



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105031605 A

(43) 申请公布日 2015. 11. 11

(21) 申请号 201510230758. 9

(22) 申请日 2010. 08. 11

(30) 优先权数据

61/233, 275 2009. 08. 12 US

(62) 分案原申请数据

201080046191. 5 2010. 08. 11

(71) 申请人 康奈尔大学

地址 美国纽约

(72) 发明人 黑兹尔·H·司徒

(74) 专利代理机构 北京同达信恒知识产权代理

有限公司 11291

代理人 黄志华 石磊

(51) Int. Cl.

A61K 38/07(2006. 01)

A61P 3/00(2006. 01)

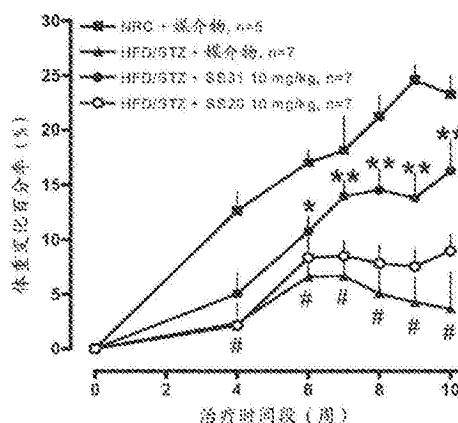
权利要求书1页 说明书34页 附图5页

(54) 发明名称

预防或治疗代谢综合症的方法

(57) 摘要

本发明公开了预防或治疗代谢综合症的方法。本发明提供了一种用于治疗或预防哺乳动物对象中的代谢综合症的方法,所述方法包括将治疗有效量的肽 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂或 Phe-D-Arg-Phe-Lys-NH₂给药至需要所述治疗或预防的所述哺乳动物对象。



1. 一种用于治疗或预防哺乳动物对象中的代谢综合症的方法,所述方法包括将治疗有效量的肽 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂或 Phe-D-Arg-Phe-Lys-NH₂给药至需要所述治疗或预防的所述哺乳动物对象。

预防或治疗代谢综合症的方法

[0001] 本申请是申请日为 2010 年 08 月 11 日、申请号为“201080046191.5”、发明名称为“预防或治疗代谢综合症的方法”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求 2009 年 8 月 12 日提交的第 61/233275 号美国临时专利申请的优先权，该美国临时专利申请的全部内容通过引用并入本文。

技术领域

[0004] 本发明总体上涉及用于预防或治疗代谢综合症的方法。具体地，本发明涉及施用有效量的芳香族阳离子肽来预防或治疗哺乳动物对象的代谢综合症或相关的病症。

背景技术

[0005] 提供以下描述来便于读者理解。所提供的信息或所引用的参考文献都不能被认为是本发明的现有技术

[0006] 代谢综合症是增加形成心脏病、中风和糖尿病的几率的失调或健康风险的集合。也可用其他的名称称呼这种病症，包括 X 综合症和代谢失调综合症。代谢综合症可以包括各种潜在代谢表型中的任一个，包括胰岛素抵抗和 / 或肥胖倾向表型。

[0007] 代谢综合症的特点通常为大量代谢失调或风险因素中的任何一种，当这些因素中的多于一种的因素存在于单一个体中时，通常认为是最典型的代谢综合症。这些因素包括：向心性肥胖（腹部中以及腹部周围的脂肪组织过大）、致动脉粥样硬化性血脂异常（其包括能促使血管系统（包括动脉壁）中斑块积聚的一系列血脂紊乱，例如包括高甘油三酸酯、低 HDL（高密度脂肪蛋白）胆固醇和高 LDL（低密度脂肪蛋白）胆固醇）、高血压、胰岛素抵抗或葡萄糖耐受不良（无法适当地使用胰岛素或血糖）、慢性凝血状态（例如，特点为血液中有高含量的纤维蛋白原或纤溶酶原激活物抑制剂）和慢性促炎病症态（例如，特点为血液中的高敏感 C 反应蛋白高于正常含量）。患有代谢综合症的人患冠心病、与动脉壁中的斑块积聚相关的其他疾病（例如中风和外周血管疾病）和 II 型糖尿病的风险高。

[0008] 尽管这种疾病的某些影响（比如肥胖）以及缺乏体育运动常常是本质原因，但代谢综合症的具体原因尚不清楚。考虑到这种疾病的遗传方式，遗传因素也似乎是这种综合症的基础。

发明内容

[0009] 本发明技术总体涉及通过将治疗有效量的芳香族阳离子肽给药至需要该芳香族阳离子肽的对象来治疗或预防哺乳动物中的代谢综合症和相关病症。在特定的实施方式中，所述芳香族阳离子肽通过降低血脂异常、向心性肥胖、血脂紊乱或胰岛素抵抗的严重程度或发生来治疗或预防代谢综合症。

[0010] 在一个方面中，本发明提供了一种用于治疗或预防需要治疗或预防的哺乳动物对象中的代谢综合症和相关病症的方法，所述方法包括将治疗有效量的芳香族阳离子肽给药

至所述哺乳动物对象。在一些实施方式中,所述芳香族阳离子肽是具有以下特点的肽:

[0011] 至少一个净正电荷;

[0012] 最少四个氨基酸;

[0013] 最多约 20 个氨基酸;

[0014] 净正电荷的最小数目 (p_m) 和氨基酸残基的总数目 (r) 之间具有如下关系:其中, $3p_m$ 是小于或等于 $r+1$ 的最大数;以及芳香族基团的最小数目 (a) 和净正电荷的总数目 (p_t) 之间具有如下关系:其中,除了当 a 为 1 时, p_t 也可 1 之外, $2a$ 是小于或等于 p_t+1 的最大数。在特定的实施方式中,哺乳动物对象是人类。

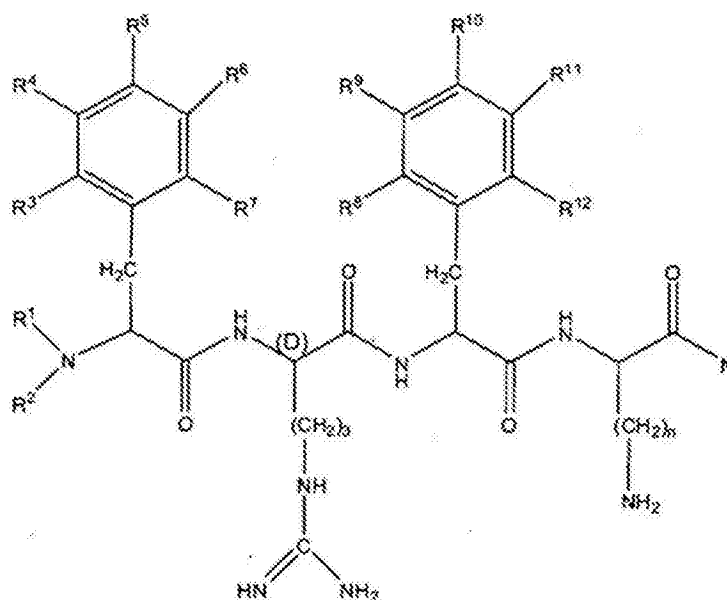
[0015] 在一个实施方式中, $2p_m$ 是小于或等于 $r+1$ 的最大数,且 a 可以等于 p_t 。所述芳香族阳离子肽可以是具有最少两个正电荷或最少三个正电荷的可溶于水的肽。

[0016] 在一个实施方式中,所述肽包括一种或多种非自然存在的氨基酸,例如一种或多种 D 型氨基酸 (右旋氨基酸)。在一些实施方式中,氨基酸的在 C 末端的 C 末端羧基被酰胺化。在某些实施方式中,所述肽最少具有 4 个氨基酸。肽可以最多有约 6 个、最多约 9 个或者最多约 12 个氨基酸。

[0017] 在一个实施方式中,所述肽包括在 N 末端的酪氨酸或 2',6'-二甲基酪氨酸 (Dmt) 残基。例如,所述肽可以具有式 Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH₂ (SS-01) 或 2',6'-Dmt-D-Arg-Phe-Lys-NH₂ (SS-02)。在另一实施方式中,所述肽包括在 N 末端的苯基丙氨酸或 2',6'-二甲基苯基丙氨酸。例如,所述肽可以具有式 Phe-D-Arg-Phe-Lys-NH₂ (SS-20) 或 2',6'-Dmp-D-Arg-Phe-Lys-NH₂。在特定的实施方式中,芳香族阳离子肽具有式 D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ (也被称为 SS-31、MTP-131 或 BendaviaTM)。

[0018] 在一个实施方式中,所述肽由式 I 所定义:

[0019]

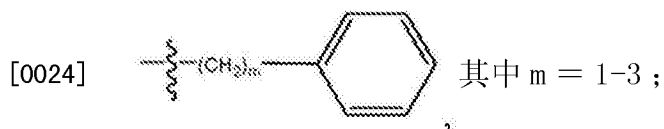


[0020] 其中 R^1 和 R^2 各独立地选自:

[0021] (i) 氢;

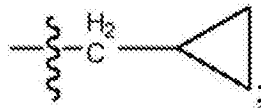
[0022] (ii) 线性或支链的 C_1 - C_6 的烷基;

[0023] (iii)



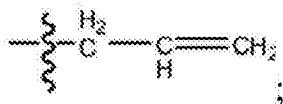
[0025] (iv)

[0026]



[0027] (v)

[0028]



[0029] R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 和 R^{12} 各独立地选自：

[0030] (i) 氢；

[0031] (ii) 线性或支链的 C_1 - C_6 的烷基；

[0032] (iii) C_1 - C_6 的烷氧基；

[0033] (iv) 氨基；

[0034] (v) C_1 - C_4 的烷基氨基；

[0035] (vi) C_1 - C_4 的二烷基氨基；

[0036] (vii) 硝基；

[0037] (viii) 羟基；

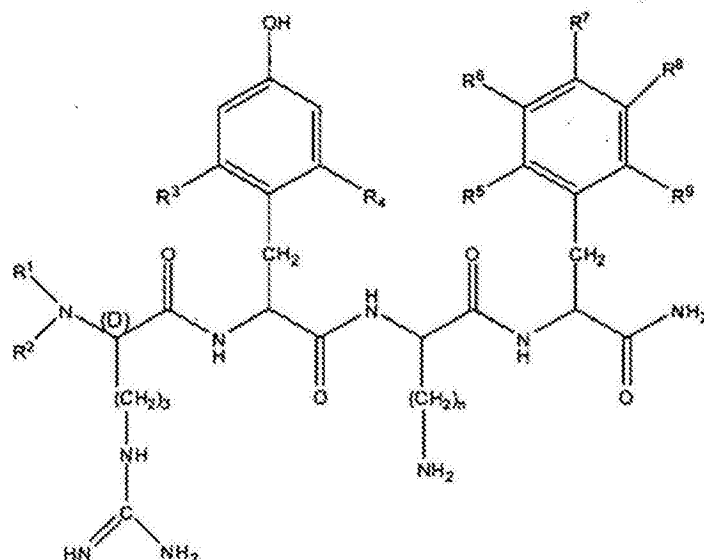
[0038] (ix) 卤素,其中“卤素”包括氯、氟、溴和碘；以及

[0039] n 为 1 到 5 的整数。

[0040] 在特定的实施方式中, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 和 R^{12} 都为氢,且 n 为 4。在另一实施方式中, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{11} 都为氢; R^8 和 R^{12} 是甲基; R^{10} 是羟基;且 n 为 4。

[0041] 在一个实施方式中,肽由式 II 所定义：

[0042]

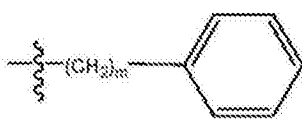


[0043] 其中, R^1 和 R^2 各独立地选自:

[0044] (i) 氢;

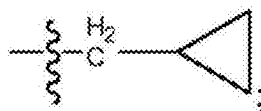
[0045] (ii) 线性或支链的 C_1-C_6 的烷基;

[0046] (iii)

[0047]  其中 $m = 1-3$;

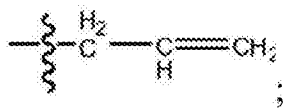
[0048] (iv)

[0049]



[0050] (v)

[0051]



[0052] R^3 和 R^4 各独立地选自:

[0053] (i) 氢;

[0054] (ii) 线性或支链的 C_1-C_6 的烷基;

[0055] (iii) C_1-C_6 的烷氧基;

[0056] (iv) 氨基;

[0057] (v) C_1-C_4 的烷基氨基;

[0058] (vi) C_1-C_4 的二烷基氨基;

[0059] (vii) 硝基;

[0060] (viii) 羟基;

[0061] (ix) 卤素, 其中“卤素”包括氯、氟、溴和碘;

[0062] R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 和 R^9 各独立地选自：

[0063] (i) 氢；

[0064] (ii) 线性或支链的 C_1 - C_6 的烷基；

[0065] (iii) C_1 - C_6 的烷氧基；

[0066] (iv) 氨基；

[0067] (v) C_1 - C_4 的烷基氨基；

[0068] (vi) C_1 - C_4 的二烷基氨基；

[0069] (vii) 硝基；

[0070] (viii) 羟基；

[0071] (ix) 卤素,其中“卤素”包括氯、氟、溴和碘；以及

[0072] n 为 1 到 5 的整数。

[0073] 在特定的实施方式中, R^1 和 R^2 是氢; R^3 和 R^4 是甲基; R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 和 R^9 都是氢; 且 n 为 4。

[0074] 在一些实施方式中,代谢综合症与对胰岛素介导的葡萄糖摄取的抵抗、葡萄糖耐受不良、血胰岛素增多、低密度脂蛋白胆固醇增多、超低密度脂蛋白 (VLDL) 增多、甘油三酸酯增多、高密度脂蛋白胆固醇减少、纤溶酶原激活物抑制剂 -1 (PAI-1) 的含量增大以及高血压有关。在说明性实施方式中,所述代谢综合症的特征为以下标准中的三个或多于三个的标准：

[0075] (a) 腹型肥胖：男性腰围 $>102\text{cm}$, 女性腰围 $>88\text{cm}$ ；

[0076] (b) 高甘油三酯血症： $\geq 150\text{mg/dl}$ (1.695mmol/l)；

[0077] (c) 低高密度脂蛋白胆固醇：男性 $<40\text{mg/dl}$ (1.036mmol/l)，女性 $<50\text{mg/dl}$ (1.295mmol/l)；

[0078] (d) 高血压： $\geq 130/85\text{mm Hg}$ ；以及

[0079] (e) 高空腹血糖： $\geq 110\text{mg/dl}$ ($> 6.1\text{mmol/l}$)。

[0080] 在说明性实施方式中,所述代谢综合症的特征为糖尿病、葡萄糖耐量异常、空腹血糖受损或胰岛素抵抗再加上以下异常情况中的两种或多于两种的异常情况：

[0081] (a) 高血压： $\geq 160/90\text{mm Hg}$ ；

[0082] (b) 高血脂：甘油三酸酯浓度 $\geq 150\text{mg/dl}$ (1.695mmol/l) 和 / 或男性的高密度脂蛋白胆固醇 $<35\text{mg/dl}$ (0.9mmol/l) 和女性的高密度脂蛋白胆固醇 $<39\text{mg/dl}$ (1.0mmol/l)；

[0083] (c) 向心性肥胖：男性的腰臀比 >0.90 或女性的腰臀比 >0.85 , 或者身体质量指数 (BMI) $>30\text{kg/m}^2$; 以及

[0084] (d) 微量白蛋白尿：尿白蛋白排泄率 $\geq 20\text{ }\mu\text{g/min}$ 或白蛋白与肌酐的比值 $\geq 20\text{mg/g}$ 。

[0085] 在说明性实施方式中,所述代谢综合症的特点为以下标准中的三个或多于三个的标准：

[0086] (a) 甘油三酸酯 $>150\text{mg/dl}$ ；

[0087] (b) 收缩压 (BP) $\geq 130\text{mm Hg}$ 或舒张压 $\geq 85\text{mm Hg}$ 或者处于抗高血压治疗中；

[0088] (c) 高密度脂蛋白胆固醇 $<40\text{mg/dl}$ ；

[0089] (d) 空腹血糖 (FBS) $>110\text{mg/dl}$ ；以及

[0090] (e) 身体质量指数 $>28.8\text{kg/m}^2$ 。

[0091] 在一个实施方式中,通过与所述对象在被给药所述肽之前的脂肪代谢相比的脂肪代谢的改善来治疗所述代谢综合症。在一个实施方式中,脂肪代谢的改善是与所述对象在被给药所述肽之前的血液中的甘油三酸酯的含量相比甘油三酸酯的含量的降低。在一个实施方式中,脂肪代谢的改善是与所述对象在被给药所述肽之前的血液中的高密度脂蛋白/低密度脂蛋白胆固醇比值相比,高密度脂蛋白/低密度脂蛋白胆固醇比值的提高。在一个实施方式中,通过与所述对象在被给药所述肽之前的血糖含量相比的血糖含量的降低来治疗所述代谢综合症。在一个实施方式中,通过与所述对象在被给药所述肽之前的体重相比的体重的降低来治疗所述代谢综合症。

[0092] 在一些实施方式中,所述芳香族阳离子肽用来治疗或预防与哺乳动物对象中的代谢综合症相关的病症,所述相关病症包括但不限于向心性肥胖、血脂异常、血胰胰岛素增多、II 型糖尿病、血管内皮功能异常、视网膜病、冠状动脉疾病、心血管疾病、肾功能障碍、高血压、脂肪肝、神经病变和高尿酸血症。可能由代谢综合症和相关病症引起的心血管疾病的具体示例包括心肌梗塞、出血性中风或缺血性中风(脑梗塞)。

[0093] 可以以各种方式给药所述芳香族阳离子肽。在一些实施方式中,所述肽可以口服给药、局部给药、鼻内给药、静脉内给药、皮下给药或经皮给药(例如通过电离子渗入疗法)。

附图说明

[0094] 图 1 是示出肽治疗对体重的作用的示图。值为均数 $\pm$ 标准误差 (S.E.M.)。# $P<0.001$ 对正常老鼠食物 (NRC)+ 媒介物。* $P<0.05$ 、** $P<0.01$ 对 HFD/STZ+ 媒介物。方框表示利用媒介物治疗的 NRC 大鼠, $n=5$; 三角表示用媒介物治疗的 HFD/STZ 大鼠, $n=7$; 实圆圈表示利用 SS-31 以 10mg/kg 治疗的 HFD/STZ 大鼠, $n=7$; 空心圆圈表示利用 SS-20 以 10mg/kg 治疗的 HFD/STZ 大鼠, $n=7$ 。

[0095] 图 2 是示出在治疗 4 周时肽治疗对血糖的作用的示图。值为均数 $\pm$ 标准误差 (S.E.M.)。# $P<0.001$ 对 HFD/STZ+ 媒介物。* $P=0.31$ 、** $P=0.006$ 对 HFD/STZ+ 媒介物。方框表示利用媒介物治疗的 NRC 大鼠, $n=5$; 三角表示用媒介物治疗的 HFD/STZ 大鼠, $n=7$; 实圆圈表示利用 SS-31 以 10mg/kg 治疗的 HFD/STZ 大鼠, $n=7$; 空心圆圈表示利用 SS-20 以 10mg/kg 治疗的 HFD/STZ 大鼠, $n=7$ 。

[0096] 图 3 是示出治疗 10 周后肽治疗对 HFD/STZ 大鼠中的总甘油酯的作用的示图。

[0097] 图 4A 是示出治疗 14 周后肽治疗对饮食诱导肥胖的小鼠模型中的甘油三酸酯的作用的示图。图 4B 是示出治疗 14 周后肽治疗对饮食诱导肥胖的小鼠模型中的总胆固醇的作用的示图。图 4C 是示出治疗 14 周后肽治疗对饮食诱导肥胖的小鼠模型中的 HDL 胆固醇的作用的示图。

[0098] 图 5A 是示出治疗 14 周之后肽治疗对饮食诱导肥胖的小鼠模型中的腹部脂肪的作用的示图。图 5B 是示出了治疗 14 周之后肽治疗对饮食诱导肥胖的小鼠模型中的皮下脂肪的作用的示图。

[0099] 图 6 是示出肽治疗对代谢综合症的 STZ 大鼠模型中的甘油酯的作用的示图。

具体实施方式

[0100] 应当明白,下文以不同的详细程度描述了本发明的某些方面、模式、实施方式、变型和特征,以提供对本发明的实质性理解。

[0101] 在实施本发明的过程中,使用了分子生物学、蛋白质生物化学、细胞生物学、免疫学、微生物学和重组 DNA 方面的很多传统技术。这些技术是熟知的,并且分别在例如以下的文献中进行了说明:Current Protocols in Molecular Biology, 第 I-III 卷,Ausubel 编(1997);Sambrook 等,Molecular Cloning:A Laboratory Manual, 第二版(冷泉港实验室出版社,冷泉港,NY,1989);DNA Cloning:A Practical Approach, 第 I 卷和 第 II 卷,Glover 编(1985);Oligonucleotide Synthesis,Gait 编(1984);Nucleic Acid Hybridization,Hames&Higgins 编(1985);Transcription and Translation,Hames&Higgins 编(1984);Animal Cell Culture,Freshney 编(1986);Immobilized Cells and Enzymes(IRL 出版社,1986);Perbal,A Practical Guide to Molecular Cloning;Meth.Enzymol. 系列期刊,(美国学术出版社有限公司,1984);Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells,Miller&Calos 编(冷泉港实验室,NY,1987);和 Meth.Enzymol., 第 154 卷和第 155 卷,Wu&Grossman 和 Wu 编。

[0102] 下文提供了本说明书中使用的一些术语的定义。除非另有说明,本文中使用的所有技术和科学用语通常具有和本发明所属领域的普通技术人员通常理解的意思相同的意思。

[0103] 除非内容清楚指明,否则本说明和所附的权利要求中使用的单数形式“一”和“该”包括复数的引用对象。例如,所提及的“一细胞”包括两个细胞或更多细胞的组合等。

[0104] 本文中使用的“约”将由本领域的普通技术人员所理解,且将根据其被使用的上下文而在一定程度上变化。如果该术语的使用对本领域的一般技术人员而言不清楚,则在使用该术语的上下文中,“约”将表示加上所列举值的 10%或减去所列举值的 10%。

[0105] 本文中使用的将制剂、药物或肽“给药”至对象包括将化合物引入到或给送到对象以执行其预期功能的任何途径。可以通过任何合适的途径来执行“给药”,包括口服、鼻内、肠胃外(通过静脉、肌内、腹腔内或皮下)或者局部给药。“给药”包括自身给药和由其他人给药。

[0106] 本文中使用的术语“氨基酸”包括天然存在的氨基酸和合成的氨基酸以及氨基酸类似物和以类似于天然存在的氨基酸的形式作用的氨基酸模拟物。天然存在的氨基酸是通过遗传密码编码的氨基酸以及后来被改性的那些氨基酸,比如羟(基)脯氨酸、 γ -羧基谷氨酸和 O-磷酸丝氨酸。氨基酸类似物指的是具有和天然存在的氨基酸相同的基本化学结构的化合物,例如,所述的基本化学结构即结合至氢的 α -碳、羧基、氨基和 R 基,所述氨基酸类似物比如为高丝氨酸、正亮氨酸、蛋氨酸亚砷、蛋氨酸甲基砷。这样的类似物具有改性的 R 基(例如正亮氨酸)或改性的肽主链,但保持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与氨基酸的通用化学结构不同的结构、但以类似于天然存在的氨基酸的方式作用的化学化合物。本文可按照 IUPAC-IUB 生化命名委员会建议的通常已知的三字母符号或者一字母符号指代氨基酸。

[0107] 本文中使用的术语“有效量”指的是足以获得所需的治疗和/或预防效果例如引起预防或减轻与眼科病症关联的病症的量。给药至对象的组合物的量将取决于疾病的类型

和严重性以及个体的性质,比如平常健康情况、年龄、性别、体重和对药物的耐受力。所述量还取决于疾病的程度、严重性和类型。专业的技术人员将能够根据这些因素和其他因素来确定合适的剂量。所述组合物还可结合一种或多种其他的治疗化合物来给药。在本文描述的方法中,芳香族阳离子肽可以给药至具有代谢综合症的一种或多种症状的对象。有效量的芳香族阳离子肽的给药可以改善对象的代谢综合症的至少一种症状或病症,例如体重、空腹血糖值/胰岛素/游离脂肪酸、葡萄糖耐受性(OGTT)、肌肉胰岛素敏感性、胰岛素信号的标记(例如,Akt-P、IRS-P)、血清甘油三酸酯的水平、HDL胆固醇水平和LDL胆固醇水平、血压、血清纤维蛋白原水平或纤溶酶原激活物抑制剂水平、C反应蛋白的水平、线粒体功能(例如,呼吸作用或 H_2O_2 排放)、细胞内氧化压力的标记(例如,脂质过氧化、GSH/GSSG比或顺乌头酸酶活性)以及线粒体酶活性。例如,芳香族阳离子肽的“治疗有效量”是指最小程度地减轻代谢综合症的生理作用的平均水平。

[0108] “分离的”或“纯化的”多肽或肽基本上不具有源自细胞或组织的源(试剂来自于该源)的细胞材料或其它受污染的多肽,或者当化学合成时基本上不具有化学前体或其它的化学物质。例如,分离的芳香族阳离子肽将不具有会干扰试剂的诊断用途或治疗用途的材料。这样的干扰材料可以包括酶、激素和其他蛋白质的和非蛋白质的溶解物。

[0109] 本文中使用的术语“代谢综合症”指的是如下的代谢失调或风险因素的组合:当这些代谢失调或风险因素出现在单一个体中时,可能使该个体倾向于患心脏病、中风或糖尿病。

[0110] 本文中使用的术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文中是可互换的,以表示包括通过肽键或改性的肽键而互相连接的两个或更多个氨基酸的聚合物,例如肽电子等排体。多肽指的是短链(通常称为肽、糖肽或低聚物)以及较长的链(通常称为蛋白质)。多肽可以包括与20个基因编码的氨基酸不同的氨基酸。多肽包括通过诸如翻译后加工的天然进程或本领域熟知的化学改性技术改性的氨基酸序列。

[0111] 本文中使用的术语“对象”指的是任一脊椎动物物种中的成员。本主题公开的方法尤其对温血动物有效。本文提供了治疗哺乳动物,比如人类以及因濒临灭绝而对人类有重要性、对人类有经济重要性(在农场上饲养以供人类消耗的动物)和/或对人类有社会重要性(作为宠物喂养或在动物园中的动物)的那些哺乳动物。在特定的实施方式中,该对象为人。

[0112] 本文中使用的术语“治疗”或“减轻”指的是治疗处理措施和预防或防止措施,其中,目的是防止或减缓(减弱)目标病症或失调。如果接受了根据本文所述的方法的治疗量的芳香族的阳离子肽,则对象的代谢综合症得到成功地“治疗”,对象显示出可以观察到和/或测定到的代谢综合症的一种或多种症状和症候的减少和消失。例如,治疗可以包括降低空腹血糖水平或胰岛素水平、减轻体重、降低血清甘油三酸酯的水平或HDL胆固醇和LDL胆固醇的水平。还应当理解,本文描述的治疗或预防医学症状的各种模式意在表示“显著”,其包括完全治疗或者预防以及小于完全治疗或者预防,其中达到了某种生物学相关或医学相关的结果。

[0113] 本文中使用的“防止”失调或病症指的是化合物在统计样本中,相对于未治疗的对照样本降低治疗的样本的失调或病症的发生,或者相对于未治疗的对照样本延迟失调或病症的一种或多种症候的发生或减轻失调或病症的一种或多种症候的严重程度。

[0114] 代谢综合症

[0115] 代谢综合症（也被称为 X 综合症）是能与下列若干标准有关的一种综合症：例如对胰岛素介导的葡萄糖摄取的抵抗、葡萄糖耐受不良、血胰岛素增多、低密度脂蛋白胆固醇增多、超低密度脂蛋白（VLDL）甘油三酸酯增多、高密度脂蛋白胆固醇减少、纤溶酶原激活物抑制剂-1（PAI-1）的含量增大以及高血压。认为属于该综合症的一部分的其他代谢异常包括异常重量或异常的重量分布、炎症、微量白蛋白尿、高尿酸血、以及纤维蛋白溶解异常和凝结异常。

[0116] 葡萄糖耐受异常的特点是以下这样的病理状态：空腹血糖值小于 140 毫克 / 十分之一公升，在葡萄糖耐量试验之后 30 分钟、60 分钟或 90 分钟时，空腹血糖值高于 200 毫克 / 十分之一公升。

[0117] 高胰岛素血症是血液中的胰岛素水平高于正常值的病症。高胰岛素血症由身体过度产生胰岛素引起并且与胰岛素抵抗有关。

[0118] 当身体对胰腺产生的胰岛素没有反应且葡萄糖进入细胞的能力较弱时，则发生了胰岛素抵抗。患有胰岛素抵抗的对象可能或者可能不继续发展成为第二型糖尿病。当前使用中的各种测试中的任一种可以用来判断胰岛素抵抗，包括：口服葡萄糖耐量试验（OGTT）、空腹血糖（FBG）、正常葡萄糖耐量（NGT）、葡萄糖耐量异常（IGT）、空腹血糖受损（IFG）、稳态模型评估法（HOMA）、定量胰岛素敏感性检测指数（QUICKI）以及静脉胰岛素耐量试验（IVITT）。还参阅以下文献：De Vegt 的“The 1997 American Diabetes Association criteria versus the 1985 World Health Organization criteria for the diagnosis of abnormal glucose tolerance: poor agreement in the Hoorn Study”，Diab Care 1998, 21:1686-1690；Matthews 的“Homeostasis model assessment: insulin resistance and B-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man”，Diabetologia 1985, 28:412-419；Katz 的“Quantitative Insulin Sensitivity Check Index: A Simple, Accurate Method for Assessing Insulin Sensitivity In Humans”，JCE&M, 2000, 85:2402-2410。

[0119] 高甘油三酸酯血症是由血液中有高浓度的甘油三酸酯定义的。高血脂的特点是血液中存在过量的脂质。除 IIa 型高血脂外，所有的高血脂（类型 I、IIb、III、IV 和 V）的特点是甘油三酸酯的含量过高。I 型高血脂的特点是乳糜微粒严重高且高甘油三酸酯。由于乳糜微粒还包括少量的胆固醇，因此血清胆固醇的含量也非常高。IIb 型高血脂是低密度脂蛋白（LDL）和极低密度脂蛋白（VLDL）过高引起的传统的混合高血脂（高胆固醇和高甘油三酸酯）。III 型高血脂还被称为异常 β 脂蛋白血症、残粒移去障碍病或宽 β 病。通常，这些患者的总胆固醇含量和甘油三酸酯的含量过高，且这些患者易于与患有 IIb 型高血压的患者混淆。患有 III 型高血脂的病人具有过高的中密度脂蛋白（IDL），所述中密度脂蛋白为 VLDL 残留物。IV 型高血脂的特点是 VLDL 和甘油三酸酯异常高。血清胆固醇的含量正常。V 型高血脂是 I 型高血脂和 IV 型高血脂的组合（乳糜微粒和 VLDL 都过高）。血清胆固醇的含量通常过高，但 LDL 胆固醇的水平正常。考虑到 I 型疾病罕见，当注意到甘油三酸酯过高时，最可能的原因是 V 型高血脂。

[0120] 极低密度脂蛋白（VLDL）是富含甘油三酸酯的大型脂蛋白，所述大型脂蛋白通过血液进行循环，将它们的甘油三酸酯释放到脂肪和肌肉组织中，直到剩余的 VLDL 被改变并

转化为 LDL。高密度脂蛋白 (HDL) 是 : 在血液中运输胆固醇的脂蛋白 ; 由大比例的蛋白质和相对少的胆固醇组成 ; 其高含量认为与降低冠心病和动脉粥样硬化的风险有关。

[0121] 患有代谢综合症的人处于以下情况的风险提高 : 患心血管疾病以及因心血管疾病和其他原因产生的死亡率提高。研究还发现, 所提出的作为代谢综合症的一部分的风险因素的聚集可以提高患冠心病的风险。此外, 代谢综合症的组成部分是患糖尿病的风险因素。代谢综合症通常由下列标准中的三个或多于三个的标准表征 :

[0122] 1. 腹型肥胖 : 男性腰围 >102cm, 女性腰围 >88cm。

[0123] 2. 高甘油三酯血症 : $\geq 150\text{mg/dl}$ (毫克每分升) (1.695mmol/l)。

[0124] 3. 低 HDL 胆固醇 : 男性 $<40\text{mg/dl}$ (1.036mmol/l), 女性 $<50\text{mg/dl}$ (1.295mmol/l)。

[0125] 4. 高血压 : $\geq 130/85\text{mm Hg}$ 。

[0126] 5. 高空腹血糖 : $\geq 110\text{mg/dl}$ ($\geq 6.1\text{mmol/l}$)。

[0127] 6. 身体质量指数 (BMI) $>28.8\text{kg/m}^2$ 。

[0128] 代谢综合症还可由糖尿病、糖耐量异常、空腹血糖受损或胰岛素抵抗再加上以下异常情况中的两种或多于两种的异常情况表征 :

[0129] 1. 高血压 : $\geq 160/90\text{mm Hg}$ 。

[0130] 2. 高血脂 : 甘油三酸酯浓度 $\geq 150\text{mg/dl}$ (1.695mmol/l) 和 / 或男性的 HDL 胆固醇 $<35\text{mg/dl}$ (0.9mmol/l) 和女性的 HDL 胆固醇 $<39\text{mg/dl}$ (1.0mmol/l)。

[0131] 3. 向心性肥胖 : 男性的腰臀比 >0.90 或女性的腰臀比大于 0.85 , 和 / 或身体质量指数 (BMI) $>30\text{kg/m}^2$ 。

[0132] 4. 微量白蛋白尿 : 尿白蛋白排泄率 $\geq 90\mu\text{g/min}$ 或白蛋白与肌酐的比值 $\geq 90\text{mg/g}$ 。

[0133] 发明人已发现, 芳香族阳离子肽可以预防或治疗哺乳动物对象中的代谢综合症。在一些情况下, 代谢综合症可能是由高脂肪膳食或更一般地说由营养过剩和缺乏运动引起。芳香族阳离子肽可以降低代谢综合症的一种或多种症状或症候, 所述症状或症候包括但不限于血脂异常、向心性肥胖、血脂紊乱和胰岛素抵抗。

[0134] 并没有打算将本发明限定为特定的作用机制, 认为线粒体不完整和胰岛素敏感性来源于常见的代谢紊乱, 即氧化应激。特别是由高脂肪膳食产生的营养过剩可以提高线粒体的反应性氧化物质 (ROS) 的排放和提高总氧化压力, 导致急性线粒体功能障碍和慢性线粒体功能障碍以及发展成为代谢综合症。芳香族阳离子肽减轻这些影响, 由此改善各种人体组织中的线粒体功能, 因此改善与代谢综合症有关的风险因素中的一个或多个风险因素。

[0135] 本发明涉及通过给药某些芳香族阳离子肽来减少代谢综合症的症候。芳香族阳离子肽可溶于水且极性很强。除了这些性质之外, 所述肽能够容易地穿过细胞膜。芳香族阳离子肽通常最少包括通过肽键而共价键连接的三个氨基酸或最少包括通过肽键而共价键连接的四个氨基酸。芳香族阳离子肽中存在的氨基酸的最大数目为通过肽键而共价键连接的大约二十个氨基酸。合适地, 氨基酸的最大数目为约 12 个、约 9 个或者约 6 个。

[0136] 芳香族阳离子肽的氨基酸可以是任何氨基酸。本文中使用的术语“氨基酸”用来指包括至少一个氨基和至少一个羧基的任何有机分子。通常, 至少一个氨基是相对于羧基在 α 位。所述氨基酸可以是天然存在的。例如, 天然存在的氨基酸包括诸如通常在哺乳动物

蛋白中发现的二十种最常见的左旋 (L) 氨基酸, 即丙氨酸 (Ala), 精氨酸 (Arg), 天门冬酰胺 (Asn), 天门冬氨酸 (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), 蛋氨酸 (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), 和缬氨酸 (Val)。其它天然存在的氨基酸包括诸如与蛋白质合成无关的代谢过程中合成的氨基酸。例如, 氨基酸—鸟氨酸和瓜氨酸是在哺乳动物新陈代谢的产生尿素期间合成的。天然存在的氨基酸的另一示例包括羟 (基) 脯氨酸 (Hyp)。

[0137] 所述肽选择性地包括一种或多种非天然存在的氨基酸。最佳地, 所述肽不具有天然存在的氨基酸。所述非天然存在的氨基酸可以是左旋 (L-) 氨基酸、右旋 (D-) 氨基酸或其混合物。非天然存在的氨基酸是这样的氨基酸: 通常不是在生物体的天然代谢过程中合成的, 且非天然地出现在蛋白质中。此外, 非天然存在的氨基酸合适地也不会由普通的蛋白酶识别。非天然存在的氨基酸可以存在于肽的任何位置中。例如, 非天然存在的氨基酸可以在 N 末端、C 末端或者在 N 末端和 C 末端之间的任何位置。

[0138] 例如, 非天然的氨基酸可以包括天然氨基酸中不存在的烷基、芳基或烷基芳基。非天然烷基氨基酸的一些示例包括 α -氨基丁酸, β -氨基丁酸, γ -氨基丁酸, δ -氨基戊酸和 ϵ -氨基己酸。非天然的芳基氨基酸的一些示例包括邻氨基苯甲酸、间氨基苯甲酸和对氨基苯甲酸。非天然的烷基芳基氨基酸的一些示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。所述天然存在的氨基酸的衍生物可以包括诸如对天然存在的氨基酸添加一种或多种化学基团。

[0139] 例如, 可以将一种或多种化学基团添加至苯基丙氨酸残基或酪氨酸残基的芳香环的 2', 3', 4', 5' 或 6' 位置或者至色氨酸残基的苯并环的 4', 5', 6' 或 7' 位置。所述基团可以是添加到芳香环的任何化学基团。这样的基团的一些示例包括支链的或者无支链的 C_1 - C_4 的烷基, 比如甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基、异丁基、或叔丁基; C_1 - C_4 的烷氧基 (即烷氧基); 氨基; C_1 - C_4 的烷基氨基和 C_1 - C_4 的二烷基氨基 (例如, 甲氨基、二甲氨基); 硝基; 羟基; 卤素 (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示例包括正缬氨酸 (Nva) 和正亮氨酸 (Nle)。

[0140] 肽中氨基酸的改性另一示例是将肽中的天冬氨酸或谷氨酸的羧基衍生化。衍生化的一个示例是与氨或伯胺或仲胺 (例如甲胺、乙胺、二甲胺或二乙胺) 的酰胺化。衍生化的另一示例包括与诸如甲醇或乙醇进行酯化。另一种这样的改性包括赖氨酸、精氨酸或组氨酸残基的氨基的衍生化。例如, 这些氨基可以被酰化。例如, 一些合适的酰基包括苯甲酰基或者包括以上提及的 C_1 - C_4 的烷基中的任一烷基的烷酰基, 比如乙酰基或丙酰基。

[0141] 非天然存在的氨基酸对常见的蛋白酶优选地为抵抗性的且更优选地为不敏感。对蛋白酶抵抗性的或者不敏感的非天然存在的氨基酸的示例包括以上提及的任一种自然存在的左旋 (L-) 氨基酸的右旋 (D-) 形式以及左旋和 / 或右旋的非天然存在的氨基酸。尽管右旋氨基酸存在于通过与细胞的常规的核糖体蛋白合成方法不同的方法而合成的某些肽抗生素中, 但右旋氨基酸通常不存在于蛋白质中。本文中使用的右旋氨基酸被认为是非天然存在的氨基酸。

[0142] 为了使蛋白酶灵敏度最小, 肽应当具有小于 5 个、小于 4 个、小于 3 个、或小于 2 个

的由普通蛋白酶识别的连续左旋氨基酸,而与氨基酸是否为天然存在无关。在一个实施方式中,肽仅具有右旋氨基酸,而不具有左旋氨基酸。如果肽具有蛋白酶敏感的氨基酸序列,则所述氨基酸中的至少一个氨基酸可以为非天然存在的右旋氨基酸,由此提供蛋白酶抗性。蛋白酶敏感序列的示例包括可以由常见的蛋白酶(比如肽链内切酶和胰蛋白酶)容易地切割的两个或更多个连续的碱性氨基酸。碱性氨基酸的示例包括精氨酸、赖氨酸和组氨酸。

[0143] 与肽中的氨基酸残基的总数目相比,在生理 pH 条件下,芳香族阳离子肽应当具有最小数目的净正电荷。生理 pH 条件下的净正电荷的最小数目将在下文称为 (p_m)。肽中的氨基酸残基的总数目将在下文称为 (r)。下文讨论的净正电荷的最小数目都是在生理 pH 条件下。本文中使用的术语“生理 pH”指的是哺乳动物体的组织和器官的细胞中的正常 pH。例如,人的生理 pH 通常为约 7.4,而哺乳动物中的正常生理 pH 可以由约 7.0 至约 7.8 的任一 pH。

[0144] 本文中使用的“净电荷”指的是存在于肽中的氨基酸所携带的正电荷的数目和负电荷的数目之间的平衡。在本说明书中,应当理解,净电荷是在生理 pH 下测定的。在生理 pH 带正电的天然存在的氨基酸包括左旋赖氨酸、左旋精氨酸和左旋组氨酸。在生理 pH 带负电的天然存在的氨基酸包括左旋天冬氨酸和左旋谷氨酸。

[0145] 通常地,肽具有带正电的 N-末端氨基和带负电的 C-末端羧基。所述电荷在生理 pH 相互抵消。作为计算净电荷的实例,肽 Tyr-D-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 和一个 His)。因此,以上的肽具有的 3 个净正电荷。

[0146] 在一个实施方式中,芳香族阳离子肽的在生理 pH 条件下的净正电荷的最小数目 (p_m) 和氨基酸残基的总数目 (r) 之间具有如下关系:其中, $3p_m$ 是小于或等于 $r+1$ 的最大数。在该实施方式中,净正电荷的最小数目 (p_m) 和氨基酸残基的总数目 (r) 之间的关系如下:

[0147] 表 1. 氨基酸数目和净正电荷 ($3p_m \leq r+1$)

[0148]

(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

[0149] 在另一实施方式中,芳香族阳离子肽的净正电荷的最小数目 (p_m) 和氨基酸残基的总数目 (r) 之间具有如下关系:其中, $2p_m$ 是小于或等于 $r+1$ 的最大数。在该实施方式中,净正电荷的最小数目 (p_m) 和氨基酸残基的总数目 (r) 之间的关系如下:

[0150] 表 2. 氨基酸数目和净正电荷 ($2p_m \leq r+1$)

[0151]

(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

[0152] 在一个实施方式中,净正电荷的最小数目 (p_m) 和氨基酸残基的总数目 (r) 相等。在另一实施方式中,肽具有三个或四个氨基酸残基,其净正电荷的最小数目为 1、优选地净正电荷的最小数目为 2 且更优选地净正电荷的最小数目为 3。

[0153] 还重要的是,芳香族阳离子肽相比于净正电荷的总数目 (p_t) 具有最小数目的芳香基团。芳香基团的最小数目在下文将称为 (a)。具有芳香基团的天然存在的氨基酸包括氨基酸—组氨酸、色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸。例如,六肽 Lys-Gln-Tyr-D-Arg-Phe-Trp 具有 2 个净正电荷 (由赖氨酸残基和精氨酸残基提供) 以及三个芳香基团 (由酪氨酸残基、苯丙氨酸残基和色氨酸残基提供)。

[0154] 芳香族阳离子肽还应当在芳香基团的最小数目 (a) 和在生理 pH 下的净正电荷的总数目 (p_t) 之间具有如下关系:其中,除了当 p_t 为 1 时 a 也可 1 之外, $3a$ 是小于或等于 p_t+1 的最大数。在该实施方式中,芳香基团的最小数目 (a) 和净正电荷的总数目 (p_t) 之间的关系如下:

[0155] 表 3. 芳香基团和净正电荷 ($3a \leq p_t+1$ 或 $a = p_t = 1$)

[0156]

(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

[0157] 在另一实施方式中,芳香族阳离子肽在芳香基团的最小数目 (a) 和净正电荷的总数目 (p_t) 之间具有如下关系:其中, $2a$ 是小于或者等于 p_t+1 的最大数。在该实施方式中,芳香氨基酸残基的最小数目 (a) 和净正电荷的总数目 (p_t) 之间的关系如下:

[0158] 表 4. 芳香基团和净正电荷 ($2a \leq p_t+1$ 或 $a = p_t = 1$)

[0159]

(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

[0160] 在另一实施方式中,芳香基团的数目 (a) 和净正电荷的总数目 (p_t) 相等。

[0161] 羧基且尤其是 C- 末端氨基酸的末端羧基优选地与诸如氨进行酰胺化,以形成 C- 端酰胺。可选地, C- 端氨基酸的末端羧基可以与任一伯胺或仲胺进行酰胺化。所述伯胺或仲胺可以是诸如烷基、尤其是支链或无支链的 C_1 - C_4 的烷基或者芳香胺。因此,在肽的 C 末端的氨基酸可以转化为酰胺基、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。未出现在芳香族阳离子肽的 C 末端的天冬酰胺残基、谷氨酰胺残基、天冬氨酸残基和谷氨酸残基的游离的羧酸基也可被酰胺化,不论它们是否存在于肽内。这些内部位置的酰胺化可以与氨或以上所述伯胺或仲胺中的任何一者进行。

[0162] 在一个实施方式中,芳香族阳离子肽是具有两个净正电荷以及至少一个芳香族氨基酸的三肽。在特定的实施方式中,所述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。

[0163] 芳香族阳离子肽包括但不限于以下肽的示例:

[0164] Lys-D-Arg-Tyr-NH₂

[0165] Phe-D-Arg-His

[0166] D-Tyr-Trp-Lys-NH₂

[0167] Trp-D-Lys-Tyr-Arg-NH₂

- [0168] Tyr-His-D-Gly-Met
- [0169] Phe-Arg-D-His-Asp
- [0170] Tyr-D-Arg-Phe-Lys-Glu-NH₂
- [0171] Met-Tyr-D-Lys-Phe-Arg
- [0172] D-His-Glu-Lys-Tyr-D-Phe-Arg
- [0173] Lys-D-Gln-Tyr-Arg-D-Phe-Trp-NH₂
- [0174] Phe-D-Arg-Lys-Trp-Tyr-D-Arg-His
- [0175] Gly-D-Phe-Lys-Tyr-His-D-Arg-Tyr-NH₂
- [0176] Val-D-Lys-His-Tyr-D-Phe-Ser-Tyr-Arg-NH₂
- [0177] Trp-Lys-Phe-D-Asp-Arg-Tyr-D-His-Lys
- [0178] Lys-Trp-D-Tyr-Arg-Asn-Phe-Tyr-D-His-NH₂
- [0179] Thr-Gly-Tyr-Arg-D-His-Phe-Trp-D-His-Lys
- [0180] Asp-D-Trp-Lys-Tyr-D-His-Phe-Arg-D-Gly-Lys-NH₂
- [0181] D-His-Lys-Tyr-D-Phe-Glu-D-Asp-D-His-D-Lys-Arg-Trp-NH₂
- [0182] Ala-D-Phe-D-Arg-Tyr-Lys-D-Trp-His-D-Tyr-Gly-Phe
- [0183] Tyr-D-His-Phe-D-Arg-Asp-Lys-D-Arg-His-Trp-D-His-Phe
- [0184] Phe-Phe-D-Tyr-Arg-Glu-Asp-D-Lys-Arg-D-Arg-His-Phe-NH₂
- [0185] Phe-Try-Lys-D-Arg-Trp-His-D-Lys-D-Lys-Glu-Arg-D-Tyr-Thr
- [0186] Tyr-Asp-D-Lys-Tyr-Phe-D-Lys-D-Arg-Phe-Pro-D-Tyr-His-Lys
- [0187] Glu-Arg-D-Lys-Tyr-D-Val-Phe-D-His-Trp-Arg-D-Gly-Tyr-Arg-D-Met-NH₂
- [0188] Arg-D-Leu-D-Tyr-Phe-Lys-Glu-D-Lys-Arg-D-Trp-Lys-D-Phe-Tyr-D-Arg-Gly
- [0189] D-Glu-Asp-Lys-D-Arg-D-His-Phe-Phe-D-Val-Tyr-Arg-Tyr-D-Tyr-Arg-His-Phe-NH₂ Asp-Arg-D-Phe-Cys-Phe-D-Arg-D-Lys-Tyr-Arg-D-Tyr-Trp-D-His-Tyr-D-Phe-Lys-Phe
- [0190] His-Tyr-D-Arg-Trp-Lys-Phe-D-Asp-Ala-Arg-Cys-D-Tyr-His-Phe-D-Lys-Tyr-His-Ser-NH₂
- [0191] Gly-Ala-Lys-Phe-D-Lys-Glu-Arg-Tyr-His-D-Arg-D-Arg-Asp-Tyr-Trp-D-His-Trp-His-D-Lys-Asp
- [0192] 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-NH₂。
- [0193] 芳香族阳离子肽的示例是 Phe-D-Arg-Phe-Lys-NH₂ (本文称为“SS-20”)。另一种芳香族阳离子肽的示例是 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂ (SS-31)。
- [0194] 所述肽的合适的取代变型包括保守的氨基酸取代物。可以根据氨基酸的物理化学性质来对氨基酸进行如下分类：
- [0195] (a) 非极性氨基酸 :Ala (A) Ser (S) Thr (T) Pro (P) Gly (G) Cys (C) ；
- [0196] (b) 酸性氨基酸 :Asn (N) Asp (D) Glu (E) Gln (Q) ；
- [0197] (c) 碱性氨基酸 :His (H) Arg (R) Lys (K) ；
- [0198] (d) 疏水性氨基酸 :Met (M) Leu (L) Ile (I) Val (V) ；以及
- [0199] (e) 芳香族氨基酸 :Phe (F) Tyr (Y) Trp (W) His (H) 。

[0200] 肽中的氨基酸被同一组中的另一种氨基酸取代称为保守取代,且可以保留原始肽的物理化学性质。相反,肽中的氨基酸被不同组中的另一种氨基酸取代通常更有可能改变原始肽的物理化学性质。

[0201] 活化 μ 型阿片受体的类似物的示例包括但不限于表 5 中示出的芳香族阳离子肽。

[0202] 表 5. 具有 μ 型阿片活性的肽类似物

[0203]

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- 末端改性
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
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

[0204]

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
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

[0205]

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
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

[0206]

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
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

[0207] Dab = 二氨丁基

[0208] Dap = 二氨基丙酸

[0209] Dmt = 二甲基酪氨酸

[0210] Mmt = 2'-甲基酪氨酸

[0211] Tmt = N, 2', 6'-三甲基酪氨酸

[0212] Hmt = 2'-羟基-6'-甲基酪氨酸

[0213] dnsDap = β-丹磺酰-L-α, β-二氨基丙酸

[0214] atnDap = β-邻氨基苯甲酰-L-α, β-二氨基丙酸

[0215] bio = 生物素

[0216] 使 μ 型阿片受体非活性化的类似物的示例包括但不限于表 6 中所示的芳香族阳离子肽。

[0217] 表 6. 缺少 μ 型阿片活性的肽类似物

[0218]

氨基酸位置 1	氨基酸位置 2	氨基酸位置 3	氨基酸位置 4	氨基酸位置 5	氨基酸位置 6	氨基酸位置 7	C-末端改性
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
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

[0219] Cha = 环己基丙氨酸

[0220] 表 5 和表 6 中显示的肽的氨基酸可以是左旋结构或右旋结构。

[0221] 还可通过本领域熟知的任何方法来合成肽。例如,用于以化学方式合成肽的合适方法包括诸如 Stuart 和 Young 在以下文献中描述的方法:Solid Phase Peptide Synthesis, 第二版,Pierce Chemical Company(1984);以及 Methods Enzymol. 289,Academic Press 公司,纽约(1997)。

[0222] 芳香族阳离子肽的预防用途和治疗用途

[0223] 概述。本文描述的芳香族阳离子肽对于预防或治疗疾病是有用的。具体地，本发明提供了用于治疗处于代谢综合症的风险中（或易得代谢综合症）的对象的预防性方法和治疗性方法。代谢综合症通常与 II 型糖尿病、冠状动脉疾病、肾功能障碍、动脉粥样硬化、肥胖、血脂异常和原发性高血压有关。因此，本发明的方法提供了通过将有效量的芳香族阳离子肽给药至需要该芳香族阳离子肽的对象来预防和 / 或治疗对象的代谢综合症或相关病症。例如，可以将芳香族阳离子肽组合物给药至对象，来试图改善造成代谢综合症的一个或多个因素。

[0224] 在一个方面中，本发明提供给了通过给药芳香族阳离子肽来治疗或预防哺乳动物中的与代谢综合症相关的特定失调的方法，所述特定失调比如为肥胖、糖尿病、高血压和高血脂。在某些实施方式中，所述特定失调为肥胖。在某些实施方式中，所述特定失调为血脂异常（即高血脂）。

[0225] 确定基于芳香族阳离子肽的治疗药物的生物效果。在各个实施方式中，进行合适的体外测定和体内测定来确定基于特定的芳香族阳离子肽的治疗药物的效果以及该治疗药物的给药是否适于治疗代谢综合症。在各个实施方式中，可以对对象的疾病所涉及的典型细胞类型进行体外测定以确定基于给出的芳香族阳离子肽的治疗药物是否对所述细胞类型产生了预期的效果。在对人类对象进行测试之前，治疗中所用的化合物可以在合适的动物模型系统中进行测试，所述动物模型系统包括但不限于大鼠、小鼠、鸡、牛、猴子、兔子等。类似地，对于体内测试而言，在给药至人类对象之前，可以使用本领域所知的任何动物模型系统。可以通过量化体重、空腹血糖 / 胰岛素 / 游离脂肪酸、葡萄糖耐量 (OGTT)、胆固醇的含量和甘油三酸酯的含量、血压、体内肌肉胰岛素敏感性、胰岛素信号的标记（例如，Akt-p、IRS-P）、线粒体功能（例如，呼吸作用或 H_2O_2 排放）、细胞内氧化压力的标记（例如，脂质过氧化、GSH/GSSG 比或顺乌头酸酶活性）或线粒体酶活性。可以利用能够在以下文献中找到的标准医学临床检验技术来测量空腹血糖 / 胰岛素 / 游离脂肪酸、葡萄糖耐量 (OGTT)、胆固醇的含量和甘油三酸酯的含量：Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 第四版。Burtis CA 和 Ashwood ER 编，2005。

[0226] 在一个实施方式中，将芳香族阳离子肽给药至表现出与代谢综合症相关的一种或多种病症的对象将使这些病症中的一种或多种病症得到改善。例如，与对象接受所述芳香族阳离子肽之前相比，所述对象可以表现出体重减轻至少约 5%、至少约 10%、至少约 20% 或至少约 50%。在一个实施方式中，与对象接受所述芳香族阳离子肽之前相比，所述对象可以表现出 HDL 胆固醇减少至少约 5%、至少约 10%、至少约 20% 或至少约 50% 和 / 或 LDL 胆固醇增多至少约 5%、至少约 10%、至少约 20% 或至少约 50%。在一个实施方式中，对象可以表现出血清甘油三酸酯减少至少约 5%、至少约 10%、至少约 20% 或至少约 50%。在一个实施方式中，对象可以表现出口服葡萄糖耐量 (OGTT) 改善至少约 5%、至少约 10%、至少约 20% 或至少约 50%。在一些实施方式中，对象可以在与代谢综合症相关的多于一种的病症中得到可观察到的改善。

[0227] 预防性方法。在一个方面中，本发明提供了通过将调节代谢综合症的一种或多种症状或标记的芳香族阳离子肽给药至一对象来预防该对象的与骨骼肌组织中的代谢综合症相关的疾病或病症的方法，所述一种或多种症状或标记比如为体重、血清甘油三酸酯或

胆固醇、空腹血糖 / 胰岛素 / 游离脂肪酸、葡萄糖耐量 (OGTT)、体内肌肉胰岛素敏感性、胰岛素信号的标记 (例如, Akt-P、IRS-P)、线粒体功能 (例如, 呼吸作用或 H_2O_2 排放)、细胞内氧化压力的标记 (例如, 脂质过氧化、GSH/GSSG 比或顺乌头酸酶活性) 或线粒体酶活性。可以利用能够在以下文献中找到的标准医学临床检验技术来测量空腹血糖 / 胰岛素 / 游离脂肪酸、葡萄糖耐量 (OGTT)、胆固醇的含量和甘油三酸酯的含量等: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 第四版. Burtis CA 和 Ashwood ER 编, 2005。

[0228] 例如, 可以通过本文描述的诊断分析或预兆性分析中的任一个或组合来识别处于患代谢综合症的风险中的对象。在预防性应用中, 将有效量的芳香族阳离子肽的药物组合物或药剂给药至易得疾病或病症或者处于疾病或病症的风险中的对象以消除或降低该疾病的风险、降低该疾病的严重程度或延迟该疾病发病, 包括疾病的生物化学的、组织学的和 / 或行为学的症候、该疾病的并发症和该疾病的发展期间存在的中间病理表型。将预防性的芳香族阳离子肽进行给药可以发生在异常的症候特点表现出来之前, 使得疾病或障碍得到防止, 或者选择性地其发展得到延迟。取决于异常的种类, 例如, 起到增强或提高线粒体功能的作用的芳香族阳离子肽可以用于治疗该对象。适当的化合物可以基于本文描述的筛选试验确定。

[0229] 治疗性方法。本发明的另一方面包括出于治疗目的来减少与对象中的代谢综合症相关的症状的方法。在治疗性应用中, 将足以治愈或者至少部分地抑制所述疾病的症状 (包括其并发症和该疾病发展中的中间病理表现型) 的量的组合物或药物给药至疑似患上这样的疾病的对象或者已患有这样的疾病的对象。就这点而论, 本发明提供了治疗患有代谢综合症或与代谢综合症相关的疾病或障碍的个体的方法。

[0230] 本发明考虑芳香族阳离子肽和用于血压、血液中的甘油三酸酯的含量或高胆固醇的一种或多种治疗的联合治疗。针对代谢综合症、肥胖、胰岛素抵抗、高血压、血脂异常等的治疗还可包括各种其他方法, 包括减肥和锻炼以及饮食变化。这些饮食变化包括: 维持将碳水化合物限制在总热量 (卡路里) 的 50% 或更少的饮食; 吃定义为复合碳水化合物的食物, 比如全麦面包 (取代白面包)、糙米 (取代白米)、粗糖; 通过吃豆类 (例如大豆)、全麦、水果和蔬菜来提高纤维消耗; 减少红肉和家禽的摄取; 消耗“健康”脂肪, 比如橄榄油、亚麻子油和坚果中的脂肪; 限制饮酒等。此外, 血压和血液中的甘油三酸酯的含量的治疗可以由各种可使用的药物 (例如, 胆固醇调节药物) 控制, 因为这些药物能够使障碍停止发展 (例如, 通过阿司匹林治疗) 且更一般地使血栓前病情或致炎病情停止发展。如果代谢综合症引起糖尿病, 当然, 有很多种治疗来用于该疾病。

[0231] 给药模式和有效剂量

[0232] 可以使用本领域的技术人员所知的任何方法来将细胞、器官或组织与肽接触。适当的方法包括体外法、间接体内法或体内法。体内法通常包括将芳香族阳离子肽 (比如上文描述的芳香族阳离子肽) 给药至哺乳动物、优选地给药至人。当用在体内以治疗时, 芳香族阳离子肽可以以有效的量 (即具有期望的治疗效果的量) 给药至对象。剂量和给药方案将取决于对象中的代谢综合症的程度、使用的特定的芳香族阳离子肽的性质 (例如其治疗指数)、该对象以及该对象的病史。

[0233] 可以在临床前试验和临床试验期间利用内科医生和临床医生熟悉的方法来测定有效量。在本发明的方法中有用的、优选地在药物组合物中有用的肽的有效量可以通过用

于给药药物化合物的多种已知方法中的任一方法来给药至需要该肽的哺乳动物。肽可以以全身给药或局部给药。

[0234] 本文描述的芳香族阳离子肽可以单独地或组合地加入到药物组合物以给药至对象来治疗或预防本文中描述的疾病。所述组合物通常包括活性剂和药学上可接受的载体。本文中使用的术语“药学上可接受的载体”包括与给药药物可配伍的生理盐水、溶剂、分散介质、涂层、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延缓剂等。辅助性的活性化合物也可以加入到所述组合物中。

[0235] 通常将药物组合物制备成与其计划给药途径相符。给药途径的示例包括肠胃外（例如，静脉、皮内、腹腔或皮下）、口服、吸入、经皮肤（局部）和经粘膜透过给药。用于肠胃外、皮内或皮下的溶液或悬浮液可以包括以下成分：诸如注射用水的消毒稀释液、生理盐水、不挥发油、聚乙二醇、丙三醇、丙二醇或其它合成溶剂；抗菌剂，比如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯；抗氧化剂，比如抗坏血酸或亚硫酸氢钠；络合剂，比如乙二胺四乙酸；缓冲液，比如醋酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐；以及用于调节渗透压的试剂，比如氯化钠或右旋糖。可以用酸或碱来调节 pH，比如盐酸或氢氧化钠。肠胃外制剂可以装在玻璃或塑料制的安瓿瓶、一次性注射器或多剂量瓶中。为了患者或治疗医师的方便，可以以包括治疗过程（例如，治疗 7 天）所需的所有用具（例如，药瓶、稀释液瓶、注射器和针头）的试剂盒的形式提供剂量制剂。

[0236] 适于注射用途的药物组合物可以包括无菌水溶液（在水溶性的情况下）或者用于临时制备无菌注射液或分散液的分散剂或无菌粉末。为了静脉注射，合适的载体包括生理盐水、抑菌水、Cremophor EL™ (BASF, 帕西波尼, N. J.) 或磷酸盐缓冲盐水 (PBS)。在所有情况下，用于肠胃外给药的组合物必须无菌且应当是达到易于注射的程度的液体。用于肠胃外给药的组合物在制造和存储条件下应当稳定且必须被保存同时防止微生物（例如细菌和真菌）的污染行为。

[0237] 所述芳香族阳离子肽组合物可以包括载体，该载体可以是包括诸如水、乙醇、多元醇（例如，丙三醇、丙二醇以及液态聚乙二醇等）及其合适的混合物的溶剂或分散介质。可以通过例如以下的方式来保持适当的流动性：利用比如卵磷脂的涂层；在分散质的情况下，通过保持所需的颗粒尺寸；和通过利用表面活性剂。可以通过各种抗菌剂和抗真菌剂来实现防止微生物的行为，例如尼泊金、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞等。可以包括谷胱甘肽和其他的抗氧化剂以防止氧化。在很多情况下，将优选的是，在该组合物中包括等渗剂，比如糖、多元醇（比如甘露醇、山梨醇）或氯化钠。可以通过在该组合物中包括延迟吸收的制剂来引起可注射组合物的延长吸收，所述延迟吸收的制剂例如为单硬脂酸铝或药用胶。

[0238] 可以通过将所需量的活性化合物加入具有以上列出的一种成分或多种成分的组分的适当的溶剂中、根据需要然后进行过滤灭菌来制备注射用无菌溶液。通常，通过将活性化合物加入到包括基本分散介质以及以上列出的所需的其它成分的无菌媒介物中来制备分散质。在用于制备注射用无菌溶液的无菌粉末的情况中，典型的制备方法包括真空干燥和冷冻干燥，这可以产出活性成分以及来自于先前灭菌过滤的溶液中的任何其他所需成分的粉末。

[0239] 口服组合物通常包括惰性稀释剂或可食用的载体。为了口服治疗给药，活性化合物可以与赋形剂混合并以片剂、锭剂或胶囊（例如明胶胶囊）的形式使用。还可利用液态载

体来制备口服组合物以用作洗口药。药学上相容的粘合剂和 / 或辅助材料可以被包括为该组合物的一部分。片剂、丸剂、胶囊剂和锭剂等可以包括具有相似性质的以下成分或化合物中的任一种：粘合剂，比如微晶纤维素、黄蓍胶或明胶；赋形剂，比如淀粉或乳糖；崩解剂，比如褐藻酸、羧甲淀粉钠、或玉米淀粉；润滑剂，比如硬脂酸镁或 Sterotes；助流剂，比如胶态二氧化硅；甜味剂，比如蔗糖或糖精；或者增味剂，比如薄荷、水杨酸甲酯或桔子调味剂。

[0240] 关于通过吸入法给药，所述化合物可以以喷雾剂的形式从包括合适的推进物（例如，比如二氧化碳的气体）的加压容器或分配器或者喷雾器喷洒而递送。这样的方法包括第 6468798 号美国专利中描述的方法。

[0241] 本文中描述的治疗化合物的全身给药还可以通过经粘膜方法或经皮肤方法来进行。对于经粘膜给药或经皮肤给药，适合于待渗透的屏障的渗透剂用在该配方中。这样的渗透剂通常是本技术领域已知的，例如，对于经粘膜给药而言，这样的渗透剂包括清洗剂、胆汁盐类或梭链孢酸衍生物。可以通过使用鼻喷入法来完成经粘膜给药。对于经皮肤给药而言，活性化合物配制成本领域普遍知道的药膏、软膏、凝胶或乳液。在一个实施方式中，经皮肤给药可以通过电离子渗透法来进行。

[0242] 治疗性蛋白质或肽可以在载体体系中配制而成。该载体可以是胶态体系。该胶态体系可以是脂质体、磷脂双分子层媒介物。在一个实施方式中，在脂质体中该治疗肽被胶囊化，同时保持肽完整性。本领域的本领域技术人员理解，有各种方法来制备脂质体。（参见：Lichtenberg 等的 *Methods Biochem. Anal.*, 33:337-462(1988)；Anselem 等的 *Liposome Technology*, CRC Press(1993)）。脂质体制剂可以延迟排出并增强细胞摄取（参见 Reddy, *Ann. Pharmacother.*, 34(7-8):915-923(2000)）。

[0243] 该载体还可以是聚合物，比如可生物降解的、可生物相容的聚合物基质。在一个实施方式中，治疗性肽可以嵌入到聚合物基质中，同时保持蛋白质完整性。所述聚合物可以是天然的，比如多肽、蛋白质或多糖；或者可以是合成的，比如聚 α -羟酸。实施例包括由例如以下物质制成的载体：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、明胶及其组合。在一个实施方式中，所述聚合物是聚乳酸 (PLA) 或乳酸羟基乙酸共聚物 (PGLA)。可以以各种形式和尺寸来制备并分离聚合物基体，包括微球和纳米球。聚合物制剂可以引起治疗作用的期间的延长（参见：Reddy, *Ann. Pharmacother.*, 34(7-8):915-923(2000)）。用于人类生长激素 (hGH) 的聚合物制剂已用在临床试验中（参见：Kozarich 和 Rich, *Chemical Biology*, 2:548-552(1998)）。

[0244] 在一些实施方式中，治疗性化合物与将保护所述治疗化合物以防止其从身体中快速排出的载体一起制备，所述载体比如控释剂，包括植入体和微胶囊化的输送体系。可以使用可生物降解的、生物相容的聚合物，比如乙烯醋酸乙烯酯、聚酐、聚乙醇酸、胶原质、聚原酸酯和聚乳酸。可以利用已知的技术来制备这样的制剂。还可以在在市场上获得所述材料，例如从 Alza Corporation 和 Nova Pharmaceuticals 公司买到。脂质体悬浮液（包括针对具有细胞特异性抗原的单细胞克隆抗体的特定细胞的脂质体）也可用作医学上可以接受的载体。所述胶体悬浮液可以利用本领域的本领域技术人员知道的方法来制备，比如，第 4522811 号美国专利中描述的方法。

[0245] 还可以配制所述治疗性化合物以增强细胞内传递。例如，本领域已知脂质体传递系统例如，参见：Chonn 和 Cullis 的 “Recent Advances in Liposome Drug Delivery

Systems”, Current Opinion in Biotechnology 6:698-708(1995) ;Weiner 的“Liposomes for Protein Delivery:Selecting Manufacture and Development Processes”, Immunomethods 4(3)201-9(1994) ;和 Gregoriadis 的“Engineering Liposomes for Drug Delivery:Progress and Problems”Trends Biotechnol.13(12):527-37(1995)。以下文献描述了利用融合脂质体在体内或在体外将蛋白质传递至细胞 :Mizguchi 等的 Cancer Lett. 100:63-69(1996)。

[0246] 可以通过细胞培养或试验动物中的标准药理学过程来确定治疗性药物的用量、毒性和治疗效率,例如,用于确定 LD50(总数 50%的致命剂量)和 ED50(总数 50%中有效治疗的剂量)。毒性和治疗效果之间的剂量比是治疗指数,且其可以表示为比率 LD50/ED 50。表现出高治疗指数的化合物是优选的。尽管具有毒性副作用的化合物可以使用,但应当考虑设计传递系统,该传递系统将这样的化合物靶向组织的受影响的位置,以将对未感染的细胞的可能损伤最小化,且由此降低副作用。

[0247] 从细胞培养试验和动物研究获取的数据可以用在配制人类中使用的剂量范围中。这样的化合物的剂量优选地位于包括毒性很小或无毒的 ED50 的循环浓度的范围中。根据使用的剂量类型和利用的给药途径,剂量可以在该范围内变化。对于该方法中使用的任何化合物而言,可以最初根据细胞培养试验来计算出治疗有效的剂量。可以在动物模型中制定一剂量来获得包括细菌培养中确定的 IC50(即,测试化合物的获得最大抑制病症的一半的浓度)的循环血药浓度范围。这样的制剂可以用来更准确地确定人类中的有用剂量。可以例如通过高效液相色谱法测定血药浓度。

[0248] 通常,芳香族阳离子肽的足以获得治疗效果或预防效果的有效量的范围为约 0.000001 毫克/千克体重/天到约 10000 毫克/千克体重/天。优选地,剂量范围从约 0.0001 毫克/千克体重/天到约 100 毫克/千克体重/天。例如,剂量可以是每天、每两天或每三天 1 毫克/千克体重或者 10 毫克/千克体重,或者在每周、每两周或每三周的 1 毫克/千克体重到 10 毫克/千克体重的范围中。在一个实施方式中,肽的单剂量的范围从 0.1 毫克/千克体重到 10000 毫克/千克体重。在一个实施方式中,芳香族阳离子肽在载体中的浓度的范围从 0.2 毫克每毫升到 2000 毫克每毫升。示例性的治疗方法每天或每周提供一次给药。在治疗应用中,在相对短的时间间隔中有相对高的剂量有时是需要的,直到疾病的进程减缓或终止为止,且优选地直到对象显示出部分或完全地改善了疾病的病症。其后,可以对患者实行预防性的给药方式。

[0249] 在一些实施方式中,芳香族阳离子肽的治疗有效的量可以限定为目标组织中的肽的浓度为 10^{-11} 摩尔到 10^{-6} 摩尔,例如约 10^{-7} 摩尔。可以以 0.001 毫克/千克到 100 毫克/千克的全身剂量或身体表面面积的等效剂量来给予前述浓度。优化剂量的时间表,以保持目标组织的治疗浓度,最优选地通过每天或每周给药,但也包括连续给药(例如,输液或经皮肤施药)进行。

[0250] 在一些实施方式中,芳香族阳离子肽的剂量提供为“低”、“中”或“高”剂量水平。在一个实施方式中,低剂量提供为从约 0.0001mg/kg/h 到约 0.5mg/kg/h、合适地从约 0.01mg/kg/h 到约 0.1mg/kg/h。在一个实施方式中,中剂量提供为从约 0.1mg/kg/h 到约 1.0mg/kg/h,合适地从约 0.1mg/kg/h 到约 0.5mg/kg/h。在一个实施方式中,高剂量提供为从约 0.5mg/kg/h 到约 10mg/kg/h,合适地从约 0.5mg/kg/h 到约 2mg/kg/h。

[0251] 本领域技术人员将认识到,某些因素可以影响有效地治疗一对象的剂量和时间,包括但不限于疾病或失调的严重程度、先前的治疗、健康情况和 / 或对象的年龄以及存在的其它疾病。而且,利用本文描述的治疗有效量的治疗组合物来治疗一对象可以包括单次治疗或一系列治疗。

[0252] 根据本发明的方法治疗的哺乳动物可以是任何动物,例如,包括农场动物,如羊、猪、牛和马;宠物动物,如狗和猫;实验室里的动物,如小鼠、大鼠和兔。在优选的实施方式中,所述哺乳动物是人。

[0253] 实施例

[0254] 通过以下实施例进一步说明本发明,所述实施例不应当看作以任何方式限制本发明。

[0255] 实施例 1- 喂食高脂肪膳食的大鼠的代谢综合症的治疗

[0256] 在四周的时间段中,在 Sprague-Dawley 大鼠模型中对芳香族阳离子肽在治疗患有代谢综合症的对象的效果上进行了研究。该实施例描述了这样的实验的结果。

[0257] 体内模型。通过在 SD 大鼠中进行为期 6 周的 HFD 和低剂量 STZ (链脲佐菌素) (40mg/kg) 注射的结合来建立代谢综合症的大鼠模型。将喂食正常食物的同一批大鼠 (NRC) 用作对照。

[0258] 研究组。组 A :NRC+PBS,皮下注射,每日一次 (s. c. q. d.) (周一到周五)*, n = 5 ; 组 B :HFD+STZ+PBS,皮下注射,每日一次 (周一到周五), n = 8 ; 组 C :HFD+STZ+10mg/kg 的 SS-31,皮下注射,每日一次 (周一到周五), n = 8 ; 组 D:HFD+STZ+10mg/kg 的 SS-20,皮下注射,每日一次 (周一到周五), n = 8。表 7 示出了治疗方案。

[0259] 表 7. 治疗计划和实验方案

[0260]

时间段	目的	糖尿病组 (B, C, D)	对照组 (A)
第一周	驯化	正常大鼠食物	
第 2-7 周	饮食控制	高脂肪膳食	正常大鼠食物
第 7 周结束	STZ 注射	STZ 40mg/kg, 腹腔注射, 一次	柠檬酸盐缓冲液 2mL/kg, 腹腔注射, 一次
第 8-12 周	诱发糖尿病	继续高脂肪膳食	继续正常大鼠食物
第 13-22 周	肽治疗	组 B: PBS 2mL/kg/天, 皮下注射, 每周五天; 组 C: SS-31, 10mg/kg/天, 皮下注射, 每周五天; 组 D: SS-20 10mg/kg/天, 皮下注射, 每周五天	组 A: PBS 2mL/kg/天, 皮下注射, 每周五天
第 23 周	取出器官和组织		

[0261] 制备并给药测试组合物。将 SS-31 或 SS-20 溶解在 0.01M 的 PBS (pH 为 7.0) 中。给出为期 10 周的治疗,每天一次 (一周 5 天) 且皮下注射部位改变。SS-31 和 SS-20 的浓度为 5.0mg/mL。根据每周开始时测量的体重,来调节针对每一个测试动物的注射量 (0.2mL/100g)。将 STZ 溶解在 0.1M 的柠檬酸盐缓冲液 (pH 为 4.5) 中,至浓度为 20mg/mL。腹腔注射 STZ。

[0262] 血糖。利用 ACCU-CHEK® Advantage™ 血糖仪和来自 Roche diagnostics GmbH(曼海姆,德国)的测试条来测试血糖。

[0263] 血液样本处理。通过剪尾巴来收集血液样本。在剪尾巴未能提供足够量的一些情况下,从眼眶凹部收集血液样本。收集到的血液样本在室温下放置 30 分钟以允许凝结,之后用离心机以离心力 1200x g 分离 10 分钟。收集上清液并用离心机在 1200x g 的离心力下再分离 5 分钟以产生血清。血清样本被等分并在 -20℃ 下保存,直到在分析中使用。

[0264] 统计:通过 SPSS(社会科学统计软件包)分析软件执行 t 检验和单因素方差分析的统计分析。

[0265] 根据刚刚描述的实验方案,验证芳香族阳离子肽对治疗 SD 大鼠模型中的代谢综合症的相关病症的作用。结果如下:

[0266] SS-31 或 SS-20 对糖尿病大鼠的体重的作用。在 10 周的治疗时间段后, NRC 组中的体重提高了约 23.3%, HFD/STZ 对照大鼠中的体重增加保持在低至 3.6% (图 1)。对照之下,利用 SS-31 治疗的大鼠表现出体重的逐渐恢复(在第 6 周中 $P < 0.05$, 且从第 7 周到第 10 周 $P < 0.01$), 在第 10 周结束时,提高了 16.3%。利用 SS-20 治疗的大鼠表现出类似的体重增加趋势(在第 10 周结束时,体重增加了 9.0%)。

[0267] SS-31 或 SS-20 对糖尿病大鼠的血糖的作用。与 NRC 大鼠相比, HFD/STZ 媒介物组的大鼠中的血糖在治疗时间段期间保持得相当高。利用 SS-31 和 SS-20 治疗的大鼠在肽治疗第 4 周后显示出对血糖有下调作用(与 HFD/STZ 媒介物组的大鼠相对,分别为 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$, 图 2)。

[0268] 总之,这些研究共同表明芳香族阳离子肽预防或补偿随着营养而发展的代谢障碍。就这一点而言,芳香族阳离子肽的给药可用在预防或治疗与哺乳动物对象中的代谢综合症相关的病症的方法中。

[0269] 实施例 2-SS-20 和 SS-31 对代谢综合症的作用

[0270] 实施该研究以调查 SS-31 和 SS-20 在 10 周的时间段中对代谢综合症的模型的作用。用高脂肪膳食喂食大鼠 6 周并接着给药单剂量的 STZ (30mg/kg)。将所述大鼠保持 HFD, 直到在 STZ 给药之后的 14 周。被喂给正常老鼠食物 6 周的对照大鼠 (NRC) 接着被给药不含 STZ 的柠檬酸盐缓冲液。5 个月之后,利用 SS-31 (10mg/kg、3mg/kg、1mg/kg, 皮下注射, 每日一次)、SS-20 (10mg/kg、3mg/kg, 皮下注射, 每日一次) 或媒介物 (生理盐水) 治疗糖尿病大鼠, 按一周 5 天地治疗 10 周。研究组如下:

[0271] 组 A: HFD/STZ+10mg/kg 的 SS-31, 皮下注射, 每日一次 (周一到周五), $n = 12$;

[0272] 组 B: HFD/STZ+3mg/kg 的 SS-31, 皮下注射, 每日一次 (周一到周五), $n = 12$;

[0273] 组 C: HFD/STZ+1mg/kg 的 SS-31, 皮下注射, 每日一次 (周一到周五), $n = 10$;

[0274] 组 D: HFD/STZ+10mg/kg 的 SS-20, 皮下注射, 每日一次 (周一到周五), $n = 10$;

[0275] 组 E: HFD/STZ+3mg/kg 的 SS-20, 皮下注射, 每日一次 (周一到周五), $n = 10$;

[0276] 组 F: HFD/STZ+ 媒介物, 皮下注射, 每日一次 (周一到周五), $n = 10$;

[0277] 组 G: NRC+ 媒介物, 皮下注射, 每日一次 (周一到周五), $n = 10$ 。

[0278] 表 8. 治疗方案

[0279]

时间段	目的	组 A, B, C, D, E, F	对照组 (G)
第一周	驯化	正常大鼠食物	
第 2-7 周	饮食控制	高脂肪膳食	正常大鼠食物
第 7 周结束	STZ 注射	STZ 30mg/kg, 腹腔注射, 一次	柠檬酸盐缓冲液 2mL/kg, 腹腔注射, 一次
第 8-27 周	诱发糖尿病	继续高脂肪膳食, 直到第 21 周停止	继续正常大鼠食物
第 28-37 周	肽治疗	组 A: MTP-131 10mg/kg/天, 皮下注射, 每周五天; 组 B: MTP-131 3mg/kg/天, 皮下注射, 每周五天; 组 C: MTP-131 1mg/kg/天, 皮下注射, 每周五天; 组 D: SS-20, 10mg/kg/天, 皮下注射, 每周五天; 组 E: SS-20, 3mg/kg/天, 皮下注射, 每周五天; 组 F: PBS, 2mL/kg/天, 皮下注射, 每周五天	组 G: PBS 2mL/kg/天, 皮下注射, 每周五天
第 38 周		取出器官和组织	

[0280] 6 周的 HFD 喂食引起了明显的体重增加 (在 HFD 组中, $452.9 \pm 3.8\text{g}$ 对 $425.5 \pm 7.1\text{g}$, $P < 0.01$) 和 STZ 给药提高了血糖 (HFD/STZ 大鼠中的 $26.5 \pm 0.5\text{mmol/L}$ 对 NRC 大鼠中的 $9.8 \pm 0.5\text{mmol/L}$, $P < 0.001$) 和高血脂 ($P < 0.01$), 表明这些测试对象中出现类似代谢综合症的失调。因此, 针对代谢综合症成功地建立了实验模型。

[0281] 在肽治疗的 10 周时间段期间, 在 SS-31 组或 SS-20 组中未发现明显的体重变化和血糖变化。NRC 组的血糖保持在正常范围中, 而 STZ 治疗组的血糖在肽治疗的 10 周时间段自始至终保持高于 20mmol/L (图 3)。

[0282] 图 3 示出了 HFD/STZ 大鼠在肽治疗之前的 TG (总甘油酯) 含量远高于 NRC 大鼠。在 10 周的肽治疗后, 与 HFD/STZ 组相比, SS-31 治疗的组和 SS-20 治疗的组中的 TG 含量降低。SS-31 治疗组和 SS-20 治疗组中的大鼠的 TG 含量在 10mg/kg 的 SS-31 组中从 $3.77 \pm 0.38\text{mM}$ 降到 $1.75 \pm 0.33\text{mM}$ 、在 3mg/kg 的 SS-31 组中从 $4.17 \pm 0.88\text{mM}$ 降到 $2.46 \pm 0.52\text{mM}$ 、在 10mg/kg 的 SS-20 组中从 $4.17 \pm 1.02\text{mM}$ 降到 $1.97 \pm 0.46\text{mM}$ 、在 3mg/kg 的 SS-20 组中从 $4.66 \pm 1.40\text{mM}$ 降到 $2.43 \pm 0.47\text{mM}$ 、在 3mg/kg 的 SS-20 组中从 $3.90 \pm 0.65\text{mM}$ 降到 $3.70 \pm 1.16\text{mM}$ 。但 HFD/STZ 组中的大鼠的 TG 含量未降低 ($3.90 \pm 0.65\text{mM}$ 对 $3.70 \pm 1.16\text{mM}$)。因此, SS-31 和 SS-20 对脂类代谢有有益作用。

[0283] 实施例 3-SS-20 和 SS-31 对饮食诱导肥胖的作用

[0284] 为了分析 SS-31 和 SS-20 对 C57BL/6 小鼠中的饮食诱导肥胖 (DIO) 的药理作用, 用正常食物或具有表 9 中示出的组分的高脂肪膳食喂食测试对象。

[0285] 表 9. 食物组分

[0286]

配料	NRC		高脂肪膳食 (HFD)	
	gm%	kcal% (千卡%)	gm%	kcal%
蛋白质	19	20	26	20
碳水化合物	67	70	26	20
脂肪 (猪油)	4	10	35	60

[0287] 在驯化若干天之后,称重动物并将它们随机地分配到以下治疗组。

[0288] 表 10. 治疗组

[0289]

组	动物类型	动物 #	治疗	剂量	途径
A	正常	10	媒介物	(N/A)	皮下
B	DIO	10	媒介物	(N/A)	皮下
C	DIO	12	罗格列酮	2mg/kg	口服
D	DIO	12	SS-31	3mg/kg	皮下
E	DIO	12	SS-31	10mg/kg	皮下
F	DIO	12	SS-20	3mg/kg	皮下
G	DIO	12	SS-20	10mg/kg	皮下
H	DIO	12	SS-31+ 罗格列酮	3mg/kg+2mg/kg	皮下 + 口服
I	DIO	12	SS-20+ 罗格列酮	3mg/kg+2mg/kg	皮下 + 口服

[0290] 从治疗的第一天开始,组 B 到组 I 中的动物转换为 HFD。在整个治疗时间段期间,在特定天中执行以下行为。

[0291] 表 11. 治疗方案

[0292]

行为		进行日期
体重测量		从第 1 天开始, 每周
血液样本收集	TC 测量	第 0、14、29、87、103 天 (空腹)
	TG 测量	第 103 天 (空腹)
	HDL 测量	第 103 天 (空腹)
	LDL 测量	第 103 天 (空腹)
	ALT 测量	第 103 天 (空腹)
	胰岛素测量	(TBD)
血糖值测量	空腹	第 8、22、93 天
	餐后	第 87、99 天
IPGTT		第 36、100 天
IPITT		第 43、107 天
处死动物*	脂肪重量	第 23、109 天
	肝脏重量	第 23、109 天
	肌酸酐测量	第 23 天
	肾脏重量	第 109 天
	取出的其他组织	第 109 天

[0293] * 在第 23 天中, 所有组中处死四个动物。剩余的所有动物在活体研究的最后一天 (第 109 天) 处死。

[0294] 剂量制备 & 给药。每天一次 (每周 5 天) 且改变注射部位地进行治疗。以 3mg/kg 剂量的 SS-31 和 SS-20 的浓度为 0.6mg/ml, 以 10mg/kg 剂量的 SS-31 和 SS-20 的浓度为 2mg/ml。根据在每周开始时测量的体重调整每一测试动物的治疗量 (0.05ml/10g 用于皮下, 0.2ml/10g 用于口服)。

[0295] 血液样本收集。根据美迪西普亚医药科技 (上海) 有限公司 (Medicilon/MPI Preclinical Research (Shanghai) LLC) 的血液收集技术的标准操作规程 (SOP), 通过剪尾巴来收集血液样本。在剪尾巴未能提供足够量的一些情况下, 还从眼眶凹部收集血液样本。收集到的血液样本在室温下放置 1 小时以允许凝结, 然后用离心机以离心力 2000x g 分离 10 分钟。收集上清液并用离心机在 2000x g 的离心力下再分离 10 分钟以产生血清。部分血清样本直接用于总胆固醇 (TC) 分析, 剩余部分在 -20℃ 下保存, 直到在胰岛素分析中使用。

[0296] 血清胰岛素、甘油三酸酯 (TG) 和总胆固醇 (TC)。利用 Millipore 公司的大鼠 / 小鼠胰岛素 ELISA 试剂盒测量血清胰岛素含量 (Catalog#EZRMI-13K, St. Charles, 密苏里, 美国)。利用自动的生化分析仪测量血清 TG 含量。图 5A 是示出了治疗 14 周之后肽治疗对饮食诱发肥胖的小鼠模型中的甘油三酸酯的作用的示图。图 5B 是示出了治疗 14 周之后肽治疗对饮食诱发肥胖的小鼠模型中的总胆固醇的作用的示图。图 5C 是治疗 14 周之后肽治疗对饮食诱发肥胖的小鼠模型中的 HDL 胆固醇的作用的示图。

[0297] IPGTT。根据美迪西普亚医药科技 (上海) 有限公司 (Medicilon/MPI Preclinical Research (Shanghai) LLC) 的腹腔 (IP) 葡萄糖耐量测试的标准操作规程 (SOP), 执行 IPGTT。使小鼠整夜禁食, 之后在下一早晨评估血糖的基线水平。之后, 将 1g/kg 的 D- 葡萄糖腹腔注射提供给每一动物, 接着在腹腔注射后的 15 分钟、30 分钟、60 分钟和 120 分钟时测量血糖值。结果示在以下的表 12 中, 并且表明 SS-20 和 SS-31 明显地提高肥胖小鼠模型的葡萄

糖耐受性。

[0298] 表 12. 葡萄糖耐受性

[0299]

组	n	第 5 周
食物 + 媒介物	6	1213.6 ± 54.1
DIO = 媒介物	6	1719.7 ± 56.8 ^{###}
DIO 2mg/kg 的罗格列酮	8	1487.5 ± 44.2*
DIO 3mg/kg 的 SS31	8	1460.6 ± 64.1**
DIO 10mg/kg 的 SS31	8	1584.3 ± 78.3
DIO 3mg/kg 的 SS20	8	1534.1 ± 53.3*
DIO 10mg/kg 的 SS20	8	1494.5 ± 54.4*
DIO 3mg/kg 的 SS31+2mg/kg 的罗格列酮	8	1597.3 ± 54.0
DIO 3mg/kg 的 SS20+2mg/kg 的罗格列酮	8	1673.8 ± 63.7
###P<0.001 对食物 + 媒介物		
*P<0.05, **P<0.01 对 DIO+ 媒介物		

[0300] 图 5A 是示出治疗 14 周之后肽治疗对腹部脂肪的作用的示图。图 5B 是示出了治疗 14 周之后肽治疗对皮下脂肪的作用的示图。结果显示,利用 SS-31 或 SS-20 治疗能够降低测试对象的腹部脂肪指数和皮下脂肪指数。

[0301] 实施例 4-SS-31 和 SS-20 对 STZ 糖尿病模型中的代谢综合症的作用

[0302] 该研究的目的是研究 SS-31 或 SS-20 防止雄性 Sprague-Dawley 大鼠中的链脲佐菌素 (STZ) 诱发的糖尿病并发症和代谢综合症的保护性作用。

[0303] 通过给药高剂量的 STZ (30mg/kg) 来形成第 1 类型糖尿病的大鼠模型。喂食正常食物的同一批大鼠用作正常对照。研究组包括:组 A:STZ+10mg/kg 的 SS-31,皮下注射,每周一次 (周一到周五),n = 11;组 B:STZ+10mg/kg 的 SS-20,皮下注射,每周一次 (周一到周五),n = 11;组 C:STZ+ 媒介物,皮下注射,每周一次 (周一到周五),n = 10;组 D:NRC+ 媒介物,皮下注射,每周一次 (周一到周五),n = 10。表 13 中示出治疗方案。

[0304] 表 13. 治疗方案

[0305]

时间段	目的	糖尿病组 (A, B, C)	对照组 (D)
第 1 到 3 周	驯化	正常大鼠食物	
第 3 周结束	STZ 注射	STZ 65mg/kg, 腹腔注射, 一次	柠檬酸盐缓冲液 2mL/kg, 腹腔注射, 一次
第 4-18 周	诱发糖尿病	正常大鼠食物	
第 19-28 周	肽治疗	组 A: MTP-131 10mg/kg/天, 皮下注射, 每周五天; 组 B: SS-20, 10mg/kg/天, 皮下注射, 每周五天; 组 C: 生理盐水 2mL/kg/天, 皮下注射, 每周五天;	组 D: 生理盐水 2mL/kg/天, 皮下注射, 每周五天
第 29 周	取出器官和组织		

[0306] 将所述组合物溶解在生理盐水中。给出每天一次（每周 5 天）且改变注射部位的治疗。以 10mg/kg 剂量的 SS-31 和 SS-20 的浓度为 5mg/ml。根据在每周开始时测量的每一测试动物的体重调整所述每一测试动物的治疗量（0.2ml/100g 用于皮下）。将 STZ 溶解在 0.1M 的柠檬酸盐缓冲液（pH 为 4.5），至浓度为 20mg/mL。腹腔注射 STZ。

[0307] 图 6 示出了在肽治疗 2 周或 4 周后，SS-31 组和 SS-20 组中的 TG 含量的提高比 STZ/ 生理盐水组低。其表明 SS-31 和 SS-20 对调节脂类代谢有作用。

[0308] 实施例 5- 通过芳香族阳离子肽预防和治疗 Zucker 大鼠模型中的代谢综合症

[0309] 为了进一步在一方面证实预防代谢综合症且在另一方面治疗代谢综合症，在肥胖（fa/fa）的 Zucker 大鼠上测试本发明的芳香族阳离子肽，所述 Zucker 大鼠为饮食诱导代谢综合症的模型。与喂食高脂肪 6 周的 Sprague-Dawley 大鼠模型（用在实施例 1 中）相比，该肥胖的 Zucker 大鼠发展成为更大程度的肥胖和胰岛素抵抗。

[0310] 首先，为了检验芳香族阳离子肽对预防代谢综合症的作用，年幼的 Zucker 大鼠（约 3 到 4 周大）被给药芳香族阳离子肽（例如，SS-20 或 SS-31）大约 6 周。当这些年幼的大鼠尚未表现出代谢综合症的症状或症候时，它们提供了用于评估预防代谢综合症的方法的功效的有用模型。通过腹腔或口服给药（即喝水或者强饲）来将 SS-31 或 SS-20（1.0-5.0 毫克 / 千克体重）给药至大鼠。

[0311] 预测到，SS-31 给药将减弱或预防通常在肥胖（fa/fa）的 Zucker 大鼠中发展的代谢综合症的症状。测量到的结果包括体重、空腹血糖值 / 胰岛素 / 游离脂肪酸、葡萄糖耐受性（OGTT）、体内肌肉胰岛素敏感性（潜伏）、胰岛素信号的标记（例如，Akt-P、IRS-P）、对通透性纤维的线粒体功能研究（例如，呼吸作用或 H₂O₂ 排放）、细胞内氧化压力的标记（例如，脂质过氧化、GSH/GSSG 比或顺乌头酸酶活性）以及线粒体酶活性。在对照大鼠和被给药 SS-31 的 fa/fa 大鼠之间进行比较。对照包括未被给药 SS-31 的野生型的且 fa/fa 大鼠。通过本发明的芳香族阳离子肽成功预防代谢综合症是由与代谢综合症相关的以上列出的标记中的一个或多个标记的减少表示的。

[0312] 第二，为了检验本发明的芳香族阳离子肽对治疗代谢综合症的作用，年幼的 Zucker 大鼠（约 12 周大）被给药 SS-31 大约 6 周。当这些大鼠表现出肥胖和代谢综合症的症状时，它们提供了用于评估治疗胰岛素抵抗的的方法的功效的有用模型。通过腹腔或

口服给药（即喝水或强饲）来将 SS-31 (1.0–5.0 毫克 / 千克体重) 给药至大鼠。

[0313] 预测到, SS-31 给药将改善或减少通常在这些年长的肥胖 (fa/fa) 的 Zucker 大鼠中发展的代谢综合症。测量到的结果包括体重、空腹血糖值 / 胰岛素 / 游离脂肪酸、葡萄糖耐受性 (OGTT)、体内肌肉胰岛素敏感性 (潜伏)、胰岛素信号的标记 (例如, Akt-P、IRS-P)、通透性纤维的线粒体功能 (呼吸作用或 H_2O_2 排放)、细胞内氧化压力的标记 (例如, 脂质过氧化、GSH/GSSG 比或顺乌头酸酶活性) 以及线粒体酶活性。在对照大鼠和被给药 SS-31 的 fa/fa 大鼠之间进行比较。对照包括未被给药 SS-31 的野生型的且 fa/fa 的大鼠。通过本发明的芳香族阳离子肽成功治疗代谢综合症是由与代谢综合症相关的以上列出的标记中的一个或多个标记的减少表示的。

[0314] 等同物

[0315] 本发明不局限在本申请中描述的特定实施方式, 这些特定实施方式用作本发明的单独的方面的单一说明。本领域技术人员将理解, 可以不脱离本申请的精神和范围的情况下进行各种修改和改动。根据以上描述, 除了本文中列举的以外, 本公开的范围内的功能上等同的方法和装置对于本领域的本领域技术人员而言是明显的。这样的改动和修改意欲落在所附权利要求的范围内。本公开仅受所附权利要求以及与此权利要求的范围所等同的全部范围限制。应当理解, 本公开不限于特定的方法、试剂、组合物和生物系统, 当然, 所述方法、试剂、组合物和生物系统可以变化。还可理解, 本文中使用的术语仅用于描述特定的实施方式, 不用来是限制性的。

[0316] 此外, 在以马库什组的方式描述本公开的特征或方面的情况下, 本领域的本领域技术人员将意识到, 本公开也是以马库什组中的任一单个成员或亚组成员的方式所描述的。

[0317] 本领域的本领域技术人员将理解, 为了任何或所有目的, 尤其是提供说明书支持方面, 本文中描述的所有范围还可涵盖任何且所有的可能子范围及其子范围的组合。任何列出的范围可以容易地看作充分公开并使其能够同一范围分成至少等半、三分之一、四分之一、五分之一、十分之一等的子范围。作为非限制性实施例, 本文中描述的每一范围可以容易地分成下三分之一、中三分之一和上三分之一等。本领域技术人员还将理解, 所有的语言比如“上至”“至少”、“大于”、“小于”等包括所列出的本数且适用于可以随后被分成以上上述所提及子范围的范围。最后, 本领域技术人员将理解, 范围包括每一单个成员。因此, 例如, 具有 1 到 3 个单元的组指的是具有 1 个单元、2 个单元或 3 个单元的组。类似地, 具有 1 到 5 个单元的组指的是具有 1 个单元、2 个单元、3 个单元、4 个单元或 5 个单元的组, 等等。

[0318] 本文所参考的或引用的所有专利、专利申请、在先申请和出版物在不与本说明书的明确教导相矛盾的条件下通过引用而全文并入本文, 包括所有的附图和表格。

[0319] 在以下的权利要求范围内提出其他的实施方式。

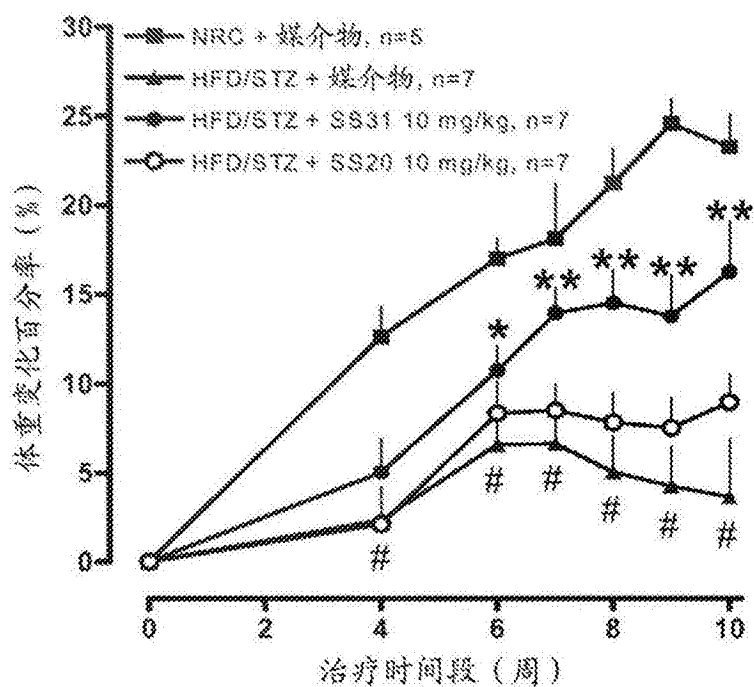


图 1

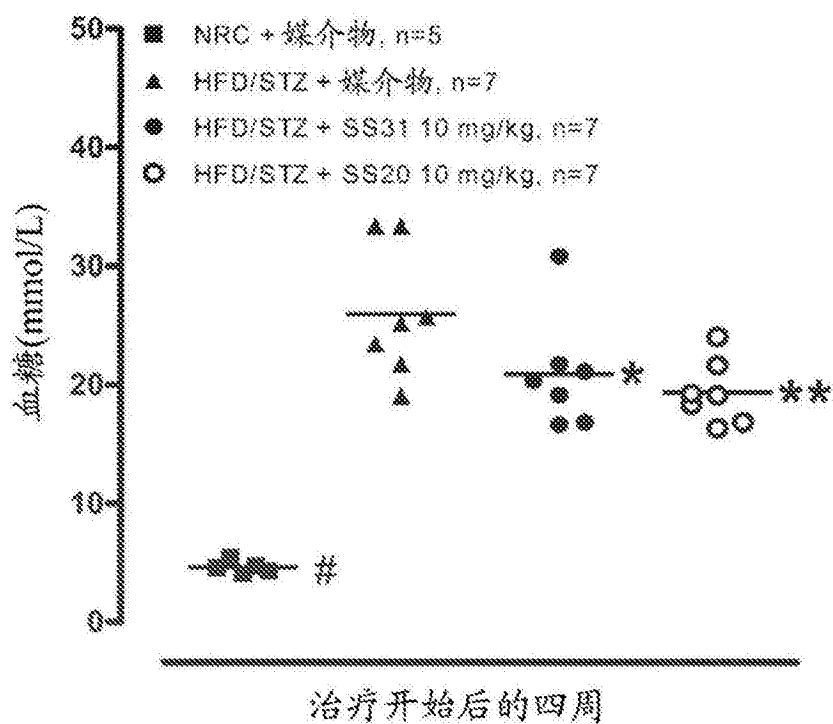


图 2

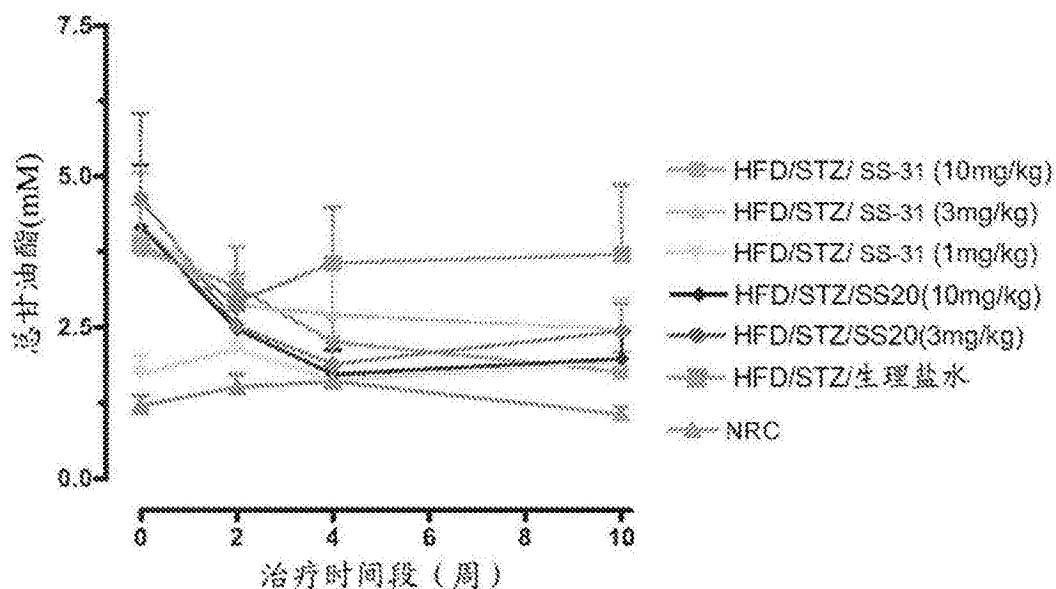
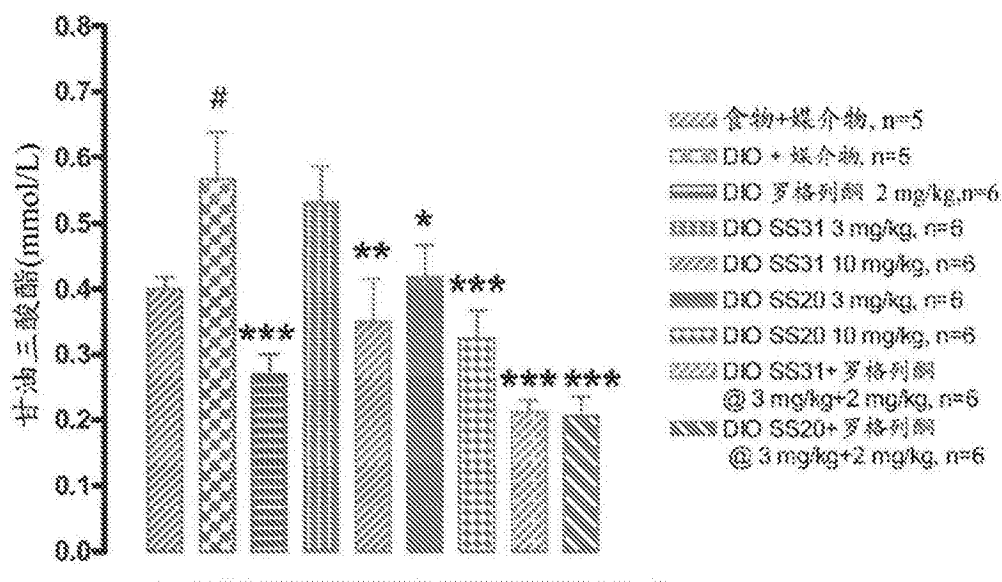


图 3



$P < 0.05$ 对 食物+媒介物

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 对 DIO + 媒介物

图 4A

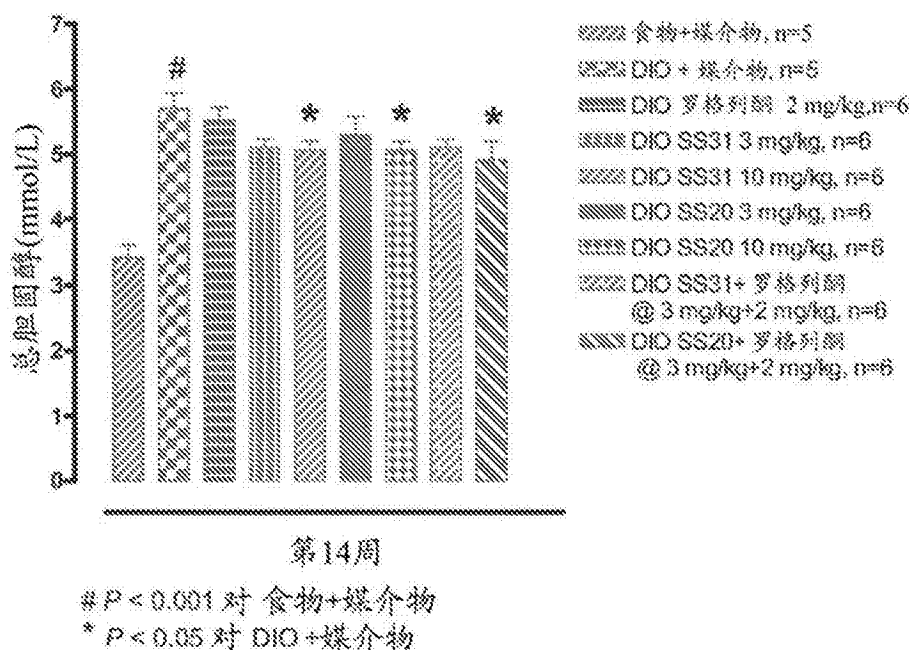


图 4B

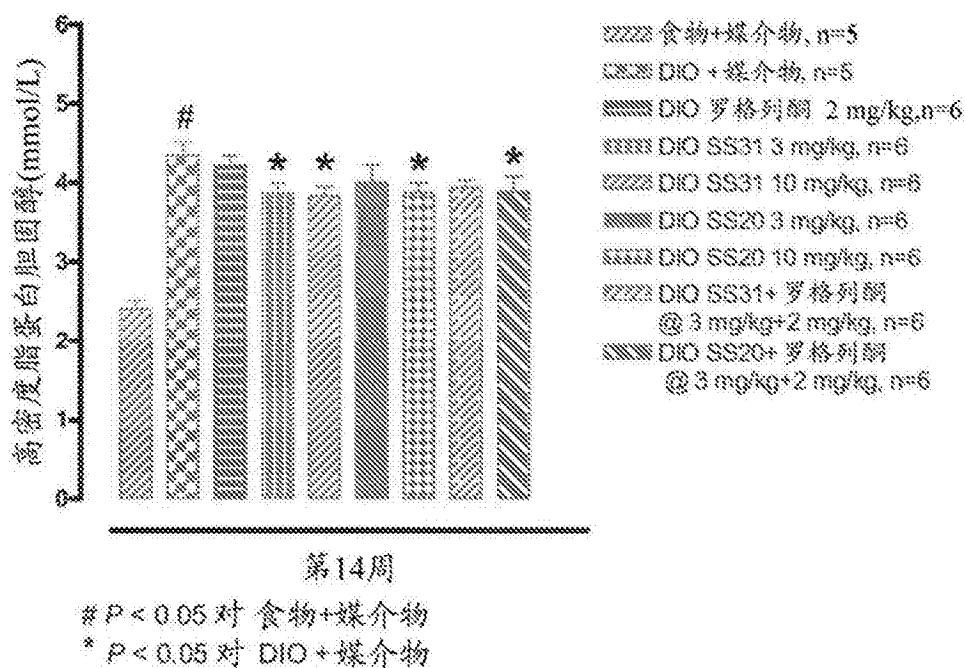


图 4C

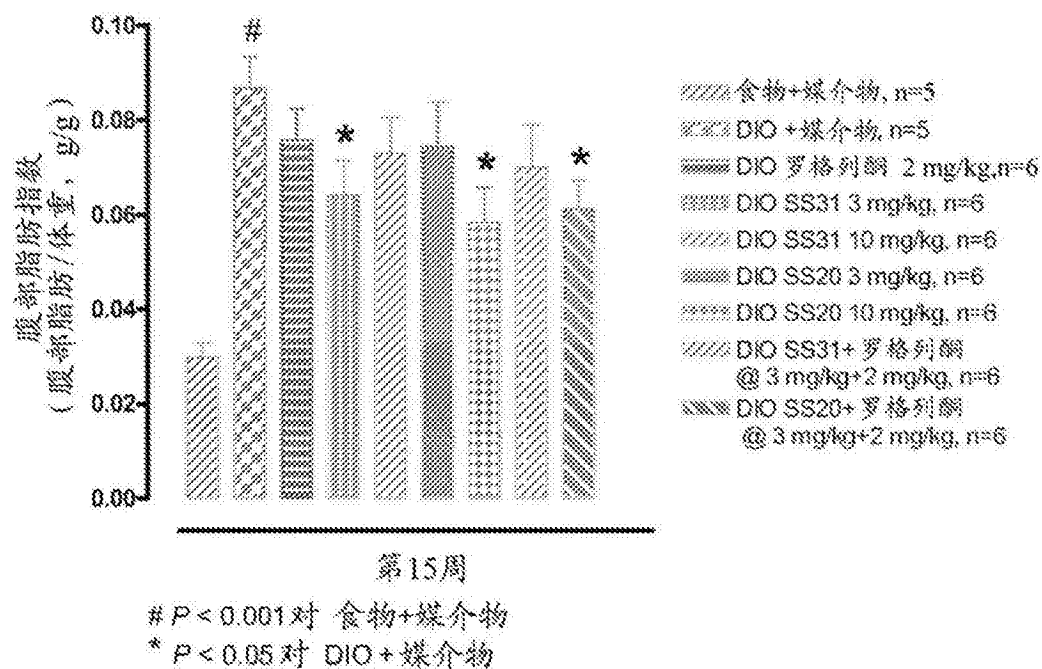


图 5A

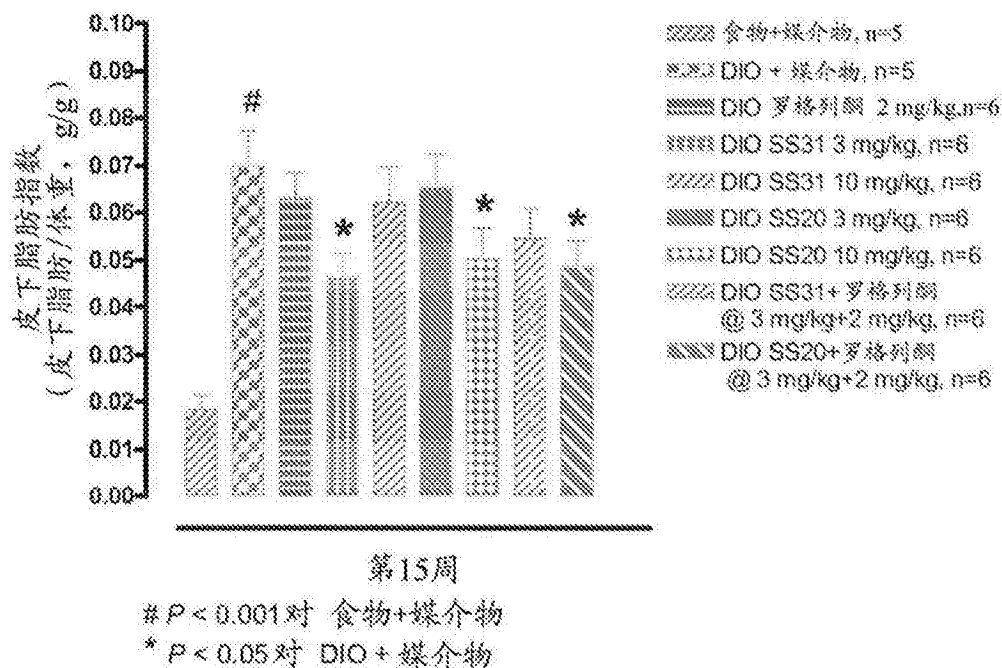


图 5B

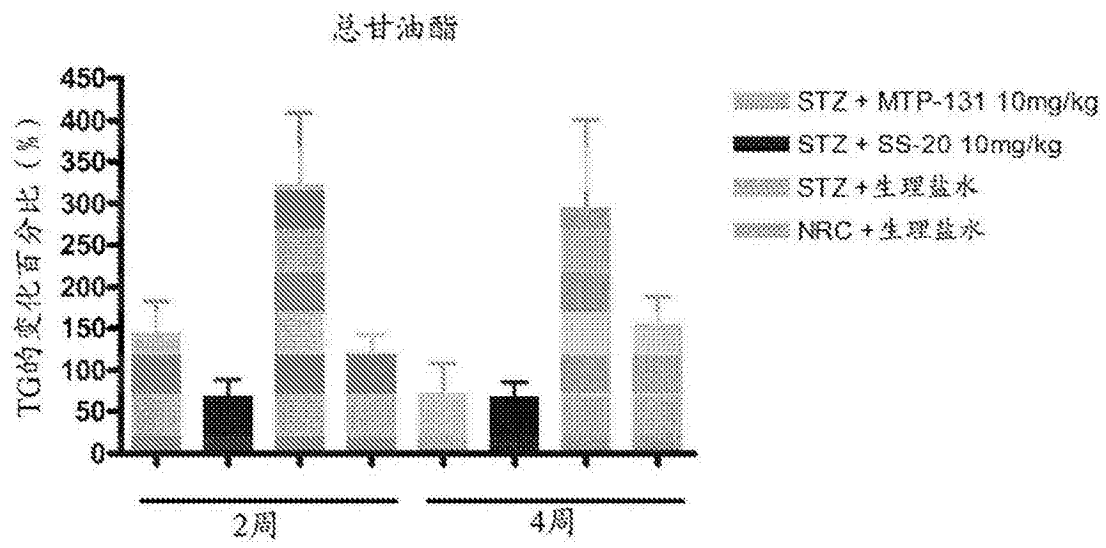


图 6