

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，
其事實發生日期為： 年 月 日。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

美國、2004. 7. 16、60/588,722

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。



九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明提供載脂蛋白 A-I 的肽類似物，其有用於改變脂質參數以便有益地影響血漿膽固醇水平。一般地，本發明進一步關於治療心血管系統中異常提升之膽固醇水平的方法和組成物。

【先前技術】

血管性疾病（例如心血管性、周圍血管性、和腦血管性，其相關於或導因於脂質失調）在已開發國家中係首要死亡及殘疾的原因之一，尤其使老年人為之所苦。此等疾病在包括美國的富裕國家中為主要的死亡原因之一，在這些國家心血管疾病每年造成幾乎一百萬人死亡，比總死亡人數的一半更多；每年幾乎有五百萬為心血管性疾病所苦的人住院治療。

動脈硬化意指任何特徵為動脈壁增厚並失去彈性的疾病之群組。在這些疾病中，動脈粥樣硬化（最常見的血管性疾病形式）和冠狀動脈疾病具有最明顯的影響。通常，血管內表面係相對平滑的，使血液能輕易地通過。在動脈粥樣硬化（一種常見的血管性疾病形式）中，黃色斑塊（動脈粥瘤，其含有膽固醇、脂肪礦物質、鈣、和充滿脂質的巨噬細胞）的堆積在大尺寸和中尺寸動脈之內膜和內基質中形成。斑塊造成血管的阻塞，加速凝集並導致無法對身體重要器官提供足夠血液，其造成包括心臟病發作、中風、或腎臟衰退的器官衰退，並造成高血壓。動脈粥樣硬化為

絕大部分冠狀動脈疾病的原因。

動脈粥樣硬化損害（脂紋）發展的極早期包括單核球進入血管的內皮下區域。同時，低密度脂蛋白膽固醇（LDL）存留在內皮下區域並氧化，造成這些單核球（此時已分化成巨噬細胞）吞入被氧化修改的 LDL，並局部地停留。該等巨噬細胞，或稱泡沫細胞，增加自身之體積而其等之後的死亡以及自血管平滑肌細胞（VSMC）分泌纖維狀原素導致斑塊的產生。動脈粥樣硬化可被看作一種過度增生性疾病，其中動脈壁中一些正常 VSMC 變成不正常增生性，並且同時侵入和擴散至血管內襯，阻塞血液流動並造成血管不正常地容易被局部血液凝集完全阻塞。此完全阻塞可能造成由該動脈所供血的組織之死亡。

雖然 LDL 水平的提高通常是所不欲的且被認為對個人的健康是有害的，HDL 水平的提升被認為對動脈粥樣硬化有保護性。HDL 膽固醇通常被認為是「好的」膽固醇，因為血清 HDL 濃度和冠狀心臟疾病之負相關性至少和低密度脂蛋白（LDL）和冠狀心臟疾病之正相關性一樣強。載脂蛋白 A-I（Apo A-I）和 A2 係主要的 HDL 脫輔基蛋白成分，且被認為具有抗動脈粥樣硬化生成性，因為其具有將膽固醇自動脈運送至肝臟以分解並排泄的能力。參見 Furchart, J. 和 Ailhaud, G. (1992) Clin. Chem. 38: 793-797。

動脈粥樣硬化之治療包括使用藥物以管理和減少 LDL 膽固醇，該藥物係設計以抑制膽固醇合成，例如 HMG-CoA 還原酶抑制劑（斯達丁（statin））、煙鹼酸、膽鹽螯合劑、

或纖維酸衍生物。然而，這些醫藥劑並非沒有明顯的副作用。已知斯達丁會顯示不同程度的肌毒性(Rosenson, (2004) Am. J. Med. 116(6): 408-16)，而煙鹼酸通常會誘發血管擴張效應。纖維酸和許多反效應相關，包括肝臟酵素提高、胃腸副作用、和橫紋肌溶解(Muscari 等人(2002) Cardiology 97(3): 115-21)。

許多 Apo A-I 的 A 類兩性螺旋性肽類似物（其衍生自 Apo A-I 的八個連續重複 22 聚體序列）(Apo A-I 類似肽) 已被顯示對抵抗動脈粥樣硬化之發展有效。Apo A-I 的 C 端部分(殘基 193 至 243)被認為積極地參與蛋白質-脂質交互作用。Apo A-I 類似肽加強高密度脂蛋白(HDL)保護低密度脂蛋白(LDL)不被氧化並自 LDL 移除晶種分子的能力。然而，目前並不清楚地了解 Apo A-I 類似肽是否以獨立於 HDL 所介導的機制保護 LDL 對抗氧化反應。這些肽在活體內通常快速地被降解。

之前已知道 L-4F（一種含 18 個 L 氨基酸的類似肽）和其 D-胺基酸類似物 D-4F，會阻止 LDL 氧化及 LDL 所誘發的單核球趨化活性。進一步地，D-4F 已被顯示在以口投藥時為穩定的，其在 LDL 受體-裸小鼠中造成動脈粥樣硬化損害減低幾乎 80%。Navab 等人，(2002) Circulation 105: 290-292。L-4F 和 D-4F 之一級胺基酸序列為 Ac-D-W-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH₂（序列識別號：1）。該 18 聚體具有形成 A 類兩性螺旋結構的潛力(Segrest 等人 (1974) FEBS Lett. 38: 247-253)。L-4F 透過獨立

本發明包括此處所揭示肽類似物於生產用於治療一種此處所揭示的疾病或病症的醫藥品之用途。

【實施方式】

發明詳述

I. 概要

血管性疾病和異常脂質參數（一般地，例如血液中和腦血管系統中提升的膽固醇水平（尤其是 LDL 膽固醇）和減少的 HDL）之間有強烈相關性。有益地改變脂質參數以控制在循環性血液中以及局部焦點中的膽固醇量，被認為有效於減低動脈粥樣硬化之發生以及之後的死亡。

本發明提供載脂蛋白 A-I 的肽類似物，該載脂蛋白 A-I 有用於改變脂質參數以便有益地影響血漿膽固醇水平。一般地，本發明進一步關於治療心血管系統中異常提升之膽固醇水平的方法和組成物。

II. 定義

術語「胺基酸殘基」係於技藝中已知。一般來說，用於本文中指明胺基酸和保護基之縮寫係基於 IUPAC-IUB 委員會在生物化學命名之建議（參見 Biochemistry (1972) 11: 1726-1732）。在某些具體態樣中，使用於本發明申請案的胺基酸係那些天然產生在蛋白質中找到的胺基酸，或天然產生的該等含胺基和羧基之胺基酸的合成或分解產物。特別適合的胺基酸側鏈包括選自以下胺基酸的側鏈：甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、半胱胺酸、白胺酸、異白胺酸、絲胺酸、羥丁胺酸、甲硫胺酸、麩胺酸、天冬胺酸、麩醯

胺酸、天冬醯胺酸、離胺酸、精胺酸、脯胺酸、組胺酸、苯丙胺酸、酪胺酸、和色胺酸。

術語「胺基酸殘基」進一步包括任何此處所指胺基酸的特殊類似物、衍生物、和同質物，以及 C-端或 N-端經保護的胺基酸衍生物（例如以一 N-端或 C-端保護基修改）。例如，本發明考量胺基酸類似物之使用，其中該胺基酸一側鏈被延長或縮短但仍然提供可供環化的一羧基、胺基、或其他反應前驅性官能基，而且胺基酸類似物有多變且具有適當官能基的側鏈。例如，受質化合物可包括一胺基酸類似物，例如，氫機丙胺酸、刀豆胺酸、今可豆胺酸、正白胺酸、3-磷絲胺酸、類絲胺酸、二羥基-苯丙胺酸、5-羥基色胺酸、1-甲基組胺酸、3-甲基組胺酸、二胺基庚二酸、鳥胺酸、或二胺基丁酸。其他天然產生的胺基酸代謝物或前驅物（其具有適合於本發明之側鏈）會為熟習該項技術者所辨識出並被包括在本發明之範圍內。

本文中所使用術語「劑」及「化合物」包括蛋白質和非蛋白質分子部分兩者。劑可為小型有機分子、多肽、蛋白質、肽複合物、肽類似物、非肽劑、或聚核苷酸。

本文中所使用之「改善」意指緩和、減輕、或減少症狀的程度或減少疾病顯現事件發生之數目。

「脫輔基蛋白」為在脂蛋白外殼上的特殊蛋白質。雖然在脂蛋白上存在各種數量的不同脫輔基蛋白，其皆在脂蛋白代謝上扮演關鍵的角色。一些在脂蛋白顆粒上的脫輔基蛋白與特殊細胞表面受器交互作用，而其他的則活化或

去活化包含於脂質代謝的酵素。目前已分離出十種主要的脫輔基蛋白並定出其的特徵，其在肝臟和小腸合成並分泌出來。某些脂蛋白為某些顆粒種類的組成成分。例如，載脂蛋白(Apo) B-100 和 VLDL、IDL、及 LDL 有關，而 Apo A 和 HDL 有關。Apo B-100 有助於自血液中移除膽固醇而 Apo A 有助於 HDL 自組織中移除膽固醇。

Apo A-I 是主要的 HDL 脫輔基蛋白且對 HDL 之正常生產為所需。大多數血漿 HDL 的前驅物是一種包含 Apo A-I 和稱為前- β 1 HDL 的磷脂的盤狀顆粒。盤狀前- β 1 HDL 可自組織（例如動脈壁巨噬細胞）的細胞膜獲得自由的（未經酯化的）膽固醇，其係藉由與 B 類 I 型清掃受體交互作用，其中 HDL 之 Apo A-I 接上該受體使得自由的膽固醇往 HDL 顆粒去或自 HDL 顆粒來。在自由的膽固醇被前- β 1 HDL 獲得之後，其被酯化、非極性化、並移動至 HDL 的核心。

咸相信「動脈粥樣硬化」起始自一對動脈內壁（內皮層或內皮細胞）的損傷。一旦內壁受到損傷，一些生物過程的組合會導致斑塊的堆積。為了對損傷有所反應，巨噬細胞堆積於該處並遷移至內層之下。巨噬細胞接著開始從血液中吸收肪質物質並成為泡沫細胞。泡沫細胞和其他物質（例如增殖的平滑肌細胞）的堆積有助於斑塊的形成，並最終在動脈壁上形成腫脹。隨著時間過去，隨著腫脹持續吸收脂肪物質，斑塊堆積將血管腔變窄並阻塞住血流。此外，斑塊堆積可造成血管壁硬化並失去其彈性，其可增加對血流的抗性並提高血壓。因此，血管性疾病被認為是



一個漸進性的疾病，其症狀往往在人類年齡達中年或老年前不明顯。

堆積的斑塊造成血管的阻塞，加速凝塊並導致無法對重要的身體器官供應足夠的血液，其造成氧氣和營養供給的減少，其造成器官衰退（包括心臟病發作、中風、或腎臟衰退），並造成高血壓。當動脈粥樣硬化發生在冠狀動脈（冠狀動脈疾病（CAD）或冠狀心臟疾病（CHD））時，其病症可造成心臟氧氣飢饉而導致例如心臟局部缺血、絞痛症、心肌梗塞、心律不整之病症並最終導致心臟病發作，其為近年發病及死亡的一個主要原因。當動脈粥樣硬化發生在周圍動脈（周圍動脈疾病（PAD））時，該病症可能造成腿部肌肉的氧氣飢饉並導致活動能力減低並最終導致喪失活動能力。

術語「ED50」意指可造成藥物最大反應或效果之 50% 的藥物之劑量。

對治療主體方法來說，一「有效量」的（例如肽類似物）意指一用於製備的肽類似物之量，其當施用為所欲劑量攝生法的一部份時會抑制或引起，例如，預防或產生動脈粥樣硬化性損傷形成頻率或數目之改變，其根據臨床上可接受對於所欲治療的失調或所希望的效果之標準。

術語「保健提供者」意指對一個人、社區、等等提供保健服務個人或組織。「保健提供者」的例子包括醫生、醫院、持續照顧退休之社團、有技術的護理設施、次急性照顧設施、診所、多專長診所、獨立的門診中心、家庭健

康專員、和 HMO。

「抑制」於本文中意指與控制組樣本中會發生的量相比，量亮減少。在一較佳具體態樣中，抑制意指其量減少大於 50%，甚至更佳大於 75%或甚至 100%。

「操作指引資料」於本文中意指一包括書面或聲音的文件或紀錄媒體操作指引，其係用於醫藥組成物。一操作指引資料包括瓶上的標籤、插於盒中的紙、盒上或紙盒上的印刷、於任何這些位置所給的位址之網頁所提供的操作指引、等等。

術語「LD50」意指對受試驗者造成 50%死亡的藥物之劑量。

「脂質」係脂肪物質，其不溶於水且包括脂肪、油、蠟、和相關化合物。它們可在血液中製造(內生性)或於飲食中攝取(外生性)。脂質對正常身體功能為根本，且不論於外生性或內生性來源製造，其必須被運輸然後接著被釋放以被細胞利用。脂質之製造、運輸、和釋放以為細胞所利用係稱為脂質代謝。雖然有許多種類的脂質，主要的兩類是膽固醇和三酸甘油酯。膽固醇可於飲食中攝取和在體內大部分器官和組織(主要是肝臟)之細胞製造。膽固醇可呈現自由形式或，更常是，與脂肪酸結合，其被稱為膽固醇酯。

由於脂質不溶於水，其(例如膽固醇)在包裝至特殊分子(稱為脂蛋白)之前無法在血液中輸送。因此，在血液中的膽固醇以和脂蛋白相連結的顆粒而循環。

「脂蛋白」係一球狀化合物，其結構使水不溶性脂質可被容納在特殊的水溶性外殼中。根據脂蛋白的種類，其內容包括各種量的自由和酯化膽固醇、三酸甘油酯和脫輔基蛋白或載脂蛋白。脂蛋白的主要種類有五種，其在功能及其脂質和脫輔基蛋白內容上不同，並依照漸增的密度分類：(i)乳糜微粒和乳糜微粒殘骸、(ii)極低密度脂蛋白(「VLDL」)、(iii)中等密度脂蛋白(「IDL」)、(iv)低密度脂蛋白(「LDL」)、和(v)高密度脂蛋白(「HDL」)。膽固醇在血流中以和脂蛋白連結的顆粒而循環。

當 LDL 被氧化後會成為成動脈粥樣硬化性，該氧化為在斑塊增大中 LDL 被巨噬細胞之清掃受體涉入的必須步驟，其導致泡沫細胞的產生。在類似肽中 Apo A-I 的 A 類兩性官能域係負責其脂質相關的特性。本發明的 Apo A-I 類似肽一般藉由移除 LDL 上的磷脂晶種分子，使 LDL 分子抵抗被內皮細胞氧化，而改變 LDL 脂質參數。進一步的，咸相信本發明的 Apo A-I 類似肽往往藉由改變前-發炎 HDL 變成抗發炎 HDL 而改變脂質參數 HDL，該改變係藉由自 HDL 上剝除經氧化的膽固醇。

脂質代謝的外源性路徑可藉由以下方式敘述該過程，飲食攝入的三酸甘油酯和膽固醇係藉由乳糜微粒自消化道運輸至血流中，且在乳糜微粒將三酸甘油酯遞送至脂肪和肌肉細胞之後，乳糜微粒殘骸將剩下的膽固醇送回肝臟以再利用。特別地，飲食性脂肪從胃進入小腸並被降解和被小腸內襯吸收，之後他們在小腸內襯被包裝至乳糜微粒並

進入血流中。當乳糜微粒進入血流後，其大部分的三酸甘油酯被脂蛋白脂酶（一種存在於脂肪和肌肉細胞的微血管壁上的酵素）釋放。脂肪細胞和其他周圍細胞利用和儲存大部分的三酸甘油酯。乳糜微粒殘骸接著將剩餘的三酸甘油酯和大部分的飲食性膽固醇包裝並送回肝臟，其在肝臟被肝臟細胞透過一種由脫輔基蛋白所介導的特殊受體機制而吸收，而乳糜微粒殘骸則被分解成其構成性部分。肝臟使用所產生的膽固醇以合成膽汁酸和 VLDL。

脂質代謝的內源性路徑可以以下方式敘述，內部合成的膽固醇係被製造、運輸、及釋放。雖然所有的細胞都可以製作膽固醇，百分之七十的膽固醇是在肝臟中製造，因此此處的討論會聚焦在肝臟性合成的膽固醇。在肝臟中合成的三酸甘油酯和膽固醇（在肝臟中合成或由乳糜微粒殘骸及 HDL 顆粒所遞送）及脂蛋白結合而形成 VLDL、進入血流中、並運輸至周圍細胞（例如脂肪及肌肉細胞）。脂蛋白脂酶將大多數的三酸甘油酯（其用作燃料及儲存物）自 VLDL 移除。在將三酸甘油酯釋放以供細胞使用後，VLDL 轉化為 IDL，其被肝臟自血液中清除或轉變為 LDL。LDL 充滿膽固醇並將膽固醇遞送至細胞或自血液中清除。若存在著過多的膽固醇，其可被在血管壁上的細胞吸收，導致動脈粥樣硬化。HDL（在肝臟或小腸中製造）自細胞接受過多的膽固醇並將其返回至肝臟以自身體內移除。HDL 亦藉由將膽固醇轉換成 VLDL、IDL、或 LDL 而間接將膽固醇返回至肝臟。

「脂質參數」上的改善包括一種或多種在脂蛋白黏附至血管之傾向的減少、動脈粥樣硬化性斑塊數量上的減少（即使血漿 LDL 及 / 或 HDL 濃度並沒有明顯地改變）、HDL 或 LDL 顆粒之氧化潛力上的減少、動脈粥樣硬化的消退（例如，藉由頸動脈血管造影法或超音波測量）、及心臟事件的減少。

「肽類似物」包括一胺基酸鏈的任何經修改形式，例如磷酸化、加蓋、脂肪酸修改，並包括非天然骨架及 / 或側鏈結構。如以下所述，肽類似物包括胺基酸鏈和非肽小分子間的結構連續。肽類似物一般保留可辨識的類肽聚合物單元結構。因此，肽類似物可保留與任何天然肽能與之結合的標的分子結合的功能。

術語「預防」於技藝中係為人知，且當其使用與病症（例如疾病（例如高膽固醇血症）之再發生或開始）相關時，係於技藝中廣為了解，且包括投藥一組成物，其減少患者一醫藥病症之頻率或延遲患者一醫藥病症之發生（與未接受該組成物的患者相比）。

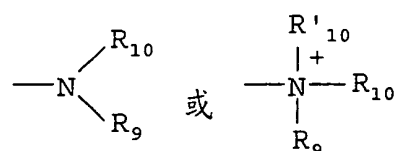
藉由主題方法所欲治療的「患者」可意味人類或非人類動物。

本文中所使用的「治療」意味減緩、停止、或反轉失調的進程。在一個較佳的具體態樣中，「治療」意味反轉進程至排除失調的點。

本文中所使用的術語「不欲的膽固醇」意味低密度脂蛋白 (LDL) 膽固醇及 / 或 LDL 和高密度脂蛋白 (HDL) 膽固醇

的混合，其具有個人健康所不欲的 HDL/LDL 比率。LDL 及 HDL 的意義於技藝中廣為人知。一般來說，LDL 膽固醇的提高係不欲的(高於 180 毫克/dl)，而某種 HDL 膽固醇的量(高於 35 毫克/dl)對心血管性健康係有益的。特別地，高濃度的 LDL(高於 180 毫克/dl)及低濃度的 HDL (低於 35 毫克/dl)已被顯示對動脈粥樣硬化的發展有重要的貢獻。其他疾病，例如周圍血管性疾病、中風、及高膽固醇血症亦被相反的 HDL/LDL 比率不好的影響。「高膽固醇血症」通常定義為總膽固醇的提升水平達高於 200 毫克/dl，特別是當 LDL 水平高於 160 毫克/dl。其可為一種體染色體顯性遺傳疾病(家庭性高膽固醇血症)。高膽固醇血症會傷害血管擴張，導致高血壓並傷害循環作用。因此，控制每種脂蛋白的水平對維持心血管性健康係有效的且必須的。

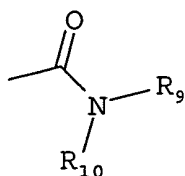
術語「胺」及「胺基」為技藝中所知且意指未飽和和飽和胺兩者，例如，可以以下通式表示的分子部分：



其中 R_9 、 R_{10} 、及 R'_{10} 各自獨立地表示一氫、烷基、烯基、 $-(\text{CH}_2)_m\text{—R}_8$ 、或 R_9 及 R_{10} 兩者與其所接上的氮原子一起完成一在環結構具有四到八個原子的雜環； R_8 表示一芳基、環烷基、環氧烯基、雜環、或多環；且 m 係一個零或任何範圍在 1 至 8 的整數。在較佳的具體態樣中， R_9 或 R_{10} 中只有一個可為羰基，例如， R_9 、 R_{10} 和氮原子一起並不形成一醯亞胺。在仍然更佳的具體態樣中，術語「胺」不包

括醯胺，例如其中 R_9 及 R_{10} 中一個表現一羰基。在甚至更佳的具體態樣中， R_9 及 R_{10} (及視需要地 R'_{10}) 各自獨立地表示一氫、烷基、烯基、或 $-(CH_2)_m-R_8$ 。因此，術語「烷基胺」於用於本文係意指一如以上定義之胺基，其具有一經取代或未經取代的烷基接附其上，即， R_9 和 R_{10} 至少一者為一烷基。

術語「醯胺」在技藝中被認定為經胺基取代之羰基且包括一可以以下普通式表示的分子部分：



其中 R_9 、 R_{10} 係如以上定義。醯胺較佳的具體態樣不包括可能不穩定的醯亞胺。

慣用語「保護基」於本文中意指暫時性的取代基，其保護潛在的反應性官能基不進行不欲的化學轉變。此等保護基的例子包括羧酸的酯、醇的甲硅烷基醚、和醛及酮各自的縮醛及縮酮。保護基化學的領域已被回顧過 (Greene, T.W.; Wuts, P.G.M. *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2nd ed.; Wiley: New York, 1991)。

III. 例示性具體態樣

化合物

肽類似物係基於或衍生自肽和蛋白質的化合物。本發明的肽類似物典型地可得自一種或多種天然胺基酸殘基的結構性修改，例如，使用非天然胺基酸、結構性限制、等體積替換、及類似者。受體肽類似物構成肽和非肽合成性

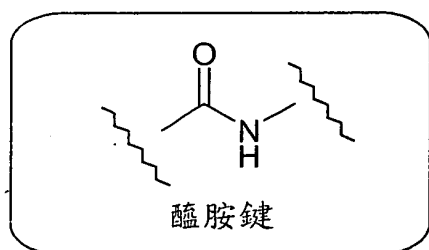
結構間的結構空間之連續。

此等肽類似物可具有以下貢獻：不可水解性(例如，增加對會降解相對應肽共聚物之蛋白酶或其他生理狀況的穩定性)、增加專一性及/或效力。作為例示性目的，本發明的肽類似物可使用以下方式產生：例如，苯二氮平(例如，參見 Freidinger 等人於“Peptides: Chemistry and Biology,” G.R. Marshall ed., ESCOM Publisher: Leiden, Netherlands, 1988)、經取代的 γ 內鹽胺環(Garvey 等人於“Peptides: Chemistry and Biology,” G.R. Marshall ed., ESCOM Publisher: Leiden, Netherlands, 1988, p123)、C-7 類似物(Huffman 等人於“Peptides: Chemistry and Biology,” G.R. Marshall ed., ESCOM Publisher: Leiden, Netherlands, 1988, p. 105)、酮基-亞甲基假肽(Ewenson 等人(1986) J. Med. Chem. 29: 295; 及 Ewenson 等人於“Peptides: Structure and Function (Proceedings of the 9th American Peptide Symposium),” Pierce Chemical Co. Rockland, IL, 1985)、 β -轉折二肽核心(Nagai 等人(1985) Tetrahedron Lett. 26: 647; 及 Sato 等人(1986) J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1: 1231)、 β -胺醇(Gordon 等人(1985) Biochem. Biophys. Res. Commun. 126: 419; 及 Dann 等人(1986) Biochem. Biophys. Res. Commun. 134: 71)、二胺酮(Natarajan 等人(1984) Biochem. Biophys. Res. Commun. 124: 141)、及經亞甲基胺基修改(Roark 等人於“Peptides: Chemistry and Biology,” G.R. Marshall

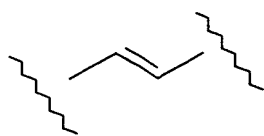


ed., ESCOM Publisher: Leiden, Netherlands, 1988, p134)。此外，廣泛地參見，Session III: Analytic and synthetic methods, 於“Peptides: Chemistry and Biology,” G.R. Marshall ed., ESCOM Publisher: Leiden, Netherlands, 1988)

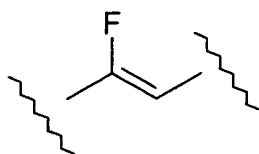
已發展出許多肽之醯胺鍵代用物。常常使用的醯胺鍵代用物包括下列的基(i) 反-烯烴(trans-olefin)、(ii) 氟烯(fluoroalkene)、(iii) 亞甲基醯胺(methyleneamino)、(iv) 磷醯胺(phosphonamide)、及(v) 磺醯胺(sulfonamide)。



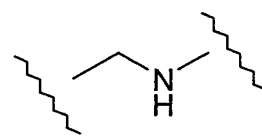
代用物之實例



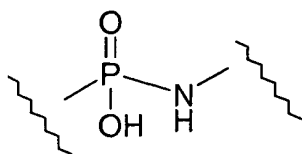
反-烯烴



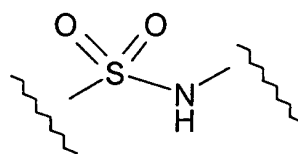
氟烯



亞甲基醯胺



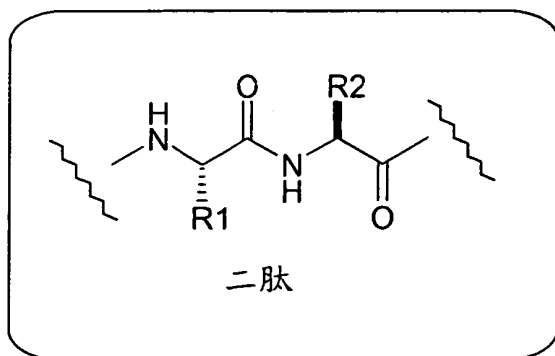
磷醯胺



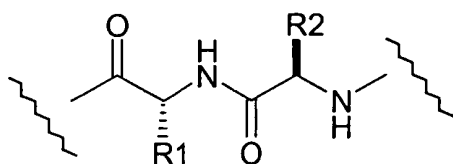
磺醯胺

此外，可使用基於肽骨架的更加實質修改之肽類似物。

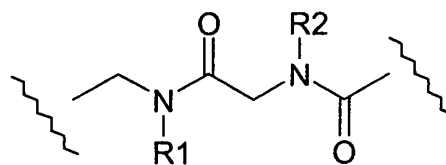
屬於此種類的肽類似物包括(i) 反-倒位類似物及(ii) N-烷基甘胺酸類似物(稱為 peptoid)。



類似物的實例

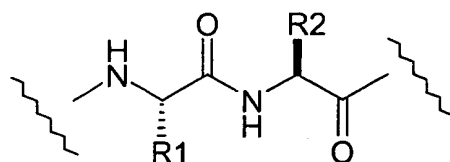


反-倒位



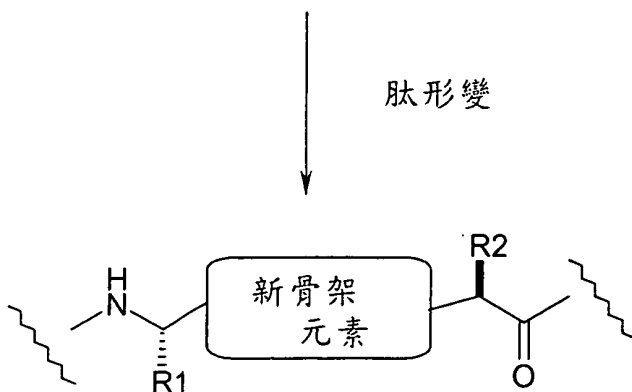
N-烷基甘胺酸

進一步，已帶入組合化學的方法以進行肽類似物共聚物之發展。例如，一種稱為「肽形變(肽 morphing)」方法的具體態樣集中在連續產生一肽類似物庫，其包括廣大範圍的肽鍵代用物。



二肽

肽形變



在本發明較佳的具體態樣中，肽類似物係一反-倒位類似物。反-倒位類似物可依據技藝中已知方法製造，其在某種程度上類似於合成基於 L-胺基酸的肽。更具體的，參見例如 Sisto 等人於 U.S. Patent No. 4,522,752 所述之方法。最終產物，或其中間產物，可藉由 HPLC 或任何其他適合的色析方法純化。

在另一個例示性具體態樣中，肽類似物可衍生成為一反-對映(retro-enantio)類似物。如此類的反-對映類似物可自商業上可購得的 D-胺基酸(或其類似物)合成及使用標準固相或溶液相肽合成技術合成。

在仍然另一個例示性具體態樣中，可製造反-烯烴衍生物。肽的反-烯烴類似物可依照 Y.K. Shue 等人 (1987) Tetrahedron Lett. 28: 3225 的方法合成，也可以根據技藝中已知方法合成。應了解可能需要根據所使用的試劑的本質改變所引用的步驟(或其他可用步驟)。

進一步，可能可以結合以上述方法合成的假肽和其他假肽，以製造具有許多烯烴官能基以替代醯胺官能基的假肽。例如，可製造相關於某些二-肽序列的假肽，接著將其以標準技術結合以產生在殘基間具有改變的烯烴鍵之肽的類似物。

仍然另一個肽類似物衍生物的種類包括磷酸鹽衍生物。此等磷酸鹽衍生物之合成可改編自己知的合成系統。參見，例如，Loots 等人於“Peptides: Chemistry and Biology,” (Escom Science Publishers, Leiden, 1988, p.

自地藉由比較各自序列為了比較目的而排列的一部份而測定。當在被比較序列的相等位置是相同的鹼基或胺基酸時，則該分子在該位置為相同；當相等位置是同樣的或相似的胺基酸殘基（例如，在空間上及/或電學本性上相似）時，則該分子在該位置可被稱為是同源的（類似的）。以百分比同源性、相似性、或一致性表示意指一種在所比對序列共有的位置上相同或相似胺基酸數目的函數。可使用各種排列運算法及/或程式，包括 FASTA、BLAST、或 ENTREZ。FASTA 和 BLAST 可以 GCG 序列分析套組 (University of Wisconsin, Madison, Wis.) 的一部份之形式獲得，且可以用，例如，預設值使用。ENTREZ 可透過得到國家生物技術資訊中心，國家醫學圖書館，國家健康學會，Bethesda, MD 獲得。在一個具體態樣中，兩序列的百分比一致性可藉由 GCG 程式以缺口影響 (gap weight) 為 1 而測定，例如，每個胺基酸缺口之影響假設為兩個序列間的一個單一胺基酸或核苷酸不合。

在另一個例示性具體態樣中，其可與上述具體態樣重疊，序列識別號：3 或序列識別號：2 的肽類似物中的胺基酸係以保守性胺基酸殘基取代。術語「保守性胺基酸取代」意指以來自同種群組的一個不同胺基酸取代（概念上的或其他）一個來自此種群組的胺基酸。一種界定個別胺基酸間共有特性的功能性方法，係分析在同源生命體之相對蛋白質間，胺基酸改變之標準化頻率 (Schulz, G. E. and R. H. Schirmer., Principles of Protein Structure,

Springer-Verlag)。根據此種分析，胺基酸之群組可如以下界定：群組中的胺基酸較佳地於彼此間交換，且因此它們彼此對整體蛋白質的結構之影響為最相似的 (Schulz, G. E. and R. H. Schirmer, Principles of Protein Structure, Springer-Verlag)。一個以此種方法界定的胺基酸群組之組的實例包括：(i)帶電荷的群組，由 Glu 及 Asp、Lys、Arg 及 His 組成，(ii)帶正電荷的群組，由 Lys、Arg 及 His 組成，(iii)帶負電荷的群組，由 Glu 及 Asp 組成，(iv)芳香族的群組，由 Phe、Tyr 及 Trp 組成，(v)氮環的群組，由 His 及 Trp 組成，(vi)大型脂肪族非極性的群組，由 Val、Leu 及 Ile 組成，(vii)稍微極性的群組，由 Met 及 Cys 組成，(viii)小殘基的群組，由 Ser、Thr、Asp、Asn、Gly、Ala、Glu、Gln 及 Pro 組成，(ix)脂肪族的群組，由 Val、Leu、Ile、Met 及 Cys 組成，以及(x)小型羥基的群組，由 Ser 及 Thr 組成。

在一個較佳的具體態樣中，本發明的肽類似物係具有以下序列的 D-胺基酸序列之反-倒位肽：

F-A-E-K-F-K-E-A-V-K-D-Y-F-A-K-F-W-D (序列識別號：3)

其中每個字母代表慣例的單字母胺基酸密碼，但其為 D-胺基酸。

在一個更佳具體態樣中，本發明的肽類似物係具有以下序列的 D-胺基酸序列之反-倒位肽：

Ac-F-A-E-K-F-K-E-A-V-K-D-Y-F-A-K-F-W-D-NH₂

在某些具體態樣中，本發明的肽類似物可進一步包括類似轉譯後修改的修改。此種修改包括，但不限於，乙醯化、羧化、糖化、磷酸化、脂質化、以及醯化。因此，經修改肽類似物可包括非胺基酸元素，例如聚乙二醇、脂質、多糖或單糖、以及磷酸。這些非胺基酸元素對肽類似物之官能的影響可藉由，例如，敘述於操作實例之方法測試。

治療性組成物

本發明的另一方面提供醫藥組成物，其包括醫藥上有效量的本發明之肽類似物以及可接受的載劑及/或輔藥。醫藥上可接受的載劑包括任何溶劑、分散基質、或塗層，其為生理上可相容且較佳係不會干擾或否則抑制肽類似物的活性。較佳地，載劑係適合於靜脈內的、肌肉內的、口的、腹膜內的、穿皮的、局部的、或皮下的投藥。一種例示性醫藥上可接受載劑為生理食鹽水。其他醫藥上可接受載劑以及其調配係廣為所知且廣泛地敘述於，例如，Remington's Pharmaceutical Science (18th Ed., ed. Gennaro, Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990)。各種醫藥上可接受的輔藥於技藝中係廣為所知且可於，例如，Handbook of Pharmaceutical Excipients (4th ed., Ed. Rowe 等人 Pharmaceutical Press, Washington, D.C.) 中找到。組成物可調配成溶液、微乳劑、微脂粒、膠囊、錠劑、或其他適合的形式。活性成分可以保護其在達到作用標的位置之前不被環境不活性化的物質塗覆。

在本發明某些具體態樣中，醫藥組成物係持續釋出的

調配物。本發明的肽類似物可與生物可相容聚合物或基質混合，該聚合物或基質可控制共聚物釋放至鄰近環境之速率。受控制或持續釋出組成物包括於脂溶性載劑（例如，脂肪酸、蠟、油）的調配物。此外，本發明亦考量以聚合物（例如，泊洛沙母（poloxamer）或泊洛沙明（poloxamine））塗覆的特殊組成物。其他本發明組成物的具體態樣包括特殊的形式、保護性塗覆、蛋白酶抑制劑、或散佈性增強劑，其係用於各種投藥途徑，包括非胃腸的、肺的、鼻的、及口的。可接受的載劑包括羧甲基纖維素（CMC）及經修改的 CMC。

本發明的醫藥組成物較佳地在遞送時係無菌的且非致熱性的，且較佳地於製造和儲存之狀況為穩定的。

本發明的化合物可（以分離的單位或固定的組合）與一種或多種以下者組合使用：一種抗體，其結合至所不欲的發炎分子或細胞介素例如介白素-6、介白素-8、顆粒性白血球巨噬細胞群落刺激性因子、以及腫瘤壞死因子- α ；一種酵素抑制子，例如蛋白酶抑制子抑肽酶（aprotinin）或環加氧酶抑制子；一種抗生素，例如安莫西林（amoxicillin）、力紡匹辛（rifampicin）、紅黴素；一種抗病毒劑，例如阿昔洛偉（acyclovir）；一種類固醇性抗發炎劑，例如糖類皮質激素；一種非類固醇性抗發炎劑，例如阿司匹林、布洛芬（ibuprofen）、或乙醯胺苯酚；或一種非抗發炎劑細胞介素，例如介白素-4 或介白素-10。其他細胞介素和生長因子，例如干擾素- β 、腫瘤壞

死因子、抗血管增生因子、促紅血球形成素、血小板生長因子、介白素、成熟因子、趨化蛋白質、以及其保留類似生理活性的變異物及衍生物，亦可使用以作為添加的成分。

本發明的化合物也可與通常用在糖尿病患者中治療脂質失調的藥物合併使用。此種藥物包括，但不限於，HMG-CoA 還原酶抑制劑、煙鹼酸、ezetimide、膽汁酸螯合劑、纖維酸衍生物、MTP 抑制劑、ACAT 抑制劑及 CETP 抑制劑。HMG-CoA 還原酶抑制劑的例子為洛伐他汀 (lovastatin)、普伐他汀 (pravastatin)、辛伐他汀 (simvastatin)、羅素他汀 (rosuvastatin)、氟伐他汀 (fluvastatin)、及阿托發司他汀 (atorvastatin)。膽汁酸螯合劑的例子為膽酪胺 (cholestyramine)、考來替泊 (colestipol)、及考來為倫 (colesevelam)。纖維酸衍生物的例子為：吉非羅齊 (gemfibrozil) 及非諾貝特 (fenofibrate)。

本發明的肽類似物亦可與抗高血壓的藥物合併使用，例如利尿劑、 β -阻斷劑 (blocker)、細胞自溶酵素 S 抑制劑、甲基多巴、 $\alpha 2$ -腎上腺素激動劑、胍那決爾 (guanadrel)、利血平 (reserpine)、 β -腎上腺素受體拮抗劑、 $\alpha 1$ -腎上腺素受體拮抗劑、肼苯噻嗪 (hydralazine)、米諾地爾 (minoxidil)、鈣離子通道拮抗劑拮抗劑、ACE 抑制劑及血管升壓素 II-受體拮抗劑。 β -阻斷劑的例子為醋丁醯心安 (acebutolol)、披索洛爾 (bisoprolol)、艾司洛爾 (esmolol)、普萘洛爾

(propanolol)、阿替洛爾(atenolol)、拉貝洛爾(labetalol)、卡維地洛(carvedilol)、及美托洛爾(metoprolol)。ACE 抑制劑的例子為卡托普利(captopril)、依拉普利(enalapril)、賴諾普利(lisinopril)、背那普利(benazepril)、福辛普利(fosinopril)、雷米普利(ramipril)、喹那普利(quinapril)、培哌普利(perindopril)、群多普利(trandolapril)、及莫昔普利(moexipril)。

本發明的肽類似物亦可與心血管藥物合併使用，例如鈣離子通道拮抗劑、 β -腎上腺素受體拮抗劑以及激動劑、醛固酮拮抗劑、ACE 抑制劑、血管升壓素 II 受體拮抗劑、氮血管舒張劑(nitrovasodilator)、及心臟糖苷。

本發明的肽類似物亦可與抗發炎藥物合併使用，例如 H1 受體拮抗劑、H2 受體所介導之激動劑及拮抗劑；COX-2 抑制劑、NSAID、水楊酸鹽、乙醯胺基酚、丙酸衍生物、醯醇酸、經二芳基取代的夫阿酮(fuanone)、環加氧酶抑制劑、以及緩激肽激動劑及拮抗劑。

治療方法

本發明的一個方面提供治療顯現動脈粥樣硬化症狀或具有發展成動脈粥樣硬化之危險的病患之方法，其係藉由將一種或多種本發明的肽類似物以治療有效量投藥至患者。

一般來說，本發明的一個具體態樣係投藥適合的劑量(例如，每日劑量)的治療性組成物，其會是產生治療效果

(例如減輕症狀)的最低有效劑量，但持續地在活體水平內提供治療效果。治療性的肽類似物較佳係是以每患者每日以下劑量投藥，至少大約 2 毫克，至少大約 5 毫克，至少大約 10 毫克，或至少大約 20 毫克作為適合的最小起始劑量。在一個此處所述方法的具體態樣中，可投藥大約 0.01 至大約 500 毫克/公斤的劑量。一般來說，本發明之化合物的有效劑量為每日每公斤的患者體重大約 50 至大約 400 毫克的化合物。然而，熟習該項技藝者會了解本發明之組成物的劑量會根據患者和根據投藥所使用的特殊途徑而改變。在技藝中，調整劑量以使適合於個人患者為慣常的。此外，有效量可根據以下者，化合物的大小、化合物的生物可降解性、化合物的生物活性、及化合物的生物可利用性，及其他事物。若化合物不會快速降解，且為生物可利用並高度活性，有效所需的量會較小及/或較不頻繁的劑量可為適合的(例如，每天較少次、少於每天一次)。適合的一患者的真實劑量可輕易的被熟習該項技術者以慣常的實行而決定出，例如內科醫師或獸醫所給的普通起始點。

化合物可以每小時、每天、每星期、每月、每年投遞(例如，以時間釋放形式)或以一次投遞。投遞可為持續投遞一段時間，例如，靜脈內投遞。在一個此處所述方法的具體態樣中，藥劑是至少被每天投藥一次。在一個具體態樣中，藥劑是被每天投藥。在一個具體態樣中，藥劑是每隔一天投藥。在一個具體態樣中，藥劑是每 6 至 8 天投藥。在一個具體態樣中，藥劑是每星期投藥。

在此處所述方法的一個具體態樣中，投藥的途徑可為口的、腹膜內的、穿皮的、皮下的、藉由靜脈內的或肌肉內的注射、藉由吸入、局部的、損害內的、灌注；微脂粒所介導的遞送；局部的、膜內的、牙齦囊袋的、直腸的、支氣管內的、鼻的、穿黏膜的、腸的、眼睛的、或耳的遞送，或任何其他熟習該項技藝者可輕易理解的方法。其他本發明組成物的具體態樣包含特殊形式保護性塗覆、蛋白酶抑制劑、或滲透性加強劑，其用於各種投藥途徑，包括非胃腸的、肺的、鼻的、及口的。

本發明方法的一個具體態樣為以持續性釋放形式投藥本發明的肽類似物。此種方法包括施用一種維持釋放的穿皮貼片或植入一種維持釋放的膠囊或經塗覆的可植入醫療裝置，而用此種方法持續遞送治療有效劑量的本發明之肽類似物至患者。本發明的化合物及/或藥劑可藉由膠囊投遞，該膠囊使藥劑或肽持續性釋放一段時間。受控制的或持續性釋放的組成物包括於脂溶性載劑（例如，脂肪酸、蠟、油）的調配物。本發明亦考量塗覆以聚合物的（例如，泊洛沙母（poloxamer）或泊洛沙明（poloxamine））特殊組成物。

在另一個相關的具體態樣中，該方法進一步包括投藥至少一種額外的治療藥劑。此種藥劑可為抗體、酵素抑制劑、抗微生物劑、抗病毒劑、類固醇、非類固醇性抗發炎劑、抗代謝劑、細胞介素、或可溶性細胞介素受體。酵素抑制劑可為蛋白酶抑制劑或環加氧酶抑制劑。額外的藥劑

可以醫藥組成物一部份的形式加入，或可伴隨投藥、或在添加藥劑的生理影響與本發明化合物的生理影響重疊的期間內投藥。更具體的，額外的藥劑可伴隨地投藥或在投藥共聚物投藥前一週、數天、24 小時、8 小時、或立即之前投藥。或者，額外的藥劑可在共聚物投藥後一週、數天、24 小時、8 小時、或立即之後投藥。

本發明的另一個具體態樣係一種預防性治療的方法，其係藉由投藥本發明的化合物治療具有發展出自體免疫疾病之危險的病患。具有危險的病患係藉由以下鑑別出，例如，基於家族史，或任何與動脈粥樣硬化相關的遺傳標誌。此種預防性治療可進一步包括其他醫藥劑。

研究工具

本發明的肽類似物亦有用於作為研究工具。例如，可使用本發明的肽類似物以評估其他化合物（包括其他肽類似物）的抗動脈粥樣硬化潛力。

此外，可使用本發明的肽類似物以研究在動物中和動物模式中的脂蛋白-受體交互作用，特別是當肽類似物被標定（例如，放射性標定、螢光標定）時。

亦可使用本發明的肽類似物以鑑別出適合於闡明脂質代謝途徑的動物模式。例如，可使用肽類似物以鑑別出其中脂質過氧化作用對動脈粥樣硬化之進展有貢獻的動物模式。

IV. 實施例

實施例 1 一種反-倒位肽類似物 Rev-D4F 的合成

與純化

反-倒位肽類似物 Rev-D4F 係使用標準的肽合成方法合成並使用高效能液相色析法純化。

為評估經純化 Rev-D4F 與磷脂交互作用的能力，經純化的肽類似物與 1,2-二苳蔻醯-sn-甘油-3-磷酸膽鹼 (DMPC，其為膜脂質雙層的一成分，且膽固醇與其聯合)混合，並以凝膠過濾色析法分離。Rev-D4F，與 L4F 及 D4F 類似，有效地且自發地與 DMPC 聯合，且所有的肽類似物與磷脂共洗提出(圖 2B-D)。相反的，只有某些部分的完整 Apo A-I 蛋白質自發地與磷脂聯合(圖 2A)。

實施例 2 Rev-D4F 於 SR-BI-依賴性膽固醇排出上的效果

測試 Rev-D4F 在利用受體方式之膽固醇排出上的效果。清掃受體 B 類 I 型(SR-BI)是通常表現在肝臟細胞表面上的 HDL 之受體。將氙化的膽固醇加至以 SR-BI、野生型 Apo A-I、L4F 肽、D4F 肽、或 Rev-D4F 肽類似物轉染的細胞，然後測定膽固醇排出的百分比。

當與 Apo A-I 以每重量基準比較時，L4F、D4F、及 Rev-D4F 皆比 Apo A-I 蛋白質在促進排出上更有效率。當以每莫耳基準比較時，所有的類似肽皆比 Apo A-I 蛋白質效率差(參見圖 3A 及 B)。

實施例 3 Rev-D4F 在 ABCA1-依賴性膽固醇排出上的效果

亦測試 Rev-D4F 在以依賴 ATP-結合匣蛋白質 A1 (ABCA1)

的方法之膽固醇排出上的效果，其使用與 SR-BI 相同的方法，除了所轉染者為 ABCA1 外。與 SR-BI-依賴性膽固醇排出類似，L4F、D4F、及 Rev-D4F 在每重量基礎上於促進膽固醇排出上皆比 Apo A-I 更有效率。亦與 SR-BI-依賴性排出相似的是，當以每莫耳基礎比較時三者皆比 Apo A-I 效率低(參見圖 4A 及 B)。

實施例 4 肽類似物於血漿脂質氧化作用上的效果

本研究測量 Rev-D4F、D-4F、及 L-4F 類似肽於抑制由人類大主動脈內皮細胞及硫酸銅(II)所造成的脂質過氧化的效果，其係基於抑制硫巴比妥酸反應性物質(TBARS)濃度的增加。如圖 5 及 6 所示，三個類似物皆明顯地在氧化劑存在下減低脂質過氧化的量。此外，與 Rev-D4F 相關之脂質過氧化的抑制係明顯地高於與 D-4F 相關的抑制。

實施例 5 肽類似物在 MCP-1 mRNA 表現上的效果

本研究分析 Rev-D4F、D-4F、及 L-4F 類似肽對減少一種抗發炎標記(單核球趨化性蛋白質-1 (MCP-1))之水平的效用。根據 MCP-1 mRNA 的水平，三種肽類似物皆減少 MCP-1 的量。

實施例 6 Rev-D4F 對 ApoE-裸鼠的效果

在此研究中，測量 Rev-D4F、D-4F、及 L-4F 類似肽在 apo-E-裸鼠中之動脈粥樣硬化的比較性效果。四組 apoE-裸鼠(4 週大，n=15)以特殊食物餵食，並於飲水中以水(控制組)、Rev-D4F、D-4F、或 L-4F 類似肽(1.6 毫克/天，n=12/組)口部投藥 6 週。以 NIH 軟體進行定量性型態測定被油

紅 O (oil-red O) 染色的大主動脈根橫切片。

Apo-AI 類似肽並沒有影響血漿總膽固醇、HDL-膽固醇、及非-HDL-膽固醇量。L-4F 對動脈粥樣硬化性損害沒有影響。Rev-D4F 及 D4F 兩者皆明顯地 ($p < 0.02$) 減少損傷區域，其與水控制組相比各自為減少 46% 及 33%。這些數據暗示 Rev-D4F 和 D-4F 相比在 apoE-裸鼠中於損傷早期預防動脈粥樣硬化上係至少一樣有效或更有效。

同等物

發明人所思量的上述肽類似物、其次單元、及其他組成物之同等物，包括在其他方面與其相關、及和具有相同的一般性質（例如，生物可相容性）的物質，其中一種或多種取代基之樣本變形物係以不會反效果地影響這些分子的效果的方式製造，以達成其所欲目的。一般來說，本發明的化合物可藉由於（例如如以下所述的）一般反應方案中所闡明的方法製備，或藉由修改一般反應方案而使用已可得之起始物質、試劑、及習知合成程序製備。在這些反應中，亦可能使用其本身為已知但此處並未提到的變體。

所有以上引用之引用文獻係以其全文以引用方式納入本文中。

【圖式簡單說明】

圖 1 描繪衍生自 Apo A-I 的肽和肽類似物。

圖 2A-D 描繪碳 14 標定磷脂和蛋白質或肽的溶析曲線。

圖 3A 和 B 描繪脂質結合肽和 Apo A-I 促進 SR-BI-依賴性膽固醇排出的能力。

圖 4A 和 B 描繪無脂質肽和 Apo A-I 促進 ABCA1-依賴性膽固醇排出的能力。

圖 5 顯示肽類似物 L-4F、D-4F、和 Rev D4-F 抑制由內皮細胞造成的脂質過氧化作用。

圖 6 顯示肽類似物 L-4F、D-4F、和 Rev D4-F 抑制由硫酸銅所造成的脂質過氧化作用。

圖 7 顯示肽類似物 L-4F、D-4F、和 Rev D4-F 在內皮細胞內抑制 MCP-1 mRNA 的表現。

【主要元件符號說明】

無

五、中文發明摘要：

本發明提供衍生自載脂蛋白 A-I 的胜肽類似物，其有用於有益地影響脂質參數及/或血漿膽固醇水平。本發明亦提供治療血漿膽固醇水平提高之醫藥組成物和方法。

六、英文發明摘要：

The present invention provides peptidomimetics derived from Apolipoprotein A-I, which is useful for beneficially influencing lipid parameters and/or plasma cholesterol levels. The invention also provides pharmaceutical compositions and methods of treatment for elevated levels of plasma cholesterol.

L4F: Ac-Asp-Trp-Phe-Lys-Ala-Phe-Tyr-Asp-Lys-Val-Ala-Glu-Lys-Phe-Lys-Glu-Ala-Phe-NH ₂	L 構形
D4F: Ac-Asp-Trp-Phe-Lys-Ala-Phe-Tyr-Asp-Lys-Val-Ala-Glu-Lys-Phe-Lys-Glu-Ala-Phe-NH ₂	D 構形
Rev D4F: Ac-Asp-Trp-Phe-Lys-Ala-Phe-Tyr-Asp-Lys-Val-Ala-Glu-Lys-Phe-Lys-Glu-Ala-Phe-NH ₂	反D 構形

圖 1

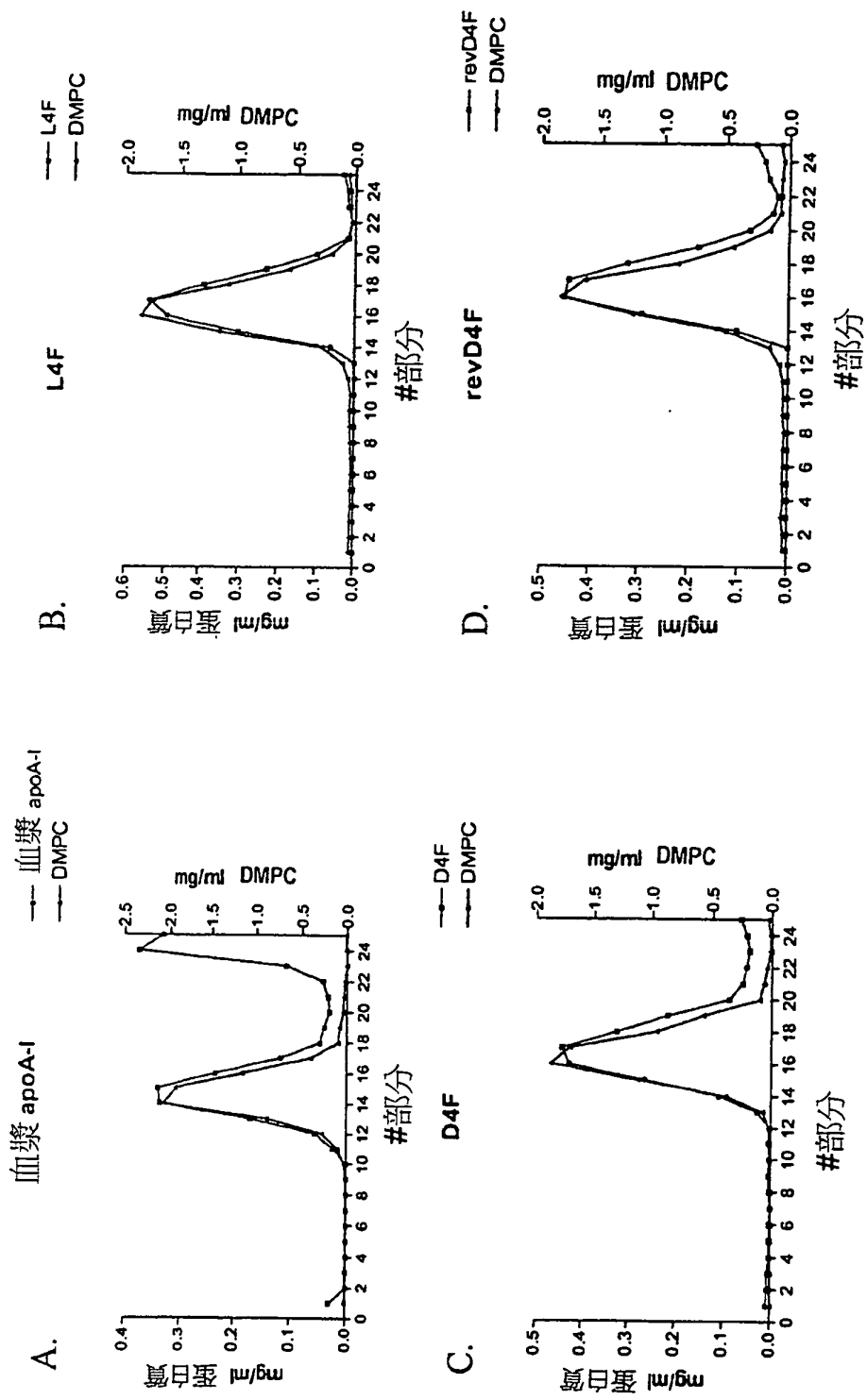


圖 2

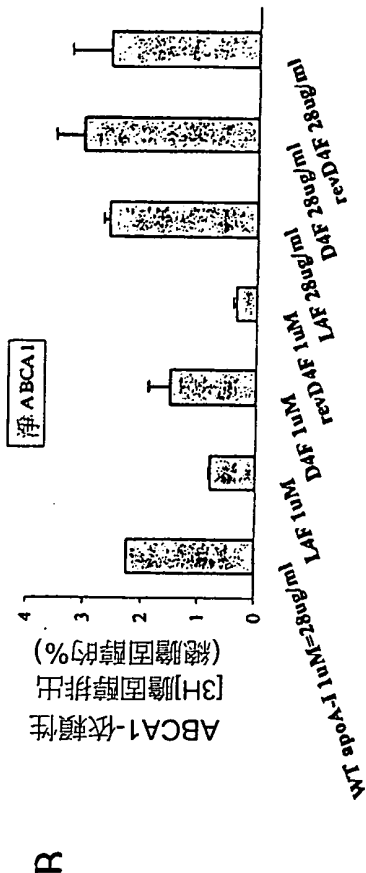
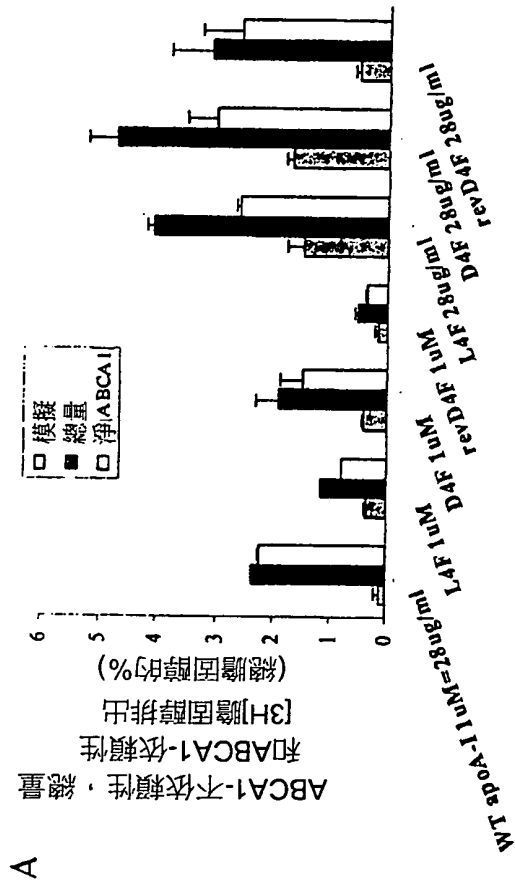


圖 3

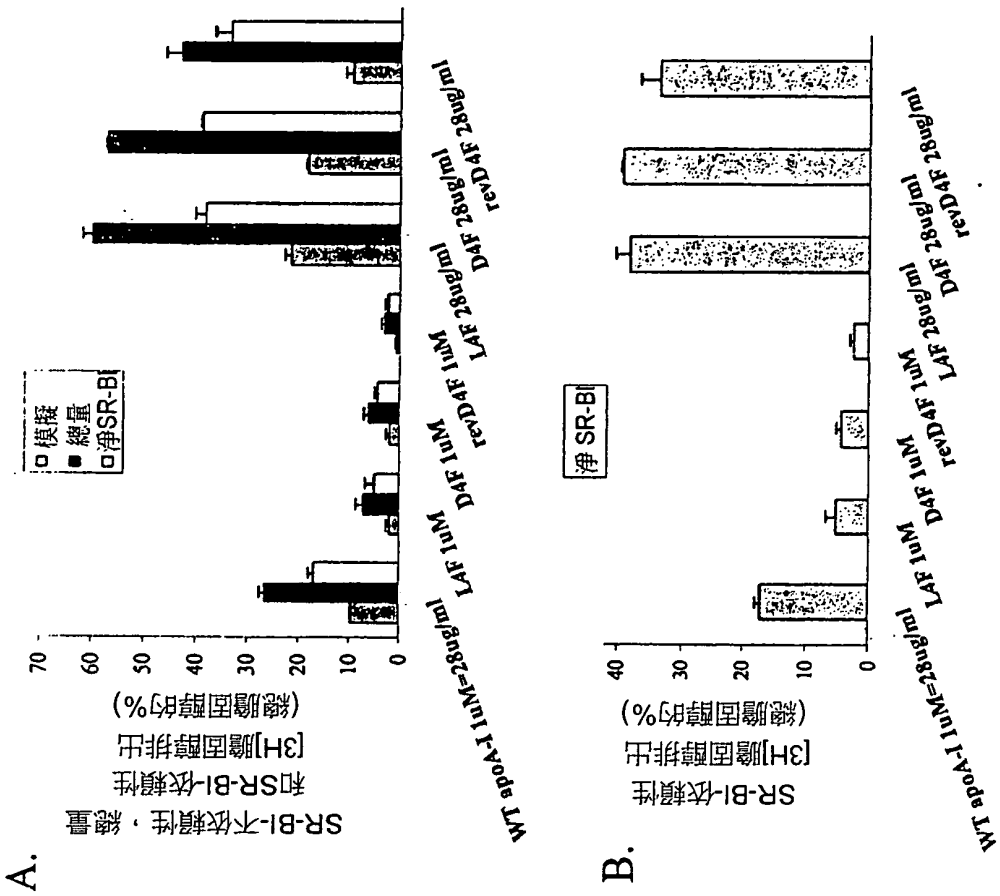


圖 4

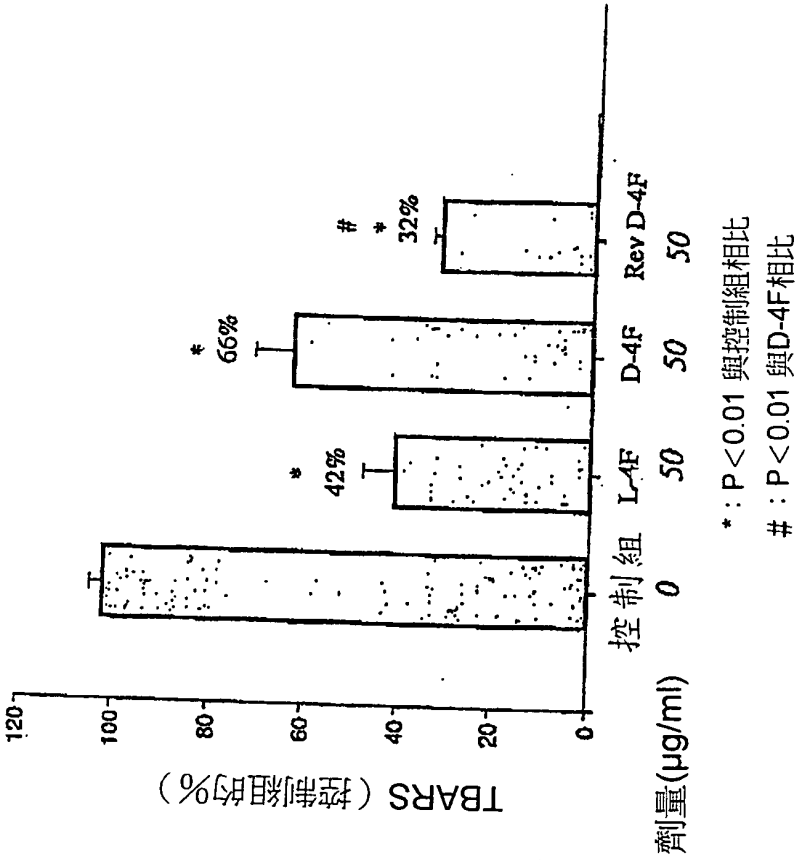


圖 5

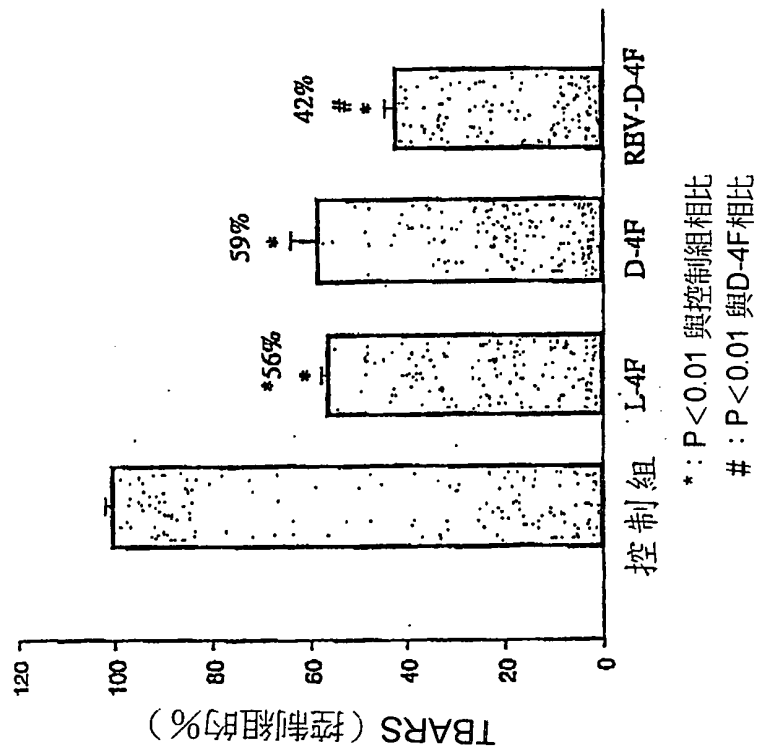


圖 6

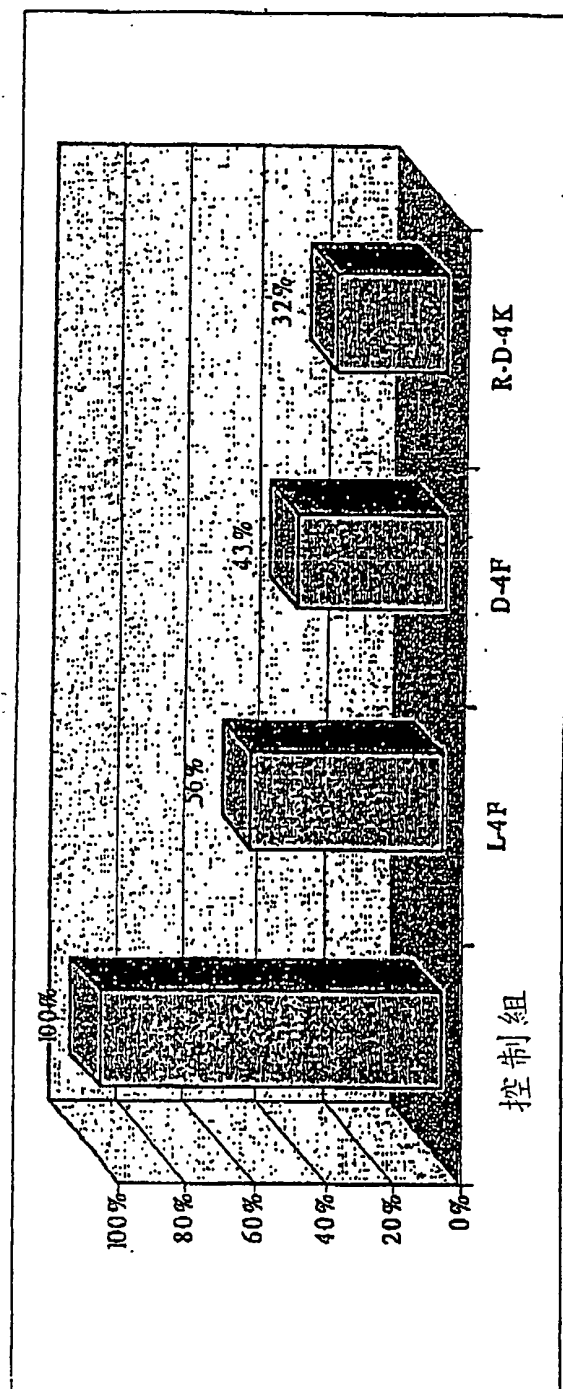


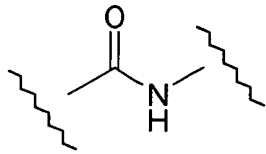
圖 7

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

公告本**發明專利說明書**96年8月27日 修正
補充頁

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：94124388

A1K 38/10 (2006.01)

※ 申請日期：

※IPC 分類：

C07K 2/00 (2006.01)

A1IP 1/00 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

載脂蛋白 A1 類似物及其使用

APOLIPOPROTEIN A1 MIMETICS AND USES THEREOF

二、申請人：(共 1 人)**姓名或名稱：**(中文/英文)

塔夫大學 / TRUSTEES OF TUFTS COLLEGE

代表人：(中文/英文)

瑪格麗特 E 尼威爾 / NEWELL, MARGARET E.

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國麻州 02111 波士頓市漢瑞森大道 136 號 75K-950

136 Harrison Avenue, 75K-950, Boston, MA 02111, U.S.A.

國 籍：(中文/英文)

美國 / USA

三、發明人：(共 1 人)**姓 名：**(中文/英文)

威廉 W 巴寇芙金 / BACHOVCHIN, WILLIAM W.

國 籍：(中文/英文)

美國 / USA

於 HDL 所介導的過程，抑制 LDL 和磷脂氧化。

無論如何，仍然有改善醫療劑的需要，以治療、預防、或改變具有基於脂質的病因之血管性失調的過程（例如動脈粥樣硬化）以及一般地治療、預防、或改變異常血脂症、膽固醇升高、或 HDL 減少。

【發明內容】

發明摘述

本發明提供衍生自載脂蛋白 A-I(Apo A-I)的肽之肽類似物，其（例如透過改變脂質參數）有用於有益地影響血漿膽固醇水平和血管性疾病。在某些具體態樣中，該肽類似物和包含 D-胺基酸序列 F-A-E-K-F-K-E-A-V-K-D-Y-F-A-K-F-W-D（序列識別號：3）的肽之間具有實質上類似的三度空間結構。本發明的化合物可有益地以預防性的方式，投藥至具有脂質病因性的血管性疾病（例如動脈粥樣硬化、高膽固醇血症、高血脂症、PAD、CHD、和腦血管性疾病）的危險或顯現該等症狀之病患。

本發明之化合物為肽類似物，特別是反-倒位結構的胺基酸聚合物。

本發明包括此處揭示的肽類似物作為研究工具之用途，例如測定其他化合物的抗動脈粥樣硬化性潛力、研究動物中和動物模式中的脂蛋白-受體交互作用、以及闡明脂質代謝的機制，其包括鑑認出可用於脂質代謝研究的動物模式。

本發明亦包括所揭示肽類似物於醫藥之用途。此外，

118) ; Petrillo 等人於 "Peptides : Structure and Function (Proceedings of the 9th American 肽 Symposium)," Pierce Chemical Co. Rockland, IL, 1985)。

在其他的具體態樣中，該修改可為碳水化合物或脂質分子部分的導入。此種修改亦改變肽在各種基質中的溶解度，使得其可有益地以適合的醫藥組成物製備。修改脂質基包括法尼基 (farnesyl group) 和 荳蔻醯基 (myristoyl groups)。修改碳水化合物基包括任何天然存在的及/或合成的糖類之單糖或寡糖或糖醇，例如葡萄糖、半乳糖、鼠李糖、甘露糖、樹膠醛糖、和其他糖類、以及其各自的醇類。

本發明之化合物包括至少 15 個胺基酸殘基，而更佳地包括 18 個胺基酸殘基。

在某個具體態樣中，本發明的肽類似物與包含 D-胺基酸序列 F-A-E-K-F-K-E-A-V-K-D-Y-F-A-K-F-W-D (序列識別號：3) 的肽之間具有實質上相似的三度空間結構。在特殊的具體態樣中，該肽包括至少一在胺基往羧基方向不為醯胺連結的骨架連結，例如相對於天然存在肽的反-倒位肽，或至少一不為醯胺連結的骨架連結。

在一個例示性具體態樣中，肽類似物與序列識別號：3 或序列識別號：2 之間具有至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90% 或至少 95% 的一致性。非完全相同的胺基酸殘基可為天然或非天然存在的。術語「百分比一致性」意指兩胺基酸序列或兩核苷酸序列間的序列一致性。一致性可各

(I) (序列識別號：2)

其中每個字母代表慣例的單字母胺基酸密碼，但其為 D-胺基酸。

在其他具體態樣中，本發明的肽類似物係(I)的類似物，其中一種或多種 D-胺基酸殘基係經其他 D-胺基酸或其他非天然殘基取代，其在取代後保留其所取代的殘基之空間的和離子性的或非離子性的特徵。

本發明的肽類似物，包括(I)的反-倒位肽，其可經修改使得該胺端及/或羧端藉由以下保護基保護，例如乙醯基、 $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-$ 、醯胺、Fmoc、第三-丁氧羰基、9-芴乙醯基、1-芴羧基、9-芴羧基、9-芴-1-羧基、苄氧基羰基、夾氧蔥基(Xan)、三苯甲基(Trt)、4-甲基三苯甲基(Mtt)、4-甲氧基三苯甲基(Mmt)、4-甲氧基-2,3,6-三甲基-苯磺醯基(Mtr)、1,3,5-三甲基苯基-2-磺醯基(Mts)、4,4-二甲氧基二苯甲基(Mbh)、甲苯磺醯基(Tos)、2,2,5,7,8-五甲基苯并二氫吡喃-6-磺醯基(Pmc)、4-甲基苄基(MeBzl)、4-甲氧基苄基(MeOBzl)、苄氧基(BzlO)、苄基(Bzl)、苯甲醯基(Bz)、3-硝基-2-吡啶亞磺醯基(Npys)、1-(4,4-二甲基-2,6-二氧環亞己基)乙基(Dde)、2,6-二氯苄基(2,6-DiCl-Bzl)、2-氯苄氧基羰基(2-Cl-Z)、2-溴苄氧基羰基(2-Br-Z)、苄氧基甲基(Bom)、環己氧基(cHxO)、第三-丁氧基甲基(Bum)、第三-丁氧基(tBuO)、第三-丁基(tBu)、和三氟乙醯基(TFA)。變數 n 為從 0 至 12 的整數，典型地為 0 至 6 的整數，例如 0 至 4。

101年1月3日修正替換頁

101. 1. 3

補充序列表

- <110> 塔夫大學 (Trustees of Tufts College)
威廉 W 巴寇芙金 (Bachovchin, William W.)
- <120> 載脂蛋白 A1 類似物及其使用
- <130> TUU-PWO-035
- <140> PCT/US05/025182
- <141> 2005-07-15
- <150> US 60/588,722
- <151> 2004-07-16
- <160> 3
- <170> 用於 Windows 之 FastSEQ 4.0 版
- <210> 1
- <211> 18
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> Apo A-I 類似肽
- <220>
- <221> 乙醯化
- <222> 1
- <220>
- <221> 醯胺化
- <222> 18
- <400> 1
Asp Trp Phe Lys Ala Phe Tyr Asp Lys Val Ala Glu Lys Phe Lys Glu
1 5 10 15
Ala Phe
- <210> 2
- <211> 18
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> Apo A-I 類似肽
- <220>
- <221> 變異物
- <222> 1, 5, 13, 16
- <223> Xaa = D-Phe

<220>
 <221> 變異物
 <222> 2, 8, 14
 <223> Xaa = D-Ala

<220>
 <221> 變異物
 <222> 3, 7
 <223> Xaa = D-Glu

<220>
 <221> 變異物
 <222> 4, 6, 10, 15
 <223> Xaa = D-Lys

<220>
 <221> 變異物
 <222> 11, 18
 <223> Xaa = D-Asp

<220>
 <221> 變異物
 <222> (9)...(9)
 <223> Xaa = D-Val

<220>
 <221> 變異物
 <222> (12)...(12)
 <223> Xaa = D-Tyr

<220>
 <221> 變異物
 <222> (17)...(17)
 <223> Xaa = D-Trp

<220>
 <221> 乙醯化
 <222> (1)...(1)

<220>
 <221> 醯胺化
 <222> (18)...(18)

<400> 2
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15
 Xaa Xaa

<210> 3
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> Apo A-I 類似肽

<220>

<221> 變異物

<222> 1, 5, 13, 16

<223> Xaa = D-Phe

<220>

<221> 變異物

<222> 2, 8, 14

<223> Xaa = D-Ala

<220>

<221> 變異物

<222> 3, 7

<223> Xaa = D-Glu

<220>

<221> 變異物

<222> 4, 6, 10, 15

<223> Xaa = D-Lys

<220>

<221> 變異物

<222> 11, 18

<223> Xaa = D-Asp

<220>

<221> 變異物

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

<223> Xaa = D-Val

<220>

<221> 變異物

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

<223> Xaa = D-Tyr

<220>

<221> 變異物

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

<223> Xaa = D-Trp

<400> 3

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

1 5 10 15

Xaa Xaa

十、申請專利範圍：

1. 一種肽類似物，其係以序列識別號：3 的 D-胺基酸序列或一種只具有序列識別號：3 的 D-胺基酸序列之保守性胺基酸取代的化合物表示。

2. 根據申請專利範圍第 1 項的肽類似物，其中該肽類似物改善患者的脂質參數(lipid parameter)。

3. 根據申請專利範圍第 1 項的肽類似物，其中該肽類似物係一種反-倒位肽。

4. 一種肽類似物，其係以序列識別號：2 的 D-胺基酸序列組成。

5. 一種用於治療哺乳類動物中血漿膽固醇水平提高的肽類似物，其中該肽類似物係由序列識別號：2 的 D-胺基酸序列或一種只具有序列識別號：2 的 D-胺基酸序列之保守性胺基酸取代的化合物表示。

6. 根據申請專利範圍第 1 項的肽類似物，其中該肽類似物包括 D-胺基酸序列 Ac-F-A-E-K-F-K-E-A-V-K-D-Y-F-A-K-F-W-D-NH₂ (序列識別號：2)。

7. 根據申請專利範圍第 1 項的肽類似物，其中該肽類似物進一步包括共軛至該肽類似物氮端或羧端之保護基。

8. 根據申請專利範圍第 1 項的肽類似物，其中該肽類似物進一步包括共軛至該肽類似物氮端之第一保護基和共軛至該肽類似物羧端之第二保護基。

9. 根據申請專利範圍第 8 項的肽類似物，其中該保護

基係選自乙醯基、 $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-$ 、醯胺、Fmoc、第三-丁氧羰基、9-芴乙醯基、1-芴羧酸基、9-芴羧酸基、9-芴-1-羧基、苄氧基羰基、夾氧蔥基(Xan)、三苯甲基(Trt)、4-甲基三苯甲基(Mtt)、4-甲氧基三苯甲基(Mmt)、4-甲氧基-2,3,6-三甲基-苯磺醯基(Mtr)、1,3,5-三甲基苯基-2-磺醯基(Mts)、4,4-二甲氧基二苯甲基(Mbh)、甲苯磺醯基(Tos)、2,2,5,7,8-五甲基苯并二氫吡喃-6-磺醯基(Pmc)、4-甲基苄基(MeBzl)、4-甲氧基苄基(MeOBzl)、苄氧基(BzlO)、苄基(Bzl)、苯甲醯基(Bz)、3-硝基-2-吡啶亞磺醯基(Npys)、1-(4,4-二甲基-2,6-二氧環亞己基)乙基(Dde)、2,6-二氯苄基(2,6-DiCl-Bzl)、2-氯苄氧基羰基(2-Cl-Z)、2-溴苄氧基羰基(2-Br-Z)、苄氧基甲基(Bom)、環己氧基(cHxO)、第三-丁氧基甲基(Bum)、第三-丁氧基(tBuO)、第三-丁基(tBu)、和三氟乙醯基(TFA)，及 n 是一個自 0 至 12 的整數。

10. 一種於哺乳類動物中治療血漿膽固醇水平提高的醫藥組成物，其包括治療有效量的如申請專利範圍第 1 或 5 項的肽類似物。

11. 根據申請專利範圍第 10 項的醫藥組成物，其中該組成物係用於持久性釋出該肽類似物。

12. 根據申請專利範圍第 10 項的醫藥組成物，其進一步包括第二活性劑。

13. 根據申請專利範圍第 12 項的醫藥組成物，其中該第二活性劑可治療脂質失調。

14. 根據申請專利範圍第 12 項的醫藥組成物，其中該第二活性劑係一種抗高血壓藥劑。

15. 根據申請專利範圍第 12 項的醫藥組成物，其中該第二活性劑係一種心血管藥劑。

16. 根據申請專利範圍第 12 項的醫藥組成物，其中該第二活性劑係一種抗發炎反應藥劑。

17. 一種根據申請專利範圍第 10 項之醫藥組成物於製備醫藥品上的使用，該醫藥品係用於在哺乳類動物中治療膽固醇水平提高。

18. 一種根據申請專利範圍第 10 項之醫藥組成物於製備醫藥品上的使用，該醫藥品係用於預防性治療具有發展出提高的血漿膽固醇水平之危險的病患。

19. 一種根據申請專利範圍第 10 項之醫藥組成物於製備醫藥品上的使用，該醫藥品係用於治療顯現動脈粥樣硬化症狀的哺乳類動物。

20. 一種根據申請專利範圍第 10 項之醫藥組成物於製備醫藥品上的使用，該醫藥品係用於預防性治療具有發展出動脈粥樣硬化之危險的病患。

21. 一種根據申請專利範圍第 10 項之醫藥組成物於製備醫藥品上的使用，該醫藥品係用於在需要改善脂質參數的病患中改善脂質參數。

22. 根據申請專利範圍第 21 項的使用，其進一步包括使用第二活性劑於製備醫藥品，該醫藥品係用於在需要改善脂質參數的病患中改善脂質參數。

23. 根據申請專利範圍第 22 項的使用，其中該第二活性劑可治療脂質失調。

24. 根據申請專利範圍第 22 項的使用，其中該第二活性劑係一種抗高血壓藥劑。

25. 根據申請專利範圍第 22 項的使用，其中該第二活性劑係一種心血管藥劑。

26. 根據申請專利範圍第 22 項的使用，其中該第二活性劑係一種抗發炎反應藥劑。

27. 一種根據申請專利範圍第 10 項之醫藥組成物於製備醫藥品上的使用，該醫藥品係用於治療患有可藉由改變脂質參數而治療的疾病或病症之病患。

28. 一種套組，其包括於醫藥上可接受載劑中之如申請專利範圍第 1 或 5 項的肽類似物，該套組進一步包括投藥該肽類似物以治療血漿膽固醇之提升水平的使用指引。

29. 一種套組，其包括於醫藥上可接受載劑中之如申請專利範圍第 1 或 5 項的肽類似物，該套組進一步包括投藥該肽類似物以治療動脈粥樣硬化的使用指引。

30. 一種套組，其包括於醫藥上可接受載劑中之如申請專利範圍第 1 或 5 項的肽類似物，該套組進一步包括投藥該肽類似物以改善脂質參數的使用指引。

十一、圖式：

如次頁