四乙酸；缓冲剂，诸如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐；以及用于调整张力的试剂，诸如氯化钠或葡萄糖。pH 可以用酸或碱来调整，诸如盐酸或氢氧化钠。肠道外制品可以被封入由玻璃或塑料制成的安瓿、一次性注射器或多剂量小瓶中。为方便患者或治疗医师，给药制剂可以提供于容纳用于疗程（例如，7 天治疗）的所有必需的器材（例如，药物小瓶、稀释剂小瓶、注射器以及针）的试剂盒中。

[0333] 适合于注射用的医药组合物可以包括无菌水性溶液（在可溶于水时）或分散体以及用于临时制备无菌可注射溶液或分散体的无菌粉末。对于静脉内施用，适合的载剂包括生理盐水、抑菌水、Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, N. J.) 或磷酸盐缓冲盐水 (PBS)。在所有情况下，用于肠道外施用的组合物必须无菌并且应为可容易注射的流体。其应在制造和储存条件下稳定并且必须加以保存以对抗诸如细菌和真菌的微生物的污染作用。

[0334] 芳香族阳离子肽组合物可以包括载剂，其可以是含有以下的溶剂或分散介质：例如水、乙醇、多元醇（例如，甘油、丙二醇以及液体聚乙二醇，等等），以及其适合的混合物。适当流动性可以例如通过使用诸如卵磷脂的包衣，在分散体的情况下通过维持所需粒度，以及通过使用表面活性剂来维持。防止微生物作用可以用各种抗菌剂和抗真菌剂来达成，例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞，等等。可以包括谷胱甘肽和其它抗氧化剂以防止氧化。在许多情况下，将优选地在组合物中包括等张剂，例如糖、多元醇（诸如甘露糖醇、山梨糖醇）或氯化钠。可注射组合物的延长吸收可以通过在组合物中包括延迟吸收的试剂来达成，例如单硬脂酸铝或明胶。

[0335] 无菌可注射溶液可以通过将所需量的活性化合物与上文所列举的成分之一或其组合一起并入适当溶剂中，在需要时继而进行过滤灭菌来制备。一般来说，分散体是通过将活性化合物并入无菌媒剂中来制备，这种媒剂含有基本分散介质和来自上文所列举的那些的所需其它成分。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下，典型制备方法包括真空干燥和冷冻干燥，其可以从先前无菌过滤的溶液得到活性成分加上任何额外所需成分的粉末。

[0336] 口服组合物一般包括惰性稀释剂或可食用载剂。出于口服治疗施用的目的，活性化合物可以与赋形剂合并并且以片剂、糖锭或胶囊（例如，明胶胶囊）的形式使用。口服组合物还可以使用流体载剂来制备以用作漱口剂。可以包括医药学上相容的粘合剂和 / 或佐剂物质作为组合物的一部分。片剂、丸剂、胶囊、糖锭等等可以含有以下成分中的任一者，或类似性质的化合物：粘合剂，诸如微晶纤维素、黄蓍胶或明胶；赋形剂，诸如淀粉或乳糖；崩解剂，诸如海藻酸、普拉莫胶 (Primogel) 或玉米淀粉；润滑剂，诸如硬脂酸镁或氢化植物油

(Sterote) ;助流剂,诸如胶态二氧化硅 ;甜味剂,诸如蔗糖或糖精 ;或调味剂,诸如薄荷、水杨酸甲酯或橙香精。

[0337] 对于通过吸入施用,化合物可以从含有适合的推进剂(例如气体,诸如二氧化碳)的加压容器或分配器、或喷雾器中以气雾剂喷雾的形式递送。所述方法包括美国专利号 6,468,798 中所描述的那些。

[0338] 如本文所描述的治疗化合物的全身施用还可以通过经粘膜或经皮方式。对于经粘膜或经皮施用,在制剂中使用适于将要渗透的屏障的穿透剂。所述穿透剂一般在本领域中是已知的,并且对于经粘膜施用,包括例如清洁剂、胆汁盐、以及梭链孢酸衍生物。经粘膜施用可以经由使用鼻喷雾来实现。对于经皮施用,活性化合物被配制成如本领域中一般已知的软膏、油膏、凝胶或乳膏。在一个实施方案中,经皮施用可以通过离子导入来进行。

[0339] 治疗蛋白质或肽可以在载剂系统中配制。载剂可以是胶态系统。胶态系统可以是脂质体,一种磷脂双层媒剂。在一个实施方案中,将治疗肽封装于脂质体中,同时维持肽完整性。本领域的技术人员应了解,存在多种制备脂质体的方法(参看 Lichtenberg 等,Methods Biochem. Anal., 33:337-462(1988) ;Anselem 等,Liposome Technology, CRC Press(1993))。脂质体制剂可以延迟清除并且增加细胞摄入(参看 Reddy, Ann. Pharmacother., 34(7-8):915-923(2000))。还可以将活性剂加载至由医药学上可接受的成分制备的粒子中,这些成分包括(但不限于)可溶、不可溶、可渗透、不可渗透、生物可降解或胃滞留聚合物或脂质体。所述粒子包括(但不限于)纳米粒子、生物可降解纳米粒子、微粒子、生物可降解微粒子、纳米球、生物可降解纳米球、微球、生物可降解微球、胶囊、乳液、脂质体、微胞以及病毒载体系统。

[0340] 载剂还可以是聚合物,例如生物可降解、生物相容的聚合物基质。在一个实施方案中,可以将治疗肽包埋于聚合物基质中,同时维持蛋白质完整性。聚合物可以是天然的,诸如多肽、蛋白质或多糖,或合成的,诸如聚 α -羟基酸。实例包括由例如胶原蛋白、纤连蛋白、弹性蛋白、乙酸纤维素、硝酸纤维素、多糖、纤维蛋白、明胶以及其组合制成的载剂。在一个实施方案中,聚合物是聚乳酸(PLA)或共聚乳酸/乙醇酸(PGLA)。聚合基质可以按多种形式和尺寸制备并分离,包括微球和纳米球。聚合物制剂可以使得治疗作用的持续时间延长(参看 Reddy, Ann. Pharmacother., 34(7-8):915-923(2000))。人生长激素(hGH)的聚合物制剂已经在临床试验中使用(参看 Kozarich 和 Rich, Chemical Biology, 2:548-552(1998))。

[0341] 聚合物微球持续释放制剂的实例描述于 PCT 公布 WO 99/15154(Tracy 等)、美国专利号 5,674,534 和 5,716,644(两者都出自 Zale 等)、PCT 公布 WO 96/40073(Zale 等)以及 PCT 公布 WO 00/38651(Shah 等)中。美国专利号 5,674,534 和 5,716,644 以及 PCT 公布 WO 96/40073 描述了含有对用盐聚集稳定的红细胞生成素粒子的聚合基质。

[0342] 在一些实施方案中,治疗化合物是用将保护治疗化合物免疫从体内快速消除的载剂来制备,诸如控制释放制剂,包括植入物和微囊封装的递送系统。可以使用生物可降解、生物相容的聚合物,诸如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原蛋白、聚原酸酯以及聚乳酸。所述制剂可以使用已知技术来制备。这些物质也可以在商业上获得,例如,获自 Alza Corporation 和 Nova Pharmaceuticals, Inc.。脂质体悬浮液(包括用针对细胞特异性抗原的单克隆抗体靶向特异性细胞的脂质体)也可以用作医药学上可接受的载剂。这些可以

根据本领域的技术人员已知的方法来制备,例如,如美国专利号 4,522,811 中所描述。

[0343] 治疗化合物还可以经过配制以增强细胞内递送。举例来说,脂质体递送系统在本领域中是已知的,参看例如 Chonn 和 Cullis,“脂质体药物递送系统的最新进展 (Recent Advances in Liposome Drug Delivery Systems)”,*Current Opinion in Biotechnology* 6:698-708(1995);Weiner,“用于蛋白质递送的脂质体:选择制造和发展过程 (Liposomes for Protein Delivery:Selecting Manufacture and Development Processes)”,*Immuno methods*, 4(3):201-9(1994);以及 Gregoriadis,“工程改造用于药物递送的脂质体:进展和问题 (Engineering Liposomes for Drug Delivery:Progress and Problems)”,*Trends Biotechnol.*, 13(12):527-37(1995)。Mizguchi 等,*Cancer Lett.*, 100:63-69(1996) 描述了使用融合脂质体以在体内与体外递送蛋白质至细胞。

[0344] 治疗剂的剂量、毒性以及治疗功效可以通过标准医药程序在细胞培养物或实验动物中确定,例如,用于确定 LD50 (对群体的 50%致命的剂量) 和 ED50 (对群体的 50%治疗有效的剂量)。毒性作用与治疗作用之间的剂量比是治疗指数并且其可以用比率 LD50/ED50 表示。展现高治疗指数的化合物是优选的。虽然可以使用展现毒性副作用的化合物,但应谨慎设计将所述化合物靶向受影响组织的部位的递送系统以使得对未受感染的细胞的潜在损害降至最低,并且从而减少副作用。

[0345] 获自细胞培养检测和动物研究的数据可以用于制定供人类使用的剂量范围。所述化合物的剂量优选地处于包括 ED50 而有极少毒性或无毒性的循环浓度范围内。取决于所采用的剂型和所利用的施用途径,剂量可以在这个范围内变化。对于方法中所用的任何化合物,治疗有效剂量可以初始地从细胞培养检测来估计。剂量可以在动物模型中制定以达成包括如在细胞培养物中测定的 IC50 (即,达成症状的半最大抑制的测试化合物的浓度) 的循环血浆浓度范围。所述信息可以用于精确地确定在人类中的适用剂量。血浆中的水平可以例如通过高效液相色谱法来测量。

[0346] 通常,足以达成治疗或预防作用的芳香族阳离子肽的有效量在约 0.000001 毫克/公斤体重/天至约 10,000 毫克/公斤体重/天的范围内。适宜地,剂量范围为约 0.0001 毫克/公斤体重/天至约 100 毫克/公斤体重/天。举例来说,剂量可以为每天、每两天或每三天 1 毫克/公斤体重或 10 毫克/公斤体重,或在每周、每两周、每三周 1 至 10 毫克/公斤的范围内。在一个实施方案中,肽的单次剂量在 0.001 至 10,000 微克/公斤体重的范围内。在一个实施方案中,载体中的芳香族阳离子肽的浓度在每毫升递送 0.2 至 2000 微克的范围内。例示性的治疗方案要求每天一次或每周一次施用。在治疗应用中,有时需要在相对短的时间间隔下相对高的剂量直至疾病进程下降或终止,并且优选地直至受试者显示疾病症状的部分或完全改善。此后,可以向患者施用预防方案。

[0347] 在一些实施方案中,芳香族阳离子肽的治疗有效量可以被定义为在靶组织处 10^{12} 至 10^6 摩尔浓度,例如约 10^7 摩尔浓度的肽浓度。这种浓度可以由 0.001 至 100 毫克/公斤的全身剂量或按体表面积等效剂量来递送。将优化剂量的时程以维持靶组织处的治疗浓度,最优选地通过每天或每周一次施用,而且包括连续施用 (例如,肠道外输注或经皮应用)。

[0348] 技术人员将了解,某些因素可能影响有效治疗受试者所需的剂量和时限,包括 (但不限于) 疾病或病症的严重性、先前治疗、受试者的一般健康状况和/或年龄,以及所存

在的其它疾病。此外,用治疗有效量的本文所描述的治疗组合物治疗受试者可以包括单次治疗或一系列治疗。

[0349] 根据本发明方法治疗的哺乳动物可以是任何哺乳动物,包括例如农畜,诸如绵羊、猪、母牛以及马;宠物动物,诸如狗和猫;实验动物,诸如大鼠、小鼠以及兔。在一个优选实施方案中,哺乳动物是人类。

[0350] 使用芳香族阳离子肽和其它治疗剂的组合法

[0351] 在一些实施方案中,芳香族阳离子肽可以与一种或多种额外药剂组合用于预防或治疗心脏衰竭。用于心脏衰竭的药物治疗通常涉及利尿剂、ACE 抑制剂、地高辛 (digoxin) (也被称为洋地黄)、钙通道阻断剂以及 β -阻断剂。在轻度的情况下,噻嗪类利尿剂,诸如 25 至 50 毫克/天的氢氯噻嗪或 250 至 500 毫克/天的氯噻嗪,是适用的。然而,因为慢性利尿导致低钾血性碱中毒,所以可能需要补充氯化钾。此外,噻嗪类利尿剂通常对具有心脏衰竭的晚期症状的患者无效。典型剂量的 ACE 抑制剂包括 25 至 50 毫克/天的卡托普利 (captopril) 和 10 毫克/天的喹那普利 (quinapril)。

[0352] 在一个实施方案中,芳香族阳离子肽与肾上腺素能 β -2 激动剂组合。“肾上腺素能 β -2 激动剂”指的是肾上腺素能 β -2 激动剂以及其类似物和衍生物,包括例如具有肾上腺素能 β -2 激动剂生物活性的天然或合成功能变体,以及具有肾上腺素能 β -2 激动剂生物活性的肾上腺素能 β -2 激动剂片段。术语“肾上腺素能 β -2 激动剂生物活性”指的是模拟受试者中肾上腺素和去甲肾上腺素的作用并且改进患有心脏衰竭的患者的心肌收缩力的活性。通常已知的肾上腺素能 β -2 激动剂包括(但不限于)克伦特罗 (clenbuterol)、沙丁胺醇 (albuterol)、福莫特罗 (formoterol)、左旋沙丁胺醇 (levalbuterol)、奥西那林 (metaproterenol)、吡布特罗 (pirbuterol)、沙美特罗 (salmeterol) 以及特布他林 (terbutaline)。

[0353] 在一个实施方案中,芳香族阳离子肽与肾上腺素能 β -1 拮抗剂组合。肾上腺素能 β -1 拮抗剂和肾上腺素能 β -1 阻断剂指的是肾上腺素能 β -1 拮抗剂以及其类似物和衍生物,包括例如具有肾上腺素能 β -1 拮抗剂生物活性的天然或合成功能变体,以及具有肾上腺素能 β -1 拮抗剂生物活性的肾上腺素能 β -1 拮抗剂片段。肾上腺素能 β -1 拮抗剂生物活性指的是阻断肾上腺素对 β 受体的作用的活性。通常已知的肾上腺素能 β -1 拮抗剂包括(但不限于)醋丁洛尔 (acebutolol)、阿替洛尔 (atenolol)、倍他洛尔 (betaxolol)、比索洛尔 (bisoprolol)、艾司洛尔 (esmolol) 以及美托洛尔 (metoprolol)。

[0354] 举例来说,克伦特罗以众多商标名称可得,包括 **Spiropent®** (Boehinger Ingelheim)、**Broncodil®** (Von Boch I)、**Broncoterol®** (Quimedical PT)、**Cesbron®** (Fidelis PT) 以及 **Clenbuter®** (Biomedica Foscama)。类似地,制备肾上腺素能 β -1 拮抗剂,诸如美托洛尔以及其类似物和衍生物的方法在本领域中是众所周知的。详细地说,美托洛尔以商标名称 **Lopressor®** (酒石酸美托洛尔) 可购得,由 Novartis Pharmaceuticals Corporation, One Health Plaza, East Hanover, N. J. 07936-1080 制造。**Lopressor®** 的一般型式也可得自 Mylan Laboratories Inc., 1500 Corporate Drive, Suite 400, Canonsburg, Pa. 15317; 以及 Watson Pharmaceuticals, Inc., 360 Mt. Kemble Ave. Morristown, N. J. 07962。美托洛尔也以商标名称 **Toprol XL®** 可购得,由

Astra Zeneca, LP 制造。

[0355] 在一个实施方案中,将额外治疗剂与芳香族阳离子肽组合施用于受试者,以使得产生协同治疗作用。因此,较低剂量的一种或两种治疗剂可以用于治疗心脏衰竭,使得治疗功效增加以及副作用减少。

[0356] 在任何情况下,多种治疗剂可以按任何顺序或甚至同时施用。如果同时的话,那么多种治疗剂可以按单一的统一形式或按多种形式(仅举例来说,作为单个丸剂或作为两个独立的丸剂)提供。治疗剂之一可以按多次剂量给与,或两者都可以按多次剂量给与。如果不同的话,那么多次剂量之间的时限可以从大于零周至小于四周之间变化。另外,组合方法、组合物以及制剂并不限于仅使用两种药剂。

[0357] 实施例

[0358] 本发明通过以下实施例进一步说明,这些实施例不应被解释为以任何方式具有限制性。

[0359] 实施例 1- 在狗心脏衰竭模型中芳香族阳离子肽对 C- 反应蛋白的影响

[0360] 在这个实施例中,研究了在患有冠状动脉微栓塞诱导的心脏衰竭的狗中芳香族阳离子肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂对降低 C- 反应蛋白水平的影响。

[0361] 方法

[0362] 如 Sabbah 等, Am J Physiol. (1991)260:H1379-84 中所描述,经由多次连续冠状动脉内微栓塞在狗中诱导心脏衰竭,这个文献以全文引用的方式并入本文中。

[0363] 随后用线粒体肽处理一半的狗;另一半用药物媒剂处理并且充当对照。肽处理在诱导心脏衰竭(HF)后开始,定义为约 30% 的左心室射血分数。在以下时间点从所有狗中获得外周静脉血液样品:1) 当狗正常时(基线,在诱导心脏衰竭之前);2) 当狗被诱导成心脏衰竭时;3) 在用线粒体肽或媒剂(HF+ 肽,或 HF+ 媒剂)起始疗法之后 6 周,两者都作为皮下注射剂每天施用一次;以及 4) 在用线粒体肽或媒剂起始疗法之后 12 周。肽的日剂量是静脉内施用的 0.5 毫克/公斤/天。将血液样品抽取至 EDTA 抗凝血剂上并且以 2,500RPM 离心,并且提取血浆,以 1ml 体积等分至科斯塔管(cryostat tube)中并且在 -70°C 下储存直至检测。在所有狗中完成追踪后,将血浆样品解冻至室温,并且使用犬特异性 ELISA 试剂盒(ALPCO;目录号 41-CRPCA-E01)检测 CRP。使用量热法评估血浆中 CRP 的量。CRP 浓度以 $\mu\text{g/ml}$ 表示。

[0364] 结果

[0365] 结果示于下表 10 和 11 中以及图 1 中。在表中,“BL”是基线;“HF”是起始疗法之前的心脏衰竭;“6Wk”是起始疗法之后 6 周;“12Wk”是起始疗法之后 12 周并且标志着研究结束;并且“SEM”是平均值的标准误差。表中的值是 $\mu\text{g/ml}$ CRP。如表中所示,在用媒剂处理的狗中, HF 中的血浆 CRP 与基线相比增加并且在起始媒剂的皮下注射之后 6 周和 12 周趋于进一步增加。在用线粒体肽处理的狗中,当狗被诱导成 HF 时 CRP 也增加,但用线粒体肽处理在 6 周时降低 CRP 并且在 12 周时降低或标准化其在血浆中的浓度。

[0366]

表 10: 对照动物中的 C-反应蛋白浓度

狗编号	媒介剂 (对照)			
	BL	Pre	6Wk	12 Wk
1	1.04	6.27	5.27	5.6
2	1.11	5.47	7.13	10.76
3	0.63	10.94	11.72	16.41
平均值	0.93	7.56	8.04	10.92
SEM	0.15	1.71	1.92	3.13

[0367]

表 11: 用肽处理的动物中的 C-反应蛋白浓度

狗编号	线粒体肽 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH ₂			
	BL	Pre	6Wk	12 Wk
1	1.02	5.07	1.12	0.51
2	2.54	9.71	3.23	2.69
3	1.89	4.06	2.69	1.07
平均值	1.82	6.28	2.35	1.42
SEM	0.44	1.74	0.63	0.65

[0368] 如图 1 中所示,如使用高灵敏度检测所测定的血浆 CRP 水平在心脏衰竭受试者中增加约 3 倍。用 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂处理六周降低 CRP 水平,而处理 12 周使经过处理的心脏衰竭受试者中的 CRP 水平降至正常或接近正常水平。

[0369] 结果显示 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂适用于降低心脏衰竭受试者中的 CRP 水平,从而降低未来心脏衰竭事件或复发的风险,降低未来心脏衰竭的严重性,和 / 或预防未确诊的受试者的心脏衰竭。这样的话,芳香族阳离子肽 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂适用于降低 CRP 水平,从而预防或治疗哺乳动物受试者的心脏衰竭。

[0370] 实施例 2- 治疗或预防人类的心脏衰竭

[0371] 被诊断患有心脏衰竭并且具有如通过 hsCRP 或 cCRP 检测所测定的在 3 至 10mg/L 范围内的升高的 CRP 水平的四十名人类受试者将被随机分成四个组,并且将用媒介剂 (对照受试者组) 或剂量为 1 毫克 / 公斤 / 天、3 毫克 / 公斤 / 天或 5 毫克 / 公斤 / 天的芳香族阳离子肽 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂处理。肽或媒介剂将每天以三个独立的剂量每 8 小时皮下施用。在 12 周处理的过程中将评估 CRP 水平。

[0372] 结果

[0373] 预测用 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂处理降低经过处理的受试者中的 CRP 水平。预计用 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂处理将使 CRP 水平降至正常范围 (例如,小于 1mg/L),和 / 或将使 CRP 水平从高风险水平 (例如,3 至 10mg/L) 降至中风险水平 (例如,1 至 3mg/L),从而降低未来心脏衰竭事件或复发的风险,降低心脏衰竭的严重性,和 / 或预防未确诊的受试者或处于心脏衰竭风险下的受试者的心脏衰竭。这样的话,预计结果显示芳香族阳离子肽 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂适用于降低人类中的 CRP 水平以及预防或治疗人类受试者的心脏衰竭的方法。

[0374] 实施例 3- 在狗心脏衰竭模型中芳香族阳离子肽对 ROS 的影响

[0375] 在这个实施例中,研究了在患有冠状动脉微栓塞诱导的心脏衰竭的狗中芳香族阳离子肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂对 ROS 水平的影响。

[0376] 方法

[0377] 如实施例 1 中所描述来诱导心脏衰竭。在实验中使用十只狗以确定 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂对 ROS 水平的影响。用肽处理一半的狗;另一半用药物媒介剂处理并且充当对照。肽处理在诱导心脏衰竭 (HF) 后开始,定义为约 30% 的左心室射血分数。肽的日剂量是静脉内施用的 0.5 毫克 / 公斤 / 天。将血液样品抽取至 EDTA 抗凝血剂上并且以 2,500RPM 离心,并且提取血浆,以 1ml 体积等分至科斯塔管中并且在 -70℃ 下储存直至检测。在所有狗中完成追踪后,将血浆样品解冻至室温并且检测 ROS。为了评估血浆中的 ROS 水平,将鲁米诺 (luminol) (5-氨基-2,3-二氢-1,4-酞嗪二酮) 添加至样品中。然后用化学发光活性来评估 ROS 水平。

[0378] 结果

[0379] 结果示于下表 12 和 13 中以及图 2 中。在表中,“BL”是基线;“PRE”是起始疗法之前的心脏衰竭;“6Wk”是起始疗法之后 6 周;“12Wk”是起始疗法之后 12 周并且标志着研究结束;并且“SEM”是平均值的标准误差。“ND”指示没有血浆被检测。表中的值是 RLU $\times 10^5$ /ml ROS,其中 RLU 代表相对光单位。如表中所示,在用媒介剂处理的狗中,HF 中的血浆 ROS 与基线相比增加并且在起始媒介剂的皮下注射之后 6 周和 12 周趋于进一步增加。在用线粒体肽处理的狗中,当狗被诱导成 HF 时 ROS 也增加,但用线粒体肽处理在 6 周时降低 ROS 并且在 12 周时降低或标准化其在血浆中的浓度。

[0380]

表 12: 对照动物中的反应性氧物质浓度				
狗编号	媒介剂 (对照)			
	BL	PRE	6Wk	12 Wk
1	4.6	ND	ND	20.1
2	5.5	14.4	14.7	16.8
3	3.8	22.5	26.0	27.3
4	5.4	18.4	19.5	21.5
5	5.6	29.0	31.3	33.2
平均值	5.0	21.1	22.9	23.8
SEM	0.3	3.1	3.6	2.9
表 13: 用肽处理的动物中的反应性氧物质浓度				
狗编号	线粒体肽 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH ₂			
	BL	PRE	6Wk	12 Wk
1	6.8	ND	ND	9.0
2	5.7	14.6	15.1	12.4
3	4.7	26.0	23.3	10.5

[0381]

4	5.5	23.6	18.4	12.4
5	3.9	18.5	16.6	8.3
平均值	5.3	20.7	18.4	10.5
SEM	0.5	2.6	1.8	0.8

[0382] 如图 2 中所示, 血浆 ROS 水平在心脏衰竭受试者中增加超过 4 倍。用 D-Arg-2', 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂ 处理六周降低 ROS 水平, 而处理 12 周使经过处理的心脏衰竭受试者中的 ROS 水平降至接近正常水平。

[0383] 结果显示 D-Arg-2', 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂ 适用于降低心脏衰竭受试者中的 ROS 水平, 从而降低未来心脏衰竭事件或复发的风险, 降低未来心脏衰竭的严重性, 和 / 或预防未确诊的受试者的心脏衰竭。这样的话, 芳香族阳离子肽 D-Arg-2', 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂ 适用于降低 ROS 水平, 以及预防或治疗哺乳动物受试者的心脏衰竭。

[0384] 实施例 4- 在狗心脏衰竭模型中芳香族阳离子肽对 IL-6 的影响

[0385] 在这个实施例中, 研究了在患有冠状动脉微栓塞诱导的心脏衰竭的狗中芳香族阳离子肽 D-Arg-2', 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂ 对白细胞介素 -6 (IL-6) 水平的影响。

[0386] 方法

[0387] 实施例 1 的方法用于诱导心脏衰竭、施用肽或媒介剂、以及收集血浆。在这个实施例中使用十四只狗。用线粒体肽处理一半的狗; 另一半用药物媒介剂处理并且充当对照。肽处理在两个组中都在诱导心脏衰竭 (HF) 后开始, 定义为约 30% 的左心室射血分数。

[0388] 使用双抗体夹心 ELISA 技术在 EDTA- 血浆中定量 IL-6。简单地说, IL-6 (Canine IL-6 Duo Set, 目录号 DY 1609) 购自 R&D Systems。基于供应商所提供的说明书在稍作修改下进行检测。用抗体板孵育的 EDTA- 血浆的量是 150 μ l 并且在 4°C 下的孵育时间是 18 小时。使用标准曲线和软件, IL-6 的浓度以 pg/ml 表示。

[0389] 结果

[0390] 结果示于下表 14 和 15 中以及图 3 中。在表中, “BL” 是基线; “PRE” 是起始疗法之前的心脏衰竭; “6Wk” 是起始疗法之后 6 周; “12Wk” 是起始疗法之后 12 周并且标志着研究结束; 并且 “SEM” 是平均值的标准误差。表中的值是 pg/ml IL-6。如表中所示, 在用媒介剂处理的狗中, HF 中的血浆 IL-6 与基线相比增加并且在起始媒介剂的皮下注射之后 6 周和 12 周趋于进一步增加。在用线粒体肽处理的狗中, 当狗被诱导成 HF 时 IL-6 也增加, 但用线粒体肽处理在 6 周时降低 IL-6 并且在 12 周时降低或标准化其在血浆中的浓度。

[0391]

表 14: 对照动物中的 IL-6 浓度				
狗编号	媒介剂 (对照)			
	BL	PRE	6Wk	12 Wk
1	10.3	28.4	30.1	31.0
2	9.0	17.6	22.1	24.7
3	11.6	30.6	34.3	34.3
4	7.0	18.5	20.3	21.4
5	8.2	21.3	22.6	24.7
6	11.8	28.5	29.2	30.2
7	5.8	29.2	29.8	33.8
平均值	9.1	24.9	26.9	28.6
SEM	0.9	2.1	2.0	1.9

[0392]

表 15: 用肽处理的动物中的 IL-6 浓度				
狗编号	线粒体肽 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH ₂			
	BL	PRE	6Wk	12 Wk
1	10.3	31.2	19.6	12.5
2	12.5	29.4	20.5	11.9
3	13.0	30.4	19.6	11.4
4	9.1	29.3	18.8	11.7
5	5.8	18.5	23.4	11.3
6	7.0	29.2	24.3	13.6
7	12.6	18.0	19.5	11.5
平均值	10.1	26.6	20.8	12.0
SEM	1.1	2.2	0.8	0.3

[0393] 如图 3 中所示,如使用高灵敏度检测所测定的血浆 IL-6 水平在心脏衰竭受试者中增加约 3 倍。用 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂处理六周降低 IL-6 水平,而处理 12 周使经过处理的心脏衰竭受试者中的 IL-6 水平降至接近正常水平。

[0394] 结果显示 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂适用于降低心脏衰竭受试者中的 IL-6 水平,从而降低未来心脏衰竭事件或复发的风险,降低未来心脏衰竭的严重性,和 / 或预防未确诊的受试者的心脏衰竭。这样的话,芳香族阳离子肽 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂适用于降低 IL-6 水平,以及预防或治疗哺乳动物受试者的心脏衰竭。

[0395] 实施例 5- 在狗心脏衰竭模型中芳香族阳离子肽对 TNF- α 的影响

[0396] 在这个实施例中,研究了在患有冠状动脉微栓塞诱导的心脏衰竭的狗中芳香族阳离子肽 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂对肿瘤坏死因子 α 水平的影响。

[0397] 方法

[0398] 实施例 1 的方法用于诱导心脏衰竭、施用肽或媒介剂、以及收集血浆样品以供分析。在这个实施例中使用十四只狗。用肽处理一半的狗;另一半用药物媒介剂处理并且充当对照。肽处理在两个组中都在诱导心脏衰竭 (HF) 后开始,定义为约 30% 的左心室射血分数。

[0399] 使用双抗体夹心 ELISA 在 EDTA- 血浆中定量 TNF- α 。简单地说, TNF- α (Canine TNF α Duo Sett, 目录号 DY1507) 购自 R&D Systems。基于供应商所提供的说明书在稍作修改下进行检测。用抗体板孵育的 EDTA- 血浆的量是 150 μ l 并且在 4°C 下的孵育时间是 18 小时。使用标准曲线和软件, TNF α 的浓度以 pg/ml 表示。

[0400] 结果

[0401] 结果示于下表 16 和 17 中以及图 4 中。在表中, “BL”是基线; “PRE”是起始疗法之前的心脏衰竭; “6Wk”是起始疗法之后 6 周; “12Wk”是起始疗法之后 12 周并且标志着研究结束; 并且“SEM”是平均值的标准误差。表中的值是 pg/ml TNF- α 。如表中所示, 在用媒剂处理的狗中, HF 中的血浆 TNF- α 与基线相比增加并且在起始媒剂的皮下注射之后 6 周和 12 周趋于进一步增加。在用肽处理的狗中, 当狗被诱导成 HF 时 TNF- α 也增加, 但用线粒体肽处理在 6 周时降低 TNF- α 并且在 12 周时降低或标准化其在血浆中的浓度。

[0402]

表 16: 对照动物中的 TNF- α 浓度				
狗编号	媒剂 (对照)			
	BL	PRE	6Wk	12 Wk
1	0.99	3.78	4.37	4.80

[0403]

2	0.84	3.86	4.55	3.93
3	1.72	3.68	3.95	3.68
4	1.15	3.47	3.86	2.94
5	1.85	3.54	2.53	3.76
6	1.30	4.74	3.73	4.00
7	1.17	3.91	4.48	4.57
平均值	1.29	3.85	3.92	3.95
SEM	0.14	0.16	0.26	0.23

[0404]

表 17: 用肽处理的动物中的 TNF- α 浓度				
狗编号	线粒体肽 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH ₂			
	BL	PRE	6Wk	12 Wk
1	1.30	4.59	3.72	1.69
2	1.11	4.31	3.12	1.53
3	1.54	4.42	2.60	1.35
4	0.90	4.26	3.27	1.14
5	0.97	3.96	3.08	1.42
6	1.02	4.26	3.50	1.18
7	1.85	4.69	3.16	1.75
平均值	1.24	4.36	3.21	1.44
SEM	0.13	0.09	0.13	0.09

[0405] 如图 4 中所示, 血浆 TNF- α 水平在心脏衰竭受试者中增加约 4 倍。用 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 处理六周降低 TNF- α 水平, 而处理 12 周使经过处理的的心脏衰竭受试者中的 TNF- α 水平降至接近正常水平。

[0406] 结果显示 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 适用于降低心脏衰竭受试者中的 TNF- α 水平, 从而降低未来心脏衰竭事件或复发的风险, 降低未来心脏衰竭的严重性, 和 / 或预防未确诊的受试者的心脏衰竭。这样的话, 芳香族阳离子肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 适用于降低 TNF- α 水平, 以及预防或治疗哺乳动物受试者的心脏衰竭。

[0407] 实施例 6- 心肌梗塞后施用的 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 改进 LV 功能

[0408] 这个研究将展示, 在大鼠中通过透壁性非再灌注梗塞诱导心脏衰竭后 2 小时开始的使用 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 的长期疗法可以改进结果。因为 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 处理将在永久冠状动脉闭塞后两小时开始, 所以任何效益都将与诸如无回流减少的现象无关。在冠状动脉闭塞后两小时, 因缺血性坏死而注定死亡的所有或几乎所有的细胞已经在大鼠模型中死亡。这个研究测量 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 减小 LV 体积、改进缩短分数和射血分数、减少梗塞膨展、改进存活、改进血液动力学、以及减小肺体积的能力。

[0409] 方法

[0410] 将大鼠麻醉、吸氧, 并且在左边第四个肋间隙中进行胸廓切开术。通过在程序期间将大鼠置于加热垫上使温度维持于 36°C。切除心包, 并且分离近端左冠状动脉并用缝线使其永久地闭塞。通过心室前壁的发绀和运动不能来确认冠状动脉闭塞。使胸腔闭合, 抽空空气, 并且使大鼠复原。由兽医施以止痛术。在冠状动脉闭塞后约 15 分钟获得超声心动图。在 2 小时, 将大鼠随机分配以长期每天接受 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ (由 Alzet 渗透泵皮下递送 -3 毫克 / 公斤 / 天) 或水。渗透泵递送约 0.15 μ l/h, 持续 6 周 (型号 2006 ; 200 μ l)。在大鼠仍处于麻醉时将 Alzet 泵皮下植入肩胛之间。6 周后, 将大鼠再麻醉, 称重, 并且在麻醉下获得第二个超声心动图。进行切断以分离颈动脉与颈静脉。测量心率和血压。将米勒导管 (Millar catheter) 插入左心室中, 并且测量 LV 收缩压、LV 末期舒张压、+dP/dt 以及 -dP/dt。使用 IV 荧光造影进行左心室造影以确定 LV 心搏量和射血分数。在深度麻醉下, 切除心脏, 称重, 并且用福尔马林 (formalin) 在 11mmHg 下加压固定。还切除肺并称重。通过用流体填充 LV 腔并且测量总流体来测量尸检 LV 体积。将心脏切成四个横向切片, 并且制备组织学载片并且用苏木精和曙红以及将胶原蛋白染色的天狼猩红进行染色。定量组织学分析包括: 总周长、疤痕周长、非梗塞壁周长、总 LV 面积、总 LV 腔面积、LV 壁厚度 (在几个点处)、非梗塞壁厚度; 心肌梗塞膨展指数。

[0411] 结果

[0412] 通过超声心动描记术确定 LV 缩短分数

[0413] 预计与未处理组相比, 左心室缩短分数 (LVFS) 将在 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 处理的组中有所改进。

[0414] 通过 LV 心室造影术确定 LV 心搏量和射血分数

[0415] 预计与未处理组相比, 在 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 处理的组中将存在更高的 LV 心搏量和 LV 射血分数。

[0416] 血液动力学

[0417] 预计在处理后 6 周在两个组之间的心率、收缩和舒张血压没有显著差异。

[0418] 尸检 LV 体积

[0419] 预计与对照组相比,在 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂处理的组中将存在更低的尸检 LV 体积。

[0420] 疤痕周长、疤痕厚度以及膨展指数

[0421] 预计与水组相比, LV 非疤痕周长将在 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂处理的组中更长。另外,预计与水组相比,疤痕周长在 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂处理的组中更小。预计与水相比,以总 LV 周长百分比表示的疤痕周长将在 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂组中更小。预计表示为:[LV 腔面积 / 总 LV 面积 × 隔膜厚度 / 疤痕厚度] 的疤痕厚度、隔膜厚度以及膨展指数在两个组中是相当的。

[0422] 肺重量(流体超负荷的量度)

[0423] 测量肺干重和湿重,并且预计干/湿比在两个组之间是类似的。

[0424] 这些结果将显示本发明技术的芳香族阳离子肽,诸如 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐(诸如乙酸盐或三氟乙酸盐),适用于预防 LV 重塑和改进 LV 功能。详细地说,这些结果将显示本发明的芳香族阳离子肽,诸如 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐(诸如乙酸盐或三氟乙酸盐),适用于包括将肽施用于需要减少左心室重塑和改进 LV 功能的受试者的方法。

[0425] 实施例 7- 在啮齿动物心脏衰竭模型中 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂对梗塞后重塑和心脏功能的影响

[0426] 在这个研究中,在心脏衰竭的梗塞后模型中测试 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂以观察其是否将改进心脏功能并且促成有益的线粒体基因表达。

[0427] 方法

[0428] 如实施例 6 中所描述,大鼠将经历永久冠状动脉结扎。大鼠将被分成两个组并且经由植入每只动物中的微量渗透泵用 200-300ng/ml D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或 0.9% NaCl(盐水)连续地处理六周。

[0429] 在六周的时段后,用超声心动描记术评估 LV 功能。另外,切除心脏,并且使用四唑盐染色分析心脏组织的 LV 腔室体积。还收集在梗塞周围的边缘区和远端区域中的心脏组织,并且进行基因阵列分析以确定线粒体代谢中所涉及的基因的表达水平。

[0430] 结果

[0431] 预计在心脏衰竭的梗塞后模型中用 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂长期处理将减少 LV 扩张。

[0432] 这些结果将显示芳香族阳离子肽,诸如 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐(诸如乙酸盐或三氟乙酸盐)适用于治疗 LV 重塑和心脏衰竭。因此,这些肽适用于包括将芳香族阳离子肽施用于罹患心脏衰竭或心肌梗塞后的受试者的方法。

[0433] 实施例 8- 在狗心脏衰竭模型中芳香族阳离子肽对 NT-BNP 原水平的影响

[0434] 在这个实施例中,研究了在患有冠状动脉微栓塞诱导的心脏衰竭的狗中芳香族阳离子肽 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂对 NT-BNP 原水平的影响。

[0435] 方法

[0436] 如 Sabbah 等,Am J Physiol. (1991)260:H1379-84 中所描述,经由多次连续冠状

动脉内微栓塞在狗中诱导心脏衰竭,这个文献以全文引用的方式并入本文中并且概述于实施例 1 中。

[0437] 如实施例 1 中所描述来诱导心脏衰竭。在实验中使用十只狗以确定 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂对 NT-BNP 原水平的影响。用肽处理一半的狗;另一半用药物媒介剂处理并且充当对照。肽处理在诱导心脏衰竭 (HF) 后开始,定义为约 30%的左心室射血分数。肽的日剂量是静脉内施用的 0.5 毫克 / 公斤 / 天。将血液样品抽取至 EDTA 抗凝血剂上并且以 2,500RPM 离心,并且提取血浆,以 1ml 体积等分至科斯塔管中并且在 -70℃ 下储存直至检测。在所有狗中完成追踪后,将血浆样品解冻至室温并且检测 NT-BNP 原。

[0438] 根据双抗体夹心酶联免疫吸附检测 (ELISA) 的原理在 EDTA- 血浆中测定 Nt-BNP 原 (pg/ml)。基于连同检测试剂盒 (NT-BNP 原, Kamiya Biomedical Company, 目录号 KT-23770) 一起的说明书来进行检测。使用标准曲线借助于软件 (MasterPlex-2010) 来确定每个生物标志的浓度。

[0439] 结果

[0440] 结果示于下表 18 和 19 中以及图 5 中。在表中,正常是心脏衰竭之前的基线;“HF-Pre”是起始疗法之前的心脏衰竭;“6Wk”是起始疗法之后 6 周;“12Wk”是起始疗法之后 12 周并且标志着研究结束;“AVG”是平均值;“SD”是标准偏差;“SEM”是平均值的标准误差;并且“NS”是不显著。表中的值是 pg/ml NT-BNP 原。如表中所示,在用媒介剂处理的狗中, HF 中的血浆 NT-BNP 原平均起来与基线相比增加并且在起始媒介剂的皮下注射之后 6 周和 12 周趋于进一步增加。在用线粒体肽处理的狗中,当狗被诱导成 HF 时 NT-BNP 原也增加,但用线粒体肽处理在 6 周时降低 NT-BNP 原并且在 12 周时降低或标准化其在血浆中的浓度。

[0441]

表 18: 对照动物的 CHF 狗的血浆中的 Nt-BNP 原水平 (pg/ml)

狗编号	媒介剂 (对照)			
	正常	HF-Pre	6Wk	12 Wk
1	324	1814	1492	1363
2	224	1418	1588	1568
3	211	997	1363	1372
4	267	1060	1464	1588
5	244	950	871	930
6	294	991	1104	1082
7	271	911	712	850
AVG	262	1163	1228	1250
SD	39	333	337	298
SEM	15	126	127	113
P 值对比正常		<.05	<.05	<.05
P 值对比 HF-Pre			NS	NS

表 19: 用肽处理的动物中的 C-反应蛋白浓度

狗编号	线粒体肽 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH ₂			
	BL	Pre	6Wk	12 Wk
1	289	1018	695	417
2	265	1090	593	393
3	346	941	654	423
4	257	1512	695	299
5	203	1223	559	422
6	271	1078	796	234
7	320	1034	680	294
AVG	278	1128	667	354
SD	46	190	77	77
SEM	17	72	29	29
P 值对比正常		<.05	<.05	NS
P 值对比 HF-Pre			<.05	<.05

[0442] 如图 5 中所示,如使用双抗体 ELISA 测定的血浆 NT-BNP 原水平在心脏衰竭受试者中增加约 4 倍。用 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂处理六周降低 NT-BNP 原水平,而处理 12 周使经过处理的动物中的 NT-BNP 原水平降至正常或接近正常水平。

[0443] 结果显示 D-Arg-2', 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂降低心脏衰竭受试者中的 NT-BNP 原水平。NT-BNP 原的降低与 BNP 的降低相关联,这是因为两者在 BNP 原裂解之后以等摩尔浓度释放,从而指示心肌细胞的拉伸减少。这样的话,芳香族阳离子肽 D-Arg-2', 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂适用于预防或治疗哺乳动物受试者的 LV 重塑。

[0444] 实施例 9- 在狗心脏衰竭模型中芳香族阳离子肽对线粒体 ATP 敏感性钾通道 (mK ATP) 的影响

[0445] 在这个实施例中,研究了在患有冠状动脉微栓塞诱导的心脏衰竭的狗中芳香族阳离子肽 D-Arg-2', 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂对增加 mK ATP 活性的影响。

[0446] 方法

[0447] 如 Sabbah 等, Am J Physiol. (1991) 260: H1379-84 中所描述, 经由多次连续冠状动脉内微栓塞在狗中诱导心脏衰竭, 这个文献以全文引用的方式并入本文中。

[0448] 如实施例 1 中所描述来诱导心脏衰竭。在实验中使用十只狗以确定 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 对 mk ATP 活性的影响。用肽处理一半的狗 (n = 5); 另一半用药物媒剂处理并且充当对照 (n = 5)。肽处理在诱导心脏衰竭 (HF) 后开始, 定义为约 30% 的左心室射血分数。肽的日剂量是静脉内施用的 0.5 毫克 / 公斤 / 天, 持续三个月。将盐水每天皮下注射至对照中。在三个月的处理结束时收集左心室组织。从组织中分离线粒体。使用铈敏感性荧光团检测试剂盒来测量 MK ATP 活化, 并且以每毫克蛋白质的相对荧光单位 (RFU) 来定量。使用生物发光 ApoSENSOR™ 检测试剂盒 (Enzo Life Sciences, Farmingdale, NY) 测量线粒体 ATP 与 ADP 的比率。

[0449] 结果

[0450] 用 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 处理使得 ATP/ADP 显著增加 (0.38 ± 0.04 对比 1.16 ± 0.15 , $p < 0.05$)。用 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 处理也使得 mK ATP 的活化显著增加 (1372 ± 112 对比 2775 ± 254 , $p < 0.05$)。

[0451] 结果显示 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 增加心脏衰竭受试者中的 mK ATP 活性, 从而降低未来心脏衰竭事件或复发的风险, 降低未来心脏衰竭的严重性, 和 / 或预防未确诊的受试者的心脏衰竭。这样的话, 芳香族阳离子肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 适用于增加 mK ATP 活性, 以及预防或治疗哺乳动物受试者的心脏衰竭。

[0452] 实施例 10- 在狗心脏衰竭模型中芳香族阳离子肽对心肌钙蛋白 I 水平的影响

[0453] 在这个实施例中, 研究了在患有冠状动脉微栓塞诱导的心脏衰竭的狗中芳香族阳离子肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 对心肌钙蛋白 I 水平的影响。

[0454] 方法

[0455] 如实施例 1 中所描述来诱导心脏衰竭。在实验中使用十只狗以确定 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 对心肌钙蛋白 I 水平的影响。用肽处理一半的狗; 另一半用药物媒剂处理并且充当对照。肽处理在诱导心脏衰竭 (HF) 后开始, 定义为约 30% 的左心室射血分数。肽的日剂量是静脉内施用的 0.5 毫克 / 公斤 / 天。将血液样品抽取至 EDTA 抗凝血剂上并且以 2,500RPM 离心, 并且提取血浆, 以 1ml 体积等分至科斯塔管中并且在 -70°C 下储存直至检测。测量基线、处理后六周以及处理后十二周的心肌钙蛋白 I 水平。在所有狗中完成检测后, 将血浆样品解冻至室温并且检测心肌钙蛋白 I。将基线、六周处理以及十二周处理与正常对照相比较。

[0456] 结果

[0457] 预计用 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 处理在处理六周后与未处理的相比将降低心肌钙蛋白 I 水平, 并且预计在处理 12 周后心肌钙蛋白 I 水平将接近正常水平。

[0458] 结果将显示 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 适用于降低心脏衰竭受试者中的心肌钙蛋白 I 水平, 从而降低未来心脏衰竭事件或复发的风险, 降低未来心脏衰竭的严重性, 和 / 或预防未确诊的受试者的心脏衰竭。这样的话, 芳香族阳离子肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 适用于降低心肌钙蛋白 I 水平, 以及预防或治疗哺乳动物受试者的心脏衰竭。

[0459] 实施例 11- 在狗心脏衰竭模型中芳香族阳离子肽对心磷脂的影响

[0460] 在这个实施例中,研究了在患有冠状动脉微栓塞诱导的心脏衰竭的狗中芳香族阳离子肽,诸如 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂对心磷脂水平的影响。

[0461] 方法

[0462] 如 Sabbah 等, Am J Physiol. (1991) 260: H1379-84 中所描述,经由多次连续冠状动脉内微栓塞在狗中诱导心脏衰竭,这个文献以全文引用的方式并入本文中。随后用 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂处理一半的狗;另一半用药物媒介剂处理并且充当对照。肽处理在诱导心脏衰竭 (HF) 后开始,定义为约 30% 的左心室射血分数。静脉内施用 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂的日剂量 (0.5 毫克 / 公斤 / 天)。

[0463] 在处理期结束时 (12 周),将媒介剂组与处理组中的狗处死,并且从左心室中移出心肌样品,用盐水洗涤,并且立即冷冻并在 -80°C 下储存。

[0464] 对于心磷脂分析,用氯仿 / 甲醇溶液从心脏组织样品中提取脂质 (布莱代尔提取 (Bligh Dyer extraction))。将个别的脂质提取物用氯仿: 甲醇 (1:1) 重构,用 N₂吹洗,然后在 -20°C 下储存,随后经由电喷雾电离质谱法使用配备有自动化纳米喷雾装置的三重四极杆质谱仪进行分析。如 Han 等 (2006) J Lipid Res 47(4): 864-879 所描述,对心磷脂进行基于增强型多维质谱法的鸟枪法脂质组学分析。

[0465] 结果

[0466] 与来自正常狗 (NL) 的正常心脏组织相比,18:2 心磷脂物质在未处理的 HF 狗 (HF-CON) 中减少 (p<0.05)。图 1。然而,用 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂处理的 HF 狗 (HF-AP) 的 18:2 心磷脂水平类似于 NL 狗并且大于 HF-CON (p<0.05)。图 6。

[0467] 18:2 心磷脂物质在 HF 中减少。18:2 心磷脂的减少导致较差氧化磷酸化并且随后 LV 功能不全。用 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂长期处理使 18:2 心磷脂标准化,其引起 LV 功能和线粒体 ATP 合成速率的改进。

[0468] 这些结果显示本发明的芳香族阳离子肽,诸如 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐 (诸如乙酸盐或三氟乙酸盐) 适用于预防和治疗与异常心磷脂水平相关的疾病和病状。详细地说,这些结果显示本发明的芳香族阳离子肽,诸如 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其医药学上可接受的盐 (诸如乙酸盐或三氟乙酸盐) 适用于增加心磷脂水平以及治疗心脏衰竭和相关病状。

[0469] 实施例 12- 在狗心脏衰竭模型中芳香族阳离子肽对 MLCL AT1、ALCAT1 以及 Taz1 表达的影响

[0470] 在这个实施例中,研究了在患有冠状动脉微栓塞诱导的心脏衰竭的狗中芳香族阳离子肽 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂对心磷脂重塑酶 MLCL AT1、ALCAT1 以及 Taz1 的影响。

[0471] 方法

[0472] 如 Sabbah 等, Am J Physiol. (1991) 260: H1379-84 中所描述,经由多次连续冠状动脉内微栓塞在狗中诱导心脏衰竭,这个文献以全文引用的方式并入本文中。

[0473] 如实施例 1 中所描述,使十二只狗经受冠状动脉微栓塞诱导的心脏衰竭 (LV 射血分数为约 30%)。将受试者随机分成 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂处理的组和对照组用于三个月试验。通过皮下注射 D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ (0.5 毫克 / 公斤,每天一次,

n = 6) 或盐水 (未处理的 HF 对照, n = 6), 受试者接受 3 个月的疗法。在处理期结束时从所有 12 只狗的 LV 组织制备 RNA, 并且从 6 只正常 (NL) 狗制备 RNA 用于比较。通过实时 PCR 测定 Taz1、MLCL AT1 以及 ALCAT1 的 mRNA 水平。使用 CT 方法, 针对作为内部对照的甘油醛 1, 3 二磷酸脱氢酶 (GAPDH) 进行标准化, 将 mRNA 表达的变化以倍数变化来表示。

[0474] 结果

[0475] 与正常水平 (NL) 相比, 未处理的 HF 狗中 Taz1 的 mRNA 水平降低 2.25 倍 (图 7A), 而 MLCL AT1 和 ALCAT1 的 mRNA 分别增加 2.60 倍和 3.56 倍。图 7B-C。用 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂ 处理使 Taz1 的降低削减 1.23 倍, 并且使 MLCL AT1 和 ALCAT1 的增加分别降低 1.18 倍和 1.54 倍。图 7A-C。

[0476] HF 与心磷脂重塑酶的失调相关联, 这种失调可能导致心磷脂的病理性重塑以及结构和功能线粒体异常。使用 D-Arg-2' , 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂ 的长期疗法部分地逆转这些适应不良, 由此允许恢复心磷脂的生理性生物合成后重塑。

[0477] 这些结果显示本发明的芳香族阳离子肽, 诸如 D-Arg-2' , 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂ 或其医药学上可接受的盐 (诸如乙酸盐或三氟乙酸盐) 适用于预防和治疗与异常心磷脂重塑酶水平, 例如 MLCL AT1、ALCAT 1 以及 Taz1 相关的疾病和病状。详细地说, 这些结果显示本发明的芳香族阳离子肽, 诸如 D-Arg-2' , 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂ 或其医药学上可接受的盐 (诸如乙酸盐或三氟乙酸盐) 适用于标准化心磷脂重塑酶水平, 例如降低 MLCL AT 1、ALCAT 1 和增加 Taz1 表达水平, 以及治疗心脏衰竭和相关病状的方法。

[0478] 等效物

[0479] 本发明并不受限于本申请中所描述的特定实施方案, 这些实施方案意图作为本发明的个别方面的单一说明。如本领域的技术人员将显而易见, 在不脱离本发明的精神和范围的情况下可以作出本发明的许多修改和变更。在本发明的范围内的功能等效方法和装置, 除了本文所列举的那些之外, 将为本领域的技术人员从前面的描述显而易见。所述修改和变更意图处于随附权利要求书的范围内。本发明仅受随附权利要求书以及所述权利要求书所授权的等效物的完整范围所限制。应了解, 本发明并不限于特定方法、试剂、化合物、组合物或生物系统, 这些当然可以有变化。还应了解, 本文所用的术语仅为了描述特定实施方案的目的, 并且不意图作为限制。

[0480] 另外, 在依据马库西群组 (Markush group) 描述本公开的特征或方面的情况下, 本领域的技术人员将认识到本公开也借此依据马库西群组的任何个别成员或成员的子组来描述。

[0481] 如本领域的技术人员应了解, 出于任何和所有目的, 特别是在提供书面描述方面, 本文所公开的所有范围还包涵任何和所有可能的子范围以及其子范围的组合。任何所列范围可以被容易地认为充分描述相同范围并且使相同范围能够分解成至少两等分、三等分、四等分、五等分、十等分, 等等。作为一个非限制性实例, 本文所论述的每个范围可以被容易地分解成下三分之一、中三分之一以及上三分之一, 等等。如本领域的技术人员还应了解, 诸如“至多”、“至少”、“大于”、“小于”等所有语言包括所叙述的数字并且指的是如上文所论述可以随后分解成子范围的范围。最后, 如本领域的技术人员应了解, 范围包括每个个别成员。因此, 举例来说, 具有 1 至 3 个细胞的群组指的是具有 1、2 或 3 个细胞的群组。类似地, 具有 1 至 5 个细胞的群组指的是具有 1、2、3、4 或 5 个细胞的群组, 等等。

[0482] 本文所提及或引用的所有专利、专利申请、临时申请以及公布都以全文引用的方式并入,包括所有图式和表格,达到其不与本说明书的明示教义相矛盾的程度。

[0483] 其它实施方案阐述于以上权利要求书中。

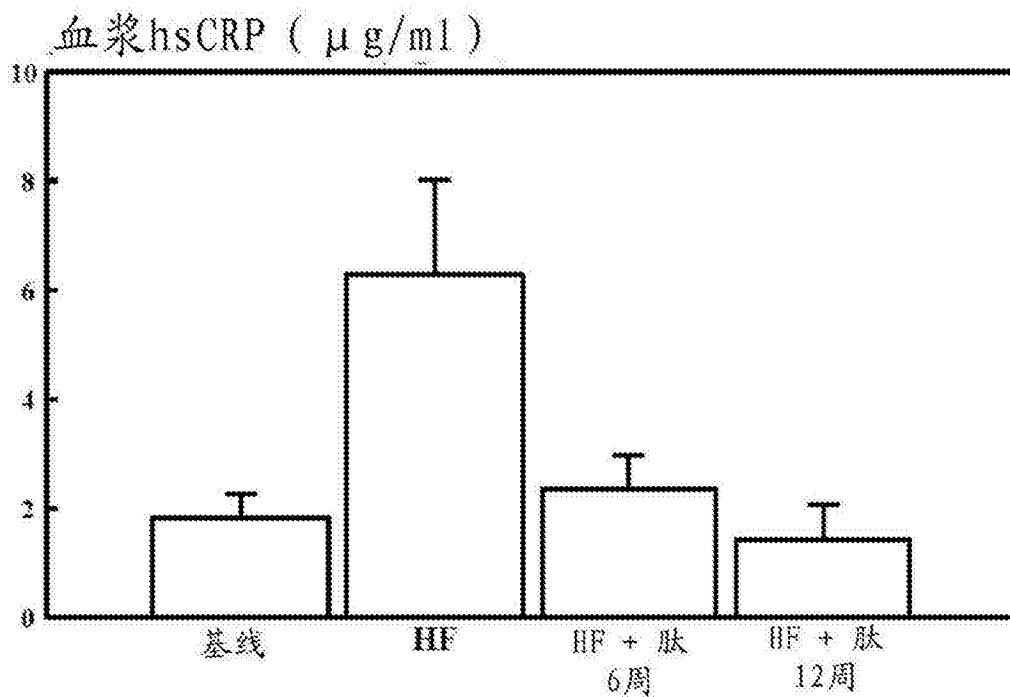


图 1

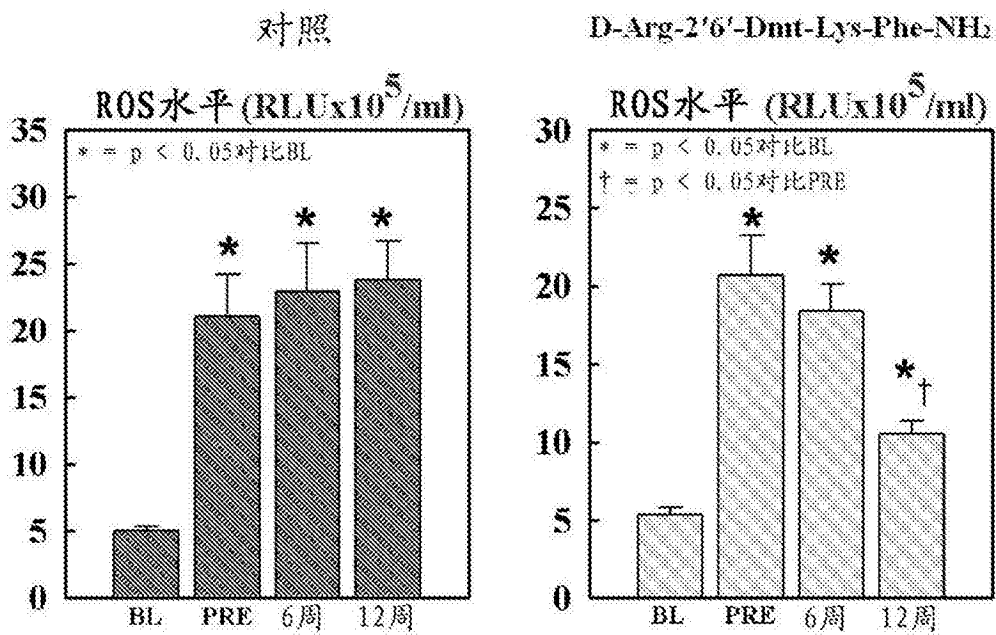


图 2

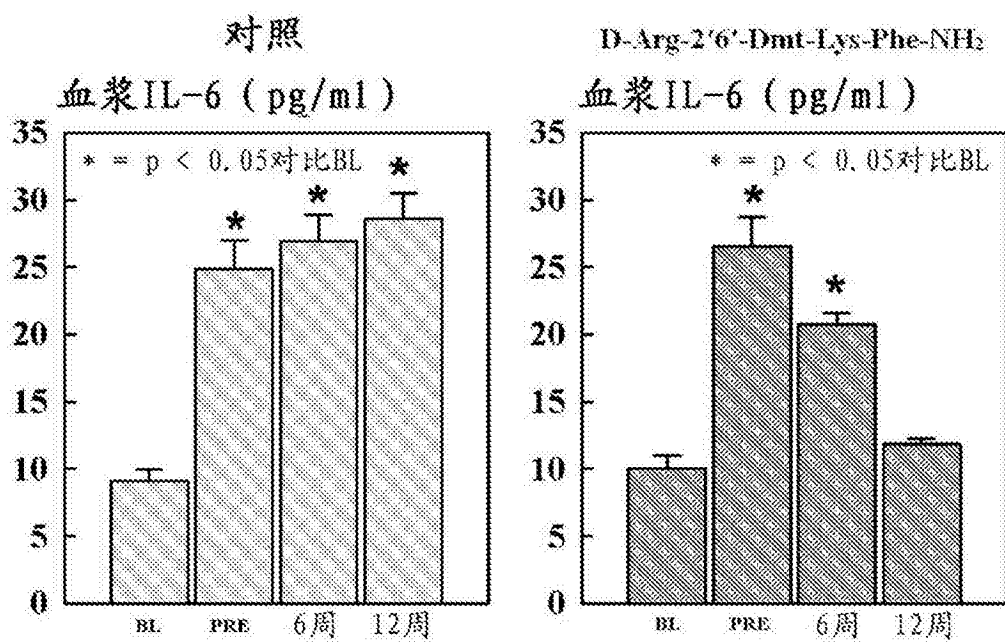


图 3

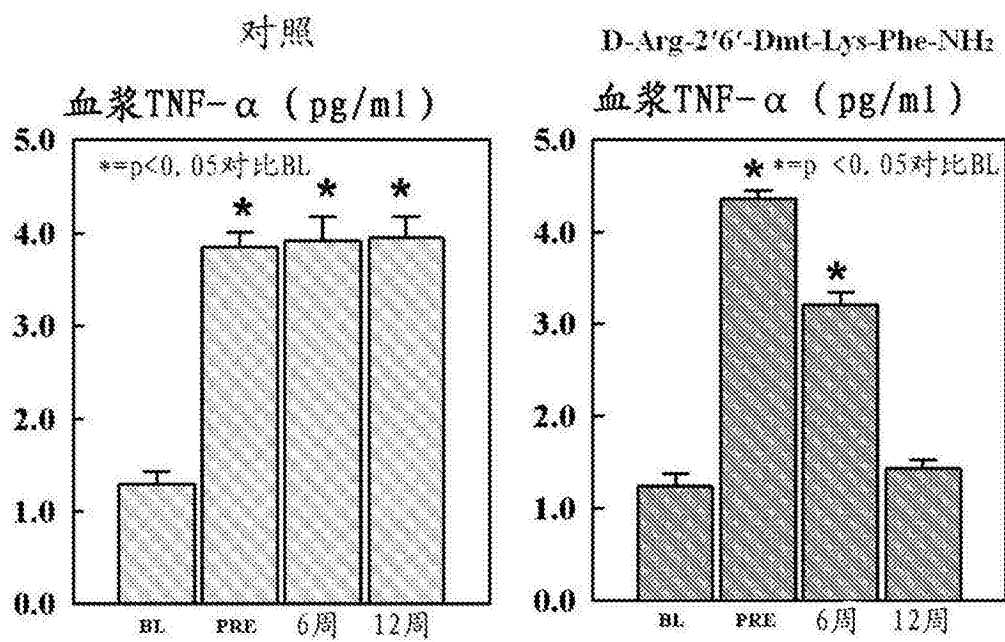


图 4

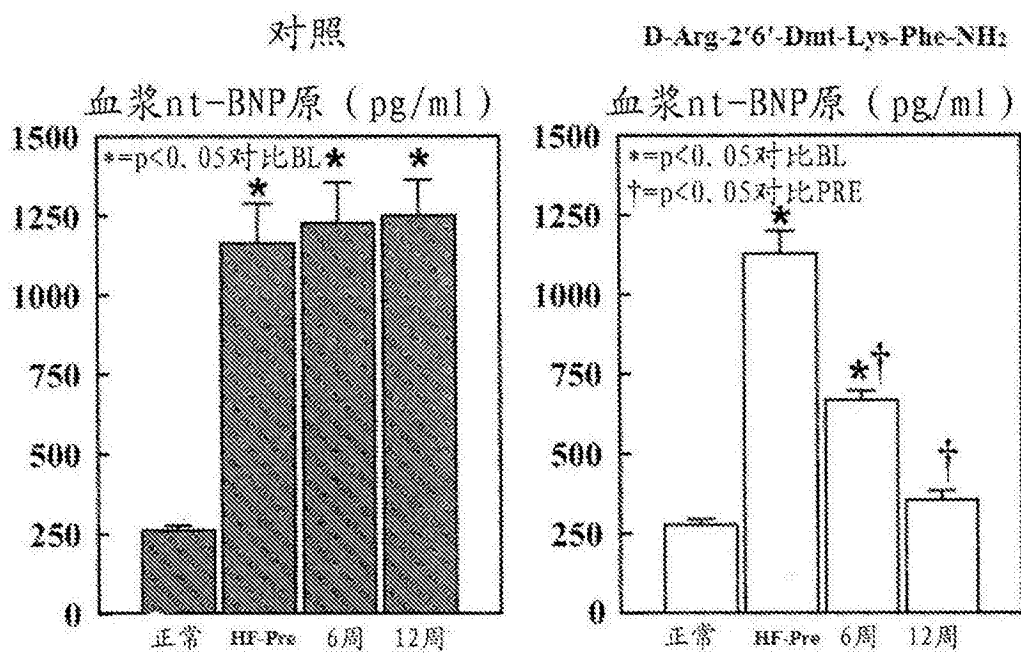


图 5

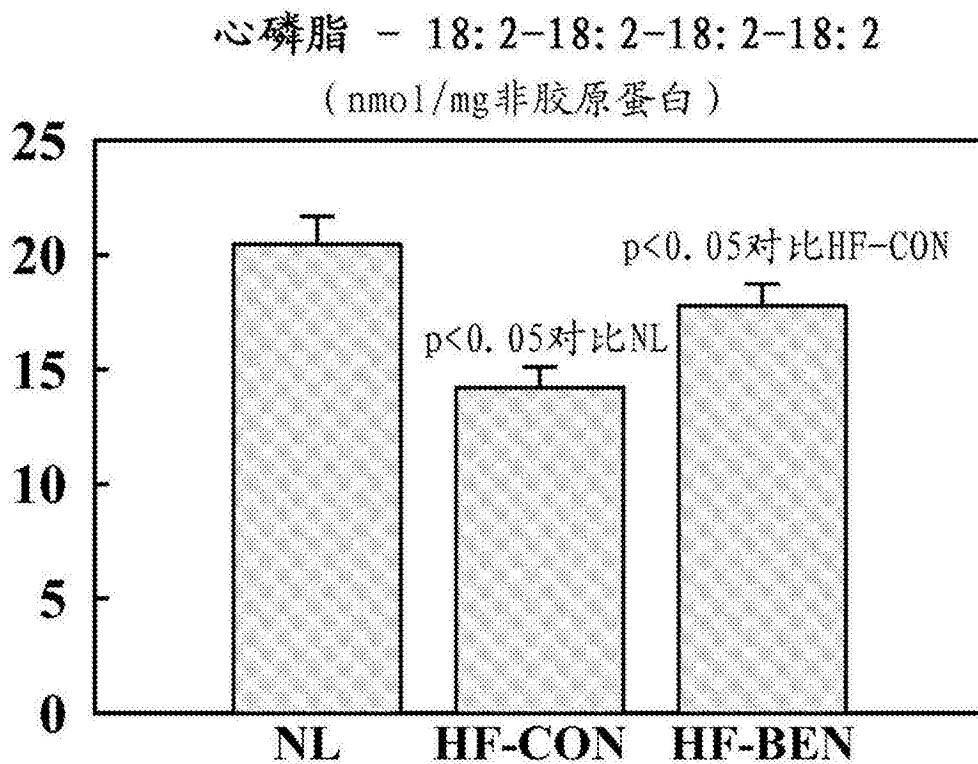


图 6

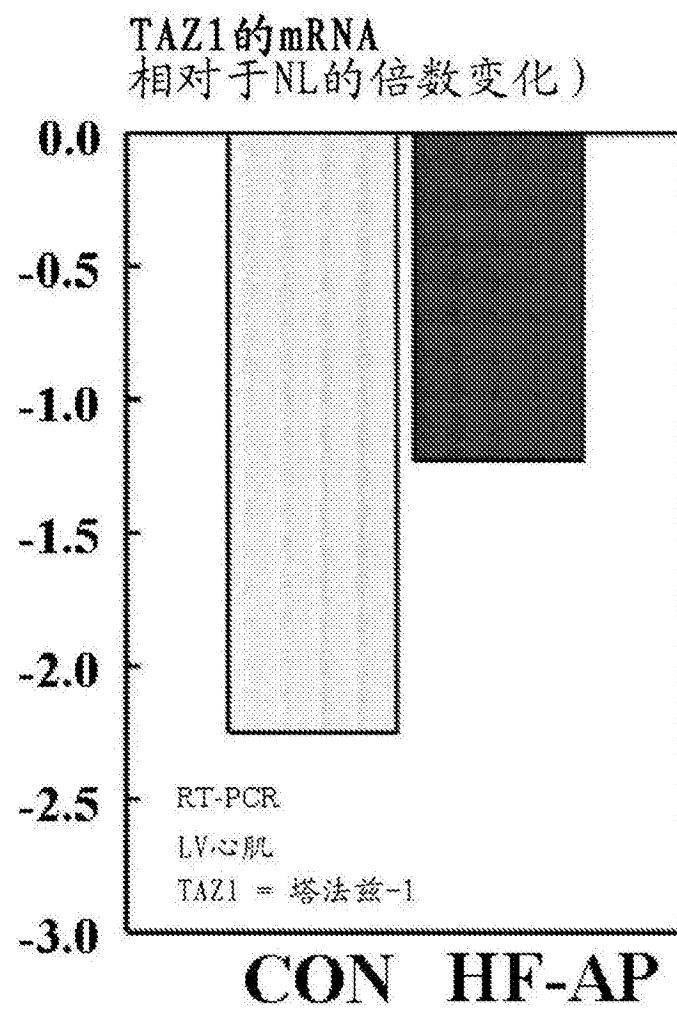


图 7A

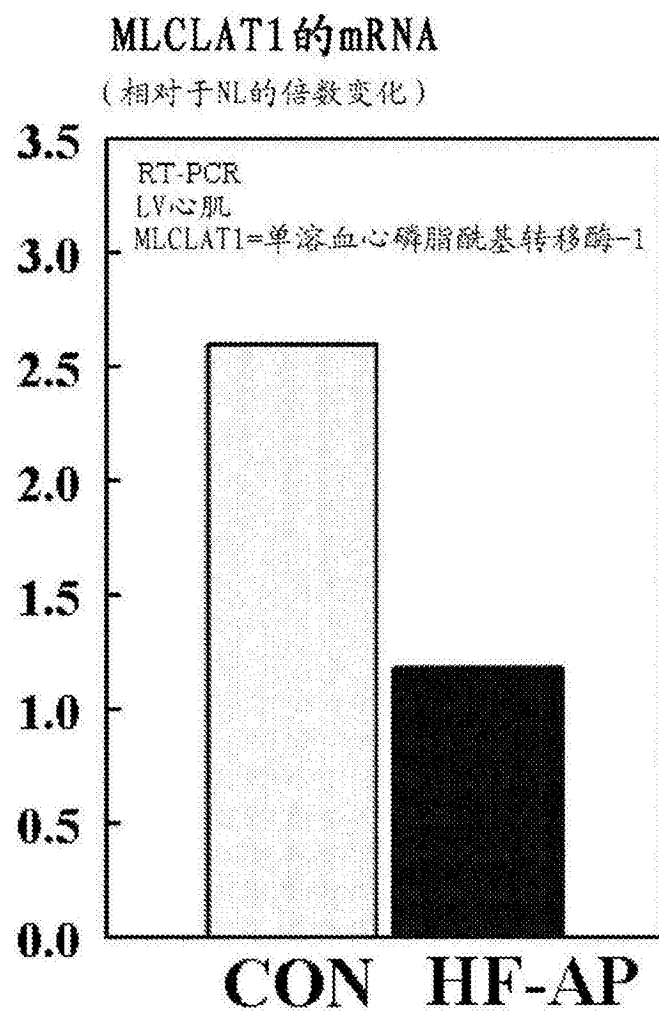


图 7B

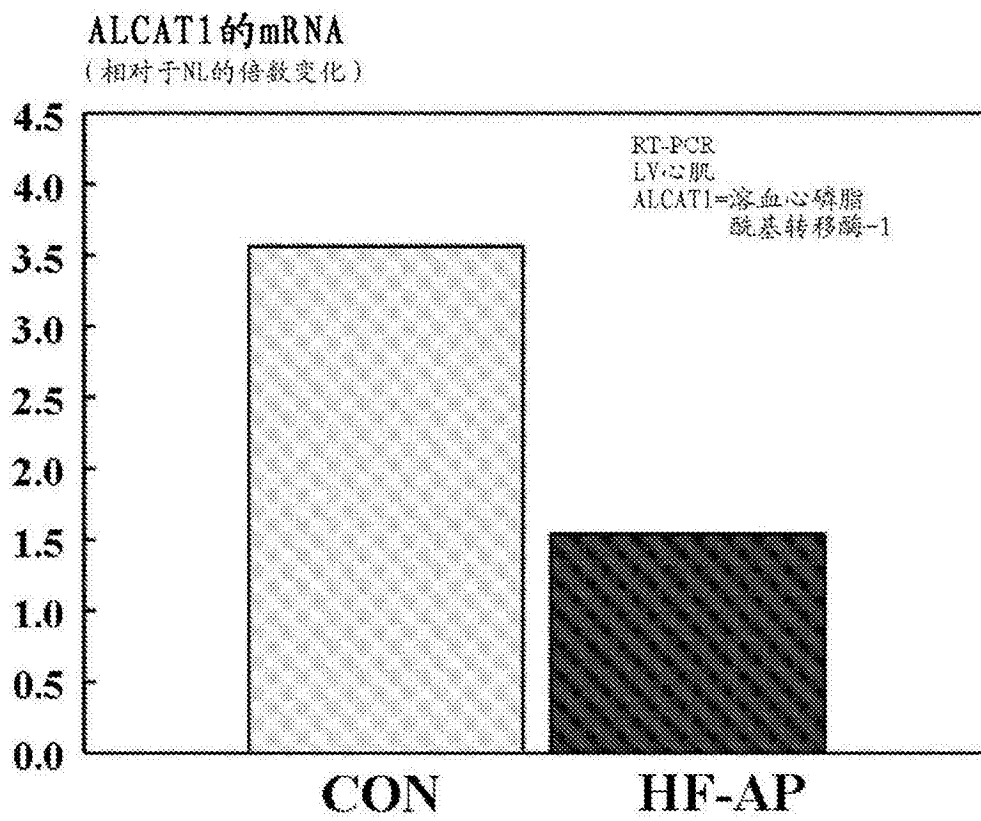


图 7C