

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61K 38/00 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580039224.2

[43] 公开日 2007 年 10 月 31 日

[11] 公开号 CN 101065137A

[22] 申请日 2005.9.16

[21] 申请号 200580039224.2

[30] 优先权

[32] 2004.9.16 [33] US [31] 60/610,711

[86] 国际申请 PCT/US2005/033205 2005.9.16

[87] 国际公布 WO2006/034056 英 2006.3.30

[85] 进入国家阶段日期 2007.5.16

[71] 申请人 加利福尼亚大学董事会

地址 美国加利福尼亚州

共同申请人 亚拉巴马大学研究基金会

[72] 发明人 阿兰·M·福格尔曼

穆罕麦德·纳瓦布

加塔达哈利·M·阿南萨拉梅亚

[74] 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

代理人 封新琴 巫肖南

权利要求书 7 页 说明书 86 页 附图 25 页

[54] 发明名称

用于改善动脉粥样硬化和其它病变的 G 型多肽和其它剂

[57] 摘要

本发明提供了新型的多肽和其它剂，其可改善动脉粥样硬化和/或其它以炎症反应为特征的病变的一种或多种症状。 在一些实施例中，该多肽类似于载脂蛋白 J 的 G* 两性螺旋。 该多肽高度稳定，容易通过口服途径施用。

1. 改善一种或多种炎症症状的肽，其中：

所述肽包括氨基酸序列 LAEYHAK(SEQ ID NO:8)或 KAHYEAL(SEQ ID NO:644)；且

所述肽包含至少一个 D 氨基酸和/或至少一个保护基团。

2. 权利要求 1 的肽，其中所述肽包括至少一个 D 氨基酸。

3. 权利要求 2 的肽，其中所述肽全部由 D 氨基酸构成。

4. 权利要求 1 的肽，其中所述肽包含至少一个保护基团。

5. 权利要求 4 的肽，其中所述肽在每个末端包含至少一个保护基团。

6. 权利要求 4 的肽，其中所述保护基团从下面的保护基团中选择：酰胺、3-20 碳烷基、Fmoc, *t*-boc, 9-芴乙酰基、1-芴羧基、9-芴羧基、9-芴酮-1-羧基、苄氧羰基、咕吨基(Xan)、三苯甲基(Trt)、4-甲基三苯甲基(Mtt)、4-甲氧三苯甲基(Mmt)、4-甲氧-2,3,6-三甲基-苯磺酰基(Mtr)、均三甲苯-2-磺酰基(Mts)、4,4-二甲氧二苯甲基(Mbh)、甲苯磺酰基(Tos)、2,2,5,7,8-五甲基色满-6-磺酰基(Pmc)、4-甲基苄基(MeBzl)、4-甲氧苄基(MeOBzl)、苄氧基(BzlO)、苄基(Bzl)、苯甲酰基(Bz)、3-硝基-2-吡啶硫基(Npys)、1-(4,4-二甲基-2,6-二氧亚环己基)乙基(Dde)、2,6-二氯苄基(2,6-DiCl-Bzl)、2-氯苄氧羰基(2-Cl-Z)、2-溴苄氧羰基(2-Br-Z)、苄氧甲基(Bom)、环己氧基(cHxO)、叔-丁氧甲基(Bum)、叔-丁氧基(tBuO)、叔-丁基(tBu)、乙酰基(Ac)、丙基、丁基、戊基、己基、N-甲基邻氨基苯甲酰基、聚乙二醇(PEG)和三氟乙酰基(TFA)。

7. 权利要求 3 的肽，其中所述肽包含至少一个保护基团。

8. 权利要求 3 的肽，其中所述多肽在每个末端包含至少一个保护基团。

9. 改善一种或多种炎症症状的肽，其中所述肽：

长度范围是大约 3 到大约 10 个氨基酸；

包含如下所述的氨基酸序列，该序列包含与一个或两个芳香、疏水或不带电极性氨基酸交替出现的酸性或碱性氨基酸；

包含疏水末端氨基酸或带疏水保护基团的末端氨基酸；

不是全部由 L 氨基酸构成的序列 LAEYHAK (SEQ ID NO:8)；其中所述肽将促炎 HDL 转变成抗炎 HDL，或者使抗炎 HDL 更加抗炎。

10. 改善一种或多种炎症症状的肽，其中所述肽包含如表 3 或 14 所示肽

的氨基酸序列或其多联体。

11. 权利要求 10 的肽, 其中所述肽包含至少一个 D 氨基酸。

12. 权利要求 11 的肽, 其中所述肽全部由 D 氨基酸构成。

13. 权利要求 10 的肽, 其中所述肽包含至少一个保护基团。

14. 权利要求 13 的肽, 其中所述肽在每个末端包含至少一个保护基团。

15. 权利要求 13 的肽, 其中所述保护基团从下面的保护基团中选择: 酰胺、3-20 碳烷基、Fmoc, *t*-boc, 9-芴乙酰基、1-芴羧基、9-芴羧基、9-芴酮-1-羧基、苄氧羰基、咕吨基(Xan)、三苯甲基(Trt)、4-甲基三苯甲基(Mtt)、4-甲氧三苯甲基(Mmt)、4-甲氧-2,3,6-三甲基-苯磺酰基(Mtr)、均三甲苯-2-磺酰基(Mts)、4,4-二甲氧二苯甲基(Mbh)、甲苯磺酰基(Tos)、2,2,5,7,8-五甲基色满-6-磺酰基(Pmc)、4-甲基苄基(MeBzl)、4-甲氧苄基(MeOBzl)、苄氧基(BzlO)、苄基(Bzl)、苯甲酰基(Bz)、3-硝基-2-吡啶硫基(Npys)、1-(4,4-二甲基-2,6-二氧亚环己基)乙基(Dde)、2,6-二氯苄基(2,6-DiCl-Bzl)、2-氯苄氧羰基(2-Cl-Z)、2-溴苄氧羰基(2-Br-Z)、苄氧甲基(Bom)、环己氧基(cHxO)、叔-丁氧甲基(Bum)、叔-丁氧基(*t*BuO)、叔-丁基(*t*Bu)、乙酰基(Ac)、丙基、丁基、戊基、己基、N-甲基邻氨基苯甲酰基、聚乙二醇(PEG)和三氟乙酰基(TFA)。

16. 根据权利要求 12 的肽, 其中所述肽包含至少一个保护基团。

17. 根据权利要求 16 的肽, 其中所述肽在每个末端包含至少一个保护基团。

18. 改善一种或多种炎症症状的肽, 其中:

所述多肽包括选自下组的氨基酸序列: DMT-Arg-Phe-Lys(SEQ ID NO:1), DMT-Arg-Glu-Leu(SEQ ID NO:2), Lys-Phe-Arg-DMT (SEQ ID NO:3)和 Leu-Glu-Arg-DMT(SEQ ID NO:4), 其中 DMT 是二甲基酪氨酸。

19. 权利要求 18 的肽, 其中所述肽包含至少一个 D 氨基酸。

20. 权利要求 19 的肽, 其中所述肽全部由 D 氨基酸构成。

21. 权利要求 18 的肽, 其中所述 Arg 是 D 氨基酸。

22. 权利要求 21 的肽, 其中所述肽在每个末端包含至少一个保护基团。

23. 权利要求 21 的肽, 其中所述保护基团从下面的保护基团中选择: 酰胺、3-20 碳烷基、Fmoc, *t*-boc, 9-芴乙酰基、1-芴羧基、9-芴羧基、9-芴酮-1-羧基、苄氧羰基、咕吨基(Xan)、三苯甲基(Trt)、4-甲基三苯甲基(Mtt)、4-甲氧三苯甲基(Mmt)、4-甲氧-2,3,6-三甲基-苯磺酰基(Mtr)、均三甲苯-2-磺酰基

(Mts)、4,4-二甲氧二苯甲基(Mbh)、甲苯磺酰基(Tos)、2,2,5,7,8-五甲基色满-6-磺酰基(Pmc)、4-甲基苄基(MeBzl)、4-甲氧苄基(MeOBzl)、苄氧基(BzlO)、苄基(Bzl)、苯甲酰基(Bz)、3-硝基-2-吡啶硫基(Npys)、1-(4,4-二甲基-2,6-二氧亚环己基)乙基(Dde)、2,6-二氯苄基(2,6-DiCl-Bzl)、2-氯苄氧羰基(2-Cl-Z)、2-溴苄氧羰基(2-Br-Z)、苄氧甲基(Bom)、环己氧基(cHxO)、叔-丁氧甲基(Bom)、叔-丁氧基(tBuO)、叔-丁基(tBu)、乙酰基(Ac)、丙基、丁基、戊基、己基、N-甲基邻氨基苯甲酰基、聚乙二醇(PEG)和三氟乙酰基(TFA)。

24. 权利要求 19 的肽，其中所述肽包含至少一个保护基团。

25. 权利要求 24 的肽，其中所述肽在每个末端包含至少一个保护基团。

26. 权利要求 18 的肽，其中所述肽从下面选择：Boc 二甲基酪氨酸-D-Arg-Phe-Lys(OtBu) (SEQ ID NO:5)及 Boc 二甲基酪氨酸-Arg-Glu-Leu(OtBu) (SEQ ID NO:6)。

27. 权利要求 9、1、10 和 18 中任一项的肽，其中所述炎症是动脉粥样硬化。

28. 药物制剂，包含权利要求 9-26 任一项的肽和药学可接受的赋形剂。

29. 权利要求 28 的药物制剂，其中该肽在经时释放制剂中。

30. 权利要求 28 的药物制剂，其中该制剂配制为单位剂量制剂。

31. 权利要求 28 的药物制剂，其中该制剂配制为口服施用。

32. 权利要求 28 的药物制剂，其中该制剂配制为供通过选自下组的途径施用：口服施用、鼻内施用、直肠施用、腹膜内注射、血管内注射、皮下注射、经皮施用、吸入施用和肌肉内注射。

33. 一种改善哺乳动物体内动脉粥样硬化症状的方法，所述方法包括向所述哺乳动物施用一种或多种根据权利要求 9-26 中任一项的肽。

34. 权利要求 33 的方法，其中所述肽处于药学可接受的赋形剂中。

35. 权利要求 33 的方法，其中所述肽处于适合于口服施用的药学可接受赋形剂中。

36. 权利要求 33 的方法，其中所述肽作为单位剂量制剂施用。

37. 权利要求 33 的方法，其中所述施用包括通过选自下组的途径施用所述肽：口服施用、鼻内施用、直肠施用、腹膜内注射、血管内注射、皮下注射、经皮施用、吸入施用和肌肉内注射。

38. 权利要求 33 的方法，其中所述哺乳动物是被诊断为具有动脉粥样硬

化的一种或多种症状的哺乳动物。

39. 根据权利要求 33 的方法，其中所述哺乳动物是被诊断具有中风或动脉粥样硬化的危险性的哺乳动物。

40. 根据权利要求 33 的方法，其中所述哺乳动物是人。

41. 根据权利要求 33 的方法，其中所述哺乳动物是非人哺乳动物。

42. 一种减轻或预防与哺乳动物中对炎症的急性期反应相关联的冠状动脉并发症的方法，其中所述冠状动脉并发症是动脉粥样硬化症状，所述方法包括向具有所述急性期反应或有所述急性期反应的危险性的哺乳动物施用一种或多种根据权利要求 9-26 中任一项的肽。

43. 权利要求 42 的方法，其中所述肽处于药学可接受的赋形剂中。

44. 权利要求 42 的方法，其中所述肽处于适合于口服施用的药学可接受赋形剂中。

45. 权利要求 42 的方法，其中所述肽作为单位剂量制剂施用。

46. 权利要求 42 的方法，其中所述施用包括通过选自下组的途径施用所述多肽：口服施用、鼻内施用、直肠施用、腹膜内注射、血管内注射、皮下注射、经皮施用和肌肉内注射。

47. 权利要求 42 的方法，其中所述哺乳动物是被诊断为具有动脉粥样硬化的一种或多种症状的哺乳动物。

48. 权利要求 42 的方法，其中所述哺乳动物是被诊断为具有中风或动脉粥样硬化危险性的哺乳动物。

49. 权利要求 42 的方法，其中所述哺乳动物是人。

50. 权利要求 42 的方法，其中所述哺乳动物是非人哺乳动物。

51. 改善哺乳动物中糖尿病症状的方法，所述方法包括向所述哺乳动物施用一种或多种权利要求 9-26 中任一项的肽。

52. 权利要求 51 的方法，其中所述肽处于药学可接受的赋形剂中。

53. 权利要求 51 的方法，其中所述肽处于适合于口服施用的药学可接受赋形剂中。

54. 权利要求 51 的方法，其中所述肽作为单位剂量制剂施用。

55. 权利要求 51 的方法，其中所述施用包括通过选自下组的途径施用所述肽：口服施用、鼻内施用、直肠施用、腹膜内注射、血管内注射、皮下注射、经皮施用和肌肉内注射。

56. 权利要求 51 的方法, 其中所述哺乳动物是被诊断为具有动脉粥样硬化的一种或多种症状的哺乳动物。

57. 权利要求 51 的方法, 其中所述哺乳动物是被诊断为具有中风或动脉粥样硬化的危险性的哺乳动物。

58. 权利要求 51 的方法, 其中所述哺乳动物是人。

59. 权利要求 51 的方法, 其中所述哺乳动物是非人哺乳动物。

60. 抑制哺乳动物中再狭窄的方法, 所述方法包括向所述哺乳动物施用表 1-15 所示的一种或多种肽和/或如本文所述的有机小分子。

61. 权利要求 60 的方法, 其中所述肽包含 4F 的氨基酸序列 (SEQ ID NO:13)。

62. 权利要求 60 的方法, 其中所述肽处于药学可接受的赋形剂中。

63. 权利要求 60 的方法, 其中所述肽处于适合口服施用的药学可接受赋形剂中。

64. 权利要求 60 的方法, 其中所述肽作为单位剂量制剂施用。

65. 权利要求 60 的方法, 其中所述施用包括通过选自下组的途径施用所述多肽: 口服施用、鼻内施用、直肠施用、腹膜内注射、血管内注射、皮下注射、经皮施用和肌肉内注射。

66. 权利要求 60 的方法, 其中所述哺乳动物是被诊断为具有一种或多种动脉粥样硬化症状的哺乳动物。

67. 权利要求 60 的方法, 其中所述哺乳动物是被诊断为具有中风或动脉粥样硬化的危险性的哺乳动物。

68. 根据权利要求 51 的方法, 其中所述哺乳动物是人。

69. 根据权利要求 51 的方法, 其中所述哺乳动物是非人哺乳动物。

70. 权利要求 9-26 任一项的肽, 用于治疗选自下组的病症: 动脉粥样硬化、再狭窄、与哺乳动物中对炎症的急性期反应相关联的冠状动脉并发症, 和糖尿病。

71. 权利要求 9-26 中任一项的多肽在制造用于治疗性或预防性处理选自下组的病症的药物中的用途: 动脉粥样硬化、再狭窄、与哺乳动物炎症急性期反应相关联的冠状动脉并发症, 和糖尿病。

72. 一种用于递送药物到体内的血管的支架, 包括: 支架框, 包含多个

形成于其中的储库；和位于储库内的一种或多种如表 1-15 所示的活性剂和/或如本文所述的有机小分子。

73. 权利要求 72 的支架，其中所述活性剂是包含 4F 氨基酸序列(SEQ ID NO:13)的肽。

74. 权利要求 72 的支架，其中所述活性剂包含在聚合物内。

75. 权利要求 72 的支架，其中该支架框包含金属基材或聚合物基材之一。

76. 权利要求 72 的支架，其中该支架框基材包含选自下组的材料：不锈钢、镍钛金属互化物、钽、MP35N 合金、铂、钛、合适的生物相容性合金、合适的生物相容性聚合物及其组合。

77. 权利要求 72 的支架，其中该储库包含微孔。

78. 权利要求 77 的支架，其中该微孔的直径为大约 20 微米或更小。

79. 权利要求 77 的支架，其中该微孔的直径在大约 20 微米到大约 50 微米的范围内。

80. 权利要求 77 的支架，其中该微孔的深度在大约 10 到大约 50 微米的范围内。

81. 权利要求 77 的支架，其中该微孔的深度为大约 50 微米。

82. 权利要求 77 的支架，其中该微孔延伸穿过支架框，在支架的内表面上有开口，并在支架的外表面上有开口。

83. 权利要求 77 的支架，其进一步包括：设置在支架框内表面上的盖层，该盖层覆盖所述通孔的至少一部分，并提供屏障特性，以控制药物聚合物中的药物从支架框内表面洗脱的速度。

84. 权利要求 72 的支架，其中该储库包含沿着支架框外表面的通道。

85. 权利要求 74 的支架，其中所述聚合物包括具有第一药学特性的第一药物聚合物的第一层，并且所述聚合物层包括具有第二药学特性的第二药物聚合物。

86. 权利要求 74 的支架，还包括位于包含活性剂的聚合物之间的屏障层。

87. 权利要求 72 的支架，还包括：与支架框偶联的导管。

88. 权利要求 87 的支架，其中该导管包括用于扩张支架的球囊。

89. 权利要求 87 的支架，其中该导管包括可收缩而使支架得以扩张的外壳。

90. 一种制造药物-聚合物支架的方法，包括：提供支架框；在支架框内

切出多个储库；向至少一个储库施加包含一种或多种本文所述活性剂的组合物；和干燥该组合物。

91. 根据权利要求 90 的方法，进一步包括向干燥的组合物施加聚合物层；和干燥该聚合物层。

92. 一种用于治疗血管病症的方法，包括：
将根据权利要求 72 的支架定位在身体血管内；
扩张该支架；和
从支架的至少一个表面洗脱至少一种活性剂。

93. 一种合成肽的方法，所述方法包括：
提供所述肽的至少 3 个不同的肽片段亚序列；和
在溶液相中偶联所述肽片段亚序列，以形成所述肽。

94. 权利要求 93 的方法，其中所述肽的长度为 6-37 个氨基酸。

95. 权利要求 93 的方法，其中所述肽的长度为 18 个残基。

96. 权利要求 93 的方法，其中所述肽包括 A 类两亲性螺旋。

97. 权利要求 93 的方法，其中所述肽包括氨基酸序列 D-W-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F (SEQ ID NO:13)。

98. 权利要求 97 的方法，其中所有三条肽片段亚序列中每一个的长度均为 6 个氨基酸。

99. 权利要求 97 的方法，其中三条肽片段亚序列具有如下序列：
D-W-F-K-A-F (SEQ ID NO:645)、Y-D-K-V-A-E (SEQ ID NO:646) 和
K-F-K-E-A-F (SEQ ID NO:647)。

100. 权利要求 97 的方法，其中所述肽全部由 D 氨基酸构成。

用于改善动脉粥样硬化和其它病变的 G 型多肽和其它剂

相关专利申请的交叉引用

本专利申请要求 2004 年 9 月 16 日提交的 60/610,711 的优先权和利益，本文通过引用并入其全部内容用于所有目的。

关于受联邦资助的研究和开发所取得的发明的权利声明

本工作部分地受到国家卫生研究院国家心脏血液肺研究所 HL30568 号拨款的项目支持。美国政府可能拥有本发明的某些权利。

发明领域

本发明涉及动脉粥样硬化领域。具体地，本发明涉及鉴定一类肽，其可口服施用，并改善动脉粥样硬化或其它以炎症反应为特征的病变的一种或多种症状。

发明背景

他汀类药物(statins)(例如 Mevacor[®]，立普妥(Lipitor[®]))的引入使心脏病发作和中风的死亡率降低到了大约三分之一。然而，心脏病发作和中风仍然是致死或致残的主要原因，特别是在美国和西欧国家。心脏病发作和中风是由一种称作动脉粥样硬化的慢性炎症导致的。

在心血管疾病的发生过程中涉及多种致病因素，包括疾病的遗传倾向性、性别、生活方式因素如吸烟和饮食、年龄、高血压和高血脂，包括高胆固醇血症。这些因素中的一些，特别是高血脂和高胆固醇血症(血胆固醇浓度高)，是与动脉粥样硬化相关的重要危险性因素。

胆固醇以下述物质中的游离或酯化胆固醇的形式存在于血液中：脂蛋白颗粒，一般称作乳糜微粒(chylomicron)；极低密度脂蛋白(VLDL)；低密度脂蛋白(LDL)和高密度脂蛋白(HDL)。血液中总胆固醇的浓度受到如下因素的影响：(1)从消化道吸收胆固醇，(2)由膳食成分，如碳水化合物、蛋白质、脂肪和乙醇，合成胆固醇，和(3)通过组织，特别是肝，从

血液中移出胆固醇，之后胆固醇被转化成胆汁酸、类固醇激素和胆汁胆固醇。

血胆固醇浓度的维持受遗传和环境因素二者的影响。遗传因素包括胆固醇生物合成限速酶的浓度，肝中低密度脂蛋白受体的浓度，转换胆固醇胆汁酸的限速酶的浓度，脂蛋白合成和分泌速度和人的性别。影响人体内血胆固醇浓度稳态(hemostasis)的环境因素包括饮食结构、吸烟频率、体育锻炼和多种药剂的使用。饮食变量包括脂肪(饱和和多聚不饱和脂肪酸)的量和类型、胆固醇的量、纤维的量和类型、可能还有维生素，如维生素 C 和 D，以及矿物质如钙的量。

低密度脂蛋白(LDL)氧化与动脉粥样硬化的发病机制有着密切的关系。已经发现，高密度脂蛋白(HDL)能够起保护作用，对抗 LDL 氧化，但是在一些情况下，发现它会加速 LDL 氧化。动脉粥样硬化的重要起始因素包括由 LDL 衍生的氧化磷脂的产生。

正常的 HDL 能够阻止这些氧化磷脂的形成，并且一旦形成了这些氧化磷脂，HDL 还能够使它们失活。然而，在一些环境下，HDL 会从抗炎分子转变成促炎分子，其实际上促进这些氧化磷脂的形成。

已有人提出 HDL 和 LDL 是先天免疫系统的一部分(Navab et al.(2001) Arterioscler Thromb Vasc Biol. 21:481-488)。利用模拟 HDL 主要蛋白——载脂蛋白 A-I(apo A-I)——的 A 类两亲性螺旋肽已经成功生成了抗炎 HDL(见例如 WO 02/15923)。

发明概述

本发明提供了新的组合物和方法来改善下述病症的症状：动脉粥样硬化和其它炎症，例如类风湿性关节炎、红斑狼疮、结节性多动脉炎、骨质疏松症、阿尔茨海默氏病，和病毒性疾病，如流行性感 A。

在一些实施方案中，本发明提供了“分离的”多肽，其改善动脉粥样硬化或其他与炎症反应有关的病变的症状，和/或包含这类多肽的组合物。

因此，在一个实施方案中，本发明提供了改善一种或多种炎症症状的肽，该肽包括氨基酸序列 LAEYHAK (SEQ ID NO:2) 或 KAHYEAL (SEQ ID NO:638)；并且该肽包括至少一个 D 氨基酸和/或至少一个保护基团。在一些实施例，该肽包括 D 氨基酸和/或一个或多个保护基团(例如，在每

个末端的保护基团)。在多种实施例中,该保护基团包括一个或多个选自下组的基团:酰胺、3-20 碳烷基、Fmoc, *t*-boc, 9-芴乙酰基、1-芴羧基、9-芴羧基、9-芴酮-1-羧基、苄氧羰基、咕吨基(Xan)、三苯甲基(Trt)、4-甲基三苯甲基(Mtt)、4-甲氧三苯甲基(Mmt)、4-甲氧-2,3,6-三甲基-苯磺酰基(Mtr)、均三甲苯-2-磺酰基(Mts)、4,4-二甲氧二苯甲基(Mbh)、甲苯磺酰基(Tos)、2,2,5,7,8-五甲基色满-6-磺酰基(Pmc)、4-甲基苄基(MeBzl)、4-甲氧苄基(MeOBzl)、苄氧基(BzlO)、苄基(Bzl)、苯甲酰基(Bz)、3-硝基-2-吡啶硫基(Npys)、1-(4,4-二甲基-2,6-二氧亚环己基)乙基(Dde)、2,6-二氯苄基(2,6-DiCl-Bzl)、2-氯苄氧羰基(2-Cl-Z)、2-溴苄氧羰基(2-Br-Z)、苄氧甲基(Bom)、环己氧基(cHxO)、叔-丁氧甲基(Bum)、叔-丁氧基(*t*BuO)、叔-丁基(*t*Bu)、乙酰基(Ac)、丙基、丁基、戊基、己基、N-甲基邻氨基苯甲酰基(N-methyl anthranilyl)、聚乙二醇(PEG)和三氟乙酰基(TFA)。

在一些实施方案中,本发明提供改善一种或多种炎症症状的肽,其中该肽:长度为约3到约10个氨基酸;包括这样的氨基酸序列,该序列含有与一个或两个芳香、疏水或不带电极性氨基酸交替出现的酸性或碱性氨基酸;具有疏水末端氨基酸,或者带疏水保护基团的末端氨基酸;并且不是全由L氨基酸组成的序列 LAEYHAK (SEQ ID NO:2);其中该肽将促炎 HDL 转变成抗炎 HDL,或者使抗炎 HDL 更加抗炎。该肽可任选地包括一个或多个D氨基酸和/或一个或多个保护基团,例如如上所述的基团。

在多种实施方案中,本发明提供的肽可改善一种或多种炎症症状,其中该肽包括例如表3或14中的肽的氨基酸序列或者其多联体(concatamer)。在一些实施方案中,该肽包括至少一个D氨基酸,在一些实施方案中,该肽全部由D氨基酸组成。在多种实施例中,该肽额外地或者作为选择地包括至少一个保护基团(例如在每个末端的保护基团)。一些合适的保护基团包括,但不限于,酰胺、3-20 碳烷基、Fmoc, *t*-boc, 9-芴乙酰基、1-芴羧基、9-芴羧基、9-芴酮-1-羧基、苄氧羰基、咕吨基(Xan)、三苯甲基(Trt)、4-甲基三苯甲基(Mtt)、4-甲氧三苯甲基(Mmt)、4-甲氧-2,3,6-三甲基-苯磺酰基(Mtr)、均三甲苯-2-磺酰基(Mts)、4,4-二甲氧二苯甲基(Mbh)、甲苯磺酰基(Tos)、2,2,5,7,8-五甲基色满-6-磺酰基(Pmc)、4-甲基苄基(MeBzl)、4-甲氧苄基(MeOBzl)、苄氧基(BzlO)、苄基(Bzl)、苯甲酰基(Bz)、3-硝基-2-吡啶硫基(Npys)、1-(4,4-二甲基-2,6-二氧亚环己基)乙基(Dde)、2,6-二氯苄基

(2,6-DiCl-Bzl)、2-氯苄氧羰基(2-Cl-Z)、2-溴苄氧羰基(2-Br-Z)、苄氧甲基(Bom)、环己氧基(cHxO)、叔-丁氧甲基(Bom)、叔-丁氧基(tBuO)、叔-丁基(tBu)、乙酰基(Ac)、丙基、丁基、戊基、己基、N-甲基邻氨基苯甲酰基、聚乙二醇(PEG)和三氟乙酰基(TFA)等。

在一些实施方案中，本发明提供可改善一种或多种炎症症状的肽，其中该肽包括选自下组的氨基酸序列：DMT-Arg-Phe-Lys(SEQ ID NO:1)，DMT-Arg-Glu-Leu(SEQ ID NO:2)，Lys-Phe-Arg-DMT (SEQ ID NO:3)和Leu-Glu-Arg-DMT(SEQ ID NO:4)，其中 DMT 是二甲基酪氨酸。同样，该肽可以包括至少一个 D 氨基酸和/或至少一个保护基团，例如上文说明的基团。在一些实施例中，该肽是 Boc 二甲基酪氨酸-D-Arg-Phe-Lys(OtBu) (SEQ ID NO:5)，或 Boc 二甲基酪氨酸-Arg-Glu-Leu(OtBu) (SEQ ID NO:6)。

本发明还考虑了药物制剂，其包括本文所述的任何活性剂(例如肽、有机分子等)和药学可接受的赋形剂。在一些实施方案中，该活性剂是肽，并且该肽被配制成经时释放(time release)剂型。在一些实施方案中，该制剂被配制成单位剂量剂型。在一些实施方案中，配制该制剂以通过选自下组的途径施用：口服施用、鼻内施用、直肠施用、腹膜内注射、血管内注射、皮下注射、经皮施用和肌肉内注射。

本发明还提供了用于治疗或预防例如动脉粥样硬化、再狭窄、与哺乳动物炎症急性期反应相关联的冠状动脉并发症、或糖尿病等病症的方法，其中该方法包括向有需要的哺乳动物施用一种或多种本文描述的活性剂(例如肽)。在一些实施方案中，活性剂处于药学可接受的赋形剂中(例如，适于口服的赋形剂)，和/或可配制成单位剂量剂型。在多种实施方案中，施用包括通过选自下组的途径施用活性剂：口服施用、鼻内施用、直肠施用、腹膜内注射、血管内注射、皮下注射、经皮施用、吸入施用和肌肉内注射。在多种实施方案中，该哺乳动物是被诊断为具有一种或多种动脉粥样硬化症状的，和/或被诊断为有中风或动脉粥样硬化危险性的，和/或患有与炎症急性期反应相关联的冠状动脉并发症或有其危险性的，和/或患有再狭窄或具有其危险性的，和/或患有糖尿病或有其危险性的哺乳动物(例如人类)。

另外，还提供了如本文所述的活性剂(例如，肽)，用于治疗选自下组的病症：动脉粥样硬化、再狭窄、与哺乳动物炎症急性期反应相关联的冠状动脉并发症和糖尿病。在一些实施方案中，本发明提供如本文所述的

活性剂（例如肽）在制造用于治疗或预防选自下组的病症的药物中的用途：动脉粥样硬化、再狭窄、与哺乳动物炎症急性期反应相关联的冠状动脉并发症、和糖尿病。

在一些实施方案中，本发明还提供了用于将药物送递到体内血管中的支架(stent)，其包括：其中形成多个储库的支架框，和位于储库内的一种或多种如本文所述（例如表 1-15 中）的活性剂和/或如本文所述的有机小分子。在多种实施方案中，该活性剂是包含 4F 的氨基酸序列(SEQ ID NO:13)的肽。在多种实施方案中，该活性剂包含在聚合物内。在一些实施方案中，该支架框包括金属基材或聚合物基材中的一种(例如，不锈钢、镍钛金属互化物 (nitinol)、钽、MP35N 合金、铂、钛、合适的生物相容性合金、合适的生物相容性聚合物、和其组合)。储库可任选地包含微孔，并且在一些实施方案中，当存在微孔时，微孔的直径为大约 20 微米或者更小。在多种实施方案中，当存在微孔时，微孔的直径为大约 20-约 50 微米。在多种实施方案中，当存在微孔时，微孔的深度为大约 10-约 50 微米。在多种实施方案中，微孔延伸穿过支架框，开口于支架的内表面上，并开口于支架的外表面上。在一些实施方案中，支架进一步包括布置在支架框内表面上的盖层 (cap layer)，该盖层覆盖通孔的至少一部分，并提供屏障特性，以控制药物聚合物中的药物从支架框内表面洗脱的速度。在一些实施方案中，储库包括沿着支架框外表面的通道。在一些实施方案中，其中该聚合物包括第一药物聚合物的第一层，其中该药物聚合物包括根据本发明的第一活性剂，且该聚合物层包括具有活性剂或其它药物的第二药物聚合物。在多种实施方案中，屏障层可定位在包含活性剂的聚合物层之间，或者位于聚合物层的表面上。在多种实施方案中，导管与支架框偶联。该导管可任选地包含用于扩张支架的装置，例如用于扩张支架的球囊 (balloon)，可收缩从而使支架得以扩张的外壳 (sheath) 等。

本发明还提供了制造药物-聚合物支架的方法，包括：提供支架框；在支架框中切出多个储库；对至少一个储库施加包含一种或多种本文所述活性剂的组合物；和干燥该组合物。该方法可任选地进一步包括向干燥的组合物施加聚合物层；和干燥该聚合物层。

在一些实施方案中，本发明提供了用于治疗血管病症的方法，包括将支架(如本文所述)定位在身体血管内；扩张支架；并从支架的至少一个表面

洗脱至少一种活性剂。

还提供了合成本文所述多种肽的方法。在一些实施方案中，本发明提供了合成肽的方法，其中该方法包括：提供所述肽的至少三条不同的肽片段亚序列；和在溶液相中偶联该肽片段亚序列，从而形成该肽。在一些实施方案中，该肽的长度为 6-37 个氨基酸。在一些实施方案中，该肽的长度为 18 个残基。在一些实施方案中，该肽包括 A 类两亲性螺旋。在多种实施方案中，该肽包括氨基酸序列 D-W-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F (SEQ ID NO:13)。在多种实施方案中，所有三条肽片段亚序列的每一条的长度为 6 个氨基酸。在一些实施方案中，三条肽片段亚序列具有如下序列：D-W-F-K-A-F (SEQ ID NO:641)、Y-D-K-V-A-E (SEQ ID NO:642) 和 K-F-K-E-A-F (SEQ ID NO:643)。在一些实施方案中，该肽均由 D 氨基酸构成。

定义

在指示某种分离的多肽时，术语“分离的”、“纯化的”或“生物纯的”是指，基本上没有通常在自然条件下与其伴随的成分的材料。对核酸和/或多肽而言，该术语可指不再与其自然条件下侧翼连接的序列侧翼连接的核酸或多肽。化学合成的多肽是“分离的”，因为它们不是在自然状态下(例如，在血液、血清等等中)出现的。在一些实施方案中，术语“分离的”说明多肽不存在于自然中。

术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文中可以互换使用，指氨基酸残基的聚合物。该术语适用于这样的氨基酸聚合物，其中有一个或多个氨基酸残基是相应的自然存在的氨基酸的人造化学类似物；也适用于自然存在的氨基酸聚合物。

术语“两亲性螺旋肽”(amphipathic helical peptide)是指包括至少一个两亲性螺旋(两亲性螺旋域)的肽。本发明的一些两亲性螺旋肽可包括两个或多个(例如 3、4、5 个等)两亲性螺旋。

术语“A 类两亲性螺旋”是指这样的蛋白质结构：其形成 α -螺旋，使极性和非极性面产生隔离，带正电荷的残基位于极性-非极性界面上，带负电荷的残基位于极性面的中心(见例如，“Segrest et al.(1990) *Proteins: Structure, Function, and genetics* 8:103-117”)

“载脂蛋白 J”(apo J)已知有多种名称,包括簇蛋白(clusterin)、TRPM2、GP80 和 SP40,40(Fritz(1995) Pp 112 In: *Clusterin; Role in Vertebrate Development, Function, and Adaptation*(Harmony JAK Ed.), R.G. Landes, Georgetown, TX)。它首先被描述为异源二聚体糖蛋白和培养的大鼠支持细胞分泌蛋白的成分(Kissinger et al.(1982) *Biol Reprod*; 27:233-240)。翻译产物是单链前体蛋白,其经过细胞内切割成为二硫键连接的 34 kDa α 亚单位和 47 kDa β 亚单位(Collard and Griswold(187) *Biochem.*, 26:3297-3303)。它与细胞损伤、脂质转运和凋亡相关,并且与清除由细胞损伤或死亡导致的细胞碎片有关。簇蛋白已经显示能够以高亲和力与多种分子结合,包括脂类、肽和蛋白质、以及疏水探针 1-苯胺基-8-萘磺酸(1-anilino-8-naphthalenesulfonate) (Bailey et al.(2001) *Biochem.*, 40:11828-11840)。

G 型两亲性螺旋存在于球蛋白中,因此称为 G 型。这类两亲性螺旋的特征是,它在极性面上具有随机分布的带正电和带负电的残基,并具有窄的非极性面。由于该窄非极性面,这类螺旋不容易和磷脂连接(见 Segrest et al.(1990) *Proteins: Structure, Function, and Genetics*. 8:103-117; 另见 Erratum(1991) *Protein: Structure, Function, and Genetics*. 9:79)。数种可以互换的载脂蛋白的 G 型两亲性螺旋具有相似但不完全相同的特征。与 G 型两亲性螺旋相似,该另一种类型的螺旋在极性面上也有随机分布的带正电和带负电残基。然而,与具有窄非极性面的 G 型两亲性螺旋相反,这种类型具有宽非极性面,从而使这种类型容易结合磷脂,因此这种类型被称作 G*, 以与 G 型两亲性螺旋相区别(见 Segrest et al.(1992) *J. Lipid Res.*, 33:141-166; 另见 Anantharamaiah et al.(1993) Pp.109-142, 其在《The Amphipathic Helix》(Epan, R.M.Ed CRC Press, Boca Raton, Florida)中)。Jones 等((1992) *J. Lipid Res.* 33:287-296)说明了用于识别和分类两亲性螺旋域的计算机程序,其包括但不限于螺旋轮程序(helical wheel program)(WHEEL 或 WHEEL/SNORKEL)、螺旋网程序(helical net program)(HELNET, HELNET/SNORKEL, HELNET/Angle)、用于添加螺旋轮的程序(program for addition of helical wheels)(COMBO 或 COMBO/SNORKEL)、用于添加螺旋网的程序(program for addition of helical nets)(COMNET, COMNET/SNORKEL, COMBO/SELECT, COMBO/NET)、共有轮程序(consensus wheel

program)(CONSENSUS, CONSENSUS/SNORKEL)等。

当用于“改善一种或多种动脉粥样硬化症状”时，术语“改善”是指减少、防止或消除动脉粥样硬化和/或相关病变的一种或多种症状特征。这种减少包括，但不仅限于，减少或消除氧化磷脂，减少动脉粥样硬化斑块（plaque）的形成和破裂（rupture），减少临床事件，例如心脏病发作、心绞痛（angina）或中风，降低高血压，降低炎症蛋白质合成，减少血浆胆固醇等。

术语“对映体氨基酸”是指以至少两种彼此呈不可重叠的镜像的形式存在的氨基酸。大多数氨基酸（甘氨酸除外）是对映异构体，以所谓的 L 型（L 氨基酸）或 D 型（D 氨基酸）存在。大多数自然存在的氨基酸是“L”氨基酸。术语“D 氨基酸”和“L 氨基酸”用于指示氨基酸的绝对构型，而不是平面偏振光的具体旋转方向。本文的使用与本领域技术人员的标准使用一致。本文用标准 1 字母或 3 字母编码表示氨基酸，例如在《工业产品信息和文献手册》（Handbook on Industrial Property Information and Documentation）中的标准 ST.25 中指定的。

术语“保护基团”是指当连接于在氨基酸的功能基团（例如侧链、 α 氨基、 α 羧基等）上时能够阻挡（block）或掩盖（mask）该功能基团性质的化学基团。优选的氨基端保护基团包括，但不仅限于，乙酰基或氨基。其它的氨基端保护基团包括，但不仅限于烷基链，如脂肪酸中的烷基链、丙酰基（propeonyl）、甲酰基等。优选的羧基端保护基团包括，但不仅限于，形成酰胺或酯的基团。

短语“保护磷脂免受氧化剂氧化”是指化合物具有这样的能力：当磷脂与氧化剂（例如过氧化氢、13-(S)-HPODE、15-(S)-HPETE、HPODE、HPETE、HODE、HETE 等）接触时，降低磷脂氧化速度（或氧化磷脂产生量）。

术语“低密度脂蛋白”或“LDL”是根据本领域技术人员的通常用法定义的。一般地，LDL 是指当通过超速离心分离时，在 $d=1.019$ 到 $d=1.063$ 的密度范围发现的脂质-蛋白复合物。

术语“高密度脂蛋白”或“HDL”是根据本领域技术人员的通常用法定义的。一般地，HDL 是指当通过超速离心分离时，密度范围为 $d=1.063$ 到 $d=1.21$ 的脂质-蛋白复合物。

术语“I 族 HDL”是指可减少氧化脂质（例如在低密度脂蛋白中）或保护

氧化脂质免受氧化剂氧化的高密度脂蛋白或其成分(例如 apo A-I、对氧磷酶、血小板活化因子乙酰水解酶等)。

术语“II 族 HDL”是指保护脂类免受氧化或者在修复(例如减少)氧化脂类的活性降低或者没有该活性的 HDL。

术语“HDL 成分”是指构成高密度脂蛋白(HDL)的组分(例如分子)。测定可保护脂类免受氧化或可修复(例如减少)氧化脂类的 HDL,也包括测定显示有这种活性的 HDL 组分(例如 apo A-I、对氧磷酶、血小板活化因子乙酰水解酶等)。

术语“人类 apo A-I 肽”是指全长的人类 apo A-I 肽,或其包含 A 类两亲性螺旋的片段或区域。

本文使用的“单核细胞反应”是指与动脉粥样硬化斑形成相关联的“炎症反应”的特征性单核细胞活性。单核细胞反应的特征是单核细胞粘附于血管壁细胞(例如,血管内皮细胞),和/或化学趋向进入内皮下间隙,和/或单核细胞分化成巨噬细胞。

当指氧化磷脂的量时,术语“无改变”是指缺少可以检测到的改变,更优选地,缺少统计学显著的改变(例如,至少为 85%的置信度,优选地至少为 90%,更优选地至少为 95%,最优选地至少为 98%或 99%的置信度)。无可检测到的改变还可以指,测定中氧化磷脂的水平发生改变,但没有在不存在本文所述蛋白质时那样多,或者没有其它阳性或阴性对照那样多。

本文使用如下的简写: PAPC: L- α -1-棕榈酰-2-花生四烯酰-sn-甘油基-3-磷酸胆碱; POVPC: 1-棕榈酰-2-(5-氧戊酰)-sn-甘油基-3-磷酸胆碱; PGPC: 1-棕榈酰-2-戊二酸单酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱; PEIPC: 1-棕榈酰-2-(5,6-环氧异前列腺烷 E₂)-sn-甘油-3-磷酸胆碱(1-palmitoyl-2-(5,6-epoxyisoprostane E₂)-sn-glycero-3-phosphocholine); ChC18:2: 胆固醇亚油酸酯; ChC18:2-OOH: 胆固醇亚油酸酯氢过氧化物(cholesteryl linoleate hydroperoxide); DMPC: 1,2-双十四酰(ditetradecanoyl)-消旋-甘油-3-磷酸胆碱; PON: 对氧磷酶; HPF: 标准化高倍视野; PAPC: L- α -1-棕榈酰-2-花生四烯酰-sn-甘油基-3-磷酸胆碱; BL/6: C57BL/6J; C3H: C3H/HeJ。

用于蛋白质或肽的术语“保守取代”是指,不会显著改变分子的活性(例如对脂蛋白的)特异性或(例如对脂类或脂蛋白的)结合亲和力)的氨基酸取代。典型的保守氨基酸取代涉及用具有相似化学性质(例如电荷或疏水性)

的氨基酸取代另一种氨基酸。下面的六组分别包含通常可以互相保守取代的氨基酸：1) 丙氨酸(A)、丝氨酸(S)、苏氨酸(T)；2) 天冬氨酸(D)、谷氨酸(E)；3) 天冬酰胺(N)、谷氨酰胺(Q)；4) 精氨酸(R)、赖氨酸(K)；5) 异亮氨酸(I)，亮氨酸(L)，甲硫氨酸(M)，缬氨酸(V)；和 6) 苯丙氨酸(F)、酪氨酸(Y)、色氨酸(W)。

在两个或多个核酸或多肽序列中，术语“同一”或百分比“同一性”是指，将两个或多个序列或亚序列按最大的对应度进行比较或比对，且使用一种如下的序列比较算法或通过目测观察进行测量时，该两个或多个序列或亚序列相同，或具有特定百分比的相同氨基酸残基或核苷酸。关于本发明的肽，序列同一性在肽的全长上确定。

对于序列比较，通常用一个序列作为参考序列，将测试序列与之比较。当使用序列比较算法时，将测试和参考序列输入到计算机，如果需要的话，指定亚序列坐标，并指定序列算法程序参数。然后，序列比较算法根据指定的程序参数计算测试序列相对于参考序列的百分比序列同一性。

用于比较的最优化序列比对可以通过如下手段进行：利用 Smith & Waterman 的局部同源性算法；*Adv. Appl. Math.* 2:484(1981)，Needleman & Wunsch 的同源性比对算法，*J. Mol. Biol.* 48:443(1970)，Pearson & Lipman 的搜索相似性方法，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 85:2444(1988)，通过这些算法的计算机化实现(Wisconsin 的 GAP、BESTFIT、FASTA 和 TFASTA，Genetics Software Package, Genetic Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI)，或者目测检查(一般地参见 Ausubel et al., 同上)。

有用算法的一个实例是 PILEUP。PILEUP 利用渐进 (progressive)、成对(pairwise)的比对从一组相关序列中生成一个多序列比对结果，显示关系 (relationship) 和百分比序列同一性。它还描绘显示用于生成该比对结果的聚类关系的树或树形图 (dendogram)。PILEUP 使用 Feng & Doolittle 渐进比对方法(*J. Mol. Evol.* 35:351-360(1987))的简化方法。所用的方法与 Higgins & Sharp 说明的方法(*CABIOS* 5:151-153(1989))相似。该程序可比对多达 300 条序列，每条序列的最大长度为 5,000 核苷酸或氨基酸。多序列比对程序首先成对比对两个最相似的序列，产生两条比对序列的类群(cluster)。然后将该类群与下一条最相关的序列或已比对序列的类群进行比对。这两个序列类群通过两条单独序列成对比对的简单扩展进行比对。最终的比对结果是

通过一系列的渐进、成对比对获得的。该程序是通过指定序列比较区的特定序列及其氨基酸或核苷酸坐标，并指定程序参数来运行的。例如，一条参考序列可以用如下的参数与其他测试序列进行比对，从而确定百分比序列同一性关系：默认缺口权重(3.00)、默认缺口长度权重(0.10)和末段缺口权重。

另一个适用于确定百分比序列同一性和序列相似度的算法实例是 BLAST 算法，其说明见 Altschul *et al.*(1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410。公众可以通过国家生物技术信息中心 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获得用于执行 BLAST 分析的软件。该算法包括首先通过在查询序列中确定长度为 W 的短字而确定高得分序列对(HSP)，其中该短字在与数据库序列中相同长度的字比对时，或者匹配或者满足某个正值阈值分数 T。T 是指相邻字分数阈值 (Altschul *et al, supra*)。这些最初的命中相邻字起初始搜索种子的作用，以发现含有它们的更长 HSP。然后这些命中字沿着每条序列向两个方向一直延伸，只要累积比对分数增加即可一直延伸。对于核苷酸序列，累积分数的计算是使用参数 M(一对匹配残基的赏分；总是>0)和 N(不匹配残基的罚分；总是<0)。对于氨基酸序列，使用得分矩阵计算累积分数。命中字沿每个方向的延伸在如下情况下停止：累积比对分数与其达到过的最大值相比减少了数量 X；由于一个或多个负分残基比对结果的积累，使累积分数变为零或者小于零；或达到序列的任一末端。BLAST 算法参数 W、T 和 X 确定算法的灵敏度和速度。BLAST 程序(用于核苷酸序列)使用的默认值为：字长度 (W) 为 11，期望 (E) 为 10，M=5，N=-4，双链比较。对于氨基酸序列，BLASTP 程序使用的默认值为：字长度 (W) 为 3，期望 (E) 为 10，和 BLOSUM62 得分矩阵(见 Henikoff & Henikoff(1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10915)。

除了计算百分比序列同一性，BLAST 算法还进行两个序列之间相似度的统计分析(见例如 Karlin & Altschul(1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-5877)。通过 BLAST 算法提供的一种相似度量度是最小加和概率 (P (N))，其提供两个核苷酸或氨基酸序列之间偶然发生匹配的概率的指示。例如，如果比较测试核酸与参考核酸的最小加和概率小于大约 0.1，更优选地小于大约 0.01，最优选地小于大约 0.001，则认为该核酸与参考序列相似。

附图简述

图 1 显示 D4F (Navab, 等, (2002), Circulation, 105:290-292) 和由 D 氨基酸制成的 apoJ 肽 336(D-J336*)在共培养实验中对防止体外 LDL 诱导的单核细胞趋化活性的效果的比较结果。该数据是在一式四份培养物 (quadruple culture) 中的 9 个高倍视野内迁移的单核细胞数目的平均值 $\pm$ SD。(D-J336=Ac-LLEQLNEQFNWVSRLANLTQGE-NH₂, SEQ ID NO:7)。

图 2 显示与用 D-4F 相比, 用 D-J336 预处理动脉壁细胞来防止 LDL 诱导的单核细胞趋化活性的效果。该数据是在四份培养物中的 9 个高倍视野内迁移的单核细胞数目的平均值 $\pm$ SD。

图 3 显示在 LDL 受体缺失小鼠中, apoJ 肽模拟物对 HDL 保护能力的影响。该数据是在每一式四个测定孔中的 9 个高倍视野内迁移的单核细胞数目的平均值 $\pm$ SD。

图 4 显示来自口服肽的 apoE 缺失小鼠 (apoE null) 的 HDL 针对 LDL 诱导的单核细胞趋化活性的保护效果。该数据是在一式四个测定孔中的每一个的 9 个高倍视野内迁移的单核细胞数目的平均值 $\pm$ SD。星号表示与无肽 HDL 相比有显著差异($p<0.05$)。

图 5 显示口服 apoA-I 肽模拟物和 apoJ 肽对 LDL 的氧化易感性的影响。数值是在一式四个测定孔中的每一个的 9 个高倍视野内迁移的单核细胞数目的平均值 $\pm$ SD。星号表示与无肽 mLDL 相比有显著差异($p<0.05$)。

图 6 显示口服 apoA-I 肽模拟物和 apoJ 肽对 HDL 保护能力的影响。数值是在一式四个测定孔中的每一个的 9 个高倍视野内迁移的单核细胞数目的平均值 $\pm$ SD。星号表示与无肽 mHDL 相比有显著差异($p<0.05$)。

图 7 显示口服 apoA-I 肽模拟物和 apoJ 肽对血浆对氧磷酶活性的影响。数值是一式四个血浆等份(aliquot)读数的平均值 $\pm$ SD。星号表示与无肽对照血浆相比有显著差异($p<0.05$)。

图 8 显示在 apoE^{-/-}小鼠中, 口服 G*肽对 HDL 保护能力的影响。该数值是一式四个血浆等份读数的平均值 $\pm$ SD。星号表示与无肽对照血浆相比有显著差异($p<0.05$)。

图 9 显示在 ApoE^{-/-}小鼠中, 口服 G*肽, 146-156, 对 HDL 保护能力的影响。

图 10A-10C 显示本发明某些肽的螺旋轮图。图 10A: V²W³A⁵F^{10,17}-D-4F;

图 10B: W^3 -D-4F; 图 10C: $V^2W^3F^{10}$ -D-4F。

图 11, 向人动脉壁共培养物添加标准人 LDL (“LDL”), 其中共培养物没有 (“无添加”) 或者具有人 HDL (+对照 HDL), 或者具有来自 apoE 缺失小鼠的鼠 HDL, 其中该小鼠或者给予食物过夜 (“+食物 HDL”), 或者给予含 D-4F 的食物过夜 (“+D4F HDL”), 或者给予含 G5-D-4F 的食物过夜 (“+G5 HDL”), 或者给予含 G5,10-D-4F 的食物过夜 (“+5-10 HDL”), 或者给予 G5,11-D-4F 的食物过夜 (“+5-11 HDL”), 并且所产生的单核细胞趋化活性如先前所述地确定 (Navab M, Anantharamaiah, GM, Hama S, Garber DW, Chaddha M, Hough G, Lallone R, Fogelman AM. Oral administration of an apo A-I mimetic peptide synthesized from D-amino acids dramatically reduces atherosclerosis in mice independent of plasma cholesterol. Circulation 2002;105:290-292)。

图 12 显示, 本发明的肽可有效减轻糖尿病症状(例如血糖)。从 26 周龄的肥胖 Zucker 大鼠取血, 然后以每天腹膜内注射 D-4F (5.0 mg/kg/日) 处理。10 天后, 再次从大鼠取血, 确定血浆葡萄糖和脂质过氧化物 (LOOH)。* $p=0.027$; ** $p=0.0017$ 。

图 13 显示 D4F 对颈动脉球囊损伤的效果。16 周龄肥胖 Zucker 大鼠用 D-4F(5mg/kg/日)注射 1 周, 此时它们已经经历了颈总动脉球囊损伤。两周后处死大鼠, 并确定内-中膜比 (intimal media ratio)。

图 14A-14K 提供展示溶液相化学中产生的多种化合物的纯度的数据。

图 15 显示, 溶液相合成方案的产物具有非常高的生成 HDL 和前 β HDL 的生物活性, 其中 HDL 和前 β HDL 抑制 apoE 缺失小鼠体内 LDL 诱导的单核细胞趋化性。apo E 缺失小鼠饲予 5 微克如上所述合成的 D-4F (“片段”), 或者给予小鼠相同量的不含 D-4F 的鼠粮 (“食物”)。给食开始后 12 小时, 对小鼠取血, 并在 FPLC 上分级血浆。向人动脉壁细胞共培养物中添加 LDL (100 微克 LDL-胆固醇), 其中或者单独添加 (“LDL”), 或者与对照人类 HDL (“对照 HDL”), 或者与来自小鼠的 HDL (50 微克 HDL-胆固醇) 或后-HDL (pHDL; 前 β HDL) 一起添加, 其中小鼠接受 (“片段”) 或者没有接受 (“食物”) D-4F, 并确定所产生的单核细胞趋化活性。

图 16 显示本发明的多种肽对 HDL 对氧磷酶活性的影响。

图 17 显示 LAEYHAK (SEQ ID NO:8) 对单核细胞趋化活性的影响。

* $p < 0.001$ +hHDL 对 hLDL; ** $p < 0.001$ +给肽后 6 小时猴 HDL 对 +0 时猴 HDL; *** $p < 0.001$ +给肽后 6 小时猴 LDL 对 + 0 时猴 LDL; ¶ $p < 0.001$ 0 时 + 猴 LDL 对 hLDL。

图 18A 和 18B 显示根据本发明的支架的一个实施方案。图 18A 示意地图解药物-聚合物支架 1800, 其包括支架框 1820 和在其中形成的多个储库 1830; 和药物聚合物 1840, 其包含一种或多种本文所述的活性剂(例如 4F、D4F 等)和任选的位于药物聚合物上的聚合物层。图 18B 示意地图解血管病症治疗系统 1850, 其包括支架框 1870、在支架框内形成的多个储库 1890、具有聚合物层的药物聚合物 1880、和与支架框 1880 偶联的导管 1040。导管 1860 可以包括用于扩张支架的球囊, 或者可收缩从而容许支架扩张的外壳。药物聚合物 1880 包含一种或多种本文所描述的活性剂。药物聚合物层可任选地包括屏障层、盖层或另一药物聚合物。聚合物层典型地为每种活性剂提供特征性的可控药物洗脱。药物洗脱是指活性剂从药物聚合物 1880 转移出去。确定药物聚合物排出的生物活性剂的总量作为洗出量, 典型地以单位重量例如微克计, 或者以每支架外周面积的重量计。

发明详述

在一些实施方案中, 本发明涉及鉴定多种可以有效改善动脉粥样硬化或者其它以炎症反应为特征的病变的症状的活性剂(例如, 肽和/或某些有机小分子)。可以相信, 施用一种活性剂或者组合施用两种或多种活性剂可以有效地将促炎 HDL 转变成抗炎 HDL, 或者使抗炎 HDL 更加抗炎。在一些实施方案中, 这种“转变”的特征是对氧磷酶活性升高。

一个惊人的发现是, 某些两亲性螺旋肽, 例如本文所述的 A 类和 G*类肽, 以及本文所述的其它剂, 具有抗炎性质, 并且能够调节动脉粥样硬化或其它以炎症反应为特征的病变(例如类风湿性关节炎、红斑狼疮、结节性多动脉炎 (polyarteritis nodosa) 和骨质疏松症)的症状。

在一些实施方案中, 该肽是两亲性螺旋肽类似物, 该肽在极性面上分布有带电残基(带正和/或负电的残基), 并具有宽非极性面(称为类球蛋白 (globular protein like), G*)两亲性螺旋域。这种两亲性螺旋 G*域是 apo J 和某些其它载脂蛋白 (apoprotein) (例如 apo M, apo AI, apo AIV, apo E, apo CII, apo CIII 等, 但通常不包括 apo A-II 或 apo C-I)的特征。

在一些实施方案中,本发明的肽包括或者由 A 类两亲性螺旋构成,且本文说明的某些经过修饰的 A 类两亲性螺旋肽在分子的疏水面内有改变,其提高了活性和/或血清半衰期。

在一些实施方案中,本发明的肽是含有至少一个二甲基酪氨酸的小肽。另外还提供了含有或者包含氨基酸序列 LAEYHAK (SEQ ID NO:8) 的小肽,该氨基酸序列含有一个或多个保护基团和/或一个或多个 D 残基。一些小肽包括与芳香或疏水氨基酸交替出现的酸性或碱性氨基酸。某些前述的肽不包括全部由 L 残基构成的 LAEYHAK (SEQ ID NO:8)。

在多种实施方案中,本发明的肽优选的长度为大约 6 或 10 个氨基酸到约 100 个氨基酸,更优选的长度为大约 10 到大约 60 或 80 个氨基酸,最优选的长度为大约 10、15 或 20 个到大约 40 或 50 个氨基酸。在一些实施方案中,肽的长度为大约 6 或 10-大约 30 或 40 个氨基酸。本发明的一些特别优选的肽与 apo J 或其片段(长度为大约 10-大约 40 个氨基酸,例如在与所述的肽相同长度的范围上)的序列同一性大于大约 40%,优选地大于大约 50%或 60%,更优选地大于大约 70%或 80%,最优选地大于大约 90%或 95%。

本发明的一个惊人发现是,这些肽,特别在包括一个或多个 D 型氨基酸时,保留了相应 L 型肽的生物学活性。而且,这些肽显示体内活性,即使在口服施用时也是如此。这些肽显示有更长的血清半衰期和更高的改善或预防/抑制一种或多种动脉粥样硬化症状的能力。

我们发现,正常的 HDL 可抑制形成轻微氧化 LDL 的三个步骤。在这些研究中(见例如 WO 02/15923),我们证实,用 apo A-I 或 apo A-I 模拟肽(37pA)在体外处理人类 LDL,可以从含 HPODE 和 HPETE 的 LDL 中除去种子分子。这些种子分子是人类动脉壁细胞共培养物能够氧化 LDL 和 LDL 诱导动脉壁细胞产生单核细胞趋化活性所必需的。我们还证实,在将 apo A-I 注射到小鼠体内或者输注到人体内之后,从小鼠或者人类志愿者分离的 LDL 可抵抗人类动脉壁细胞的氧化,并且不会在动脉壁细胞共培养物中诱导单核趋化性。

不受具体理论限制,我们相信,本发明的活性剂发挥功能的方式与 PCT 公开 WO 2002/15923 中说明的 apo A-I 模拟物的活性相似。特别地,可以相信,本发明部分地通过提高 HDL 的抗炎性起作用。特别地,我们相信,本发明的肽结合 LDL 内 LDL 氧化所必需的种子分子,随后将种子分子带离它

最终排出的位置。

我们证实，口服由 D 氨基酸合成的 apo AI 模拟肽可显著减轻小鼠体内的动脉粥样硬化，与血浆或 HDL 胆固醇浓度的变化无关。与 apo A-I 模拟物的作用相似，我们相信，由 D 氨基酸合成的模拟 apo J 两亲性螺旋域的合成肽和其它本文所述的肽能够口服施用，或者通过其它方法施用，包括注射，并且可改善动脉粥样硬化和其它慢性炎症。

在一些实施方案中，本发明的肽可以全部由 L 型氨基酸构成。然而，包括一个或多个 D 型氨基酸的或者优选地全部由 D 型氨基酸构成的肽(全部对映体氨基酸都是 D 型)可通过口服提供更有效的递送，并且在循环中更加稳定。特别优选的肽的一个或两个末端都被封闭（例如，用 N 端乙酰化或 C 端酰胺化）。

实例 1 例证了本发明肽的保护功能。新型肽阻止 LDL 诱导的人动脉壁细胞的单核细胞趋化活性所需的体内浓度比 apoA-I 模拟物（D4F）需要的浓度低 10-25 倍（图 1 中 DJ336 与 D4F 比较）。相似地，在预培养中，本发明的肽阻止动脉壁细胞 LDL 氧化的效力高 10-25 倍（图 2 中 DJ336 与 D4F 比较）。如图 3 所示，当向 LDL 受体缺失小鼠口服施用 DJ335 时，其基本上与 D4F 同样有效地提高 HDL 防止 LDL 诱发的单核细胞趋化活性的保护性。

图 4 显示，当添加到饮用水中时，本发明的肽（DJ336）提高 apo E 缺失小鼠体内 HDL 保护能力的效力与 D4F 相同。图 5 显示，通过诱导单核细胞趋化活性确定，添加到饮用水中时，本发明的肽 DJ336 使来自 apo E 缺失小鼠的 LDL 对人动脉壁细胞氧化产生抗性的效力略高于 D4F。图 6 显示，通过测量单核细胞趋化活性的产生，确定了 DJ336 添加到饮用水中时，抑制人动脉壁共培养物中的磷脂 PAPC 被氧化剂 HPODE 氧化的效力与 D4F 相同（试验系统的解释见 Navab *et al.*(2001) *J. Lipid. Res.* 42:1308-1317）。图 7 证实，当添加到饮用水中时，DJ336 提高 apo E 缺失小鼠对氧磷酶活性的效力至少与 D4F 相同。

根据前文，在一个实施方案中，本发明提供了用于改善和/或防止动脉粥样硬化和/或与炎症反应相关联的（以其为特征的）病变的一种或多种症状的方法。该方法典型地包括向生物体，优选哺乳动物，更优选人类，施用一种或多种根据本发明的肽或其它活性剂（或这些肽的模拟物）。这些

剂的施用方式，如本文所述的，可根据多种标准方法的任何方法，包括但不限于，注射、栓剂、鼻喷雾、经时释放植入物(time-release implant)、透皮贴(transdermal patch)等。在一个特别优选的实施方案中，所述肽通过口服施用（例如，作为糖浆、胶囊或药片）。

尽管本发明是就人类用途进行说明的，但是它也适用于动物，例如兽医用途。因此优选的生物体包括，但不限于，人类、非人类灵长动物、犬科动物、马科动物、猫科动物、猪、有蹄动物、兔（largetomorph）等。

本发明的方法不仅限于显示有一种或多种动脉粥样硬化症状（例如，高血压、斑块形成和破裂、临床事件的减少如心脏病发作、心绞痛或中风、高水平的血浆胆固醇、高水平的低密度脂蛋白、高水平的极低密度脂蛋白、或炎性蛋白质等）的人类或非人类动物，还可用于预防。因此，本发明的肽（或其模拟物）可以向生物体施用，防止一种或多种动脉粥样硬化症状的发作/发生。这方面特别优选的对象是显示有一种或多种动脉粥样硬化危险性因素（例如，家族史、高血压、肥胖、饮酒过多、吸烟、高血胆固醇、高血甘油三酯、血中 LDL、VLDL、IDL 高、或 HDL 低、糖尿病或糖尿病家族史、高血脂、心脏病发作、心绞痛或中风等）的受试者。

除了使用本发明的动脉粥样硬化抑制肽的方法之外，本发明还提供了这些肽自身，被配制为制剂，特别是口服制剂的肽，和用于治疗 and/或预防一种或多种动脉粥样硬化症状的试剂盒。

I. 处理方法

本文描述的活性剂（例如肽、有机小分子、氨基酸对等）可有效减轻本文所述的适应症的一种或多种症状，和/或降低其发作速度（rate of onset）和/或严重程度。特别地，本文所述的活性剂（例如肽、有机小分子、氨基酸对等）可有效减轻一种或多种动脉粥样硬化症状。不受具体理论所限，可以相信，这些肽与形成促炎氧化磷脂必需的“种子分子”结合，例如 Ox-PAPC、POVPC、PGPC 和 PEIPC。

此外，因为许多炎症和/或其他病变至少部分地受到氧化脂类的介导，我们相信，本发明的肽可有效改善以生物活性氧化脂类的形成为特征的病症。此外，本文所述的活性剂对于多种其他病症似乎也有效。

现在对本文所述活性剂似乎可以减轻和/或预防的多种病变进行说明。

A) 动脉粥样硬化及相关病变

我们发现,正常的 HDL 在抑制轻微氧化 LDL 的形成中的三个步骤。特别地,我们证实,通过用 apo A-I 或 apo A-I 模拟肽(37pA)体外处理人 LDL,从包含 HPODE 和 HPETE 的 LDL 中除去了种子分子。这些种子分子是人类动脉壁细胞共培养物能够氧化 LDL,以及 LDL 诱导动脉壁细胞产生单核细胞趋化活性所必需的。我们还证实,在向小鼠注射或向人体输注 apo A-I 后,从注射/输注了 apo A-I 的小鼠或人志愿者分离的 LDL 可抵抗人动脉壁细胞的氧化,不会在动脉壁细胞共培养物中诱导单核细胞趋化活性。

本发明多种活性剂的保护功能在多种相关应用中得到了证明(见例如, PCT 公开 WO 2002/15923 和 WO 2004/034977 等)。WO 2002/15923 的图 1 中,图面 A、B、C 和 D 显示了 ApoE 缺失小鼠体内 ^{14}C -D-5F 与血液组分的结合。还证实,来自给食可导致动脉粥样化(atherogenic)的饮食并注射 PBS 的小鼠的 HDL 不能抑制人 LDL 的氧化,也不能抑制人动脉壁共培养物中 LDL 诱导的单核细胞趋化活性。对比地,来自给食可导致动脉粥样化的饮食并每天注射根据本发明的肽的小鼠的 HDL,与正常的人 HDL 一样有效地抑制人 LDL 氧化并防止共培养物中 LDL 诱导的单核细胞趋化活性(WO 02/15923 中的图 2A 和 2B)。此外,取自给食可导致动脉粥样化的饮食并注射 PBS 的小鼠的 LDL 与取自给食相同饮食并每天注射 20 μg 肽 5F 的小鼠的 LDL 相比,更加容易氧化,也更加容易诱导单核细胞趋化活性。D 肽未显示免疫原性(WO 02/15923 中的图 4)。

人动脉壁细胞对来自饲予可导致动脉粥样化的饮食并注射根据本发明肽的小鼠的 HDL 和 LDL 的体外响应与这些肽的体内保护作用一致。尽管总胆固醇、LDL-胆固醇和 IDL+VLDL-胆固醇水平相似,且 HDL-胆固醇占总胆固醇的百分比较低,但是饲予可导致动脉粥样化的饮食并注射肽的动物具有明显较低的损害评分(lesion scores)(WO 02/15923 中的图 5)。因此,本发明的肽可以防止被饲予可导致动脉粥样化的饮食的小鼠体内动脉粥样硬化损害的发展。

因此,在一个实施方案中,本发明提供了通过施用一种或多种本文所述的活性剂改善和/或防止一种或多种动脉粥样硬化症状的方法。

B) 减轻与冠状动脉钙化 (coronary calcification) 和骨质疏松症有关的症状或病症

血管钙化和骨质疏松症常常共存于同一个受试者中, Ouchi 等((1993) Ann NY Acad Sci., 676:297-307); Boukhris 和 Becker((1972) JAMA, 219:1307-1311); Banks 等((1994) Eur J Clin Invest., 24:813-817); Laroche 等((1994) Clin Rheumatol., 13:611-614); Broulik 和 Kapitola((1993) Endocr Regul., 27:57-60); Frye 等((1992) Bone Mine., 19:185-194); Barengolts 等((1998) Calcif Tissue Int., 62:209-213); Brnett 和 vasikaran((2002) Ann Clin Biochem., 39:203-210.)。Parhami 等((1997) Arterioscl Thromb Vasc Biol., 17:680-687)证实, 轻微氧化的 LDL (MM-LDL) 和 MM-LDL 中的生物活性脂类[也就是氧化的 1-棕榈酰-2-花生四烯酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱 (Ox-PAPC)], 以及异前列腺烷(isoprostane), 8-异前列腺素 E₂, 但不是未氧化的磷脂 (PAPC) 或异前列腺烷 8-异前列腺素 F_{2α}, 在体外诱导钙化血管细胞 (CVC) 的碱性磷酸酶活性和成骨细胞分化, 但抑制 MC3T3-E1 骨细胞的分化。

骨单位与动脉壁的相似之处在于, 骨单位集中在内皮细胞覆盖 (lined) 的内腔上, 该内腔被含有基质 (matrix) 和类成纤维细胞 (fibroblast-like cell) 的内皮下空间包围, 该空间进一步被占据类似于动脉壁中平滑肌细胞位置的前成骨细胞和成骨细胞包围 (同前所引)。骨小梁成骨细胞还与骨髓内皮下空间 (同前所引) 接界。Parhami 等假定, 脂蛋白能够穿过骨动脉的内皮, 并沉积在内皮下空间中, 在那里它们被氧化, 就如在冠状动脉的情况一样 (同前所引)。根据他们的体外数据, 他们预测, 骨动脉内皮下空间和骨髓内的 LDL 氧化会导致成骨细胞分化和矿物化减少, 这有助于骨质疏松症 (同前所引)。他们的假说进一步预测, LDL 水平与骨质疏松症正相关, 正如与冠状动脉钙化正相关一样 (Pohle et al.(2001) Circulation, 104:1927-1932), 但 HDL 水平与骨质疏松症负相关 (Parhami et al.(1997) Arterioscl Thromb Vasc Biol., 17:680-687)。

在体外, 骨髓基质细胞系 M2-10B4 的成骨细胞分化被 MM-LDL 但非天然 LDL 抑制 (Parhami et al.(1999) J Bone Miner Res., 14:2067-2078)。当培养来自被饲予低脂肪饮食的动脉粥样硬化易感 C57BL/6 (BL6) 小鼠的骨髓基质细胞时, 存在强的成骨分化 (同上)。对比地, 当培养来自被饲予高

脂肪、可导致动脉粥样化的饮食的小鼠的骨髓基质细胞时，它们没有经历成骨分化（同上）。这个观察结果非常重要，因为它为在骨质疏松症的发生中骨髓基质细胞的成骨潜力降低提供了可能的解释（Nuttall and Gimble(2000) Bone, 27:177-184）。在体内，成骨潜力的降低伴随着骨质疏松骨骼中脂肪生成增加（同上）。

发现向 apoE 缺失小鼠的饮水中添加 D-4F 6 周，可以显著增加骨小梁骨密度，并且可以相信，本发明的其它活性剂将具有相似的作用。

我们的数据表明，骨质疏松症能够看作是“骨的动脉硬化症”。其似乎是氧化脂类作用的结果。HDL 可破坏这些氧化的脂类，并促进成骨细胞分化。我们的数据表明，向哺乳动物施用（例如，在 apoE 缺失小鼠的饮水中）本发明的活性剂仅大约几周时间可显著增加骨小梁。

这表明，本文所述的活性剂可用于减轻一种或多种骨质疏松症状（例如抑制脱钙）或者用于诱导骨质疏松骨的重新钙化。活性剂还可用作预防药，防止哺乳动物（例如具有骨质疏松症危险性的患者）骨质疏松症的发生。

我们相信，类似的机制也是导致冠状动脉钙化，例如钙化性主动脉狭窄的原因。因此，在一些实施方案中，本发明考虑使用本文所述的活性剂抑制或防止如下疾病症状，例如冠状动脉钙化、钙化性主动脉狭窄、骨质疏松症等。

C) 炎症和自身免疫适应症

慢性炎症和/或自身免疫病症也以许多活性氧类别的形成作为特征，并且可以使用本文所述的一种或多种活性剂加以治疗。因此，不为具体理论所限，我们相信，本文所述的活性剂可用于预防或治疗性地减轻和/或抑制多种其他病症的发作和/或其一种或多种症状，这些病症包括但不限于，类风湿性关节炎、红斑狼疮、结节性多动脉炎、风湿性多肌痛、红斑狼疮、多发性硬化等。

在一些实施方案中，活性剂可用于减轻一种或多种由这些病症中的炎症反应导致的或与之相关联的症状。

另外，在一些实施方案中，活性剂可用于减轻一种或多种由与 AIDS 有关的炎症反应导致的或与之有关的病症。

D) 感染/创伤/移植

我们观察到，流感感染和其他感染的结果之一是 HDL 中对氧磷酶和血小板激活乙酰水解酶活性的降低。不为具体理论所限，我们相信，在急性期反应中，作为这些 HDL 酶活性损失的结果以及作为促氧化性（pro-oxidant）蛋白与 HDL 关联的结果，HDL 不再能够防止 LDL 氧化，也不再能够防止内皮细胞的 LDL 诱导的单核细胞趋化活性的产生。

我们观察到，在感染流感病毒 A 之后每天注射极低剂量本发明的某些制剂（例如，对于小鼠为 20 微克）的受试者体内，对氧磷酶活性没有降低，产生的具有生物活性的氧化磷脂的产生也没有超过背景水平。这表明，4F、D4F（和/或本发明的其他剂）可以向（包括例如，在流感感染期间已患有冠状动脉疾病，或者会由于病毒感染、细菌感染、创伤、移植、多种自身免疫症状等产生急性期炎症反应的）患者施用（例如口服或注射），因此我们能够通过这种短期治疗防止与产生这些炎症状态的病变相关联的心脏病发作和中风发病率的增加。

此外，通过恢复和/或保持对氧磷酶的水平 and/或单核细胞活性，本发明的制剂可用于治疗感染（例如，病毒感染、细菌感染、真菌感染）和/或与感染有关的炎症（例如脑膜炎）和/或创伤。

在一些实施方案中，由于联合了抗炎活性和抗感染活性，本文描述的剂还可用于处理伤口或其他创伤，减轻与器官或组织移植、和/或器官或组织移植排斥、和/或植入的假体、和/或移植动脉粥样硬化(transplant atherosclerosis)、和/或生物膜(biofilm)形成相关联的不利作用。此外，我们相信，L-4F、D-4F 和/或本文说明的其他制剂还可用于减轻脊髓损伤的影响。

E) 糖尿病及关联症状

还发现本文所述的多种活性剂具有减轻和/或防止一种或多种糖尿病关联症状的效力。因此，在多种实施方案中，本发明提供了处理（治疗和/或预防性）糖尿病和/或相关病变（例如 I 型糖尿病、II 糖尿病、幼年型糖尿病、糖尿病性肾病、肾病、糖尿病性神经病、糖尿病性视网膜病变等）的方法。

F) 抑制再狭窄

本文还证实, 本发明的活性剂可有效抑制再狭窄, 例如球囊血管成形术 (balloon angioplasty) 之后的再狭窄。因此, 例如图 13 显示了 A 类两亲性螺旋肽 D4F 对颈动脉球囊损伤的效果。用 D-4F (5mg/kg/日) 注射 16 周龄肥胖 Zucker 大鼠 1 周, 此时对它们进行颈总动脉球囊损伤。两周后, 处死大鼠并确定内膜-中膜比。如图 13 所示, 经过处理的动物体内再狭窄减少。

因此, 在一些实施方案中, 本发明考虑施用一种或多种本文所述的活性剂, 以减轻/预防再狭窄。这些制剂可以全身性施用 (例如口服、注射等) 或者局部施用, 例如通过使用药物洗脱支架和/或简单地通过在血管成形期间局部施用。

G) 减轻与急性炎症反应有关的动脉粥样硬化症状

本发明的活性剂还可用于多种用途。例如, 我们观察到, 心血管并发症 (例如动脉粥样硬化、中风等) 经常伴随或者跟随急性期炎症反应的发生, 例如与复发性炎症、病毒感染 (例如流行性感冒)、细菌感染、真菌感染、器官移植、创伤或其它创伤等相关联的炎症反应。

因此, 在一些实施方案中, 本发明考虑向正在遭受急性炎症反应或有急性炎症反应的危险性的, 和/或具有或处于动脉粥样硬化症和/或相关病变 (例如中风) 危险性的受试者施用一种或多种本文所述的活性剂。

因此, 例如, 具有冠状动脉疾病危险性的人在流感季节可以预防性地施用一种或多种本发明的活性剂。患有类风湿性关节炎、多种自身免疫疾病等复发性炎症的人 (或动物), 可以用本文所述的一种或多种剂处理, 以减轻或防止动脉粥样硬化或中风的发生。患有如急性损伤、组织移植等创伤的人 (或动物), 可用本发明的多肽处理, 以减轻动脉粥样硬化或中风的发生。

在一些情况下, 这些方法需要诊断急性炎症反应的出现或危险性。急性炎症反应典型地涉及肝中代谢和基因调节的改变。它是一个动态内平衡过程, 除了免疫、心血管和中枢神经系统之外, 还涉及机体所有主要系统。通常, 急性期反应只持续几天; 然而, 在慢性或复发性炎症情况下, 急性期反应某些方面的异常持续会促进与疾病相伴的基本组织损伤, 并且还可

能导致进一步的并发症，例如心血管疾病或蛋白质沉积疾病，例如淀粉样变。

急性期反应的一个重要方面是肝脏生物合成概况(biosynthetic profile)的根本性改变。在正常情况下，肝脏以稳态浓度合成一组特征性的血浆蛋白质。这些中的许多蛋白质具有重要功能，在炎症刺激之后的急性期反应期间，需要更高血浆水平的这些急性期反应物（APR）或急性期蛋白（APP）。尽管大多数 APR 是通过肝细胞合成的，但是有一些是通过其它细胞类型合成的，包括单核细胞、内皮细胞、成纤维细胞和脂肪细胞。大多数 APR 的诱导比正常水平高 50%到数倍。对比地，主要 APR 可增加至高于正常水平 1000 倍。这些包括血清淀粉样蛋白 A（SAA）和或者人体内的 C 反应蛋白（CRP）或其小鼠中的同源物，血清淀粉样蛋白 P 组分（SAP）。在急性期反应期间，所谓的负 APR（negative APR）的血浆浓度降低，以便使肝脏合成诱导 APR 的能力提高。

因此，在一些实施方案中，急性期反应或其危险性可以通过测量一种或多种 APP 加以评估。测量这些标志物对于本领域技术人员而言是众所周知的，并且有提供这种测量手段的商业公司（例如，通过 Cardiotech Services, Louisville KY 测量 AGP）。

II. 活性剂

多种活性剂可用于治疗一种或多种本文所讨论的适应症。这些剂包括，但不限于，A 类两亲性螺旋肽，在非极性面具有芳香或脂肪族残基的 A 类两亲性螺旋肽的模拟物，小肽包括五肽、四肽、三肽、二肽和氨基酸对，Apo-J（G*肽）、和肽模拟物，例如下文所述的物质。

A) A 类两亲性螺旋肽

在一些实施方案中，用于本发明方法的活性剂包括 A 类两亲性螺旋肽，例如美国专利 6,664,230 和 PCT 公开 WO 02/15923 和 WO 2004/034977 中描述的。已经发现，包含 A 类两亲性螺旋的肽（“A 类肽”）除了能够减轻动脉粥样硬化的一种或多种症状之外，还可用于治疗一种或多种本文所述的其它适应症。

A 类肽的特征是形成有 α 螺旋，其造成极性和非极性残基隔离，藉此

形成极性和非极性面，带正电的残基位于极性-非极性界面上，带负电的残基位于极性面的中心（见例如，Anantharamaiah(1986) Meth. Enzymol,128:626-668）。注意，当折叠成 3.667 个残基/转角时，apo A-I 的第四个外显子(fourth exon)产生 A 类两亲性螺旋结构。

按照本文所述，对一个指定为 18A 的 A 类肽（见例如，Anantharamaiah(1986) Meth. Enzymol,128:626-668）进行修饰，产生可口服施用的肽，并可高效抑制或防止动脉粥样硬化和/或本文所述其它适应症的一种或多种症状。不限于具体理论，可以相信，本发明的肽可以在体内通过拾取（picking up）种子分子，减轻 LDL 的氧化而起效。

我们确定，18A 疏水面上 Phe 残基数目的增加理论上可以增加脂类亲和力，这可通过 Ralgunachari 等(1996) Arteriosclerosis, Thrombosis, & Vascular Biology 16:328-338 描述的计算来确定。理论上，用 Phe 系统取代 18A 非极性面中的残基可产生六种肽。具有额外 2、3 和 4 个 Phe 的肽的理论脂类亲和力（ λ ）值分别为 13、14 和 15 个单位。然而，如果额外的 Phe 从 4 增加到 5，则 λ 值跳跃 4 个单位（到 19 个 λ 单位）。增加到 6 或 7 个 Phe，将产生较不显著的增加（分别到 20 和 21 个 λ 单位）。

我们制备了数种这样的 A 类肽，包括指定为 4F、D4F、5F 和 D5F 的肽等。多种 A 类肽可以抑制动脉粥样硬化易感小鼠中身体损害的发生。此外，这些肽在减轻本文所述多种病变的一种或多种症状中显示出不同但显著的有效程度。表 1 列举了若干这样的肽。

表 1. 本发明使用的 A 类两亲性螺旋肽举例

肽名称	氨基酸序列	SEQ ID NO.
18A	D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-A-F	9
2F	Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-A-F-NH ₂	10
3F	Ac-D-W-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-A-F-NH ₂	11
3F14	Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂	12
4F	Ac-D-W-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂	13
5F	Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	14
6F	Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-F-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	15
7F	Ac-D-W-F-K-A-F-Y-D-K-F-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	16
	Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-F-F-NH ₂	17

Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂	18
Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-L-K-E-F-F-NH ₂	19
Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	20
Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	21
Ac-E-W-L-K-L-F-Y-E-K-V-L-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂	22
Ac-E-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂	23
Ac-E-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-F-F-NH ₂	24
Ac-E-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂	25
Ac-E-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-L-K-E-F-F-NH ₂	26
Ac-E-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	27
Ac-E-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	28
Ac-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-A-F-NH ₂	29
Ac-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂	30
Ac-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂	31
Ac-A-F-Y-D-K-F-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	32
Ac-A-F-Y-D-K-F-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	33
Ac-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂	34
Ac-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-F-F-NH ₂	35
Ac-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂	36
Ac-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-L-K-E-F-F-NH ₂	37
Ac-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	38
Ac-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-F-NH ₂	39
Ac-L-F-Y-E-K-V-L-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂	40
Ac-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂	41
Ac-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-F-F-NH ₂	42
Ac-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂	43
Ac-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-L-K-E-F-F-NH ₂	44
Ac-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	45
Ac-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	46
Ac-D-W-L-K-A-L-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-A-L-NH ₂	47
Ac-D-W-F-K-A-F-Y-E-K-V-A-E-K-L-K-E-F-F-NH ₂	48

Ac-D-W-F-K-A-F-Y-E-K-F-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	49
Ac-E-W-L-K-A-L-Y-E-K-V-A-E-K-L-K-E-A-L-NH ₂	50
Ac-E-W-L-K-A-F-Y-E-K-V-A-E-K-L-K-E-A-F-NH ₂	51
Ac-E-W-F-K-A-F-Y-E-K-V-A-E-K-L-K-E-F-F-NH ₂	52
Ac-E-W-L-K-A-F-Y-E-K-V-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	53
Ac-E-W-L-K-A-F-Y-E-K-F-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	54
Ac-E-W-F-K-A-F-Y-E-K-F-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	55
Ac-D-F-L-K-A-W-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-A-W-NH ₂	56
Ac-E-F-L-K-A-W-Y-E-K-V-A-E-K-L-K-E-A-W-NH ₂	57
Ac-D-F-W-K-A-W-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-W-W-NH ₂	58
Ac-E-F-W-K-A-W-Y-E-K-V-A-E-K-L-K-E-W-W-NH ₂	59
Ac-D-K-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-W-A-K-E-A-F-NH ₂	60
Ac-D-K-W-K-A-V-Y-D-K-F-A-E-A-F-K-E-F-L-NH ₂	61
Ac-E-K-L-K-A-F-Y-E-K-V-F-E-W-A-K-E-A-F-NH ₂	62
Ac-E-K-W-K-A-V-Y-E-K-F-A-E-A-F-K-E-F-L-NH ₂	63
Ac-D-W-L-K-A-F-V-D-K-F-A-E-K-F-K-E-A-Y-NH ₂	64
Ac-E-K-W-K-A-V-Y-E-K-F-A-E-A-F-K-E-F-L-NH ₂	65
Ac-D-W-L-K-A-F-V-Y-D-K-V-F-K-L-K-E-F-F-NH ₂	66
Ac-E-W-L-K-A-F-V-Y-E-K-V-F-K-L-K-E-F-F-NH ₂	67
Ac-D-W-L-R-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-A-F-NH ₂	68
Ac-E-W-L-R-A-F-Y-E-K-V-A-E-K-L-K-E-A-F-NH ₂	69
Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-R-V-A-E-K-L-K-E-A-F-NH ₂	70
Ac-E-W-L-K-A-F-Y-E-R-V-A-E-K-L-K-E-A-F-NH ₂	71
Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-R-L-K-E-A-F-NH ₂	72
Ac-E-W-L-K-A-F-Y-E-K-V-A-E-R-L-K-E-A-F-NH ₂	73
Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-R-E-A-F-NH ₂	74
Ac-E-W-L-K-A-F-Y-E-K-V-A-E-K-L-R-E-A-F-NH ₂	75
Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-R-V-A-E-R-L-K-E-A-F-NH ₂	76
Ac-E-W-L-K-A-F-Y-E-R-V-A-E-R-L-K-E-A-F-NH ₂	77
Ac-D-W-L-R-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-R-E-A-F-NH ₂	78
Ac-E-W-L-R-A-F-Y-E-K-V-A-E-K-L-R-E-A-F-NH ₂	79

Ac-D-W-L-R-A-F-Y-D-R-V-A-E-K-L-K-E-A-F-NH ₂	80
Ac-E-W-L-R-A-F-Y-E-R-V-A-E-K-L-K-E-A-F-NH ₂	81
Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-R-L-R-E-A-F-NH ₂	82
Ac-E-W-L-K-A-F-Y-E-K-V-A-E-R-L-R-E-A-F-NH ₂	83
Ac-D-W-L-R-A-F-Y-D-K-V-A-E-R-L-K-E-A-F-NH ₂	84
Ac-E-W-L-R-A-F-Y-E-K-V-A-E-R-L-K-E-A-F-NH ₂	85
D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-A-F- <u>P</u> -D-W-L -K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-A-F	86
D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-F-F- <u>P</u> -D-W-L -K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-F-F	87
D-W-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-A-F- <u>P</u> -D-W-F -K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-A-F	88
D-K-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-W-A-K-E-A-F- <u>P</u> -D-K-L -K-A-F-Y-D-K-V-F-E-W-L-K-E-A-F	89
D-K-W-K-A-V-Y-D-K-F-A-E-A-F-K-E-F-L- <u>P</u> -D-K-W -K-A-V-Y-D-K-F-A-E-A-F-K-E-F-L	90
D-W-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F- <u>P</u> -D-W-F -K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F	91
D-W-L-K-A-F-V-Y-D-K-V-F-K-L-K-E-F-F- <u>P</u> -D-W-L -K-A-F-V-Y-D-K-V-F-K-L-K-E-F-F	92
D-W-L-K-A-F-Y-D-K-F-A-E-K-F-K-E-F-F- <u>P</u> -D-W-L -K-A-F-Y-D-K-F-A-E-K-F-K-E-F-F	93
Ac-E-W-F-K-A-F-Y-E-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂	94
Ac-D-W-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-NH ₂	95
Ac-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-NH ₂	96
Ac-F-K-A-F-Y-E-K-V-A-E-K-F-K-E-NH ₂	97
NMA-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-NH ₂	98
NMA-F-K-A-F-Y-E-K-V-A-E-K-F-K-E-NH ₂	99
NMA-D-W-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂	100
NMA-E-W-F-K-A-F-Y-E-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂	101
NMA-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂	102
NMA-D-W-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-NH ₂	103
Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	104
NMA-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	
Ac-E-W-L-K-A-F-Y-E-K-V-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	105
NMA-E-W-L-K-A-F-Y-E-K-V-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	
Ac-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	106
NMA-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	

Ac-A-F-Y-E-K-V-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	107
NMA-A-F-Y-E-K-V-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂	
Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-NH ₂	108
NMA-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-NH ₂	
Ac-E-W-L-K-A-F-Y-E-K-V-F-E-K-F-NH ₂	109
NMA-E-W-L-K-A-F-Y-E-K-V-F-E-K-F-NH ₂	
Ac-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-NH ₂	110
NMA-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-NH ₂	
Ac-L-K-A-F-Y-E-K-V-F-E-K-F-K-E-NH ₂	111
NMA-L-K-A-F-Y-E-K-V-F-E-K-F-K-E-NH ₂	

¹ 接头用下划线标注

NMA 是 N-甲基邻氨基苯甲酰基 (N-Methyl Anthranilyl)

在一些优选实施方案中, 该肽包括 4F (表 1 中的 SEQ ID NO:13) 的变体, 也称作 L-4F, 其中所有的残基都是 L 型氨基酸; 或 D-4F, 其中有一个或多个残基是 D 型氨基酸。在本文所述的任何肽中, C 末端和/或 N 末端和/或内部残基可以用一个或多个如本文所述的封闭基团加以封闭。

尽管表 1 中的多种肽都示例说明性地用乙酰基或 N 甲基邻氨基苯甲酰基保护氨基末端, 用酰胺基保护羧基末端, 但是这些保护基团的任何一个都可以被除去和/或用另一种本文所述的保护基团替换。在特别优选的实施方案中, 该肽包括一个或多个如本文所述的 D 型氨基酸。在一些实施方案中, 表 1 中肽的每一个氨基酸 (例如每一个对映体氨基酸) 都是 D 型氨基酸。

还要指出, 表 1 不是封闭性的。使用本文的教导, 可以按常规制造其它合适的 A 类两亲性螺旋肽 (例如, 通过保守或半保守取代 (例如用 E 取代 D)、延伸、缺失等)。因此, 例如, 一个实施方案使用了一种或多种本文所述的肽 (例如, 表 1 中 SEQ ID NO:10-28 和 47-所指示的肽) 的截短形式。因此, 例如, SEQ ID NO:29 显示了这样一种肽, 其包括 14 个来自 18A 的 C 末端的氨基酸, 其中包含一个或多个 D 氨基酸, 而 SEQ ID NO:30-46 显示了其它的截短形式。

更长的肽也是合适的。这种较长的肽可完全形成 A 类两亲性螺旋, 或者该 A 类两亲性螺旋 (或多个螺旋) 可形成该肽的一个或多个域。此外, 本发明考虑了肽的多聚体形式 (例如多联体)。因此, 例如, 本文所述的肽能够偶联在一起 (直接地或者通过具有一个或多个插入氨基酸的接头 (例

如碳接头 (carbon linker)，或一个或多个氨基酸))。示例说明性的聚合体肽包括 18A-Pro-18A 和 SEQ ID NOs:86-93 的肽，在一些实施方案中，包括一个或多个 D 氨基酸，更优选地，每一个氨基酸都是如本文所述的 D 氨基酸，和/或其一个或两个末端都被保护。

B) 在非极性面具有芳香或脂肪族残基的 apoA-I 的其它 A 类两亲性螺旋肽模拟物

在一些实施方案中，本发明还提供了经过修饰的 A 类两亲性螺旋肽。一些优选的肽在非极性面的中心含有一个或多个芳香族残基，例如 3F^{Cπ} (例如存在于 4F 中)，或在非极性面的中心具有一个或多个脂肪族残基，例如 3F^{Iπ}，见例如表 2。不受具体理论所限，我们相信，肽 3F^C 非极性面上的中心芳香族残基，由于非极性面中心 π 电子的存在，允许水分子渗透到肽-脂类复合物的疏水脂类烃基链附近，这样使活性氧类别 (例如脂氢过氧化物) 得以进入，使它们与细胞表面隔离。类似地，我们还相信，在非极性面中心具有脂肪族残基的肽，例如 3F^{Iπ}，可具有类似的作用，但效力不如 3F^{Cπ}。

优选的肽将促炎 HDL 转变成抗炎 HDL，或者使抗炎 HDL 更加抗炎，和/或减少 LDL 诱导的由动脉壁细胞产生的单核细胞趋化活性，其效果等于或者大于 D4F 或者表 1 所示的其它肽。

表 2. 一些优选肽实例

名称	序列	SEQ ID NO
(3F ^{Cπ})	Ac-DKWKAVYDKFAEAFKEFL-NH ₂	112
(3F ^{Iπ})	Ac-DKLKAFYDKVFEWAKEAF-NH ₂	113

其他合适的 A 类肽的特征是，具有改进的疏水表面。这些肽的实例如表 3 所示。

表 3. 具有改进疏水相的肽实例

名称	肽	SEQ ID NO
V2W3A5F1017-D-4F	Ac-Asp-Val-Trp-Lys-Ala-Ala-Tyr-Asp-Lys-Phe-Ala-Glu-Lys-Phe-Lys-Glu-Phe-Phe-NH ₂	114
V2W3F10-D-4F	Ac-Asp-Val-Trp-Lys-Ala-Phe-Tyr-Asp-Lys-Phe-Ala-Glu-Lys-Phe-Lys-Glu-Ala-Phe-NH ₂	115
W3-D-4F	Ac-Asp-Phe-Trp-Lys-Ala-Phe-Tyr-Asp-Lys-Val-Ala-Glu-Lys-Phe-Lys-Glu-Ala-Phe-NH ₂	116
	Ac-Phe-Phe-Glu-Lys-Phe-Lys-Glu-Ala-Phe-Lys-Asp-Tyr-Ala-Ala-Lys-Trp-Val-Asp-NH ₂	117
	Ac-Phe-Als-Glu-Lys-Phe-Lys-Glu-Ala-Phe-Lys-Asp-Tyr-Phe-Ala-Lys-Trp-Val-Asp-NH ₂	118
	Ac-Phe-Ala-Glu-Lys-Phe-Lys-Glu-Ala-Val-Lys-Asp-Tyr-Phe-Ala-Lys-Trp-Phe-Asp-NH ₂	119

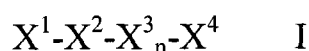
本文所述的肽 (V2W3A5F10, 17-D-4F; V2W3F10-D-4F; W3-D-4F) 可比原本的 D-4F 效力更强。

C) 较小的肽

另一个惊人的发现是, 一些小肽, 其最少由 3 个氨基酸构成, 其中优选地 (但非必需的) 有一个或多个氨基酸为其 D 型立体异构体, 并具有疏水域以允许脂肪蛋白相互作用, 和亲水域以允许一定程度的水溶性, 这样的小肽也有显著的抗炎性质, 并可用于治疗一种或多种本文所述的病变。

“小肽”典型地长度范围是 2 个氨基酸到大约 15 个氨基酸, 更优选地为大约 3 个氨基酸到大约 10 或 11 个氨基酸, 最优选地长度范围是大约 4 个到大约 8 个或 10 个氨基酸。在多种实施方案中, 肽典型的特征是, 具有疏水末端氨基酸或具有通过与一个或多个疏水“保护”基团结合而称为疏水性的末端氨基酸。多种“小肽”在共同待审的专利申请 USSN 10/649,378 (2003 年 8 月 26 日提出申请) 和 USSN 10/913,800 (2004 年 8 月 6 日提出申请) 和 PCT 专利申请 PCR/US2004/026288 中有说明。

在有些实施方案中, 肽可以用下面的公式 I 表示:



其中 n 是 0 或 1, X¹ 是疏水氨基酸和/或具有疏水保护基团, X⁴ 是疏水氨基酸和/或具有疏水保护基团; 并且当 n 为 0 时, X² 是酸性或碱性氨基酸; 当 n 为 1 时, X² 和 X³ 是独立的酸性氨基酸、碱性氨基酸、脂肪族氨基酸或

芳香族氨基酸，其中当 X^2 是酸性氨基酸时， X^3 是碱性氨基酸、脂肪族氨基酸或芳香族氨基酸；当 X^2 是碱性氨基酸时， X^3 是酸性氨基酸、脂肪族氨基酸或芳香族氨基酸；当 X^2 是脂肪族氨基酸或芳香族氨基酸时， X^3 是酸性氨基酸或碱性氨基酸。

更长的肽（例如，长达 10、11 或 15 个氨基酸）也在本发明的范围内。典型地，当较短的肽（例如根据公式 I 的肽）以酸性、碱性、脂肪族或芳香族氨基酸为特征时，较长肽的特征是包含两个或多个相应类型氨基酸的酸性、碱性、脂肪族或芳香族域。

1) 活性小肽的功能性质

本发明的一个惊人发现是，通过许多物理性质预测本发明小肽（例如小于 10 个氨基酸，优选地小于 8 个氨基酸，更优选地为大约 3 到大约 5 或大约 6 个氨基酸）具有使 HDL 更加抗炎，减轻动脉粥样硬化和/或哺乳动物中其他以炎症反应为特征的病变的能力。这些物理性质包括乙酸乙酯中的高溶解性（例如，大于大约 4mg/ml），和在 pH7.0 缓冲水溶液中的溶解性。在含水环境中，一旦与磷脂例如 1,2-二肉豆蔻酰-sn-甘油基-3-磷酸胆碱（DMPC）接触，特别有效的小肽可诱导或参与形成直径为大约 7.5nm(± 0.1 nm)的颗粒，和/或诱导或参与形成堆叠双层，双层尺寸大约为 3.4-4.1nm，堆叠双层之间的间隔为大约 2nm，和/或诱导或参与形成大约 38nm 的囊状结构。在一些优选实施方案中，小肽的分子量小于大约 900Da。

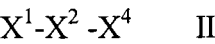
因此，在一些实施方案中，本发明考虑了这样的小肽，其改善本文所述适应症/病变的一种或多种症状，例如炎症，其中所述肽：长度范围是大约 3 到大约 8 个氨基酸，优选地大约 3 到大约 6 或 7 个氨基酸，更优选地大约 3 到大约 5 个氨基酸；在乙酸乙酯中以大于大约 4mg/ml 的浓度溶解；在 pH7.0 的缓冲水溶液中可溶；当在含水环境下与磷脂接触时，形成直径为大约 7.5nm(± 0.1 nm)的颗粒，和/或形成双层尺寸大约为 3.4-4.1nm、堆叠双层之间的间隔为大约 2nm 的堆叠双层；分子量小于大约 900 道尔顿；可将促炎 HDL 转变成抗炎 HDL，或使抗炎 HDL 更加抗炎；不具有氨基酸序列 Lys-Arg-Asp-Ser(SEQ ID NO:249)，尤其是其中 Lys-Arg-Asp 和 Ser 全为 L 氨基酸的序列。在一些实施方案中，这些小肽保护磷脂免受氧化剂的氧化。

尽管这些小肽不受限制，但在一些实施方案中，这些小肽能够包括如

下所述的小肽。

2) 三肽

据发现，可合成一些三肽（3 氨基酸肽），其显示如本文所述的理想性质（例如将促炎 HDL 转变成抗炎 HDL 的能力，降低 LDL 诱导的由动脉壁细胞产生的单核细胞趋化活性的能力，能够增加前 β HDL 的能力等）。在一些实施方案中，该肽的特征表示为式 I 中 N 为 0，如下面的式 II 所示：



其中末端氨基酸（ X^1 和 X^4 ）是疏水的，或者是因为有疏水侧链，或者是因为侧链或 C 和/或 N 末端被一个或多个疏水保护基团封闭（例如，N 末端被 Boc-, Fmoc-, 烟酰基等封闭，C 末端被 (tBu)-OtBu 等封闭）。在一些实施方案中， X^2 氨基酸是酸性的（例如，天冬氨酸、谷氨酸等）或碱性的（例如，组氨酸、精氨酸、赖氨酸等）。肽可以全部是 L 氨基酸，或包含一个或多个 D 氨基酸，或全部都是 D 氨基酸。

本发明的一些优选的三肽包括，但不限于，表 4 所示的肽。

表 4. 具有疏水封闭基团和酸性、碱性或组氨酸中心氨基酸的一些优选三肽实例

X^1	X^2	X^3	X^4	SEQ ID NO
Boc-Lys(ϵ Boc)	Arg		Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	120
Boc-Lys(ϵ Boc)	Arg		Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	121
Boc-Trp	Arg		Ile-OtBu	122
Boc-Trp	Arg		Leu-OtBu	123
Boc-Phe	Arg		Ile -OtBu	124
Boc-Phe	Arg		Leu-OtBu	125
Boc-Lys(ϵ Boc)	Glu		Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	126
Boc-Lys(ϵ Boc)	Glu		Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	127
Boc-Lys(ϵ Boc)	Asp		Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	128
Boc-Lys(ϵ Boc)	Asp		Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	129
Boc-Lys(ϵ Boc)	Arg		Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	130
Boc-Lys(ϵ Boc)	Arg		Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	131
Boc-Leu	Glu		Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	132
Boc-Leu	Glu		Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	133

Fmoc-Trp	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	134
Fmoc-Trp	Asp	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	135
Fmoc-Trp	Glu	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	136
Fmoc-Trp	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	137
Boc-Lys(εBoc)	Glu	Leu-O <i>t</i> Bu	138
Fmoc-Leu	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	139
Fmoc-Leu	Asp	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	140
Fmoc-Leu	Glu	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	141
Fmoc-Leu	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	142
Fmoc-Leu	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	143
Boc-Glu	Asp	Tyr(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	144
Fmoc-Lys(εFmoc)	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	145
Fmoc-Trp	Arg	Ile-O <i>t</i> Bu	146
Fmoc-Trp	Arg	Leu-O <i>t</i> Bu	147
Fmoc-Phe	Arg	Ile-O <i>t</i> Bu	148
Fmoc-Phe	Arg	Leu-O <i>t</i> Bu	149
Boc-Trp	Arg	Phe-O <i>t</i> Bu	150
Boc-Trp	Arg	Tyr-O <i>t</i> Bu	151
Fmoc-Trp	Arg	Phe-O <i>t</i> Bu	152
Fmoc-Trp	Arg	Tyr-O <i>t</i> Bu	153
Boc-Orn(δBoc)	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	154
烟酰 Lys(εBoc)	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	155
烟酰 Lys(εBoc)	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	156
Fmoc-Leu	Asp	Thr(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	157
Fmoc-Leu	Glu	Thr(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	158
Fmoc-Leu	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	159
Fmoc-norLeu	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	160
Fmoc-norLeu	Asp	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	161
Fmoc-norLeu	Glu	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	162
Fmoc-Lys(εBoc)	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	163
Fmoc-Lys(εBoc)	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	164

Fmoc-Lys(ϵ Boc)	Glu	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	165
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	Glu	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	166
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	Asp	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	167
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	Asp	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	168
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	Glu	Leu- <i>OtBu</i>	169
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	Arg	Leu- <i>OtBu</i>	170
Fmoc-Lys(ϵ Fmoc)	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	171
Fmoc- Lys(ϵ Fmoc)	Glu	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	172
Fmoc- Lys(ϵ Fmoc)	Glu	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	173
Fmoc- Lys(ϵ Fmoc)	Asp	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	174
Fmoc- Lys(ϵ Fmoc)	Asp	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	175
Fmoc- Lys(ϵ Fmoc)	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	176
Fmoc- Lys(ϵ Fmoc))	Glu	Leu- <i>OtBu</i>	177
Boc-Lys(ϵ Fmoc)	Asp	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	178
Boc-Lys(ϵ Fmoc)	Asp	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	179
Boc-Lys(ϵ Fmoc)	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	180
Boc-Lys(ϵ Fmoc)	Glu	Leu- <i>OtBu</i>	181
Boc-Orn(δ Fmoc)	Glu	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	182
Boc-Orn(δ Fmoc)	Asp	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	183
Boc-Orn(δ Fmoc)	Asp	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	184
Boc-Orn(δ Fmoc)	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	185
Boc-Orn(δ Fmoc)	Glu	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	186
Fmoc-Trp	Asp	Ile-OtBu	187
Fmoc-Trp	Arg	Ile-OtBu	188
Fmoc-Trp	Glu	Ile-OtBu	189
Fmoc-Trp	Asp	Leu-OtBu	190
Fmoc-Trp	Glu	Leu-OtBu	191
Fmoc-Phe	Asp	Ile-OtBu	192
Fmoc-Phe	Asp	Leu-OtBu	193
Fmoc-Phe	Glu	Leu-OtBu	194
Fmoc-Trp	Arg	Phe-OtBu	195

Fmoc-Trp	Glu	Phe-OtBu	196
Fmoc-Trp	Asp	Phe-OtBu	197
Fmoc-Trp	Asp	Tyr-OtBu	198
Fmoc-Trp	Arg	Tyr-OtBu	199
Fmoc-Trp	Glu	Tyr-OtBu	200
Fmoc-Trp	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	201
Fmoc-Trp	Asp	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	202
Fmoc-Trp	Glu	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	203
Boc-Phe	Arg	norLeu-OtBu	204
Boc-Phe	Glu	norLeu-OtBu	205
Fmoc-Phe	Asp	norLeu-OtBu	206
Boc-Glu	His	Tyr(<i>t</i> Bu)-OtBu	207
Boc-Leu	His	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	208
Boc-Leu	His	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	209
Boc-Lys(ϵ Boc)	His	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	210
Boc-Lys(ϵ Boc)	His	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	211
Boc-Lys(ϵ Boc)	His	Leu-OtBu	212
Boc-Lys(ϵ Fmoc)	His	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	213
Boc-Lys(ϵ Fmoc)	His	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	214
Boc-Lys(ϵ Fmoc)	His	Leu-OtBu	215
Boc-Orn(δ Boc)	His	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	216
Boc-Orn(δ Fmoc)	His	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	217
Boc-Phe	His	Ile -OtBu	218
Boc-Phe	His	Leu-OtBu	219
Boc-Phe	His	norLeu-OtBu	220
Boc-Phe	Lys	Leu-OtBu	221
Boc-Trp	His	Ile-OtBu	222
Boc-Trp	His	Leu-OtBu	223
Boc-Trp	His	Phe-OtBu	224
Boc-Trp	His	Tyr-OtBu	225
Boc-Phe	Lys	Leu-OtBu	226

Fmoc- Lys(ϵ Fmoc)	His	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	227
Fmoc- Lys(ϵ Fmoc)	His	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	228
Fmoc- Lys(ϵ Fmoc)	His	Leu-O <i>t</i> Bu	229
Fmoc-Leu	His	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	230
Fmoc-Leu	His	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	231
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	His	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	232
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	His	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	233
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	His	Leu-O <i>t</i> Bu	234
Fmoc-Lys(ϵ Fmoc)	His	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	235
Fmoc-Lys(ϵ Fmoc)	His	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	236
Fmoc-norLeu	His	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	237
Fmoc-Phe	His	Ile-O <i>t</i> Bu	238
Fmoc-Phe	His	Leu-O <i>t</i> Bu	239
Fmoc-Phe	His	norLeu-O <i>t</i> Bu	240
Fmoc-Trp	His	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	241
Fmoc-Trp	His	Ile-O <i>t</i> Bu	242
Fmoc-Trp	His	Leu-O <i>t</i> Bu	243
Fmoc-Trp	His	Phe-O <i>t</i> Bu	244
Fmoc-Trp	His	Tyr-O <i>t</i> Bu	245
Fmoc-Trp	His	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	246
烟酰 Lys(ϵ Boc)	His	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	247
烟酰 Lys(ϵ Boc)	His	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	248

尽管表 4 的肽显示具有特定的保护基团，但是需要注意，这些基团可以用本文所述的其他保护基团替换，并且/或者可以去除一个或多个所示的保护基团。

3) 具有中心酸性和碱性氨基酸的小肽

在一些实施方案中，本发明肽的范围从 4 个氨基酸到大约 10 个氨基酸。末端氨基酸通常是疏水的，这或者是由于疏水侧链，或者是由于末端氨基酸具有一个或多个疏水保护基团。末端氨基酸 (X^1 和 X^4) 是疏水的，这或

者是由于具有疏水侧链，或者是由于侧链或 C 和/或 N 末端被一个或多个疏水保护基团封闭（例如 N 末端被 Boc-, Fmoc-, 烟酰基等封闭，C 末端被 (tBu)-OtBu 等封闭）。典型地，肽的中心部分包含碱性氨基酸和酸性氨基酸（例如，在 4-mer 中），或者，在更长的分子中，包含碱性域和/或酸性域。

这些 4-mer 单位可用式 I 表示，其中 X¹ 和 X⁴ 是疏水的，和/或具有如本文所述的疏水保护基团，X² 是酸性的，而 X³ 是碱性的，或者 X² 是碱性的，而 X³ 是酸性的。肽可以全部是 L-氨基酸，或者包含一个或多个 D-氨基酸，或全部都是 D-氨基酸。

本发明的一些优选肽包括，但不限于表 5 所示的肽。

表 5. 具有中心酸性和碱性氨基酸的小肽的说明性实例

X ¹	X ²	X ³	X ⁴	SEQ ID NO
Boc-Lys(εBoc)	Arg	Asp	Ser(tBu)-OtBu	249
Boc-Lys(εBoc)	Arg	Asp	Thr(tBu)-OtBu	250
Boc-Trp	Arg	Asp	Ile-OtBu	251
Boc-Trp	Arg	Asp	Leu-OtBu	252
Boc-Phe	Arg	Asp	Leu-OtBu	253
Boc-Phe	Arg	Asp	Ile-OtBu	254
Boc-Phe	Arg	Asp	norLeu-OtBu	255
Boc-Phe	Arg	Glu	norLeu-OtBu	256
Boc-Phe	Arg	Glu	Ile-OtBu	257
Boc-Phe	Asp	Arg	Ile-OtBu	258
Boc-Phe	Glu	Arg	Ile-OtBu	259
Boc-Phe	Asp	Arg	Leu-OtBu	260
Boc-Phe	Arg	Glu	Leu-OtBu	261
Boc-Phe	Glu	Arg	Leu-OtBu	262
Boc-Phe	Asp	Arg	norLeu-OtBu	263
Boc-Phe	Glu	Arg	norLeu-OtBu	264
Boc-Lys(εBoc)	Glu	Arg	Ser(tBu)-OtBu	265
Boc-Lys(εBoc)	Glu	Arg	Thr(tBu)-OtBu	266
Boc-Lys(εBoc)	Asp	Arg	Ser(tBu)-OtBu	267

Boc-Lys(ϵ Boc)	Asp	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	268
Boc-Lys(ϵ Boc)	Arg	Glu	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	269
Boc-Lys(ϵ Boc)	Arg	Glu	Thr(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	270
Boc-Leu	Glu	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	271
Boc-Leu	Glu	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	272
Fmoc-Trp	Arg	Asp	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	273
Fmoc-Trp	Asp	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	274
Fmoc-Trp	Glu	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	275
Fmoc-Trp	Arg	Glu	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	276
Boc-Lys(ϵ Boc)	Glu	Arg	Leu-O <i>t</i> Bu	277
Fmoc-Leu	Arg	Asp	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	278
Fmoc-Leu	Asp	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	279
Fmoc-Leu	Glu	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	280
Fmoc-Leu	Arg	Glu	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	281
Fmoc-Leu	Arg	Asp	Thr(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	282
Boc-Glu	Asp	Arg	Tyr(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	283
Fmoc-Lys(ϵ Fmoc)	Arg	Asp	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	284
Fmoc-Trp	Arg	Asp	Ile-O <i>t</i> Bu	285
Fmoc-Trp	Arg	Asp	Leu-O <i>t</i> Bu	286
Fmoc-Phe	Arg	Asp	Ile-O <i>t</i> Bu	287
Fmoc-Phe	Arg	Asp	Leu-O <i>t</i> Bu	288
Boc-Trp	Arg	Asp	Phe-O <i>t</i> Bu	289
Boc-Trp	Arg	Asp	Tyr-O <i>t</i> Bu	290
Fmoc-Trp	Arg	Asp	Phe-O <i>t</i> Bu	291
Fmoc-Trp	Arg	Asp	Tyr-O <i>t</i> Bu	292
Boc-Orn(δ Boc)	Arg	Glu	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	293
Nicotinyl Lys(ϵ Boc)	Arg	Asp	Ser(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	294
Nicotinyl Lys(ϵ Boc)	Arg	Asp	Thr(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	295
Fmoc-Leu	Asp	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	296
Fmoc-Leu	Glu	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	297
Fmoc-Leu	Arg	Glu	Thr(<i>t</i> Bu)-O <i>t</i> Bu	298

Fmoc-norLeu	Arg	Asp	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	299
Fmoc-norLeu	Asp	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	300
Fmoc-norLeu	Glu	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	301
Fmoc-norLeu	Arg	Glu	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	302
Fmoc-Lys(εBoc)	Arg	Asp	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	303
Fmoc-Lys(εBoc)	Arg	Asp	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	304
Fmoc-Lys(εBoc)	Glu	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	305
Fmoc-Lys(εBoc)	Glu	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	306
Fmoc-Lys(εBoc)	Asp	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	307
Fmoc-Lys(εBoc)	Asp	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	308
Fmoc-Lys(εBoc)	Arg	Glu	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	309
Fmoc-Lys(εBoc)	Arg	Glu	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	310
Fmoc-Lys(εBoc)	Glu	Arg	Leu- <i>OtBu</i>	311
Fmoc-Lys(εBoc)	Arg	Glu	Leu- <i>OtBu</i>	312
Fmoc-Lys(εFmoc)	Arg	Asp	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	313
Fmoc- Lys(εFmoc)	Glu	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	314
Fmoc- Lys(εFmoc)	Glu	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	315
Fmoc- Lys(εFmoc)	Asp	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	316
Fmoc- Lys(εFmoc)	Asp	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	317
Fmoc- Lys(εFmoc)	Arg	Glu	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	318
Fmoc- Lys(εFmoc)	Arg	Glu	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	319
Fmoc- Lys(εFmoc))	Glu	Arg	Leu- <i>OtBu</i>	320
Boc-Lys(εFmoc)	Arg	Asp	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	321
Boc-Lys(εFmoc)	Arg	Asp	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	322
Boc-Lys(εFmoc)	Glu	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	323
Boc-Lys(εFmoc)	Glu	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	324
Boc-Lys(εFmoc)	Asp	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	325
Boc-Lys(εFmoc)	Asp	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	326
Boc-Lys(εFmoc)	Arg	Glu	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	327
Boc-Lys(εFmoc)	Arg	Glu	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	328
Boc-Lys(εFmoc)	Glu	Arg	Leu- <i>OtBu</i>	329

Boc-Orn(δ Fmoc)	Arg	Glu	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	330
Boc-Orn(δ Fmoc)	Glu	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	331
Boc-Orn(δ Fmoc)	Arg	Asp	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	332
Boc-Orn(δ Fmoc)	Asp	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	333
Boc-Orn(δ Fmoc)	Asp	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	334
Boc-Orn(δ Fmoc)	Arg	Asp	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	335
Boc-Orn(δ Fmoc)	Glu	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	336
Boc-Orn(δ Fmoc)	Arg	Glu	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	337
Fmoc-Trp	Asp	Arg	Ile-OtBu	338
Fmoc-Trp	Arg	Glu	Ile-OtBu	339
Fmoc-Trp	Glu	Arg	Ile-OtBu	340
Fmoc-Trp	Asp	Arg	Leu-OtBu	341
Fmoc-Trp	Arg	Glu	Leu-OtBu	342
Fmoc-Trp	Glu	Arg	Leu-OtBu	343
Fmoc-Phe	Asp	Arg	Ile-OtBu	344
Fmoc-Phe	Arg	Glu	Ile-OtBu	345
Fmoc-Phe	Glu	Arg	Ile-OtBu	346
Fmoc-Phe	Asp	Arg	Leu-OtBu	347
Fmoc-Phe	Arg	Glu	Leu-OtBu	348
Fmoc-Phe	Glu	Arg	Leu-OtBu	349
Fmoc-Trp	Arg	Asp	Phe-OtBu	350
Fmoc-Trp	Arg	Glu	Phe-OtBu	351
Fmoc-Trp	Glu	Arg	Phe-OtBu	352
Fmoc-Trp	Asp	Arg	Tyr-OtBu	353
Fmoc-Trp	Arg	Glu	Tyr-OtBu	354
Fmoc-Trp	Glu	Arg	Tyr-OtBu	355
Fmoc-Trp	Arg	Asp	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	356
Fmoc-Trp	Asp	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	357
Fmoc-Trp	Arg	Glu	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	358
Fmoc-Trp	Glu	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	359
Fmoc-Phe	Arg	Asp	norLeu-OtBu	360

Fmoc-Phe	Arg	Glu	norLeu-OtBu	361
Boc-Phe	Lys	Asp	Leu-OtBu	362
Boc-Phe	Asp	Lys	Leu-OtBu	363
Boc-Phe	Lys	Glu	Leu-OtBu	364
Boc-Phe	Glu	Lys	Leu-OtBu	365
Boc-Phe	Lys	Asp	Ile-OtBu	366
Boc-Phe	Asp	Lys	Ile-OtBu	367
Boc-Phe	Lys	Glu	Ile-OtBu	368
Boc-Phe	Glu	Lys	Ile-OtBu	369
Boc-Phe	Lys	Asp	norLeu-OtBu	370
Boc-Phe	Asp	Lys	norLeu-OtBu	371
Boc-Phe	Lys	Glu	norLeu-OtBu	372
Boc-Phe	Glu	Lys	norLeu-OtBu	373
Boc-Phe	His	Asp	Leu-OtBu	374
Boc-Phe	Asp	His	Leu-OtBu	375
Boc-Phe	His	Glu	Leu-OtBu	376
Boc-Phe	Glu	His	Leu-OtBu	377
Boc-Phe	His	Asp	Ile-OtBu	378
Boc-Phe	Asp	His	Ile-OtBu	379
Boc-Phe	His	Glu	Ile-OtBu	380
Boc-Phe	Glu	His	Ile-OtBu	381
Boc-Phe	His	Asp	norLeu-OtBu	382
Boc-Phe	Asp	His	norLeu-OtBu	383
Boc-Phe	His	Glu	norLeu-OtBu	384
Boc-Phe	Glu	His	norLeu-OtBu	385
Boc-Lys(εBoc)	Lys	Asp	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	386
Boc-Lys(εBoc)	Asp	Lys	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	387
Boc-Lys(εBoc)	Lys	Glu	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	388
Boc-Lys(εBoc)	Glu	Lys	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	389
Boc-Lys(εBoc)	His	Asp	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	390
Boc-Lys(εBoc)	Asp	His	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	391

Boc-Lys(ϵ Boc)	His	Glu	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	392
Boc-Lys(ϵ Boc)	Glu	His	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	393

尽管表 5 的所示的肽带有特定的保护基团，但是需要注意，这些基团可以被其他如本文所述的保护基团替换，和/或可以消除一个或多个所示保护基团。

4) 具有中心酸性或碱性氨基酸及中心脂肪族氨基酸的小肽

在一些实施方案中，本发明肽的范围是 4 个氨基酸到大约 10 个氨基酸。末端氨基酸典型地是疏水的，这或者是由于具有疏水侧链，或者是由于末端氨基酸具有一个或多个疏水保护基团。末端氨基酸 (X^1 和 X^4) 是疏水的，这或者是由于具有疏水侧链，或者是由于侧链或 C 和/或 N 末端被一个或多个疏水保护基团封闭（例如 N 末端被 Boc-，Fmoc-，烟酰基等封闭，C 末端被(*t*Bu)-OtBu 等封闭）。典型地，肽的中心部分包含碱性或酸性氨基酸和脂肪族氨基酸（例如，在 4-mer 中），或者，在更长的分子中，包含碱性域或酸性域以及脂肪族域。

这些 4-mer 可用式 I 表示，其中 X^1 和 X^4 是疏水的，和/或具有如本文所述的疏水保护基团， X^2 是酸性或碱性的，而 X^3 是脂肪族的，或者 X^2 是脂肪族的，而 X^3 是酸性或碱性的。肽可以全部是 L-氨基酸，或者包含一个或多个 D-氨基酸，或全部都是 D-氨基酸。

本发明的一些优选肽包括，但不仅限于表 6 所示的肽。

表 6. 在中心具有酸性或碱性氨基酸及中心脂肪族氨基酸的一些优选肽的实例

X^1	X^2	X^3	X^4	SEQ ID NO
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	Leu	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	394
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	Arg	Leu	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	395
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	Leu	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	396
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	Arg	Leu	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	397
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	Glu	Leu	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	398
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	Leu	Glu	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	399
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	Glu	Leu	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	400

Fmoc-Lys(ϵ Boc)	Leu	Glu	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	401
Fmoc- Lys(ϵ Fmoc)	Leu	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	402
Fmoc- Lys(ϵ Fmoc)	Leu	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	403
Fmoc- Lys(ϵ Fmoc)	Glu	Leu	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	404
Fmoc- Lys(ϵ Fmoc)	Glu	Leu	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	405
Boc-Lys(Fmoc)	Glu	Ile	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	406
Boc-Lys(ϵ Fmoc)	Leu	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	407
Boc-Lys(ϵ Fmoc)	Leu	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	408
Boc-Lys(ϵ Fmoc)	Glu	Leu	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	409
Boc-Lys(ϵ Fmoc)	Glu	Leu	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	410
Boc-Lys(ϵ Boc)	Leu	Arg	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	411
Boc-Lys(ϵ Boc)	Arg	Phe	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	412
Boc-Lys(ϵ Boc)	Leu	Arg	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	413
Boc-Lys(ϵ Boc)	Glu	Ile	Thr(<i>t</i> Bu)	414
Boc-Lys(ϵ Boc)	Glu	Val	Thr(<i>t</i> Bu)	415
Boc-Lys(ϵ Boc)	Glu	Ala	Thr(<i>t</i> Bu)	416
Boc-Lys(ϵ Boc)	Glu	Gly	Thr(<i>t</i> Bu)	417
Boc--Lys(ϵ Boc)	Glu	Leu	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	418
Boc-Lys(ϵ Boc)	Glu	Leu	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	419

尽管表 6 所示的肽带有特定的保护基团，但是需要注意，这些基团可以被其他如本文所述的保护基团替换，和/或可以消除一个或多个所示保护基团。

5) 具有中心酸性或碱性氨基酸及中心芳香族氨基酸的小肽

在一些实施方案中，本发明“小”肽的范围是 4 个氨基酸到大约 10 个氨基酸。末端氨基酸通常是疏水的，这或者是由于具有疏水侧链，或者是由于末端氨基酸具有一个或多个疏水保护基团。末端氨基酸 (X1 和 X4) 是疏水的，这或者是由于具有疏水侧链，或者是由于侧链或 C 和/或 N 末端被一个或多个疏水保护基团封闭（例如 N 末端被 Boc-, Fmoc-, 烟酰基等封闭，C 末端被(*t*Bu)-OtBu 等封闭）。典型地，肽的中心部分包含碱性或酸性氨基

酸和芳香族氨基酸（例如，在 4 mer 中），或者，在更长的分子中，包含碱性域或酸性域以及芳香族域。

这些 4-mer 可用式 I 表示，其中 X^1 和 X^4 是疏水的，和/或具有如本文所述的疏水保护基团， X^2 是酸性或碱性的，而 X^3 是芳香族的，或者 X^2 是芳香族的，而 X^3 是酸性或碱性的。肽可以全部是 L-氨基酸，或者包含一个或多个 D-氨基酸，或全部都是 D-氨基酸。5-mer 可用稍加修改的式 I 表示，其中插入 X^5 ，如表 7 所示，并且其中 X^2 通常是芳香族氨基酸。

本发明的一些优选肽包括，但不仅限于表 7 所示的肽。

表 7. 具有中心酸性或碱性氨基酸及中心芳香族氨基酸的一些优选肽的实例

X^1	X^2	X^3	X^5	X^4	SEQ ID NO
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	Arg	Trp		Tyr(<i>t</i> Bu)-OtBu	420
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	Trp	Arg		Tyr(<i>t</i> Bu)-OtBu	421
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	Arg	Tyr		Trp-OtBu	422
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	Tyr	Arg		Trp-OtBu	423
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	Arg	Tyr	Trp	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	424
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	Arg	Tyr		Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	425
Fmoc-Lys(ϵ Boc)	Arg	Trp		Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	426
Fmoc-Lys(ϵ Fmoc)	Arg	Trp		Tyr(<i>t</i> Bu)-OtBu	427
Fmoc-Lys(ϵ Fmoc)	Arg	Tyr		Trp-OtBu	428
Fmoc-Lys(ϵ Fmoc)	Arg	Tyr	Trp	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	429
Fmoc-Lys(ϵ Fmoc)	Arg	Tyr		Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	430
Fmoc-Lys(ϵ Fmoc)	Arg	Trp		Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	431
Boc-Lys(ϵ Fmoc)	Arg	Trp		Tyr(<i>t</i> Bu)-OtBu	432
Boc-Lys(ϵ Fmoc)	Arg	Tyr		Trp-OtBu	433
Boc-Lys(ϵ Fmoc)	Arg	Tyr	Trp	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	434
Boc-Lys(ϵ Fmoc)	Arg	Tyr		Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	435
Boc-Lys(ϵ Fmoc)	Arg	Trp		Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	436
Boc-Glu	Lys(ϵ Fmoc)	Arg		Tyr(<i>t</i> Bu)-OtBu	437
Boc-Lys(ϵ Boc)	Arg	Trp		Tyr(<i>t</i> Bu)-OtBu	438

Boc-Lys(ϵ Boc)	Arg	Tyr	Trp-OtBu	439
Boc-Lys(ϵ Boc)	Arg	Tyr	Trp Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	440
Boc-Lys(ϵ Boc)	Arg	Tyr	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	441
Boc-Lys(ϵ Boc)	Arg	Phe	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	442
Boc-Lys(ϵ Boc)	Arg	Trp	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	443

尽管表 7 所示的肽带有特定的保护基团，但是需要注意，这些基团可以被其他如本文所述的保护基团替换，和/或可以消除一个或多个所示保护基团。

6) 中心具有芳香族氨基酸或者被组氨酸分开的芳香族氨基酸的小肽

在一些实施方案中，本发明的肽以暴露在分子的中心的 π 电子为特征，其允许粒子发生水合，从而使得肽粒子可以俘获促炎氧化脂类，例如脂肪酸氢过氧化物和在 sn-2 位含有花生四烯酸氧化产物的磷脂。

在一些实施方案中，这些肽由最少 4 个氨基酸，最多大约 10 个氨基酸组成，优选地（但非必需），其中一个或多个氨基酸为该氨基酸的 D-对映体，末端氨基酸是疏水的，这或者是由于具有疏水侧链，或者是由于末端氨基酸具有一个或多个疏水封闭基团（例如 N 末端被 Boc-, Fmoc-, 烟酰基等封闭，C 末端被(*t*Bu)-OtBu 等封闭）。这些肽在中心并不具有酸性或碱性氨基酸，而是在中心一般具有芳香族氨基酸，或者被组氨酸分开的芳香族氨基酸。

本发明的一些优选肽包括，但不仅限于表 8 所示的肽。

表 8. 具有中心芳香族氨基酸或者被一个或多个组氨酸分开的芳香族氨基酸或芳香域的肽的实例

X ¹	X ²	X ³	X ⁴	X ⁵	SEQ ID NO
Boc-Lys(ϵ Boc)	Phe	Trp	Phe	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	444
Boc-Lys(ϵ Boc)	Phe	Trp	Phe	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	445
Boc-Lys(ϵ Boc)	Phe	Tyr	Phe	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	446
Boc-Lys(ϵ Boc)	Phe	Tyr	Phe	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	447
Boc-Lys(ϵ Boc)	Phe	His	Phe	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	448
Boc-Lys(ϵ Boc)	Phe	His	Phe	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	449

Boc-Lys(ϵ Boc)	Val	Phe	Phe-Tyr	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	450
Nicotinyl-Lys(ϵ Boc)	Phe	Trp	Phe	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	451
Nicotinyl-Lys(ϵ Boc)	Phe	Trp	Phe	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	452
Nicotinyl-Lys(ϵ Boc)	Phe	Tyr	Phe	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	453
Nicotinyl-Lys(ϵ Boc)	Phe	Tyr	Phe	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	454
Nicotinyl-Lys(ϵ Boc)	Phe	His	Phe	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	455
Nicotinyl-Lys(ϵ Boc)	Phe	His	Phe	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	456
Boc-Leu	Phe	Trp	Phe	Thr(<i>t</i> Bu)-OtBu	457
Boc-Leu	Phe	Trp	Phe	Ser(<i>t</i> Bu)-OtBu	458

尽管表 8 所示的肽具有特定的保护基团，但是需要注意，这些基团可以被其他如本文所述的保护基团替换，和/或可以消除一个或多个所示保护基团。

7) 三肽和四肽总结

为清晰起见，在下面表 9 中概括地总结了本发明的若干三肽和四肽。

表 9. 本发明一些肽的一般结构

X ¹	X ²	X ³	X ⁴
疏水侧链或 疏水保护基团	酸性或碱性	----	疏水侧链或 疏水保护基团
疏水侧链或 疏水保护基团	碱性	酸性	疏水侧链或 疏水保护基团
疏水侧链或 疏水保护基团	酸性	碱性	疏水侧链或 疏水保护基团
疏水侧链或 疏水保护基团	酸性或碱性	脂肪族	疏水侧链或 疏水保护基团
疏水侧链或 疏水保护基团	脂肪族	酸性或碱性	疏水侧链或 疏水保护基团
疏水侧链或 疏水保护基团	酸性或碱性	芳香族	疏水侧链或 疏水保护基团
疏水侧链或 疏水保护基团	芳香族	酸性或碱性	疏水侧链或

疏水保护基团		疏水保护基团	
疏水侧链或	芳香族	His 芳香族	疏水侧链或
疏水保护基团		疏水保护基团	

当较长的肽是理想的时候， X^2 和 X^3 可代表域（例如两个或多个指定类型氨基酸的区域），而不是单个氨基酸。表 9 只是示例说明性的，而没有限制意义。使用本文的教导，可以容易地确定其他合适的肽。

8) 成对氨基酸和二肽

在一些实施方案中，本发明涉及这样的发现：某些氨基酸对在彼此联合施用或连接形成二肽时，具有一种或多种本文所述的性质。因此，不受具体理论所限，可以相信，当氨基酸对彼此联合施用时，如本文所述，它们在体内能够参与或者诱导胶束形成。

类似于本文所述的其它小肽，可以相信，肽对可以在体内结合，并且显示如下物理性质，包括在乙酸乙酯中具有高溶解性（例如大于大约 4mg/ml），在 pH7.0 的缓冲水溶液中可溶。一旦在含水环境中与磷脂，例如 1,2-二肉豆蔻酰-sn-甘油基-3-磷酸胆碱（DMPC）接触，可以相信，氨基酸对诱导或参与直径为大约 7.5nm(± 0.1 nm)的微粒的形成，和/或诱导或参与双层尺寸大约为 3.4-4.1nm 的堆叠双层的形成，该堆叠的双层之间间隔大约 2nm，和/或诱导或参与大约 38nm 的囊泡结构的形成。

而且，进一步相信，氨基酸对可显示一种或多种如下的生理相关性质：

1. 它们将促炎 HDL 转变成抗炎 HDL，或者使抗炎 HDL 更加抗炎；
2. 它们降低 LDL 诱导的由动脉壁细胞产生的单核细胞趋化活性；
3. 它们刺激前 β HDL 的形成和循环；
4. 它们提高 HDL 胆固醇；和/或
5. 它们提高 HDL 的对氧磷酶活性。

这些氨基酸对可以作为单独的氨基酸施用（顺次或同时施用，例如以联合制剂的形式），或者它们能够直接地或通过接头（例如 PEG 接头、碳接头、分支接头、直链接头、杂环接头、由衍生化脂类形成的接头等）共价偶联。在一些实施方案中，氨基酸对通过肽键共价连接，形成二肽。在多种实施方案中，尽管二肽典型地包括两个氨基酸，其中每一个都附有保护基团，但是本发明还试图包括如下二肽，其中只有一个氨基酸具有一

个或多个保护基团。

氨基酸对通常包括如下的氨基酸，其中每一个氨基酸与至少一个保护基团（例如，如本文所述的疏水保护基团）连接。氨基酸可以是D或L型。在一些实施方案中，成对的氨基酸并不彼此连接，每一个氨基酸具有两个保护基团（例如，表10中的分子1和2）。

表10. 本发明氨基酸对举例

氨基酸对/二肽
1. Boc-Arg-OtBu*
2. Boc-Glu-OtBu*
3. Boc-Phe-Arg-OtBu**
4. Boc-Glu-Leu-OtBu**
5. Boc-Arg-Glu-OtBu***

*通常与第二个氨基酸联合施用。

**在一些实施方案中，这些肽彼此联合施用。

***在一些实施方案中，这些肽或者单独施用，或者与本文所述的一种其它肽联合施用

通过提供成对的受保护氨基酸和/或二肽，然后根据上文所述的一种或多种物理和/或生理性质筛选氨基酸对/二肽，能够容易地鉴定合适的氨基酸对。在一些实施方案中，本发明排除了包含天冬氨酸和苯丙氨酸的氨基酸对和/或二肽。在一些实施方案中，本发明排除了如下的氨基酸对和/或二肽，其中一个氨基酸是(-)-N-[(反式-4-异丙基环己烷)羰基]-D-苯丙氨酸（那格列奈（nateglinide））。

在一些实施方案中，成对的氨基酸独立地从如下的组中选择：酸性氨基酸（例如天冬氨酸、谷氨酸等），碱性氨基酸（例如，赖氨酸、精氨酸、组氨酸等），和非极性氨基酸（例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、甲硫氨酸等）。在一些实施方案中，第一个氨基酸是酸性或碱性时，第二个氨基酸是非极性，或者第二个氨基酸是酸性或碱性时，第一个氨基酸是非极性。在一些实施方案中，第一个氨基酸是酸性时，第二氨基酸是碱性，或者相反（见例如表11）。

通过施用二肽对，可以获得相似的组合。因此，例如在一些实施方案中，表10中的分子3和4可以彼此联合施用。

表 11. 一些概括性的氨基酸对/二肽

	第一氨基酸	第二氨基酸
1	酸性	碱性
2	碱性	酸性
3	酸性	非极性
4	非极性	酸性
5	碱性	非极性
6	非极性	碱性

注意，这些氨基酸对只是示例性的，而没有限制意义。使用本文的教导，可以容易地确定其他合适的氨基酸对/二肽。

D) Apo-J(G*肽)

在一些实施方案中，本发明发现，模拟 apo J 两亲性螺旋域的肽（例如多种 apo-M 衍生物）在保护 LDL 对抗动脉壁细胞氧化和降低 LDL 诱导的由于人动脉壁细胞氧化 LDL 造成的单核细胞趋化活性方面特别有效，并且能够减轻动脉粥样硬化和/或本文所述其它病变的一种或多种症状。

载脂蛋白 J 具有宽的非极性面，称作类球蛋白或 G*两亲性螺旋域。G 型两亲性螺旋存在于球蛋白中，因此称作 G 型。这类两亲性螺旋的特征是在极性面上随机分布带正电和带负电的残基，并具有窄的非极性面。由于该窄非极性面，这类螺旋不容易与磷脂结合（见 Segrest *et al.*(1990) *Proteins: Structure, function, and Genetics*. 8:103-117; 另见 Erratum(1991) *Protein: Structure, function, and Genetics*. 9:79）。有数种可以互换的载脂蛋白具有与 G 两亲性螺旋相似但不相同的特征。与 G 型两亲性螺旋相似，这一类螺旋在极性面上随机分布带正电和带负电的残基。然而，与具有窄非极性面的 G 型两亲性螺旋相反，这类螺旋具有宽的极性面，使得这类螺旋容易与磷脂结合，这类螺旋称作 G*，以便与 G 型两亲性螺旋区别（见 Segrest *et al.*(1992) *J. Lipid Res.*, 33:141-166; 另见 Anantharamaiah *et al.*(1993) Pp.109-142, 《*In The Amphipathic Helix*》, Epand, R.M.Ed., CRC Press, Boca Raton, Florida）。

在如下的文献中说明了多种合适的 G*两亲性螺旋：共同待审的专利申请 USSN 10/120,508，其于 2002 年 4 月 5 日提出申请，USSN10/520,207，其于 2003 年 4 月 1 日提出申请，和 PCT 专利申请 PCT/US03/09988，其于

2003年4月1日提出申请。此外，表12中列举了许多与 apo J 的 G*两亲性螺旋域相关的本发明的合适肽。

表 12. 本发明使用的与 apo J 的 G*两亲性螺旋域相关的优选肽

氨基酸序列	SEQ ID NO
LLEQLNEQFNWVSRLANLTQGE	459
LLEQLNEQFNWVSRLANL	460
NELQEMSNQGSKYVNKEIQNAVNGV	461
IQNAVNGVKQIKTLIEKTNEE	462
RKTLLSNLEEAKKKKEDALNETRESETKLKEL	463
PGVCNETMMALWEECK	464
PCLKQTCMKFYARVCR	465
ECKPCLKQTCMKFYARVCR	466
LVGRQLEEFLL	467
MNGDRIDSLLLEN	468
QQTHMLDVMQD	469
FSRASSIIDELFQD	470
PFLEMIHEAQQAMDI	471
PTEFIREGDDD	472
RMKDQCDKCREILSV	473
PSQAKLRRELDLQVAERLTRKYNELLSYQ	474
LLEQLNEQFNWVSRLANLTEGE	475
DQYYLRVTVA	476
PSGVTEVVVKLFDS	477
PKFMETVAEKALQEYRKKHRE	478

然而，本发明的肽并不仅限于 apo J 的 G*变体。一般而言，基本上来自于任何其他蛋白质，优选 apo 蛋白质的 G*域也是合适的。利用保护活性测定（例如，保护 LDL 免于氧化等），如本文实例中的举例，能够容易地确定这些蛋白质具体的合适度。一些特别优选的蛋白质包括如下蛋白质的 G*两亲性螺旋域或其变体（例如，保守取代等），这些蛋白质包括但不限于 apo AI、apo AIV、apo E、apo CII、apo CIII 等。

表 13 列举了本发明使用的与除 apo J 之外的载脂蛋白相关的 G*两亲性螺旋域相关的一些优选肽。

表 13. 本发明使用的与除 apo J 之外的载脂蛋白相关的 G*两亲性螺旋域相关的优选肽

氨基酸序列	SEQ ID NO
WDRVKDLATVYVDVLKDSGRDYVSQF (与 apo AI 的 8 到 33 区域相关)	479
VATVMWDYFSQLSNNAKEAVEHLQK (与 AIV 的 7 到 31 区域相关)	480
RWELALGRFWDYLRWVQTLSEQVQEEL (与 apo E 的 25 到 51 区域相关)	481
LSSQVTQELRALMDETMKELKELKAYKSELEEQLT (与 apoE 的 52 到 83 区域相关)	482
ARLSKELQAAQARLGADMEDVCGRLV (与 apoE 的 91 到 116 区域相关)	483
VRLASHLRKLRKRLLRDADDLQKRLA (与 apoE 的 135 到 160 区域相关)	484
PLVEDMQRQWAGLVEKVQA (apo E.27 的 267 到 285)	485
MSTYTGIFTDQVLSVLK (与 apo CII 的 60 到 76 区域相关)	486
LLSFMQGYMKHATKTAKDALSS (与 apo CIII 的 8 到 29 区域相关)	487

E) 从 apo-M 衍生的 G*肽

其他在本发明方法中有效的 G*肽包括，但不仅限于，从 apo-M 衍生的 G*肽。

表 14. G*肽举例

肽	SEQ ID NO
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	488
Ac-Lys-Trp-Phe-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	489
Ac-Lys-Trp-Leu-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	490
Ac-Lys-Trp-Val-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	491

Ac-Lys-Tyr-Ile-Trp-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	492
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Phe-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	493
Ac-Lys-Trp-Phe-Tyr-His-Ile-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	494
Ac-Lys-Trp-Leu-Tyr-His-Val-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	495
Ac-Lys-Trp-Val-Tyr-His-Tyr-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	496
Ac-Lys-Tyr-Ile-Trp-His-Phe-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	497
Ac-Lys-Tyr-Ile-Trp-His-Ile-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	498
Ac-Lys-Tyr-Ile-Trp-His-Val-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	499
Ac-Lys-Tyr-Ile-Trp-His-Tyr-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	500
Ac-Lys-Phe-Ile-Trp-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	501
Ac-Lys-Leu-Ile-Trp-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	502
Ac-Lys-Ile-Ile-Trp-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	503
Ac-Lys-Tyr-Ile-Trp-Phe-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	504
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-Phe-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	505
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-Leu-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	506
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Phe-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	507
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Tyr-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	508
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Ile-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	509
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Ser-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	510
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Asp-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	511
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Thr-Ser-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	512
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Glu-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	513
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Phe-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	514
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Tyr-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	515
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Ile-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	516
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Val-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	517
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Lys-Thr-Glu-Gly-NH ₂	518
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Ser-Glu-Gly-NH ₂	519
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Asp-Gly-NH ₂	520
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Ile-Lys-Thr-Glu-Gly-NH ₂	521
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Ile-Arg-Ser-Glu-Gly-NH ₂	522

Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Ile-Lys-Ser-Glu-Gly-NH ₂	523
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Ile-Lys-Ser-Asp-Gly-NH ₂	524
Ac-Arg-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	525
Ac-Arg-Tyr-Ile-Trp-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Ile-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	526
Ac-Arg-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Ile-Arg-Thr-Asp-Gly-NH ₂	527
Ac-Arg-Trp-Ile-Phe-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Ile-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	528
Ac-Arg-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Lys-Thr-Glu-Gly-NH ₂	529
Ac-Arg-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Asp-Gly-Ser-Thr-Asp-Ile-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	530
Ac-Arg-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Asp-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	531
Ac-Arg-Trp-Ile-Tyr-Phe-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Ile-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	532
Ac-Arg-Trp-Ile-Tyr-Phe-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	533
Ac-Lys-Trp-Phe-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Phe-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	534
Ac-Arg-Trp-Phe-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	535
Ac-Lys-Trp-Ile-Phe-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Ile-Arg-Thr-Asp-Gly-NH ₂	536
Ac-Arg-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Ile-Arg-Thr-Asp-Gly-NH ₂	537
Ac-Arg-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Asp-Gly-NH ₂	538
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Ile-Lys-Thr-Glu-Gly-NH ₂	539
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Ile-Lys-Thr-Asp-Gly-NH ₂	540
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Phe-Lys-Thr-Glu-Gly-NH ₂	541
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Tyr-Lys-Thr-Glu-Gly-NH ₂	542
Ac-Lys-Trp-Ile-Tyr-His-Leu-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Ile-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	543
Ac-Lys-Trp-Phe-Tyr-His-Phe-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	544
Ac-Arg-Trp-Phe-Tyr-His-Phe-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	545
Ac-Lys-Trp-Phe-Tyr-His-Phe-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Phe-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	546
Ac-Lys-Trp-Phe-Tyr-His-Phe-Thr-Asp-Gly-Ser-Thr-Asp-Ile-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	547
Ac-Arg-Trp-Phe-Tyr-His-Phe-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Leu-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	548
Ac-Arg-Trp-Phe-Tyr-His-Phe-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Phe-Arg-Thr-Glu-Gly-NH ₂	549
Ac-Arg-Trp-Phe-Tyr-His-Phe-Thr-Glu-Gly-Ser-Thr-Asp-Phe-Arg-Thr-Asp-Gly-NH ₂	550
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Leu-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	551
Ac-Asp-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Leu-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	552
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Asp-Glu-Phe-Lys-Ser-Leu-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	553

Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Asp-Phe-Lys-Ser-Leu-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	554
Ac-Glu-Arg-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Leu-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	555
Ac-Asp-Lys-Cys-Val-Asp-Asp-Phe-Lys-Ser-Leu-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	556
Ac-Asp-Arg-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Leu-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	557
Ac-Glu-Arg-Cys-Val-Asp-Asp-Phe-Lys-Ser-Leu-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	558
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	559
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Ile-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	560
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Val-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	561
Ac-Glu-Arg-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Tyr-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	562
Ac-Glu-Arg-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	563
Ac-Glu-Arg-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Ile-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	564
Ac-Glu-Arg-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Val-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	565
Ac-Glu-Arg-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Tyr-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	566
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Thr-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	567
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Ile-Ser-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	568
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Val-Ser-Thr-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	569
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Tyr-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	570
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Thr-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	571
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Ser-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	572
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	573
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	574
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	575
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Phe-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	576
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Phe-Glu-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	577
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Leu-Glu-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	578
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Ile-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	579
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Leu-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Phe-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	580
Ac-Asp-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Phe-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	581
Ac-Asp-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Phe-Glu-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	582
Ac-Glu-Arg-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Phe-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	583

Ac-Glu-Lys-Cys-Phe-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Phe-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	584
Ac-Glu-Lys-Cys-Phe-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Phe-Glu-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	585
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Ser-Ser-Cys-Phe-Glu-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	586
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Gln-Ser-Cys-Phe-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	587
Ac-Glu-Lys-Cys-Phe-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Gln-Ser-Cys-Phe-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	588
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Gln-Phe-Thr-Ser-Cys-Phe-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	589
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Gln-Leu-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	590
Ac-Glu-Lys-Cys-Phe-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Gln-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	591
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Gln-Phe-Thr-Ser-Cys-Phe-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	592
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Phe-Glu-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	593
Ac-Glu-Arg-Cys-Phe-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Phe-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	594
Ac-Asp-Lys-Cys-Phe-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Phe-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	595
Ac-Glu-Arg-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Leu-Thr-Ser-Cys-Leu-Glu-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	596
Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Leu-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Phe-Phe-NH ₂	597
Ac-Glu-Lys-Cys-Phe-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Phe-Asp-Ser-Lys-Phe-Phe-NH ₂	598
Ac-Asp-Lys-Cys-Phe-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Phe-Phe-NH ₂	599
Ac-Asp-Lys-Cys-Phe-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Leu-Glu-Ser-Lys-Phe-Phe-NH ₂	600
Ac-Asp-Lys-Cys-Phe-Glu-Glu-Leu-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Phe-Phe-NH ₂	601
Ac-Glu-Arg-Cys-Phe-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Phe-Phe-NH ₂	602
Ac-Glu-Lys-Ala-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	603
Ac-Asp-Lys-Ala-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Phe-Phe-NH ₂	604
Ac-Glu-Lys-Ala-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Ala-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	605
Ac-Asp-Lys-Ala-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Ala-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	606
Ac-Asp-Arg-Ala-Phe-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Phe-Phe-NH ₂	607
Ac-Asp-Arg-Ala-Phe-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Ala-Leu-Asp-Ser-Lys-Phe-Phe-NH ₂	608
Ac-Asp-Lys-Cys-Phe-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Phe-Glu-Ser-Lys-Phe-Phe-NH ₂	609
Ac-Glu-Lys-Cys-Tyr-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Phe-Phe-NH ₂	610
Ac-Asp-Lys-Cys-Trp-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Phe-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Phe-Phe-NH ₂	611
Ac-Glu-Lys-Cys-Phe-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Tyr-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Phe-Phe-NH ₂	612
Ac-Glu-Lys-Cys-Phe-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Trp-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Phe-Phe-NH ₂	613

Ac-Glu-Lys-Cys-Val-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Trp-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	614
Ac-Asp-Lys-Cys-Phe-Glu-Glu-Phe-Lys-Ser-Trp-Thr-Ser-Cys-Leu-Asp-Ser-Lys-Ala-Phe-NH ₂	615

其他合适的肽包括但不限于表 15 的肽。

表 15. 具有改进的疏水相的肽举例

名称	肽	SEQ ID NO
V2W3A5F1017-D-4F	Ac-Asp-Val-Trp-Lys-Ala-Ala-Tyr-Asp-Lys-Phe-Ala-Glu-Lys-Phe-Lys-Glu-Phe-Phe-NH ₂	616
V2W3F10-D-4F	Ac-Asp-Val-Trp-Lys-Ala-Phe-Tyr-Asp-Lys-Phe-Ala-Glu-Lys-Phe-Lys-Glu-Ala-Phe-NH ₂	617
W3-D-4F	Ac-Asp-Phe-Trp-Lys-Ala-Phe-Tyr-Asp-Lys-Val-Ala-Glu-Lys-Phe-Lys-Glu-Ala-Phe-NH ₂	618
	Ac-Phe-Phe-Glu-Lys-Phe-Lys-Glu-Ala-Phe-Lys-Asp-Tyr-Ala-Ala-Lys-Trp-Val-Asp-NH ₂	619
	Ac-Phe-Als-Glu-Lys-Phe-Lys-Glu-Ala-Phe-Lys-Asp-Tyr-Phe-Ala-Lys-Trp-Val-Asp-NH ₂	620
	Ac-Phe-Ala-Glu-Lys-Phe-Lys-Glu-Ala-Val-Lys-Asp-Tyr-Phe-Ala-Lys-Trp-Phe-Asp-NH ₂	621

本文所述的肽（V2W3A5F10、17-D-4F； V2W3F10-D-4F； W3-D-4F）可以具有比原始 D-4F 更强效。

另外的合适肽包括,但不仅限于, P¹-二甲基酪氨酸-Arg-Phe-Lys-P²(SEQ ID NO:1) 和 P¹-二甲基酪氨酸-Arg-Glu-Leu-P² (SEQ ID NO:2) , 其中 P1 和 P2 是如本文所述的保护基团。 在一些实施方案中, 这些肽包括,但不仅限于, Boc 二甲基酪氨酸-D-Arg-Phe-Lys(OtBu) (SEQ ID NO:5) 和 Boc 二甲基酪氨酸-D-Arg -Glu-Leu(OtBu) (SEQ ID NO:6) 。

在一些实施方案中, 本发明的肽包括这样的肽, 所述肽包含氨基酸序列 LAEYHAK (SEQ ID NO:8) 或者由该序列构成, 该序列包括至少一个 D 氨基酸和/或至少一个或两个末端保护基团。 在一些实施方案中, 本发明包括 A 肽, 其改善一种或多种炎症症状, 其中该肽: 长度为大约 3 到大约 10 个氨基酸; 包含这样的氨基酸序列, 该序列包含与芳香或疏水氨基酸交替出现的酸性或碱性氨基酸; 包含疏水末端氨基酸或者末端氨基酸具有疏水保护基团; 不是全部由 L 氨基酸构成的序列 LAEYHAK (SEQ ID NO:8) ; 其中该肽可以将促炎 HDL 转变成抗炎 HDL 和/或使抗炎 HDL 更加抗炎。

还要指出, 本文表中列举的肽并未包括全部。 使用本文的教导, 可以按常规制造其他合适的肽(例如通过保守或半保守取代(例如用 E 取代 D)、延伸、缺失等)。 因此, 例如, 一个实施方案采用 SEQ ID Nos:459-487 所指定的任何一个或多个肽的截短序列。

更长的肽也是合适的。这些更长的肽可以完全形成 G 或 G*类两亲性螺旋，或者 G 两亲性螺旋能够形成该肽的一个或多个域。此外，本发明包含肽的多聚体形式。因此，例如，本文表中列举的肽可以偶联在一起（直接地，或者通过具有一个或多个插入氨基酸的接头（例如碳接头，或一个或多个氨基酸））。合适的接头包括，但不仅限于，脯氨酸(-Pro-)、Gly₄-Ser₃(SEQ ID NO:622)等。因此，根据本发明的一个示例说明性的多聚体肽是 (D-J336)-P-(D-J336)(即，Ac-L-L-E-Q-L-N-E-Q-F-N-W-V-S-R-L-A-N-L-T-Q-G-E-P-L-L-E-Q-L-N-E-Q-F-N-W-V-S-R-L-A-N-L-T-Q-G-E-NH₂，SEQ ID NO:623)。

本发明还试图使用“杂交”肽，其包括一个或多个 G 或 G*两亲性螺旋域和一个或多个 A 类两亲性螺旋。合适的 A 类两亲性螺旋肽在 PCT 公开 WO 02/15923 中有说明。因此，作为示例，一个这样的“杂交”肽是 (D-J336)-Pro-(4F) (即，Ac-L-L-E-Q-L-N-E-Q-F-N-W-V-S-R-L-A-N-L-T-Q-G-E-P-D-W-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH₂，SEQ ID NO:624)，或类似物。

使用本文的教导，技术人员能够按常规修饰所示的两亲性螺旋肽，产生本发明的其他合适的 apo J 变体和/或两亲性 G 和/或 A 螺旋肽。例如，可以对现有的氨基酸进行常规的保守或半保守取代（例如用 E 取代 D）。多种取代物对所产生的肽的脂质亲和力的影响可以用 Palgunachari 等(1996)说明的计算方法进行预测（*Arteriosclerosis, Thrombosis, & Vascular Biology* 16:328-338）。这些肽可以延长或缩短，只要保持类型的螺旋结构即可。此外，可进行取代，使所得的肽与对象物种内源产生的肽更加相似。

尽管，在优选实施方案中，本发明的肽利用天然存在的氨基酸或天然存在氨基酸的 D 型，非天然存在的氨基酸（例如甲硫氨酸亚砷、甲硫氨酸甲基砷、正亮氨酸、 ϵ -氨基己酸、4-氨基丁酸、四氢异喹啉-3-羧酸、8-氨基辛酸、4-氨基丁酸、Lys(N(ϵ)-三氟乙酰)、 α -氨基异丁酸等）的取代产物也在本文考虑之内。

使用计算方法可以对新肽进行设计和/或评估。识别和分类两亲性螺旋域的计算机程序对于本领域技术人员而言是众所周知的，在 Jones et al.(1992) *J. Lipid res.* 33:287-296 中有描述。这些程序包括，但不仅限于，螺旋轮程序（WHEEL 或 WHEEL/SNORKER）、螺旋网程序（HELNET，

HELNET/SNORKEL, HELNET/Angle)、用于添加螺旋轮的程序(COMBO或 COMBO/SNORKEL)、用于添加螺旋网的程序(COMNET, COMNET/SNORKEL, COMBO/SELECT, COMBO/NET)、共有轮程序(consensus wheel program)(CONSENSUS, CONSENSUS/SNORKEL)等。

E) 封闭基团和 D 残基

尽管本文所述的多种肽和/或氨基酸对可能显示没有保护基团,但是在一些实施方案中(例如,特别是用于口服施用的),它们可具有一个、两个、三个、四个、或更多保护基团。保护基团可以和肽的 C 和/或 N 末端连接,和/或与构成肽的一个或多个内部残基相连(例如,可封闭组成氨基酸上的一个或多个 R 基团)。因此,例如,在一些实施方案中,任何本文所述的肽可以具有,例如,保护氨基末端的乙酰基,和/或保护羧基末端的酰胺基。这种“双”保护肽的一个实例是 Ac-L-L-E-Q-L-N-E-Q-F-N-W-V-S-R-L-A-N-L-T-Q-G-E-NH₂(具有封闭基团的 SEQ ID NO:459),这些保护基团的任一或两者都可被除去和/或被另一种如本文所述的保护基团取代。

不受限于具体理论,本发明发现,封闭,特别是封闭本发明对象肽的氨基和/或羧基末端,可大大改善口服递送,并显著提高血清半衰期。

多种保护基团均适用于本目的。这些基团包括,但不仅限于,乙酰基、酰胺、烷基,其中乙酰基和烷基特别优选用于保护 N 末端,且酰胺特别优选用于保护羧基末端。在一些特别优选的实施方案中,保护基团包括,但不仅限于,如脂肪酸中的烷基链、丙酰基、甲酰基等。特别优选的羧基保护基团包括酰胺、酯和成醚保护基团。在一个优选实施方案中,使用乙酰基保护氨基末端,用酰胺基保护羧基末端。这些封闭基团提高肽的成螺旋趋势。一些特别优选的封闭基团包括多种长度的烷基,例如具有如下表达式的基团: CH₃-(CH₂)_n-CO-, 其中 n 的范围是大约 1-大约 20, 优选地大约 1 到大约 16 或 18, 更优选大约 3 到大约 13, 最优选大约 3 到大约 10。

在一些特别优选的实施方案中,保护基团包括,但不仅限于,如脂肪酸中的烷基链、丙酰基、甲酰基等。特别优选的羧基保护基团包括酰胺、酯和成醚保护基团。在一个优选实施方案中,使用乙酰基保护氨基末端,用酰胺基保护羧基末端。这些封闭基团可提高肽的成螺旋趋势。一些特别

优选的封闭基团包括多种长度的烷基，例如具有下式的基团： $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-$ ，其中 n 的范围是大约 3 到大约 20，优选地大约 3 到大约 16，更优选的大约 3 到大约 13，最优选的大约 3 到大约 10。

其他的保护基团包括，但不仅限于，Fmoc、叔-丁氧羰基(*t*-BOC)、9-芴乙酰基、1-芴羧基、9-芴羧基、9-芴酮-1-羧基、苄氧羰基、咕吨基(Xan)、三苯甲基(Trt)、4-甲基三苯甲基(Mtt)、4-甲氧三苯甲基(Mmt)、4-甲氧-2,3,6-三甲基-苯磺酰基(Mtr)、均三甲苯-2-磺酰基(Mts)、4,4-二甲氧二苯甲基(Mbh)、甲苯磺酰基(Tos)、2,2,5,7,8-五甲基色满-6-磺酰基(Pmc)、4-甲基苄基(MeBzl)、4-甲氧苄基(MeOBzl)、苄氧基(BzlO)、苄基(Bzl)、苯甲酰基(Bz)、3-硝基-2-吡啶硫基(Npys)、1-(4,4-二甲基-2,6-二氧亚环己基)乙基(Dde)、2,6-二氯苄基(2,6-DiCl-Bzl)、2-氯苄氧羰基(2-Cl-Z)、2-溴苄氧羰基(2-Br-Z)、苄氧甲基(Bom)、环己氧基(cHxO)、叔-丁氧甲基(Bom)、叔-丁氧基(*t*BuO)、叔-丁基(*t*Bu)、乙酰基(Ac)和三氟乙酰基(TFA)。

保护/封闭基团对于本领域技术人员而言是众所周知的，同样将这些基团与构成本发明肽的合适残基偶联的方法也是如此(见，例如，Greene et al., (1991) *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc, Somerset)。在一个优选实施方案中，例如，在合成期间，当肽处于树脂上时，用乙酸酐实现乙酰化。酰胺保护可通过为合成选择合适的树脂加以实现。在合成本文实施例所述的肽期间，使用 rink amide 树脂。在合成完成之后，同时除去酸性双功能氨基酸(例如 Asp 和 Glu)和碱性氨基酸(Lys)，及 Tyr 羟基上的全部非永久性保护基团。用酸处理从该树脂释放的肽 N 末端被保护成乙酰基，羧基被保护成 NH_2 ，同时除去了所有其他的保护基团。

在一些特别优选的实施方案中，肽包含一个或多个本文所述 D 型(右旋而非左旋)氨基酸。在一些实施方案中，至少有两个对映体氨基酸，更优选地至少 4 个对映体氨基酸，最优选地至少 8 或 10 个对映体氨基酸是“D”型氨基酸。在一些实施方案中，本文所述肽的每隔一个氨基酸，或者甚至每个氨基酸(例如，每个对映体氨基酸)是 D 型氨基酸。

在一些实施方案中，至少 50%的对映体氨基酸是“D”型，更优选地至少 80%的对映体氨基酸是“D”型，最优选地至少 90%或者甚至全部对映体氨基酸是“D”型氨基酸。

F) 肽模拟物

除了本文所述的肽之外, 也包括仿肽 (peptidomimetics)。在制药工业中, 通常使用肽类似物作为具有类似于模板肽性质的非肽药物。这些类型的非肽化合物称作“肽模拟物”或“仿肽”(Fauchere(1986) *Adv. Drug Res.* 15:29; Veber and Freidinger(1985) *TINS* p.392;和 Evans et al.(1987) *J. Med. Chem.* 30:1229), 并且通常是借助计算机分子建模(molecular modeling)开发的。与治疗上有效的肽结构类似的肽模拟物可用于产生等价的治疗或疾病预防效果。

一般而言, 仿肽在结构上类似于示范多肽 (paradigm polypeptide) (例如, 表 1 所示的 SEQ ID NO:5), 但其中有一个或多个肽连接任选地被如下的连接替代: $-\text{CH}_2\text{NH}-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-$ (顺和反), $-\text{COCH}_2-$, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{SO}-$ 等, 其方法在本领域中是已知的, 并且在如下文献中有进一步的说明: Spatola(1983) p.267, *Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides, and Proteins*, B. Weinstein, eds., Marcel Dekker, New York;; Spatola(1983) *Vega Data* 1(3) Peptide Backbone Modifications. (综述); Morley(1980) *Trends Pharm Sci* pp. 463-468 (综述); Hudson et al.(1979) *Int J Pept Prot Res* 14:177-185($-\text{CH}_2\text{NH}-$ 和 CH_2CH_2-); Spatola et al.(1986) *Life Sci* 38:1243-1249($-\text{CH}_2\text{S}-$); Hann, (1982) *J Chem Soc Perkin Trans I* 307-314 ($-\text{CH}-\text{CH}-$ (顺和反)); Almquist et al. (1980) *J Med Chem.* 23:1392-1398 ($-\text{COCH}_2-$); Jennings-White et al.(1982) *Tetrahedron Lett.* 23:2533($-\text{COCH}_2-$); Szelke et al., 欧洲专利申请 EP 45665(1982) CA:97:39405(1982)($-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$); Holladay et al.(1983) *Tetrahedron Lett.* 24:4401-4404($-\text{C}(\text{OH})\text{CH}_2-$);和 Hruby (1982) *Life Sci.*, 31:189-199($-\text{CH}_2\text{S}-$))。

一种特别优选的非肽连接是 $-\text{CH}_2\text{NH}-$ 。这种肽模拟物与多肽实施方案相比可以具有显著的优势, 包括例如: 生产更加经济、化学稳定性更高、药理性质(半衰期、吸收、效价、效能等)更高、抗原性更小等。

此外, 根据本领域已知的方法(Rizo and Gierasch (1992) *Ann. Rev. Biochem.* 61:387)可以产生本文所述肽的环状变换, 或者包含共有序列或基本上相同的共有序列变化的限制肽 (constrained peptides) (包括环化肽); 例如, 通过添加能够形成使肽环化的分子内二硫桥的内部半胱氨酸残基。

G) 有机小分子

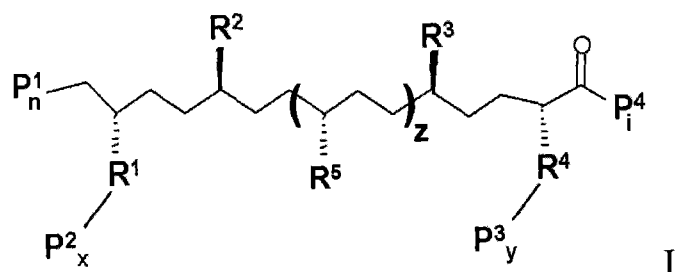
在一些实施方案中，本发明的活性剂包括有机小分子，例如共同待审的专利申请 USSN 60/600,925 中描述的，其于 2004 年 8 月 11 日提出申请。在多种实施方案中，有机小分子类似于在分别于 2003 年 8 月 26 日和 8 月 11 日提出申请的共同待审专利申请 USSN 10/649,378 和 USSN 60/494,449 中描述的四或五肽，并在一些实施方案中模拟这些它们。

本发明有机小分子的分子量通常小于大约 900 道尔顿。典型地，小分子在乙酸乙酯中高度可溶（例如，浓度等于或大于 4mg/ml），并且能够溶于 pH7.0 的缓冲水溶液。

在水环境中使磷脂，例如 1,2-双十四酰(ditetradecanoyl)-sn-甘油基-3-磷酸胆碱（DMPC）与本发明的有机小分子接触，会形成直径大约 7.5nm(±0.1nm)的颗粒。此外，还经常形成堆叠双层，其中双层尺寸大约为 3.4-4.1nm，堆叠中双层的间隔大约 2nm。还经常形成大约 38nm 的囊状结构。而且，当本发明的分子向哺乳动物施用，它们可以使 HDL 更加抗炎，并减轻一种或多种动脉粥样硬化症状和/或其它以炎症反应为特征的病症。

因此，在一些实施方案中，有机小分子是可以改善哺乳动物体内以炎症反应为特征的病变（例如动脉粥样硬化）的一种或多种症状的分子，其中小分子在乙酸乙酯中溶解度大于 4mg/ml，并且可溶于 pH7.0 的缓冲水溶液，并且当在含水环境中与磷脂接触时，会形成直径大约 7.5nm 的颗粒，并形成堆叠双层，其中双层尺寸大约为 3.4-4.1nm，堆叠中双层的间隔大约 2nm，同时分子量小于 900 道尔顿。

在一些实施方案中，分子具有如下式：



其中 P^1 、 P^2 、 P^3 和 P^4 是独立选择的疏水保护基团； R^1 和 R^4 是独立选择的氨基酸 R 基团； n 、 i 、 x 、 y 和 z 独立地为 0 或 1，其中当 n 和 x 都是 0 时， R^1 是疏水基团，当 y 和 i 都是 0 时， R^4 是疏水基团； R^2 和 R^3 在 pH7.0 时为酸性或碱性基团，其中当 R^2 是酸性时， R^3 是碱性，当 R^2 是碱性时， R^3 是

酸性； R^5 ，若存在的话，从如下基团中选择：芳香基、脂肪基、带正电基团或带负电基团。在一些实施方案中， R^2 或 R^3 是 $-(CH_2)_j-COOH$ ，其中 $j=1, 2, 3$ 或 4 ，和/或 $-(CH_2)_j-NH_2$ ，其中 $j=1, 2, 3, 4$ 或 5 ，或 $-(CH_2)_j-NH-C(=NH)-NH_2$ ，其中 $j=1, 2, 3$ 或 4 。在一些实施方案中， R^2 、 R^3 和 R^5 ，如果存在，是氨基酸R基团。因此，例如，在多种实施方案中， R^2 和 R^3 独立地是天冬氨酸R基团、谷氨酸R基团、赖氨酸R基团、组氨酸R基团或精氨酸R基团(例如，如表1所示)。

在一些实施方案中， R^1 选自下组：Lys R基团，Trp R基团，Phe R基团，Leu R基团，Orn R基团或norLeu R基团。在一些实施方案中， R^4 选自下组：Ser R基团，Thr R基团，Ile R基团，Leu R基团，norLeu R基团，Phe R基团或Tyr R基团。

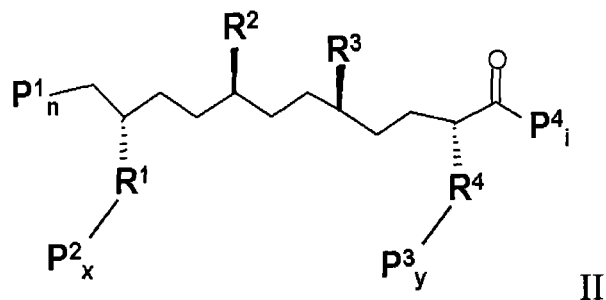
在多种实施方案中， x 是1， R^5 是芳香基团(例如，Trp R基团)。

在多种实施方案中， n, x, y 和 i 中至少有一个是1， P^1 、 P^2 、 P^3 和 P^4 当存在时是独立地选自下组：聚乙二醇(PEG)、乙酰基、酰胺、3-20碳烷基、Fmoc、9-芴乙酰基、1-芴羧基、9-芴羧基、9-芴酮-1-羧基、苄氧羰基、咕吨基(Xan)、三苯甲基(Trt)、4-甲基三苯甲基(Mtt)、4-甲氧三苯甲基(Mmt)、4-甲氧-2,3,6-三甲基-苯磺酰基(Mtr)、均三甲苯-2-磺酰基(Mts)、4,4-二甲氧二苯甲基(Mbh)、甲苯磺酰基(Tos)、2,2,5,7,8-五甲基色满-6-磺酰基(Pmc)、4-甲基苄基(MeBzl)、4-甲氧苄基(MeOBzl)、苄氧基(BzlO)、苄基(Bzl)、苯甲酰基(Bz)、3-硝基-2-吡啶硫基(Npys)、1-(4,4-二甲基-2,6-二氧亚环己基)乙基(Dde)、2,6-二氯苄基(2,6-DiCl-Bzl)、2-氯苄氧羰基(2-Cl-Z)、2-溴苄氧羰基(2-Br-Z)、苄氧甲基(Bom)、叔-丁氧羰基(Boc)、环己氧基(cHxO)、叔-丁氧甲基(Bum)、叔-丁氧基(tBuO)、叔-丁基(tBu)、丙基、丁基、戊基、己基、和三氟乙酰基(TFA)。在一些实施方案中， P^1 (存在时)和/或 P^2 (存在时)独立地选自Boc-，Fmoc和烟酰基，且 P^3 (存在时)和/或 P^4 (存在时)独立地选自tBu和OtBu。

尽管上面列举了多种保护基团(P^1 、 P^2 、 P^3 、 P^4)，但是这些列举只是出于举例的目的，并不构成限制。参考本文的教导，本领域技术人员还可以知道多种其它的保护/封闭基团。这些封闭基团的选择可以使消化最小化(例如，用于口服药物递送)，和/或增加摄取/生物利用度(例如，在鼻腔施用、吸入治疗、直肠施用中通过黏膜表面)，和/或增加血清/血浆半衰期。

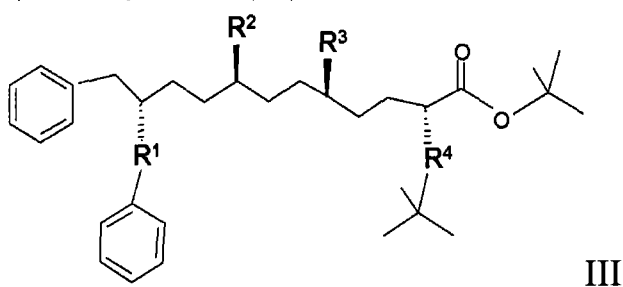
在一些实施方案中, 保护基团可以作为赋形剂或赋形剂的组分提供。

在一些实施方案中, z 为 0, 分子具有下式:



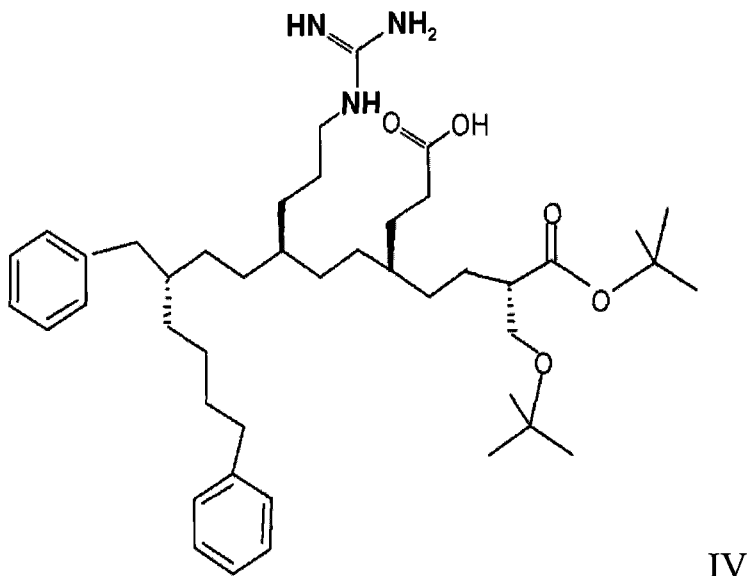
其中 P^1 、 P^2 、 P^3 、 P^4 、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 n 、 x 、 y 和 i 如上所述。

在一些实施方案中, z 为 0, 分子具有下式:

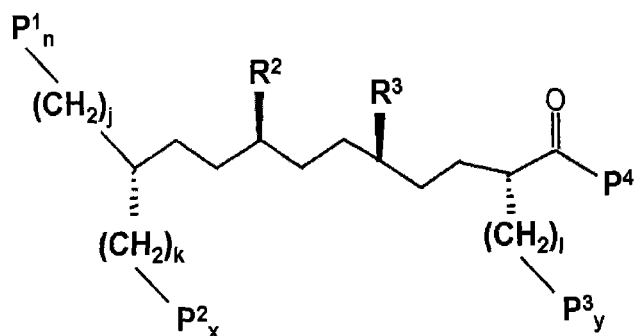


其中 R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 如上所述。

在一个实施方案中, 分子具有下式:



在一些实施方案中, 本发明包括具有本文所述物理和/或功能性质并具有下式的小分子:



其中 P^1 、 P^2 、 P^3 和 P^4 是如上所述独立选择的疏水保护基团， n 、 x 和 y 独立地为 0 或 1； j 、 k 和 l 独立地为 0、1、2、3、4、或 5； R^2 和 R^3 在 pH7.0 是酸性或碱性的，其中当 R^2 是酸性时， R^3 是碱性；当 R^2 是碱性时， R^3 是酸性。在一些优选实施方案中，小分子可溶于水；且小分子的分子量小于大约 900 道尔顿。在一些实施方案中， n 、 x 、 y 、 j 和 l 为 1； k 为 4。

在一些实施方案中， P^1 和/或 P^2 是芳香族保护基团。在一些实施方案中， R^2 和 R^3 是氨基酸 R 基，例如上文所述的。在多种实施方案中， n 、 x 和 y 中至少有一个是 1， P^1 、 P^2 、 P^3 和 P^4 当存在时，是如上所述从下组中独立选择的保护基团：聚乙二醇(PEG)、乙酰基、酰胺、3-20 碳烷基、Fmoc、9-芴乙酰基、1-芴羧基、9-芴羧基、9-芴酮-1-羧基、苄氧羰基、咕吨基(Xan)、三苯甲基(Trt)、4-甲基三苯甲基(Mtt)、4-甲氧三苯甲基(Mmt)、4-甲氧-2,3,6-三甲基-苯磺酰基(Mtr)、均三甲苯-2-磺酰基(Mts)、4,4-二甲氧二苯甲基(Mbh)、甲苯磺酰基(Tos)、2,2,5,7,8-五甲基色满-6-磺酰基(Pmc)。

III 活性剂的功能分析

用于本发明方法的一些活性剂如各式(例如上面的式 I)和/或特定序列所述。在一些实施方案中，本发明优选的活性剂以一种或多种如下的功能性质为特征：

1. 它们使促炎 HDL 转变成抗炎 HDL，或者使抗炎 HDL 更加抗炎；
2. 它们降低 LDL 诱导的由动脉壁细胞产生的单核细胞趋化活性；
3. 它们刺激前 β -HDL 的形成和循环；
4. 它们提高 HDL 胆固醇；和/或
5. 它们提高 HDL 对氧磷酶活性

本文所述的具体的剂和/或相应于本文所述各式的剂，可以按照期望容易地对其一种或多种活性进行检验。

用于筛选上述每种功能性质的方法对于本领域技术人员而言是众所周知的。特别地，需要指出，单核细胞趋化活性、HDL 胆固醇和 HDL 对氧磷酶活性的测定方法如 PCT/US01/26497 (WO 2002/15923) 所述。

IV. 肽制备

本发明使用的肽可以用标准化学肽合成技术化学地合成，或者特别在肽不包含“D”氨基酸残基时，可以重组表达。在一些实施方案中，甚至含有“D”氨基酸残基的肽也被重组表达。当重组表达多肽时，在如下环境中培养宿主生物（例如细菌、植物、真菌细胞等），其中一种或多种氨基酸完全以 D 型提供给生物。于是，在这种系统中重组表达的肽便掺入了那些 D 氨基酸。

在一些优选实施方案中，利用本领域技术人员已知的多种液相或固相肽合成技术中的任何方法，化学地合成肽。固相合成是化学合成本发明多肽的一种优选方法，其中序列的 C 端氨基酸附着在不溶载体上，随后顺次添加序列中剩余的氨基酸。用于固相合成的技术对于本领域技术人员而言是众所周知的，例如在如下的文献中有描述：Barany and Merrifield(1963) *Solid-Phase Peptide Synthesis*; pp3-284 *The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology. Vol 2: Special Methods in Peptide Synthesis, Part A.*; Merrifield et al.(1963) *J. Am. Chem. Soc.*, 85:2149-2156; 和 Stewart et al.(1984) *Solid Phase Peptide Synthesis*, 2nd ed. Pierce Chem. Co., Rockford, III.

在一些实施方案中，肽通过固相肽合成程序，利用二苯甲胺（benzhydrylamine）树脂（Beckman Bioproducts, 0.59mmol NH₂/g 树脂）作为固相载体合成。COOH 末端氨基酸（例如叔-丁基羧基-Phe）通过 4-(羟甲基)苯乙酰基[4-(oxymethyl)phenacetyl]附着在固相载体上。这种连接比传统的苄基酯连接更加稳定，然而最终的肽仍然能够用加氢反应切断。为此目的使用甲酸作为氢供体进行转移氢化。用于肽合成和合成肽分析的详细实验方案在 Anantharamaiah 等（1985）*J. Biol. Chem.*, 260(16):10248-10255 的附录中有说明。

需要指出，在肽，特别是含有 D 氨基酸的肽的化学合成中，除了期望的全长产物之外，该合成通常还会产生若干截短的肽。纯化过程（例如 HPLC）通常会损失相当数量的全长产物。

本发明发现,在合成D肽(例如D-4)时,为了防止在纯化最长形式的过程中造成的损失,可以进行透析并使用混合物,从而省略最后的HPLC纯化。这种混合物损失高度纯化产物的大约50%的效价(例如,每wt蛋白质产物),但是混合物含有大约6倍的肽,因此总活性更大。

在一些实施方案中,肽合成只利用液相化学,或者与固相化学组合运用。在一种方法中,最终肽的制备是通过合成两个或多个亚序列(例如用固相或液相化学),然后在溶液相合成中连接这些序列。在实施例显示了4F序列(SEQ ID NO:13)的溶液。为了制备该18氨基酸肽,首先制备3条6氨基酸肽(亚序列)。然后,在溶液中使这些亚序列偶联,形成完整的4F肽。

V. 药物制剂和装置

A) 药物制剂

为了执行本发明的方法,可以向例如被诊断患有的一种或多种动脉粥样硬化症状,或者有动脉粥样硬化危险性和/或本文所述多种其它病变的个体,施用一种或多种本发明的活性剂。活性剂能够以“天然”形式施用,或者,如果期望,以盐、酯、酰胺、前药或衍生物等形式施用,前提是该盐、酯、酰胺、前药或衍生物在药理学上适合,也就是说,在本方法中有效。活性剂的盐、酯、酰胺、前药和其它衍生物可用有机合成化学领域技术人员已知的标准程序制备,在例如 March(1992) *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure*, 4th Ed. N.Y. Wiley-Interscience.

例如,用传统的方法由游离碱制备酸加成盐,其典型地涉及与合适的酸进行反应。一般而言,将药物的碱形式溶解在极性有机溶剂中,例如甲醇或乙醇,并向其中添加酸。所得的盐或者沉淀,或者可通过添加极性较小的溶剂从溶液中提出来。用于制备酸加成盐的合适酸包括有机酸,例如乙酸、丙酸、乙醇酸、丙酮酸、草酸、苹果酸、丙二酸、琥珀酸、马来酸、反丁烯二酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、肉桂酸、苦杏仁酸、甲磺酸、乙磺酸、对-甲苯磺酸、水杨酸等,以及无机酸,例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等。通过用合适的碱处理,加酸盐可以重新转变成游离碱。本文活性剂特别优选的酸加成盐是卤化物盐,例如用盐酸或氢溴酸制备的卤化物盐。相反,本发明活性剂的碱式盐可以用药学可接受的碱,例如氢氧

化钠、氢氧化钾、氢氧化铵、氢氧化钙、三甲胺等，以相似的方法制备。特别优选的碱式盐包括碱金属盐，例如钠盐，和铜盐。

酯的制备通常涉及使可能存在于药物分子结构中的羟基和/或羧基官能化。酯通常是游离醇基的酰基取代衍生物，也就是，衍生自式 RCOOH 的羧酸的部分，其中 R 是醇，优选的是低级烷基。如果需要，通过使用常规的氢解或水解处理可以将酯再转变成游离酸。

还可以用本领域技术人员已知的或在相关文献中说明的技术制备酰胺和前药。例如，酰胺可用合适的胺反应剂由酯制备而成，或者可以从酸酐或酰基氯通过与氨水或低级烷胺反应而制备。前药通常是这样制备的：共价连接上某个部分，使得化合物在受到个体代谢系统的修饰之前没有治疗活性。

本文鉴定的活性剂可用于肠胃外、表面、经口、经鼻（或者用吸入）、直肠、或局部施用，例如气雾或透皮，来预防和/或治疗如本文所述的一种或多种病变/适应症（例如，动脉粥样硬化和/或其症状）。药物组合物可以多种单位剂型施用，这取决于施用的方法。合适的单位剂型包括，但不限于，粉剂、片剂、丸剂、胶囊、锭剂、栓剂、贴剂、鼻喷雾、注射剂(injectibles)、可植入缓释制剂、脂质复合物等。

本发明的活性剂典型地与药学可接受的载体（赋形剂）组合，形成药物组合物。药学可接受的载体可含有一种或多种生理可接受的化合物，它们起到，例如，稳定该组合物或者提高或降低活性剂吸收的作用。生理可接受的化合物可包括，例如，碳水化合物，如葡萄糖、蔗糖或葡聚糖；抗氧化剂，如抗坏血酸或谷胱甘肽；螯合剂；低分子量蛋白质；保护和摄取促进剂，如脂质；可降低活性剂清除或水解的组合物，或赋形剂或其他稳定剂和/或缓冲剂。

其他生理可接受的化合物包括润湿剂、乳化剂、分散剂、或特别有利于防止微生物生长或作用的防腐剂。多种防腐剂是众所周知的，包括例如，苯酚和抗坏血酸。本领域的技术人员可以意识到，药学可接受载体，包括生理可接受化合物的选择取决于，例如，活性剂的施用途径和活性剂的特定的理化特性。

赋形剂优选地是无菌的，并且通常没有非期望物质。这些化合物可以通过传统的、众所周知的灭菌技术加以灭菌。

在治疗应用中，向患有的一种或多种本文所述病变的一种或多种症状的，或者具有本文所述一种或多种病变危险性的患者施用足以防止和/或治愈和/或至少部分防止或抑制所述疾病和/或其并发症的剂量的本发明化合物。足以实现这一目的的剂量定义为“治疗有效剂量”。本应用的有效剂量取决于疾病的严重程度和患者健康的综合状态。根据患者需要和可以耐受的剂量和频率可进行单次或多次施用。任何情况下，该组合物应当提供足够量的本发明的制剂的活性剂，来有效地对患者进行治疗（改善一种或多种症状）。

活性剂的浓度可以有很大变化，其主要是根据流体体积（fluid volume）、粘度、体重等，按照所选的具体施用模式和患者的需要来选择。然而，通常选择的浓度提供大约 0.1 或 1mg/kg/日 到大约 50 mg/kg/日 范围的剂量，有时可以更高。典型的剂量范围是大约 3 mg/kg/日 到大约 3.5 mg/kg/日，优选大约 3.5 mg/kg/日 到大约 7.2 mg/kg/日，更优选大约 7.2 mg/kg/日 到大约 11.0 mg/kg/日，最优选大约 11.0 mg/kg/日 到大约 15.0 mg/kg/日。在一些优选实施方案中，剂量范围是大约 10 mg/kg/日 到大约 50 mg/kg/日。在一些实施方案中，剂量范围是大约 20 mg 到大约 50 mg，每日口服两次。可以理解，这些剂量可以改变，以针对特定受试者或受试者组提供最优化的治疗方案。

在一些优选实施方案中，本发明的活性剂可以根据本领域技术人员众所周知的标准方法进行口服（例如通过药片）或注射。在其他优选实施方案中，肽可以用常规的透皮药物递送系统，也就是，透皮“贴剂”，通过皮肤递送，其中活性剂通常包含在一种叠层（laminated）结构内，该结构粘贴在皮肤上充当药物递送装置。在这种结构中，药物组合物通常包含在上衬层（upper backing layer）下面的层，又称“储库”（reservoir）内。应当意识到，本文中术语“储库”是指最终可供递送到皮肤表面的一定量的“活性组分”。因此，例如，“储库”可以包括贴剂衬层上的粘合剂中的活性成分，或者本领域技术人员已知的任何基质制剂中的活性组分，这样的基质制剂有多种。贴剂可以包含单个储库，或者可以包含多个储库。

在一个实施方案中，储库包括药学可接受接触粘合材料的聚合物基质，用于在药物递送中将系统粘贴在皮肤上。合适的皮肤接触粘合材料的实例包括，但不限于，聚乙烯、聚硅氧烷、聚异丁烯、聚丙烯酸酯、聚氨酯等。或者，含有药物的储库和皮肤接触粘合剂以分离的且明显不同的层的

形式存在，粘合剂位于储库的下面，这里，储库可以是如上所述的聚合体基质，或者可以是液体或水凝胶储库，或者可以采取其他形式。这些叠层中的衬层用作装置的上表面，优选地起“贴剂”主结构元件的作用，并提供该装置大部分的柔性。选择用于衬层的材料优选地活性剂和存在的任何其他材料都是基本上非透过性的。

其他用于局部药物递送的优选形式包括，但不仅限于，软膏和乳膏。软膏是半固体的制品，其典型地是基于矿脂或其他石油衍生物。含有所选活性剂的乳膏典型地是粘性液体或半固体乳剂，通常是水包油或油包水。乳膏基材典型是耐水洗的（water washable），并且含有油相、乳化剂和液相。油相有时也称作“内部”相，一般由矿脂和脂肪醇，例如十六烷醇或十八烷醇组成；液相的体积通常但不必定超过油相，并且一般含有湿润剂。乳膏制剂中的乳化剂一般是非离子、阳离子、阴离子或两性离子表面活性剂。本领域技术人员可以意识到，要使用的特定软膏或乳膏可以提供最佳的药物递送。和其他载体或介质一样，软膏基质应当是惰性的、稳定的、无刺激性的、且非致敏的。

与典型的肽制剂不同，本发明含有 D 型氨基酸的肽可以在没有针对胃酸等造成的蛋白质水解等进行保护的条件下施用，甚至口服。然而，在一些实施方案中，通过使用保护性赋形剂可以提高肽的递送。这典型地可以通过如下方法实现：将多聚肽与组合物复合，使其耐受酸和酶的水解；或者将肽封装（package）在合适的抗性载体内，例如脂质体。保护用于口服递送的肽的方法在本领域中是众所周知的（见，例如，美国专利 5,391,377，其描述了用于口服递送治疗剂的脂质成分）。

使用缓释蛋白“封装”系统可以保持高的血清半衰期。这种缓释系统对于本领域技术人员而言是众所周知的。在一个优选实施方案中，用于蛋白质和肽的 ProLease 可生物降解微球递送系统(Tracy(1998) *Biotechnol. Prog.* 14:108; Johnson et al.(1996), *Nature Med.* 2:795; Herbert et al.(1998), *Pharmaceut. Res.* 15, 357)，是由生物可降解聚合物微球构成的干粉，所述微球在聚合物基质内含有活性剂，其可以配制为具有或者没有其他药剂的干燥制剂。

ProLease 微球的制造过程经过特殊的设计，以便实现高的封装效率，同时保持活性剂的完整性。该过程由下列步骤组成：(i)通过喷射冷冻干燥含

有稳定化赋形剂的药物溶液，由总体制备冻干药物颗粒；(ii)制备药物-聚合物悬液，随后进行超声或均质化以减小药物颗粒的尺寸；(iii)通过向液氮中喷雾产生冻结的药物-聚合物微球；(iv)用乙醇抽提聚合物溶剂；和(v)过滤和真空干燥，生产最终的干燥粉末产品。最终的粉末含有固体形式的活性剂，其是均质的，并且刚性地分散在多孔聚合物颗粒内。该过程中最经常使用的聚合物(丙交酯-乙交酯共聚物(PLG))既生物相容，又可生物降解。

封装可以在低温下(例如-40°C)实现。在封装期间，蛋白质在无水条件下水保持固态，因此使由水诱导的蛋白质构象活动性(conformational mobility)最小化，防止以水作为反应剂的蛋白质降解反应，和避免可导致蛋白质变性的有机-水界面的产生。优选过程使用大多数蛋白质在其中不可溶的溶剂，因此造成高封装效率(例如，大于95%)。

在另一个实施方案中，溶液的一种或多种成分可以作为“浓缩物”提供，例如保存在现成可稀释的存储容器内(例如具有预先测量的体积)，或者保存在现成可添加到一定体积水中的可溶胶囊内。

前面的制剂和施用方法只是举例性的，不构成限制。应当意识到，使用本文的教导，可以容易地设计其他合适的形式和施用模式。

B) 脂基制剂(lipid-based formulations)

在一些实施方案中，本发明的活性剂与一种或多种脂质结合施用。脂质可以配制成赋形剂，用于保护和/或提高活性剂的转移/摄取，或者它们可以分别施用。

不受具体理论所限，本发明发现，施用(例如，口服施用)某些磷脂可以显著提高HDL/LDL比值。此外，可以相信，某些中等长度的磷脂是通过与一般脂类转运涉及的过程不同的过程转运的。因此，与本发明的活性剂共同施用某些中等长度的磷脂可以提供若干优点：它们保护活性剂免于被消化或水解，提高摄取，并且提高HDL/LDL比值。

脂类可以形成包封本发明活性剂的脂质体，和/或它们可以与活性剂复合/混合，和/或它们能够与活性剂共价偶联。制作脂质体和包封剂的方法对于本领域技术人员而言是众所周知的(见，例如，Martin and Papahadjopoulos(1982) *J. Biol. Chem.*, 257:286-288; Papahadjopoulos et al.(1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88:11460-11464; Huang et al.(1992)

Cancer Res., 52:6774-6781; Lasic et al. (1992) *FEBS Lett.*, 312:255-258 等)。

用于这些方法的优选磷脂在 sn-1 和 sn-2 位置有大约 4 个碳到大约 24 个碳的脂肪酸。在一些优选实施方案中, 脂肪酸是饱和的。在其他优选实施方案中, 脂肪酸可以是非饱和的。表 16 列举了多种优选的脂肪酸。

表 16. 用于施用本文所述活性剂的优选磷脂在 sn-1 和/或 sn-2 位置的优选脂肪酸

碳 No.	通用名	IUPAC 名
3:0	丙酰	丙酰 (Trianoic)
4:0	丁酰	丁酰 (Tetranoic)
5:0	戊酰	戊酰 (Pentanoic)
6:0	己酰	己酰 Hexanoic)
7:0	庚酰	庚酰 (Heptanoic)
8:0	辛酰	辛酰 (Octanoic)
9:0	壬酰	壬酰 (Nonanoic)
10:0	癸酰	癸酰 (Decanoic)
11:0	十一烷酰	十一烷酰 (Undecanoic)
12:0	月桂酰	十二烷酰 (Dodecanoic)
13:0	十三烷酰	十三烷酰 (Tridecanoic)
14:0	肉豆蔻酰	十四烷酰 (Tetradecanoic)
15:0	十五烷酰	十五烷酰 (Pentadecanoic)
16:0	棕榈酰	十六烷酰 (Hexadecanoic)
17:0	十七烷酰	十七烷酰 (Heptadecanoic)
18:0	硬脂酰	十八烷酰 (Octadecanoic)

19:0	十九烷酰	十九烷酰 (Nonadecanoic)
20:0	花生酰	二十烷酰 (Eicosanoic)
21:0	二十一烷酰	二十一烷酰 (Heniecosanoic)
22:0	二十二烷酰	二十二烷酰 (Docosanoic)
23:0	二十三烷酰	二十三烷酰 (Trocossanoic)
24:0	二十四烷酰	二十四烷酰 (Tetracosanoic)
14:1	肉豆蔻烯酰 (9-顺)	
14:1	十四酰 (9-反)	
16:1	十六酰 (9-顺)	
16:1	十六酰 (9-反)	

这些位置的脂肪酸可以相同或不同。特别优选的磷脂在 sn-3 位置具有磷酸胆碱。

VI. 施用

典型地，活性剂可以根据需要向哺乳动物（例如，人）施用。该哺乳动物典型地包括患有的一种或多种本文所述病变和其危险性的哺乳动物（例如，人）。

活性剂可以使用如本文所述的多种标准方法中的任何方法施用，包括，但不限于，注射、栓剂、鼻喷雾、经时释放植入、透皮贴剂等。在一个特别优选的实施方案中，肽通过口服施用（例如，作为糖浆、胶囊或片剂）。

这些方法涉及施用本发明的单一活性剂，或者施用两种或多种不同的活性剂。活性剂可以作为单体（例如，单独或组合的形式），或二聚体、寡聚体或多聚体形式提供。在一些实施方案中，多聚体形式可以包含结合的单体（例如，离子或疏水连接的），而一些其他的多聚体形式包含共价连接的单体（直接连接或通过接头）。

尽管本发明是就在人类中的使用说明的，但是它也适用于动物，例如用于兽医。因此，一些优选的生物包括，但不仅限于，人类、非人灵长类、犬科动物（canines）、马科动物（equines）、猫科动物（felines）、猪、有蹄类、兔等。

本发明的方法不仅限于已显示患有一种或多种本文所述病变的症状的人类或非人动物，还可用于预防。因此，可以向生物体施用本发明的活性剂，用于防止本文所述病变（例如，动脉粥样硬化、中风等）的一种或多种症状的发作/发生。这里特别优选的对象是显示有病症的一种或数种危险性因素的对象。因此，例如，动脉粥样硬化的危险性因素包括家族史、高血压、肥胖、高酒精摄取、吸烟、高血胆固醇、高血甘油三酯、血中 LDL、VLDL、IDL 过高，或 HDL 过低、糖尿病或糖尿病家族史、高血脂、心脏病发作、心绞痛或中风等。

VII. 药物洗脱支架

再狭窄，即先前狭窄随后经过扩张的外周或冠状血管的再封闭，具有相当高的发病率（例如，对这些步骤而言为 20-50%），并且取决于多种临床和形态学变量。再狭窄可以在血管成形术之后很短的时间内开始，但通常在大约六（6）个月时结束。

一种最新开发的用于解决再狭窄问题的技术是血管内支架。支架典型地是永久植入（扩张）在冠状和外周血管内的装置。这些支架的目的是为患病（狭窄）的血管提供长期“支撑”（scaffolding）或支持。其理论是，如果血管被从其内部支持，则不会关闭或再狭窄。

已知的支架设计包括，但不仅限于，单丝线圈(monofilament wire coil)支架（见例如美国专利 4,969,458）；焊接金属笼(welded metal cages)（见例如美国专利 4,733,665 和 4,776,337）；围绕圆周形成有轴向狭槽的薄壁金属圆柱（见例如美国专利 4,733,665、4,739,762、4,776,337 等）。可用于支架的已知结构材料包括，但不仅限于，聚合物、有机纺织品和生物相容性金属，例如，不锈钢、金、银、钽、钛和形状记忆合金如镍钛金属互化物。

为了进一步防止再狭窄，支架可以用一种或多种药物覆盖和/或充满，例如，该药物制为可控释放的制剂，以抑制与再狭窄相关联的细胞增生。

最常见地，这种“药物洗脱”支架被设计成递送多种癌症药物（细胞毒素）。

然而，由于它们具有减轻炎症反应，减少和/或消除氧化脂类和/或其他被氧化物质，抑制巨噬细胞趋化活性等活性，本文所述的活性剂也完全适用于防止再狭窄。因此，在一些实施方案中，本发明考虑如下的支架，其表面上涂覆有，和/或在支架表面上的空穴或微穴（microcavities）内保持有一种或多种本文所述的活性剂（见例如图 18A 和 18B）。

在一些实施方案中，活性剂包含在生物相容性基质内（例如生物相容性聚合物，如聚氨酯、硅树脂（silicone）等）。合适的生物相容性材料在例如美国专利公开 20050084515、200500791991、20050070996 等中有描述。在多种实施方案中，聚合物包括，但不仅限于，硅树脂-氨基甲酸乙酯共聚物，聚氨酯，苯氧基（phenoxy），乙烯-乙烯乙酸，聚己内酯，丙交酯-乙交酯共聚物，聚丙交酯，聚砜，弹性蛋白，纤维蛋白，胶原蛋白，硫酸软骨素，生物相容性聚合物，生物稳定性聚合物，生物可降解聚合物。

因此，在一些实施方案中，本发明提供了用于递送药物到机体血管内的支架。该支架典型地包括支架框，其包括在其中形成的多个储库。这些储库典型地包含活性剂，和/或位于储库内和/或涂覆在支架表面上的含活性剂聚合物。在多种实施方案中，该支架是金属基或聚合物基。一些优选支架材料包括，但不仅限于，不锈钢、镍金属互化物、钽、MP35N 合金、铂、钛、合适的生物相容性合金、合适的生物相容性聚合物、和/或其组合。

在多种实施方案中，支架含有孔（例如，储库），该孔可包含微孔（例如直径范围是大约 10 μ m 到大约 50 μ m，优选地大约 20 μ m 或者更小）。在多种实施方案中，微孔的深度范围是大约 10 μ m 到大约 50 μ m。在多种实施方案中，微孔延伸穿过支架框，在支架的内表面和支架的外表面上均有开口。在一些实施方案中，支架可以任选地包括位于支架框内表面上的盖层，该盖层覆盖通孔的至少一部分，并提供屏障特征，以控制聚合物中的活性剂从支架框内表面洗脱的速度。在多种实施方案中，储库包含沿着支架框外表面的沟槽。支架可以任选地具有多层聚合物，其中不同层的聚合物携带不同的活性剂和/或其他药物。

在一些实施方案中，支架任选地包括：位于支架框和聚合物之间的粘合层。合适的粘合层包括，但不仅限于，聚氨酯、苯氧基、丙交酯-乙交酯共聚物、聚丙交酯、聚砜、聚己内酯、粘合促进剂（adhesion promoter）和/

或其组合。

除了支架之外，活性剂还可以涂覆在基本上任何可植入的医学装置上，或者包含在其内，该医学装置可植入在血管外和/或血管内位置。

另外还提供了制造药物-聚合物支架的方法，包括：提供支架框；使用例如高功率激光在支架框内切出多个储库；向至少一个储库施加一种或多种活性剂和/或药物聚合物；干燥药物聚合物；向干燥的药物聚合物施加聚合物层；和干燥该聚合物层。所述活性剂和/或聚合物可以通过常规的方法施加，包括但不限于，喷(spraying)、浸(dipping)、涂(painting)、刷(brushing)和分配(dispensing)。

还提供了用于治疗血管病症，和/或以炎症反应为特征的病症，和/或以氧化活性类别的形成作为特征的病症的方法。该方法典型地涉及如上所述地将支架或其它可植入装置定位在机体内（例如，机体的血管内），并从植入物的至少一个表面洗脱至少一部分活性剂。

VIII. 提高肽摄取

本发明还惊奇地发现，当全L氨基酸肽(例如，或者具有本发明肽序列的肽)与D型（也就是，本发明的肽）联合施用，可提高D型肽的摄取。因此，在有些实施方案中，本发明考虑在本发明方法中使用D-型和L-型肽的组合。D-型肽和L-型肽可以具有不同的氨基酸序列，但是，在优选的实施方案中，它们都具有本文所描述的氨基酸序列，在更加优选的实施方案中，它们具有相同的氨基酸序列。

本发明还发现，本发明两亲性螺旋肽的多联体也可有效减轻动脉粥样硬化的一种或多种症状。含有该多联体的单体可以直接偶联在一起，或通过接头连接在一起。在一些实施方案中，接头是氨基酸接头（例如脯氨酸），或肽接头（例如Gly₄Ser₃，SEQ ID NO:625）。在一些实施方案中，多联体是2 mer，更优选的是3 mer，再优选的是4 mer，最优选的是5 mer、8 mer或10 mer。如上所述，多联体可以包括如本文所述的G*相关两亲性螺旋与如PCT公开WO2002/15923中说明的apo A-I变体的组合。

IX. 附加药理活性剂

附加药理活性剂可以与主活性剂例如本发明的肽一起递送。在一个实

施方案中，这些剂包括，但不仅限于，可降低动脉粥样硬化事件和/或其并发症的危险性的剂。这些剂包括，但不仅限于， β 受体阻滞剂、 β 受体阻滞剂与噻嗪类利尿剂的组合、他汀类药物（statins）、阿司匹林(aspirin)、ACE抑制剂、ace受体抑制剂(ARB)等。

合适的 β 受体阻滞剂包括，但不仅限于，心选择性的（选择性 β_1 受体阻滞剂），例如醋丁洛尔(acebutolol)(SectralTM)、阿替洛尔(atenolol)(TenorminTM)、倍它洛尔(betaxolol)(KerloneTM)、比索洛尔(bisoprolol)(ZebetaTM)、美托洛尔(metoprolol)(LopressorTM)等。合适的非选择性受体阻滞剂（同等阻滞 β_1 和 β_2 ）包括，但不仅限于，卡替洛尔(carteolol)(CartrolTM)、纳多洛尔(nadolol)(CorgardTM)、喷布洛尔(penbutolol)(LevitolTM)、吲哚洛尔(pindolol)(ViskenTM)、普萘洛尔(propranolol)(InderalTM)、噻马洛尔(timolol)(BlockadrenTM)、拉贝洛尔(labetalol)(NormodyneTM, TrandateTM)等。

合适的 β 受体阻滞剂与噻嗪类利尿剂组合包括，但不仅限于，美多洛尔(Lopressor)HCT、ZIAC、Tenoretic、Corzide、Timolide、普萘洛尔(Inderal)LA 40/25、Inderide、Normozide等。

合适的他汀类药物包括，但不仅限于，普伐他汀(pravastatin)(普拉固(Pravachol)/Bristol-Myers Squibb)、辛伐他汀(simvastatin)(Zocor/Merck)、洛伐它丁(lovastatin)(Mevacor/Merck)等。

合适的ace抑制剂包括，但不仅限于，卡托普利(captopril)(例如Squibb生产的CapotenTM)、贝那普利(benazepril)(例如Novartis生产的LotensinTM)、恩纳普利(enalapril)(例如Merck生产的VasotecTM)、福森普利(fosinopril)(例如Bristol-Myers生产的MonoprilTM)、赖诺普利(lisinopril)(例如Merck生产的PrinivilTM或Astra-Zeneca生产的ZestrilTM)、喹那普利(quinapril)(例如Parke-Davis生产的AccuprilTM)、雷米普利(ramipril)(例如Hoechst Marion Roussel, King Pharmaceuticals产的AltaceTM)、咪达普利(imidapril)，培哚普利(perindopril)erbumine(例如Rhone-Polenc Rorer生产的aceonTM)、群多普利(trandolapril)(例如Knoll Pharmaceutical产的MavikTM)等。合适的ARBS(Ace受体阻滞剂)包括，但不仅限于，氯沙坦(losartan)(例如Merck生产的CozaarTM)、厄贝沙坦(irbesartan)(例如Sanofi产的AvaproTM)、坎地沙坦(candesartan)(例如Astra Merck产的AtacandTM)、缬沙坦(valsartan)(例如Novartis产的DiovanTM)等。

X. 用于改善一种或多种动脉粥样硬化症状的试剂盒

在另一个实施方案中，本发明提供了试剂盒，用于改善一种或多种动脉粥样硬化症状，或者用于预防性处理具有动脉粥样硬化危险性的对象（人或动物），或者用于治疗或预防一种或多种本文所述其他病症。试剂盒优选地包括含有一种或多种本发明活性剂的容器。活性剂可以以单位剂量制剂提供（例如栓剂、片剂、胶囊、贴剂等），和/或可以任选地与一种或多种药学可接受的赋形剂组合。

该试剂盒可以任选地进一步包括一种或多种用于治疗心脏病和/或动脉粥样硬化的其它制剂。这些制剂包括，但不限于，如上文所述的 β 受体阻滞剂、血管扩张药、阿司匹林、他汀类药物、ace 抑制剂或 ace 受体抑制剂(ARB)等。

此外，试剂盒任选地包含标签和/或指导材料，为实现本发明的“治疗”或“预防”方法或用途提供指导（即规程）。优选的指导材料应说明本发明一种或多种多肽的使用，以减轻一种或多种动脉粥样硬化症状，和/或防止具有动脉粥样硬化危险性的个体中一种或多种这些症状的发作或增加，和/或减轻一种或多种以炎症反应为特征的病变的症状。指导材料还可以任选地教导优选的剂量/治疗方案、禁忌症（counter indications）等。

尽管指导材料典型地包含手写或印刷的材料，但它们并不仅限于此。任何可以存储这些指令并可以与终端用户交流这些指令的介质均在本发明考虑的范围之内。这些介质包括，但不限于，电子存储介质（例如磁盘、磁带、录音带、芯片）、光学介质（例如 CD ROM）等。这些介质可以包括可提供这些指导材料的互联网地址。

实施例

下面的实施例是用来举例说明而提出的，而不是对要求保护的本发明构成限制。

实施例 1

使用 ApoJ 相关肽调理动脉粥样硬化症状

A) 防止 LDL 诱导的单核细胞趋化活性

图 1 显示 D-4F (Circulation 2002; 105:290-292) 与从 D 氨基酸 (D-J336, Ac-L-L-E-Q-L-N-E-Q-F-N-W-V-S-R-L-A-N-L-T-Q-G-E-NH₂, SEQ ID NO:13) 制得的 apoJ 肽在共培养中体外防止 LDL 诱导的单核细胞趋化活性的效果的比较。将人类主动脉内皮细胞与单独的培养基 (无添加物)、对照人 LDL (200 μ g 蛋白质/ml)、或对照人 LDL+对照人 HDL (350 μ g HDL 蛋白质/ml) 一起孵育。向其它孔内加入如图所示的浓度范围的 D-J336 或 D-4F 加上对照人 LDL (200 μ g 蛋白质/ml)。过夜孵育之后, 分析上清液的单核细胞趋化活性。如图 1 所示, 防止 LDL 诱导的人动脉壁细胞的单核细胞趋化活性的 apoJ 变体肽的体外浓度比 D-4F 肽所需的浓度低 10-25 倍。

B) 通过 D-J336 预处理动脉壁细胞防止 LDL 诱导的单核细胞趋化活性

图 2 显示在预孵育中 D-4F 和 D-J336 防止 LDL 诱导的单核细胞趋化活性的效果的比较。将人主动脉内皮细胞与 D-J336 或 D-4F 一起预孵育 6 小时, 其中 D-J336 的浓度为 4、2 和 1 μ g/ml, D-4F 的浓度为 100、50、25 和 12.5 μ g/ml。然后洗涤该培养物, 并与单独的培养基 (无添加物)、或与对照人 LDL (200 μ g 蛋白质/ml)、或与对照人 LDL+对照人 HDL (350 μ g HDL 蛋白质/ml) 一起孵育, 作为测定对照。用肽预处理过的孔接受 200 μ g 蛋白质/ml 的对照人 LDL。过夜孵育之后, 分析上清液的单核细胞趋化活性。

如图 2 所示, 在体外防止动脉壁细胞氧化 LDL 中, ApoJ 变体肽强 9-24 倍。

C) apo J 肽模拟物对 LDL 受体缺失小鼠体内 HDL 保护能力的效果

向 LDL 受体缺失小鼠 (每组 4 只) 的饮用水中添加 D-4F (表示为 F) 或由 D 氨基酸制得的 apoJ 肽 (D-J336, 表示为 J), 剂量为每毫升饮用水 0.25 或 0.5mg。24 或 48 小时后, 从小鼠取血, 分离 HDL, 并测试其针对 LDL 诱导的单核细胞趋化活性的保护能力。测定对照包括不加脂蛋白 (无添加物), 或只有对照人 LDL (表示为 LDL, 200 μ g 胆固醇/ml), 或对照 LDL+对照人 HDL (表示为+HDL, 350 μ g HDL 胆固醇) 的培养孔。为了测试小鼠 HDL, 将对照 LDL 与小鼠 HDL 一起添加到动脉壁细胞培养物中 (+F HDL 或+J HDL)。分别按 100 μ g 胆固醇/ml 添加小鼠 HDL。在用 D-4F 或 D-J336 处理之后, 100 μ g/ml 的小鼠 HDL 防止对照 LDL 诱导动脉壁细胞产生单核

细胞趋化活性的活性，与 350 $\mu\text{g/ml}$ 的对照人 HDL 一样。在体外和体内，D-J336 肽相对 D-4F 所需的相对剂量的差异的原因可能与肽在水中的溶解度有关，我们相信，当设法实现相等的溶解度时，D-J 肽在体内的活性将高得多，和它们在体外一样。

D) 来自口服肽的 apo E 缺失小鼠的 HDL 针对 LDL 诱导的单核细胞趋化活性的保护

图 4 图解了口服 apo A-1 肽模拟物和 apoJ 肽对 HDL 保护能力的影响。在 ApoE 缺失小鼠（每组 4 只）的饮用水中给予 D-4F（表示为 F）50、30、20、10、5 $\mu\text{g/ml}$ 饮用水，或在饮用水中给予 apoJ 肽（表示为 J）50、30 或 20 $\mu\text{g/ml}$ 饮用水。24 小时后取血，用 FPLC 分级血浆，并分别合并含有 LDL（表示为 mLDL，以代表小鼠 mLDL）和含有 HDL（表示为 mHDL）的级分，通过确定 LDL 诱导的单核细胞趋化活性来确定 HDL 针对 LDL 氧化的保护能力。对于测定对照，培养孔不接受脂蛋白（无添加物），只接受 mLDL（200 μg 胆固醇/ml），或 mLDL+标准正常人 HDL（表示为 Cont.h HDL，350 μg HDL 胆固醇/ml）。

为了测试鼠 HDL，将 mLDL 与鼠 HDL（+F mHDL 或+J mHDL）一起添加到动脉壁细胞培养物中。来自没有在饮用水中接受任何肽的小鼠的 HDL 称为无肽 mHDL。鼠 HDL 的使用浓度为 100 μg 胆固醇/ml。在接受 D-4F 或 D-J336 之后，100 $\mu\text{g/ml}$ 的鼠 HDL 的活性与 350 $\mu\text{g/ml}$ 的正常人 HDL 相同。如图 4 所示，当添加到饮水中时，在增强 apo E 缺失小鼠 HDL 保护能力方面，D-J 肽与 D-4F 一样强。

E) 得自于口服给予肽的 apo E 缺失小鼠的 LDL 诱导单核细胞趋化活性的能力

图 5 显示了口服 apo A-1 肽模拟物和 apoJ 肽对 LDL 易氧化性的效果。在饮水中向 apoE 缺失小鼠（每组 4 只）提供 50、30、20、10、5 $\mu\text{g/ml}$ 饮用水的 D-4F（表示为 F），或 50、30 或 20 $\mu\text{g/ml}$ 饮用水的 apoJ 肽（从 D 氨基酸制备的 D-J336，表示为 J）。24 小时后从小鼠收集血液，如图 4 所示，用 FPLC 分级血浆，合并含有 LDL（称为 mLDL，代表鼠 LDL）的级分，并通过诱导单核细胞趋化活性确定 LDL 的易氧化性。对于实验对照，培养

孔不接受脂蛋白(无添加物),只接受 mLDL(200 μ g 胆固醇/ml),或 mLDL+标准正常人 HDL(表示为 Cont.h HDL, 350 μ g HDL 胆固醇)。

将来自于接受了 D-4F 的小鼠的鼠 LDL(F mLDL)或来自于接受了 apoJ 肽的小鼠的鼠 LDL(J mLDL)添加到动脉壁细胞培养物中。来自于没有从饮水中接受任何肽的小鼠的 LDL 以“无肽 LDL”表示。

如图 5 所示,当添加到饮水中时,通过诱导单核细胞趋化活性确定,在赋予来自 apo E 缺失小鼠的 LDL 以对人动脉壁细胞氧化的抗性方面,D-J336 略强于 D-4F。

F)从口服肽的 apo E 缺失小鼠获得的 HDL 针对磷脂氧化和单核细胞趋化活性诱导的保护作用

图 6 表示了口服 apoA-1 肽模拟物和 apoJ 肽对 HDL 保护能力的影响。在饮水中向 apoE 缺失小鼠(每组 4 只)提供 50、30、20、10、5 μ g/ml 饮水的 D-4F(表示为 F),或 50、30 或 20 μ g/ml 饮水的 apoJ 肽(由 D 氨基酸制成的 D-J336,以 J 表示)。24 小时后收集血液,用 FPLC 分级血浆,并合并含有 HDL(表示为 mHDL)的级分,通过诱导单核细胞趋化活性确定 HDL 对抗 PAPC 氧化的保护能力。对于测定对照,培养孔不接受脂蛋白(无添加物),接受磷脂 PAPC 20 μ g/ml+HPODE 1.0 μ g/ml,或接受 PAPC+HPODE+标准正常人 HDL(350 μ g HDL 胆固醇/ml,表示为+Cont.h HDL)。

为了测试鼠 HDL,将 PAPC+HPODE 与鼠 HDL(+F mHDL 或+J mHDL)一起添加到动脉壁细胞培养物中。来自于没有从饮水中接受任何肽的小鼠的 HDL 以“无肽 mHDL”表示。鼠 HDL 的使用浓度为 100 μ g 胆固醇/ml。

图 6 所示的数据表明,当添加到饮水中时,以单核细胞趋化活性的产生为量度,D-J336 在人动脉壁细胞共培养物中就导致 HDL 抑制氧化剂 HPODE 对磷脂 PAPC 的氧化而言与 D-4F 一样强。

G)口服 apoA-1 肽模拟物和 apoJ 肽对小鼠血浆对氧磷酶活性的效果

图 7 显示,口服 apoA-1 肽模拟物和 apoJ 肽对小鼠血浆对氧磷酶活性的影响。在饮水中向 apoE 缺失小鼠(每组 4 只)提供 50、10、5 或 0 μ g 每 ml 饮水的 D-4F(表示为 F),或给予 50、10 或 5 μ g 每 ml 饮水的 apoJ

肽（由 D 氨基酸制成的 D-J336，表示为 J）。24 小时后收集血液，测定血浆的 PON1 活性。这些数据表明，当添加到饮水中时，D-J336 在提高 apo E 缺失小鼠对氧磷酶活性方面至少与 D-4F 一样强。

实施例 2

口服 G*肽提高 Apo E 缺陷小鼠体内的 HDL 保护能力

用具有如下氨基酸序列的 G*肽处理 4 月龄雌性 apoE 缺陷小鼠（每组 n=4）。肽 113-122=Ac-LVGRQLEEFL-NH₂(SEQ ID NO:626)，肽 336-357=Ac-LLEQLNEQFNWVSRLANLTQGE-NH₂(SEQ ID NO:627)，肽 377-390=Ac-PSGVTEVVVKLFDS-NH₂(SEQ ID NO:628)。

每只小鼠通过胃管接受 200μg 肽。4 小时后取血，分离血浆，分级脂蛋白，并测定 HDL（25μg/ml）针对人动脉壁细胞培养物中 LDL（100μg/ml）氧化的保护能力。数据如图 8 所示。肽在小鼠体内提供了显著的 HDL 保护能力。

在另一个实验中，用具有如下序列的 11 氨基酸 G*肽 146-156 处理 4 月龄雌性 apoE 缺陷小鼠（n=4）：Ac-QQTHMLDVMQD-NH₂(SEQ ID NO:629)。小鼠在饮水中接受了指定浓度的肽（见图 9）。18 小时后获取血液，分离血浆，分级脂蛋白，并测定 HDL（50μg 胆固醇/ml）针对人动脉壁细胞培养物中 PAPC（25μg/ml）+HPODE（1.0μg/ml）氧化的保护能力。测定对照包括不含添加物，含 PAPC+HPODE，及 PAPC+HPODE+对照 HDL（表示为 +HDL）。数据是一式三份的培养物中 9 个高倍视野内迁移的单核细胞数的平均值±SD。星号表示相对水对照（0μg/ml）的显著水平 p<0.05。

实施例 3

肽合成的溶液相化学

在一些实施方案中，溶液相合成化学为合成本发明的肽提供了更加经济的手段。

在本发明之前，通常用全固相合成化学进行合成。固相合成小于 9 个氨基酸的肽比固相合成大于 9 个氨基酸的肽经济得多。合成大于 9 氨基酸的肽会由于延长中的氨基酸链从树脂物理解离而造成大量的材料损失。固相合成含有少于 9 个氨基酸的肽要经济得多，因为延长中的链相对地几乎

没有从树脂损失。

在一些实施方案中,溶液相合成是这样进行的:将 18 个氨基酸的 apoA-I 模拟物肽,即 4F (和其他相关肽)的合成由全固相合成转变成全溶液相合成,或者先固相合成三条链,每一条含有例如 6 个氨基酸,然后在溶液中组装这三条链。这大大提高了整个合成的经济性。当肽的长度不是 18 个氨基酸时,可以很容易地对这一过程进行修改。因此,例如,15mer 的合成可以通过固相合成三个 5mer,随后在溶液中组装这三条链。14mer 的合成可以通过固相合成两个 5mer 和一个 4mer,随后在溶液中组装这些链,等等。

A. 合成方案概述

表 17 显示了合成肽 D4F (Ac-D-W-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH₂ (SEQ ID NO:13)) 的示例性方案。(表 17 显示了该合成方案和合成产率)。

表 17. 示例性溶液相合成方案

用于 D4F 合成的方法						
合成	树脂	Fmoc 氨基酸	偶联试剂	树脂的最终 Wt.(gms)	粗肽的 Wt.(gms)产率 (%)	纯肽的 Wt.(mg) 产率(%)
逐步固相	RinkAmide(1mmol)	6 Equiv	HBTU/HOBT	4	2.0	500
	1.8 gms				86	25
逐步固相	RinkAmide	2 Equiv	DIC/HOBT	3.9	2.0	450
	(1mmol)1.8 gms				86	22.5
片段偶联	RinkAmide		HBTU/HOBT	3.3	1.0	100
(6+6+6)	(1mmol)1.8 gms*				43	10
D4F 片段合成			RinkAmide 树脂上的片段 1 H ₂ N-KFKEAF(SEQ ID NO:630) (K 和 E 被适当保护)			
片段 2	Cl-Trt-树脂	6 Equiv	HBTU/HOBT	11	2.2	
6 残基逐	(5mmol)6.5 gms				粗保护	
步固相					36	
Fmoc-Y(But)-D-(But)-K(Boc)-V-A-E(But)-COOH						

(SEQ ID NO:631)

片段 2	Cl-Trt-树脂	6 Equiv	HBTU	10	1.8
6 残基逐	(5mmol)6.5 gms		/HOBT		粗保护
步固相					32

Ac-D(But)-W-F-K(Boc)-A-F-COOH(SEQ ID NO:632)

用通过固相方法产生的片段进行溶液相合成

片段 1 Wang 树脂. C 端 6 肽(经过氨解). 产率定量

NH₂-K(Boc)-F-K(Boc)-E(But)-A-F-Wang 树脂(SEQ ID NO:633)NH₂-K(Boc)-F-K(Boc)-E(But)-A-F-CO-NH₂(SEQ ID NO:634)

在 DMF 中用 DIC/HOBT 将从上面获得的片段 2 与片段 1 偶联

Fmoc-Y(But)-D(But)-K(Boc)-V-A-E(But)-K(Boc)-F-K(Boc)-E(But)-F-CO-NH₂(SEQ ID NO:635)

在除去保护基团之后, 12 残基肽作为游离肽被鉴定。产率为 50%

用 DMF 中的哌啶(20%)从上面 12 个残基除去 Fmoc。干燥后, 在 DMF 中用 DIC/HOBT 将该肽与片段 3 偶联

Ac-D(But)-W-F-K(Boc)-A-F-Y(But)-D(But)-K(Boc)-V-A-E(But)-K(Boc)-F-K(Boc)-E(But)-A-FCO-NH₂

(SEQ ID NO:636)

被保护肽的产率是定量的。

用 TFA(80%)、苯酚(5%)、茴香硫醚(5%)、水(5%)、三异丙基硅烷(TIS, 5%)混合物搅拌 90min 除去保护基团。

用乙醚沉淀, 并用 C-4 HPLC 柱纯化。产率 25%

B) 合成规程细节

1) 合成 D-4F 的片段缩合步骤

在固相上进行片段缩合的合成片段是:

片段 1: Ac-D(OBut)-W-F-K(ϵ Boc)-A-F-COOH(SEQ ID NO:637);片段 2: Fmoc-Y(OBut)-D(OBut)-K(ϵ Boc)-V-A-E(OBut)-COOH(SEQ ID NO: 638); 和片段 3: Fmoc-K(ϵ Boc)-F-K(ϵ Boc)-E(OBut)-A-F-Rink Amide 树脂(SEQ ID NO:639)。

片段 1 被留在树脂上, 以便在 TFA 处理之后获得最终的肽酰胺。

合成片段 1: 在 DMF:二氯甲烷(1:1)中在 6 倍当量 DIEA 的存在下, 向氯三苯甲基树脂(Nova Biochem, 1.3mMol/g 取代, 使用 5mMol 或 6.5g)添加 Fmoc-Phe (1.2 倍当量), 搅拌 4h。树脂上多余的官能团在二氯甲烷和 DIEA

的存在下用甲醇封端(capped)。除去 Fmoc-之后,如上所述,用 HOBt/HBTU 试剂添加 Fmoc 氨基酸衍生物(2 倍当量)。最终的 Fmoc-D(OBut)-W-F-K(ϵ Boc)-A-F 氯三苯甲基树脂用 Fmoc 脱封闭剂处理,并在二异丙基乙胺(diisopropylethyl amine)存在下,用 6 当量的乙酸酐乙酰化。所得的 Ac-D(OBut)-W-F-K(ϵ Boc)-A-F-树脂在室温用三氟乙醇-乙酸-二氯甲烷(2:2:6, 10ml/g 树脂)的混合物处理 4h。通过过滤除去树脂之后,在真空下利用正己烷通过共沸蒸馏(aziotropic distillation)除去溶剂。残余物(1.8 g)经质谱分析确定为 Ac-D(OBut)-W-F-K(ϵ Boc)-A-F-COOH(SEQ ID NO:640)。

使用用于片段 1 的程序获得片段 2, Fmoc-Y(OBut)-D(OBut)-K(ϵ Boc)-V-A-E(OBut)-COOH(SEQ ID NO: 641)。最终产量为 2.2g。

片段 3: 使用 0.9g(0.5mmol)Rink amide 树脂(Nova Biochem)获得片段,用二氯甲烷中 20%的哌啶(pipetidine)处理 Rink amide 树脂,5min 一次,15min 第二次(Fmoc 去封闭试剂)。用缩合剂 HOBt/HBTU(2 当量,在数滴二异丙基乙胺的存在下)缩合 1.2 当量的 Fmoc-Phe(氨基酸缩合)。继续进行其余氨基酸的去封闭和缩合,从而获得 Fmoc-K(ϵ Boc)F-K(ϵ Boc)-E(OBut)-A-F-rink amide 树脂(SEQ ID NO:642)。切除 Fmoc,并使用肽树脂 K(ϵ Boc)F-K(ϵ Boc)-E(OBut)-A-F-rink amide 树脂(SEQ ID NO:642)进行如下所述的片段缩合。

在 DIEA 存在下,用 HOBt-HBTU 程序过夜将 DMF 中的片段 2 添加到片段 3(1.2 倍当量)。在用 DMF 冲洗树脂并脱封闭之后,用 HOBt-HBTU 程序过夜将 Fmoc-片段 1(1.2 倍当量)添加到十二肽树脂。

最终的肽树脂(3.3g)用 TFA-苯酚-三异丙基硅烷-茴香硫醚-水混合物(80:5:5:5)处理 1.5h(10ml 试剂/g 树脂)。将树脂滤去,溶液用 10 倍体积乙醚稀释。通过离心分离沉淀的肽,并用乙醚清洗 2 次。将 1g 粗肽进行 HPLC 纯化,获得 100mg 肽。

2) 肽的鉴定

肽通过质谱和分析 HPLC 方法加以鉴定。

图 14A-14L 显示了所得肽的纯度。图 15 显示,所得的肽在小鼠体内具有生物活性。

实施例 4

由 Apo-M 衍生的 G*肽提高对氧磷酶活性

向 4 月龄雌性 apoE 缺失小鼠（每组 $n = 4$ ）按 $10\mu\text{g}/\text{只}$ 腹腔注射施用乱序的(scrambled)D-4F（一种无活性对照肽）或 D-4F，或按 $50\mu\text{g}/\text{只}$ 腹腔注射施用由 L 氨基酸(L-ApoM)合成的肽 Ac-KWIYHLTEGSTDLRTEG-NH₂(SEQ ID NO:643)。2 或 6 小时后对小鼠采血，通过 FPLC 分离它们的 HDL，确定 HDL 中的对氧磷酶活性，并在 X 轴上作图。向其他 4 月龄雌性 apoE 缺失小鼠（每组 $n = 4$ ）按 $100\mu\text{g}/\text{只}$ 灌胃施用由 L 氨基酸(L-ApoM)合成的肽 Ac-KWIYHLTEGSTDLRTEG-NH₂(SEQ ID NO:643)（灌胃 L-ApoM）。6 小时后对小鼠采血，通过 FPLC 分离其 HDL，测定 HDL 中的对氧磷酶活性，并在 X 轴上作图。

如图 16 所示，所述来自 apoM，对应于残基 99-115，由 L-氨基酸合成，并且 N 端和羧基端都被封闭的序列(SEQ ID NO:643)，无论是通过腹腔注射还是通过胃饲施用均可提高 apoE 缺失小鼠体内的对氧磷酶活性。

实施例 5

LAELYHAK(SEQ ID NO:8)肽的活性

通过胃管向 4 只猕猴（cynomologous monkey）的每一只施用 5 毫克溶于 2.0ml 水的全部由 D 氨基酸合成的肽 LAELYHAK(SEQ ID NO:8)，之后给 2.0ml 水进行冲洗。6 小时后，对猴子进行采血，用快速蛋白质液相色谱（FPLC）分级其血浆，并在人动脉壁细胞培养物中进行试验。

如图 17 的 A 栏所示，以 $100\mu\text{g}/\text{ml}$ LDL 胆固醇的浓度向细胞添加正常人类 LDL（hLDL）产生了单核细胞趋化活性，其绘制在图的 y 轴上。同样如 A 栏所示，向细胞一起添加 $50\mu\text{g}/\text{ml}$ HDL-胆固醇浓度的正常人类 HDL（hHDL）与 $100\mu\text{g}/\text{ml}$ LDL-胆固醇浓度的 hLDL 导致单核细胞趋化活性显著降低。

如图 17 的 B 栏所示，在 0 时刻（也就是在施用肽之前），向细胞一起添加 $100\mu\text{g}/\text{ml}$ LDL-胆固醇浓度的 hLDL 和 $50\mu\text{g}/\text{ml}$ HDL-胆固醇浓度的猴 HDL 不会降低单核细胞趋化活性。然而，亦如 B 栏所示，添加同样浓度的猴 HDL，但是在施用肽之后 6 小时添加，显著降低了单核细胞趋化活性。

如 C 栏所示, 在施用肽之前 (0 时) 向细胞添加 100 μ g/ml LDL-胆固醇浓度的猴 LDL, 相比于 A 栏中添加相同浓度的 hLDL, 单核细胞趋化活性显著增加。另外 C 栏亦显示, 在施用肽 6 小时后向细胞添加相同浓度的猴 LDL 可显著降低单核细胞趋化活性。

可以理解, 本文所述的实施例和实施方案只是出于举例说明的目的, 本领域的技术人员在它们的基础上, 可以想到多种修改和变化, 这些都包含在本申请的精神和范围内以及所附的权利要求的范围内。本文将本文所引用的全部出版物、专利和专利申请的全部内容并入用于所有目的。

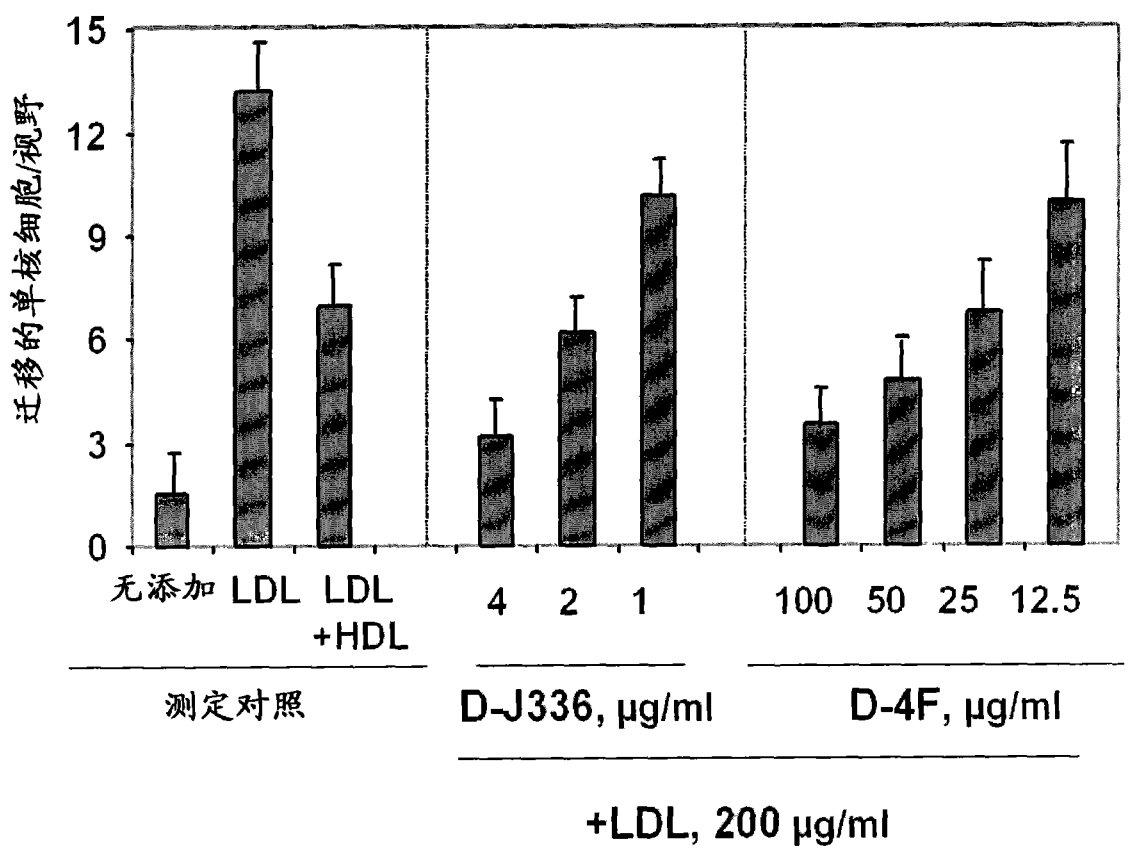


图 1

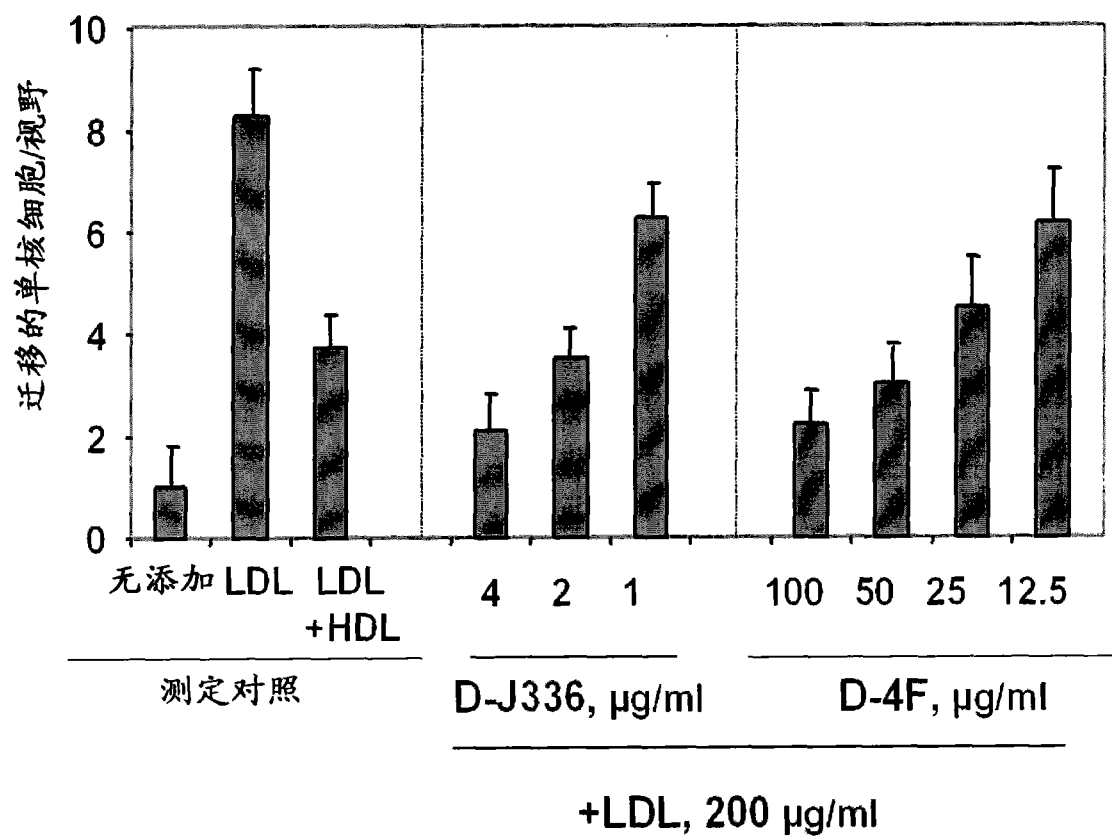


图 2

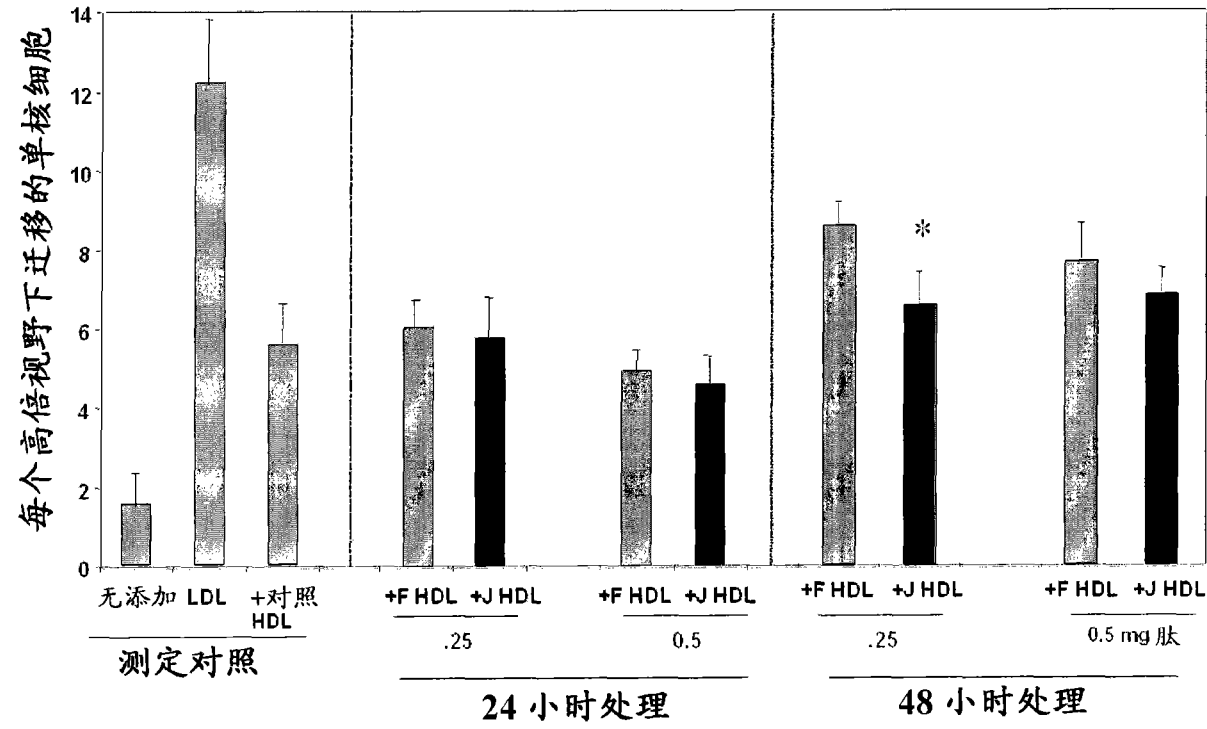


图 3

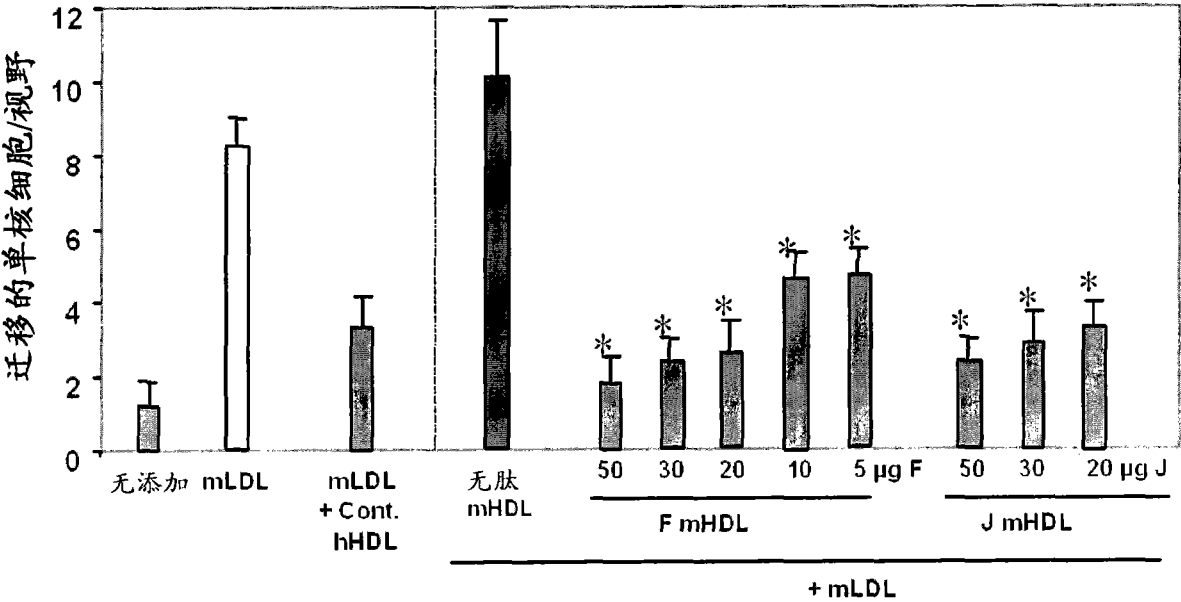


图 4

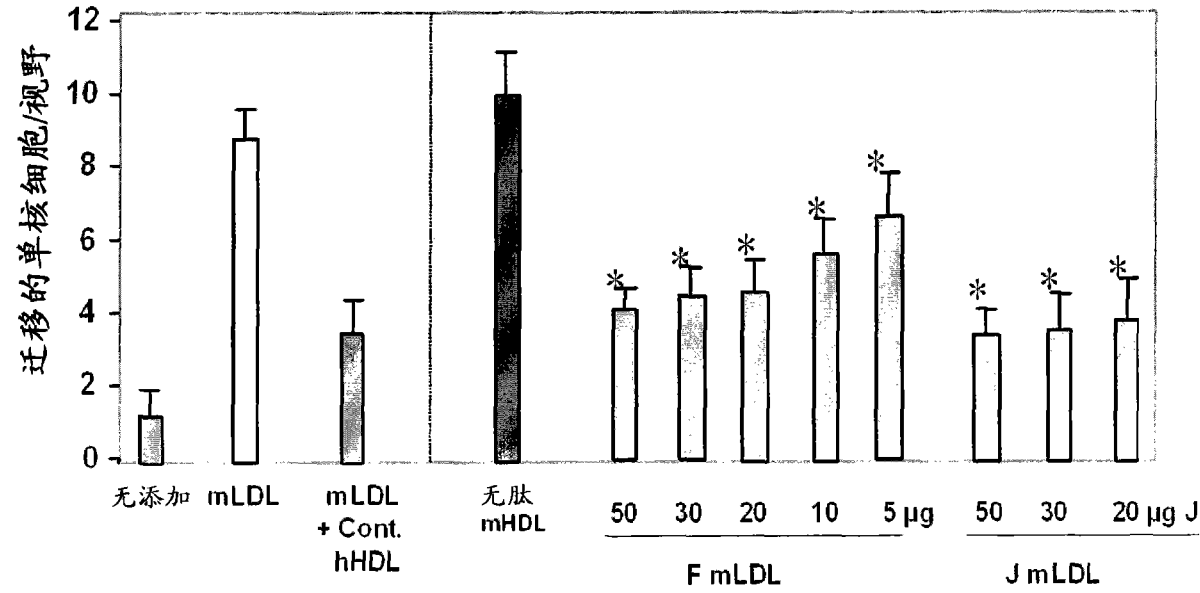


图 5

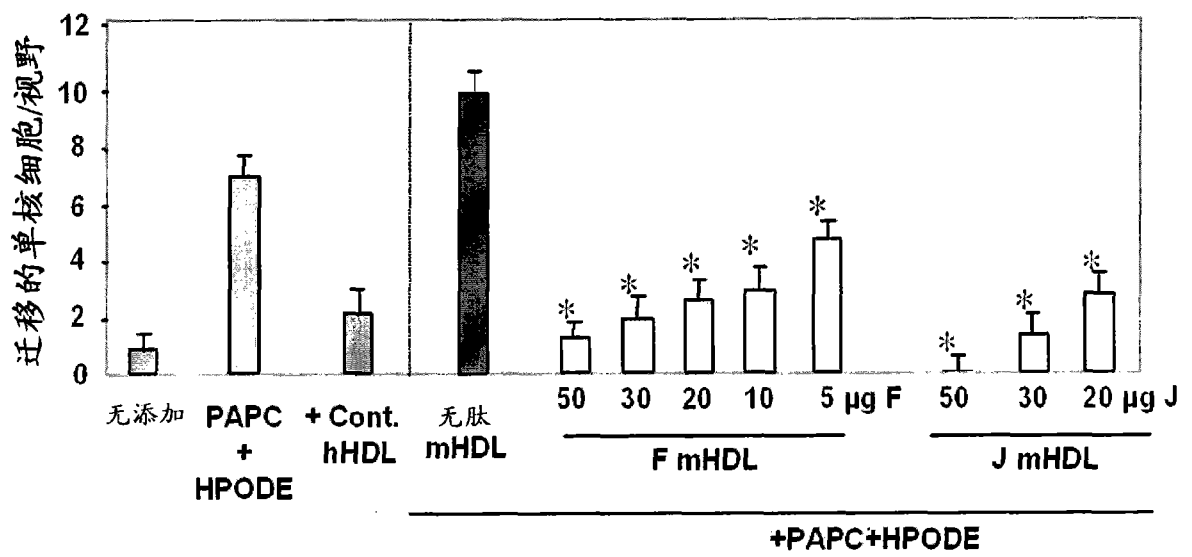


图 6

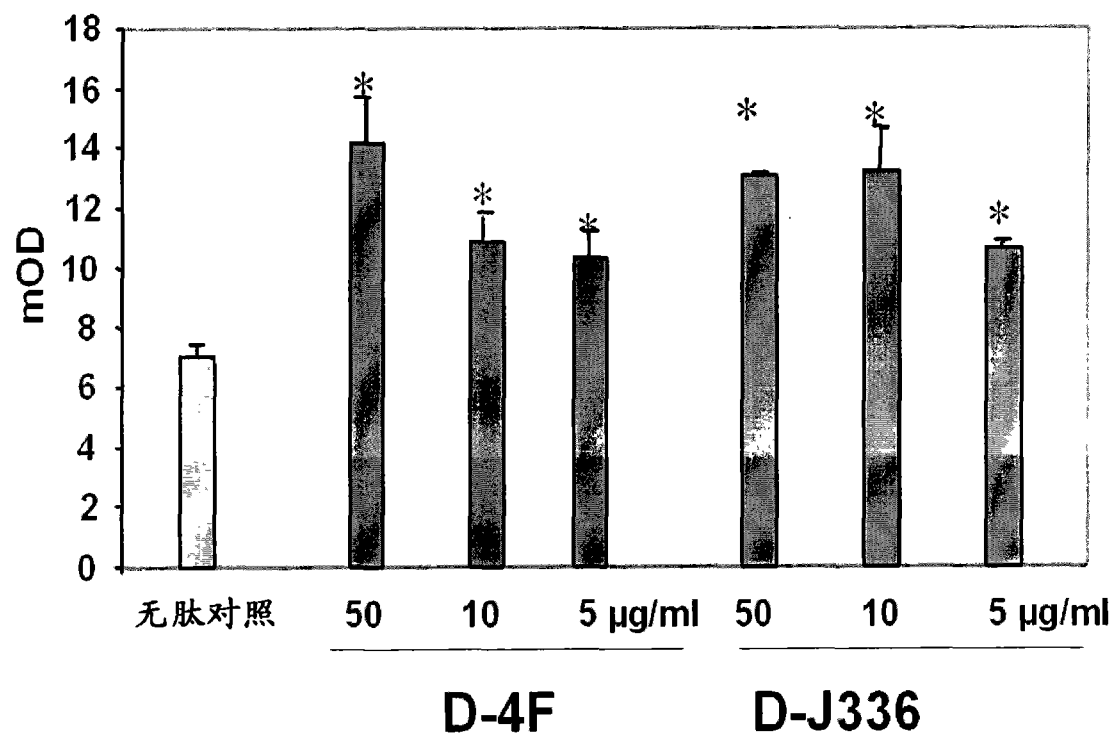


图 7

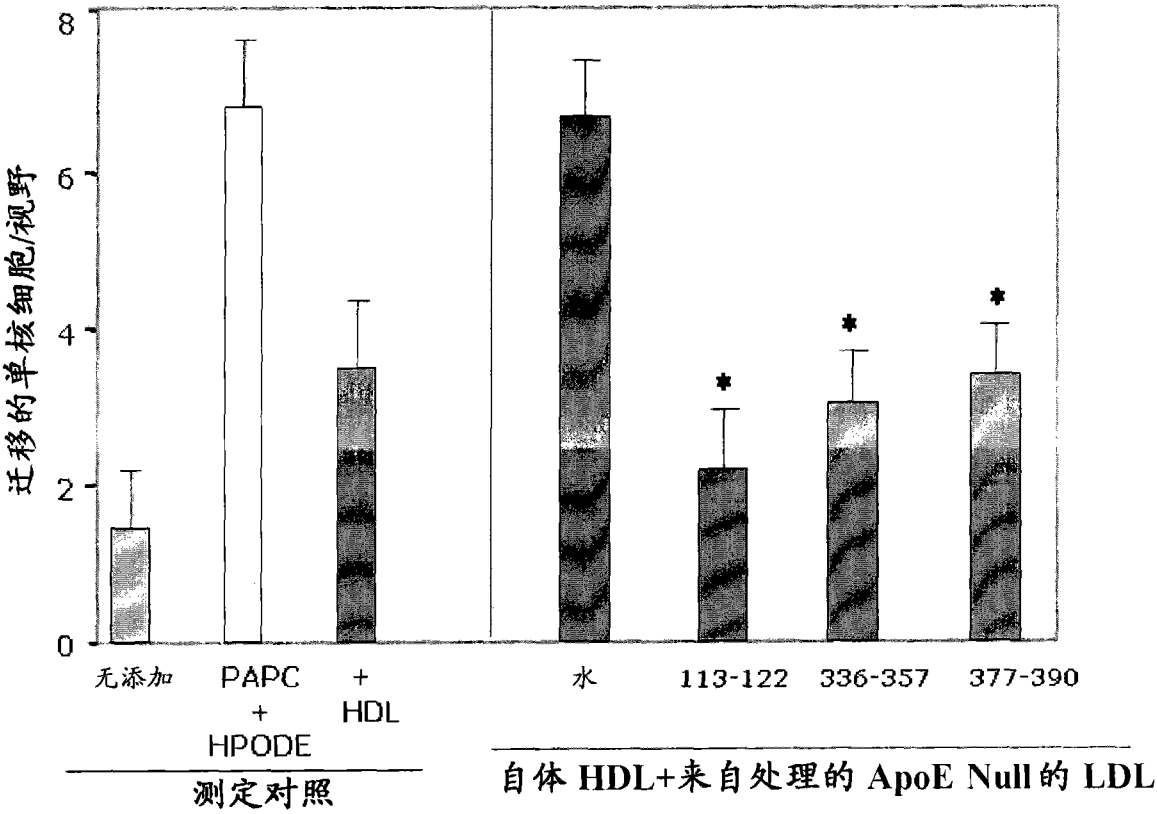


图 8

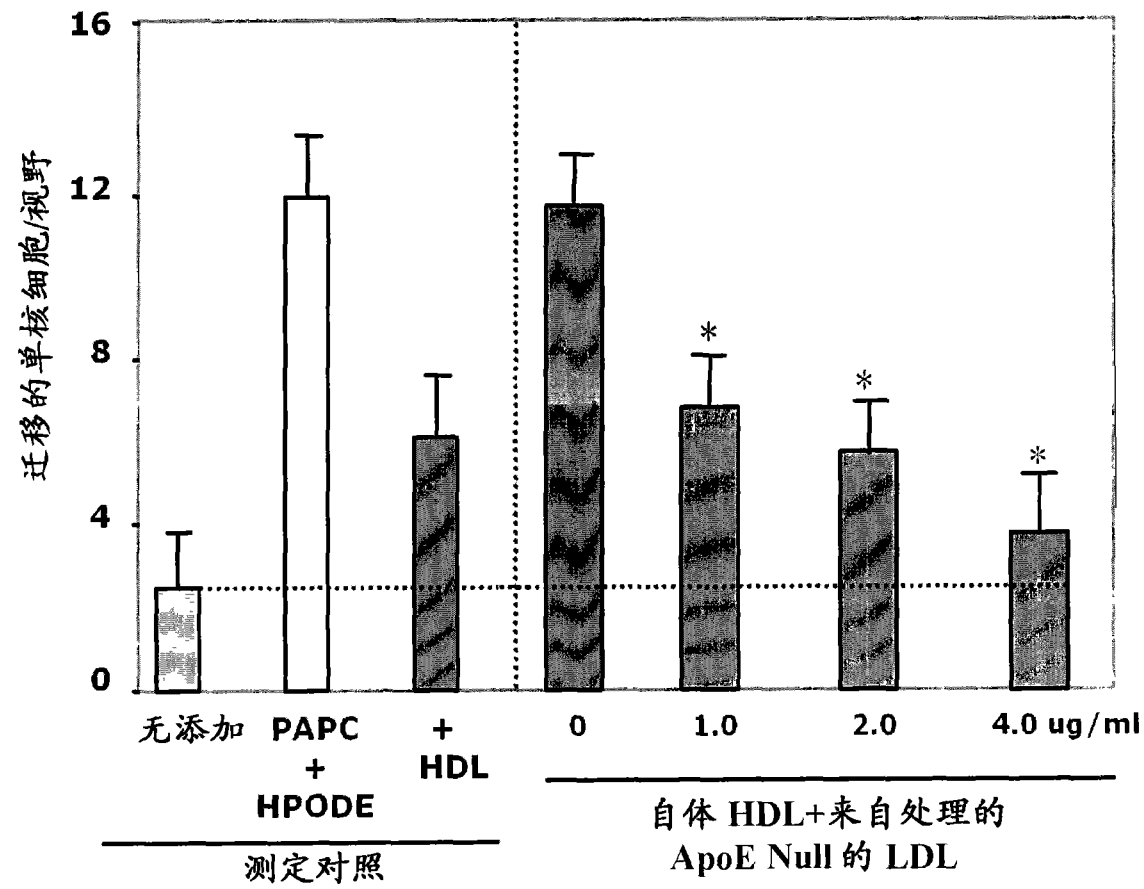


图 9

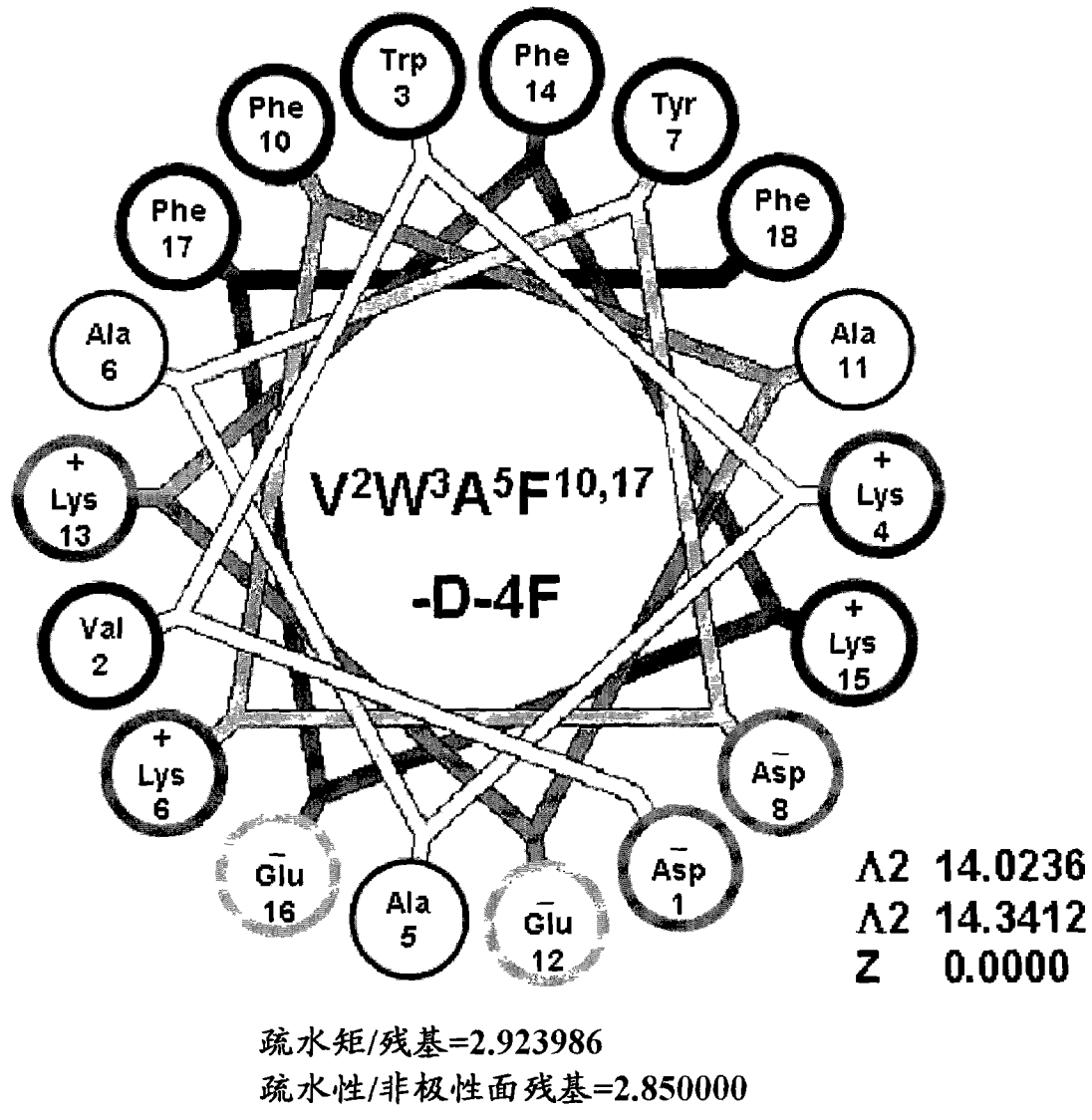
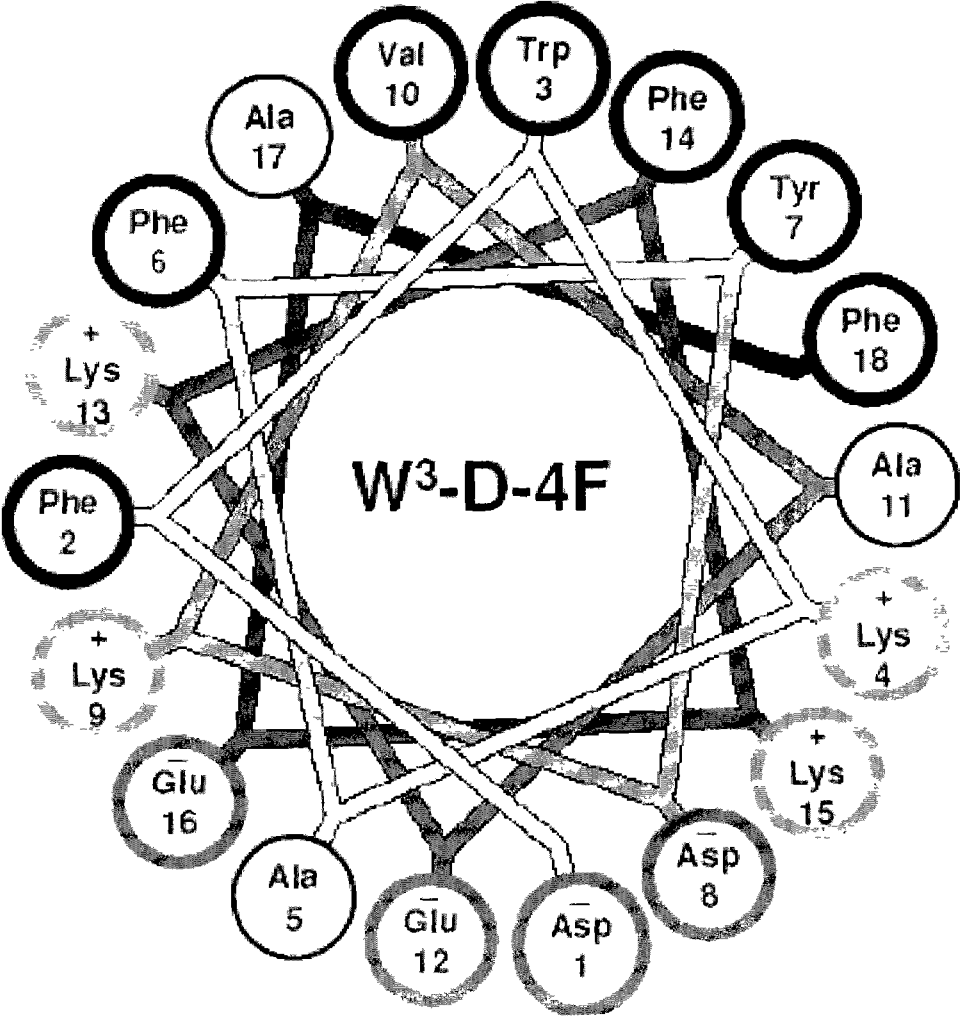


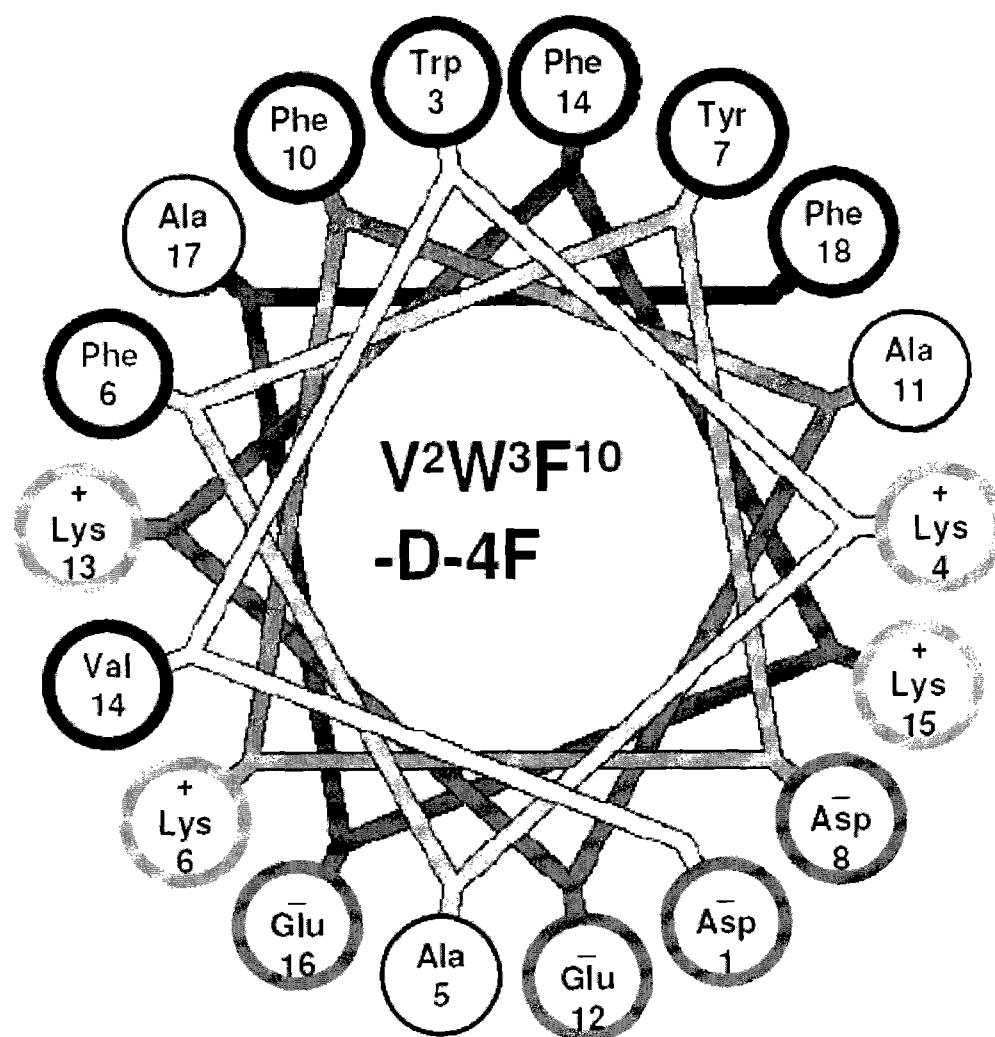
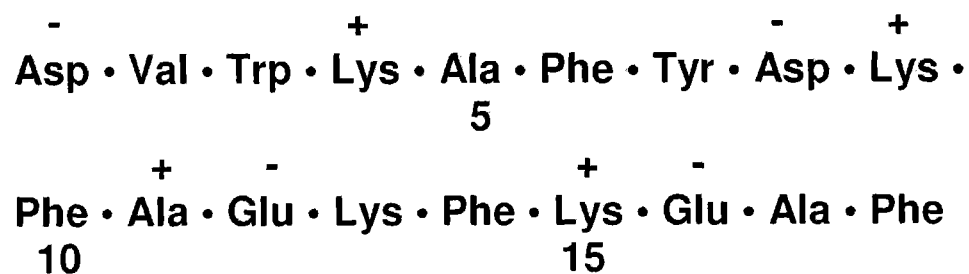
图 10A

- + - +
Asp • Phe • Lys • Ala • Phe • Tyr • Asp • Lys • Val
- + + -
Ala • Glu • Lys • Phe • Lys • Glu • Ala • Phe



疏水矩/残基=2.812078
疏水性/非极性面残基=2.0500007

图 10B



疏水性/非极性面残基=2.233333

图 10C

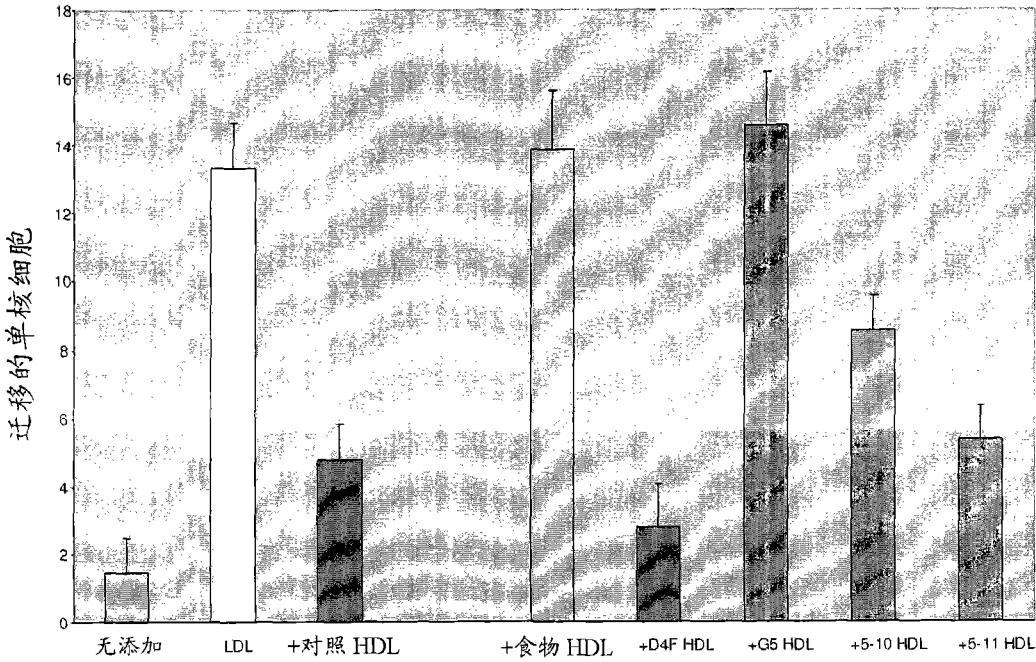


图 11

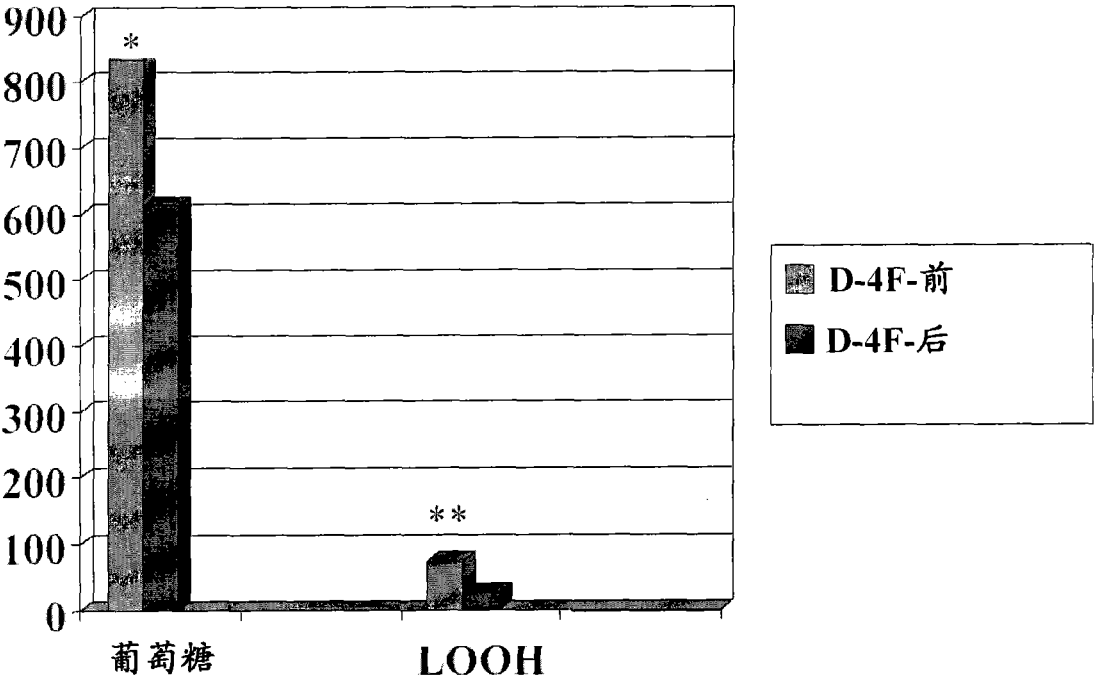


图 12

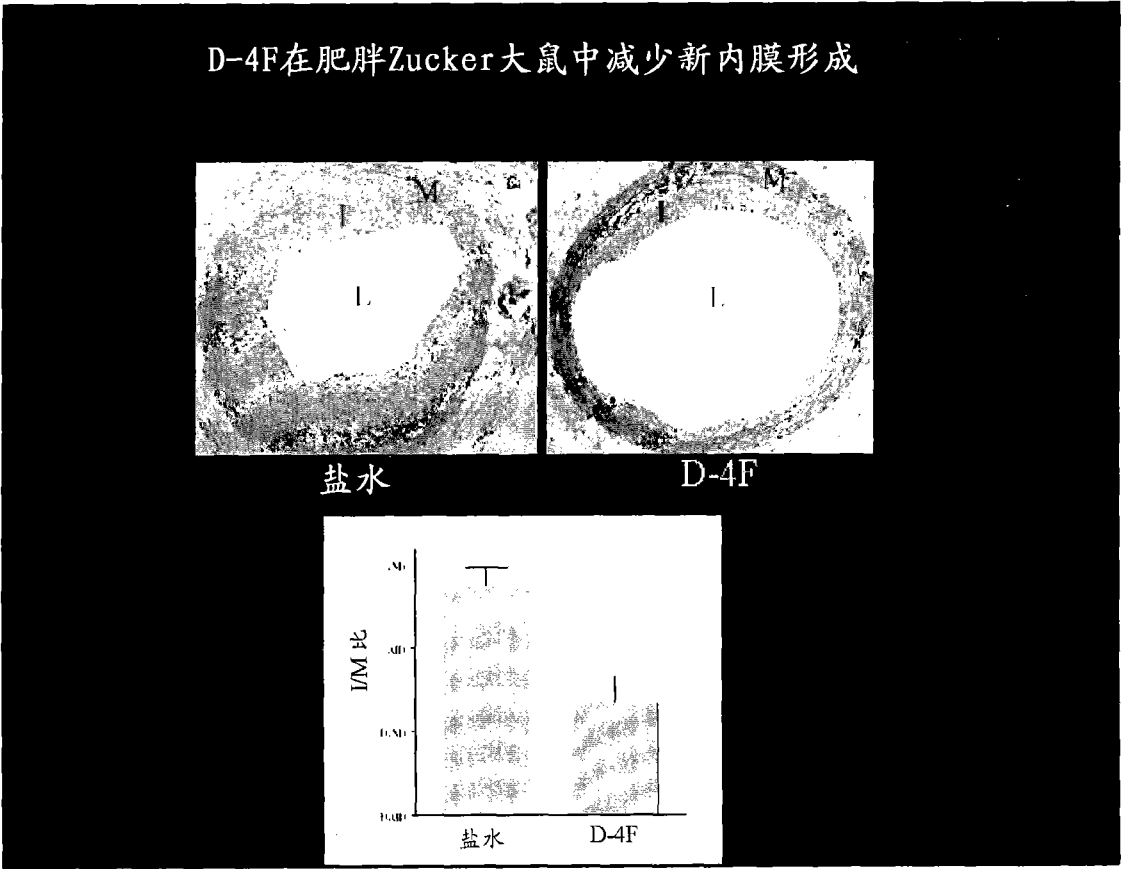


图 13

外部标准报告

方法名: D:\32Kara\projects\Default\Methods\25-60 in 35 min. det220, flow 1.2.met
数据: D:\32Kara\projects\Default\Data\d4f solut.
使用者: 系统
获取: 7/20/04 7:58:04 PM
打印: 7/20/04 9:06:35 PM

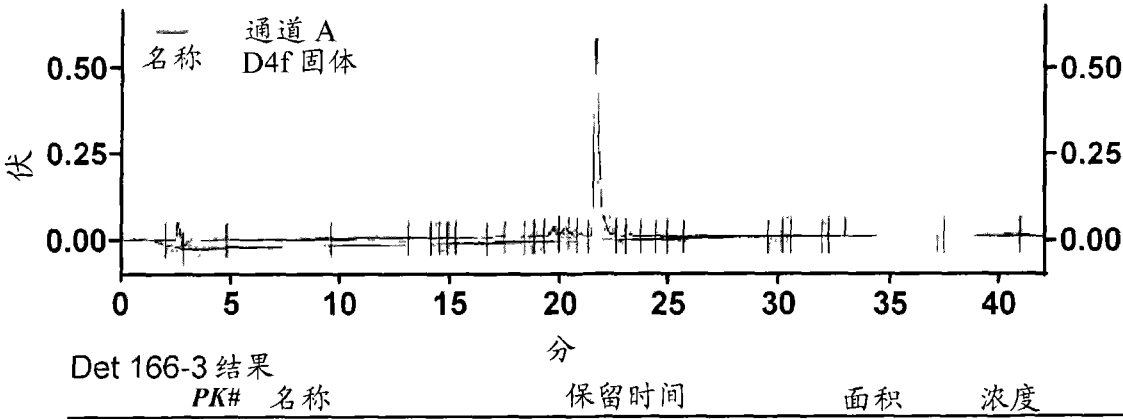


图 14A

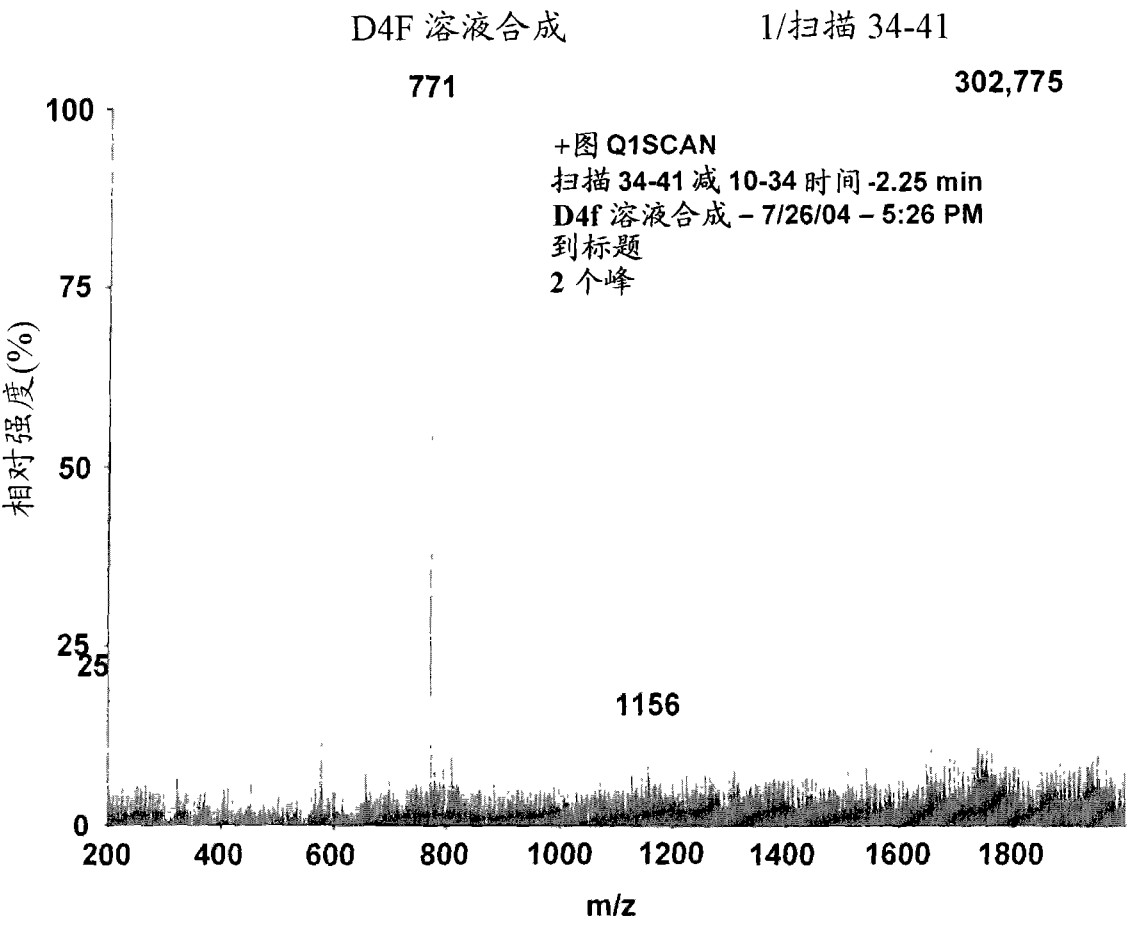


图 14B

D4f 溶液合成 HyperMass 信息 ·1
D4f 溶液合成 7-26-04-1/扫描34-41

扫描 34-41 减 10-23 时间= 2.25 min
无标题

Hypermass 方法所用标准:
主电荷介质: H, 1.0079 质量, 1.0000 电荷, 介质增益
电荷估计容限:0.1500
质量估计之间的容限:20.0000

峰	强度	电荷	质量估计值
771.00	302.775	3.00000	2309.98
1156.00	42.350	1.99998	2.309.98

最终估计质量:2309.98 标准偏差:0.01
使用了 2/2 个估计值

图 14C

外部标准报告

方法名: D:\32Kara\projects\Default\Methods\25-60 in 35 min. det220. flow 1.2.mct
数据: D:\32Kara\projects\Default\Data\D4f solution synthesis crude 220.7-21-04.
使用者: 系统
获取: 7/21/04 3:17:58 PM λ - 220 nm (粗)
打印: 7/21/04 5:05:24 PM

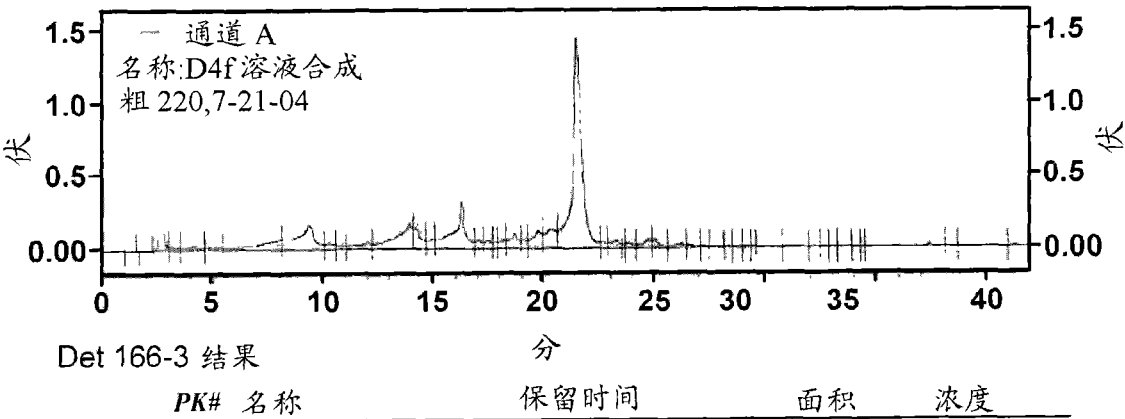


图 14D

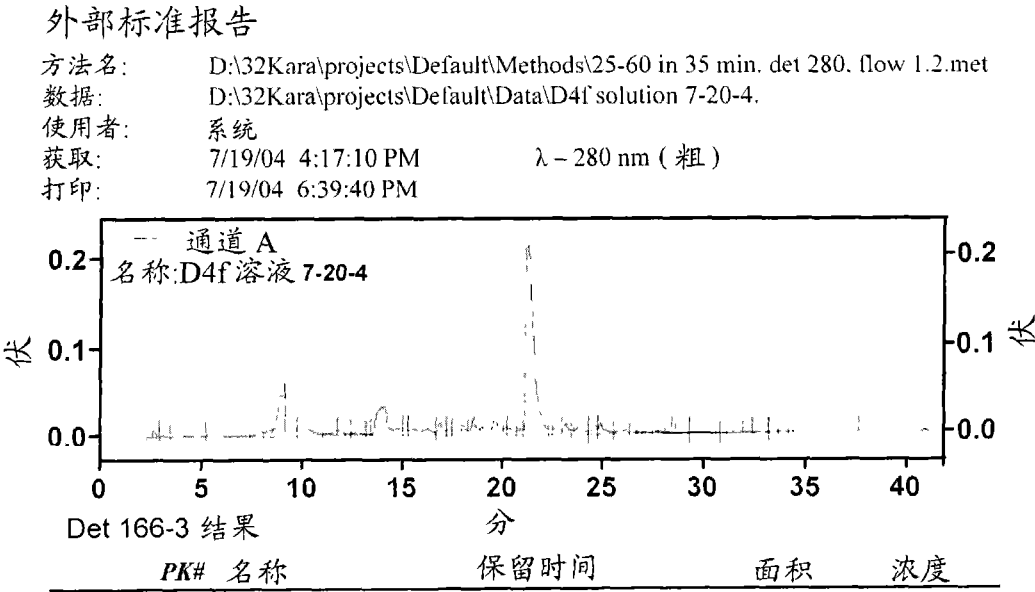


图 14E

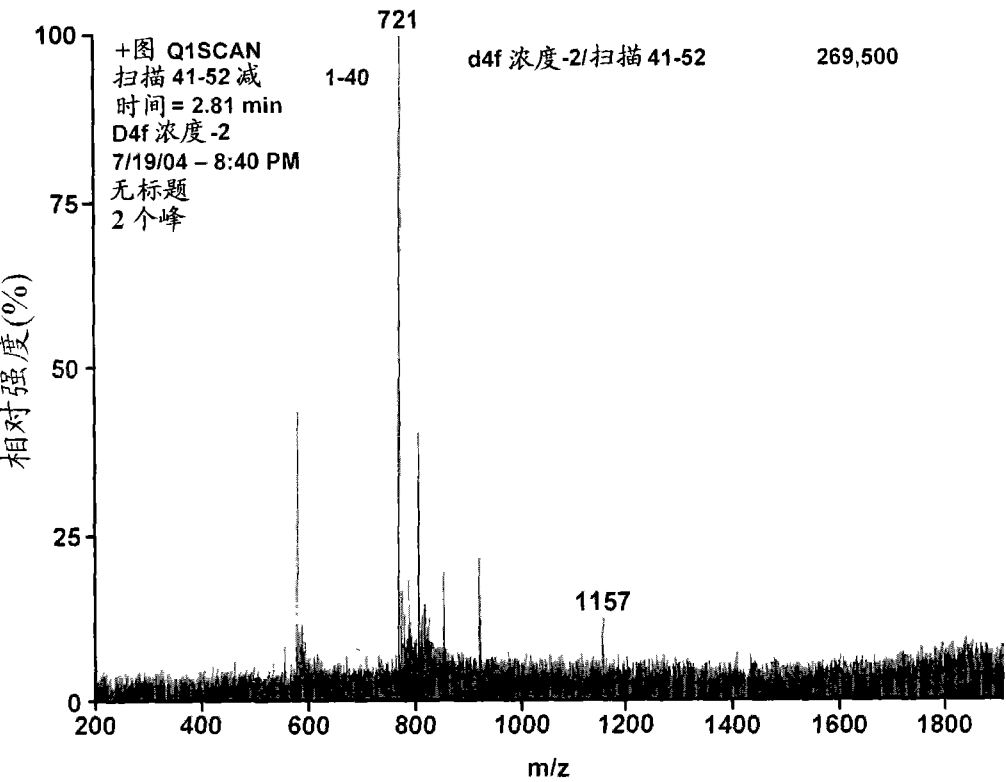


图 14F

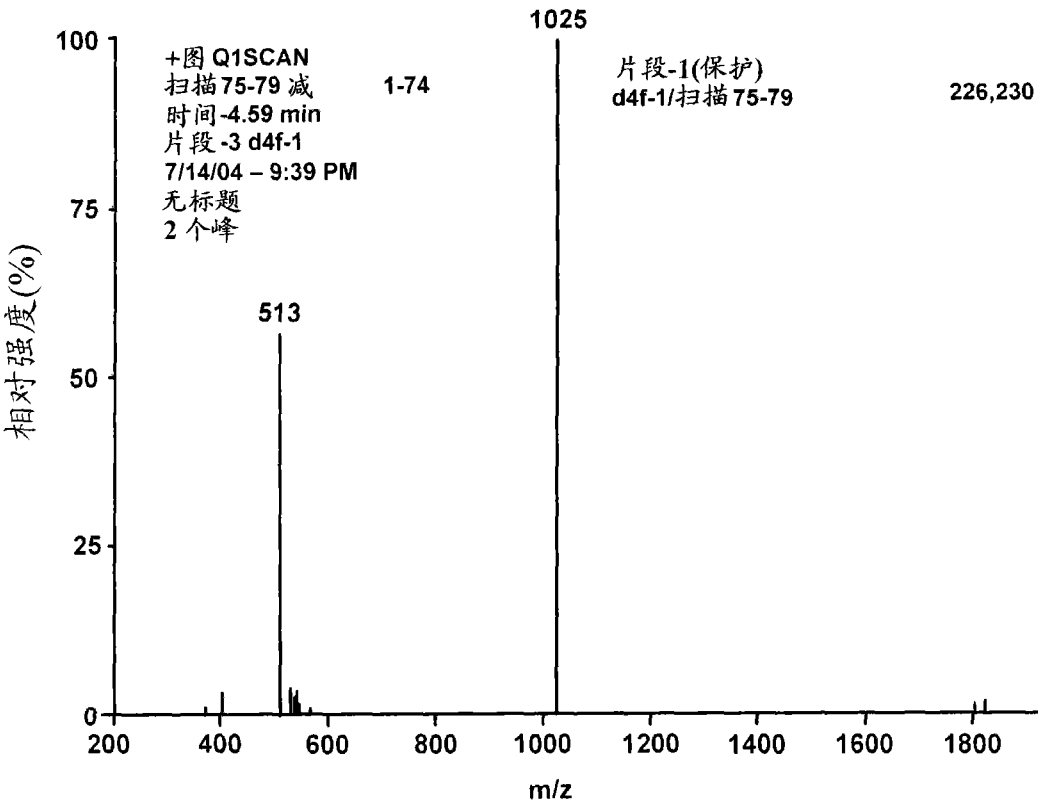


图 14G

片段-3 d4f-1 HyperMass 信息
片段-3 d4f-1/扫描 75-79

扫描 75-79 减 1-74 时间 - 4.69 min
无标题

HyperMass 方法所用标准:
主电荷介质: H, 1.0079 质量, 1.0000 电荷, 介质增益
电荷估计容限: **0.1500**
质量估计之间的容限: 20.0000

峰	强度	电荷	质量估计值
513.00	129.811	2.00000	1023.98
1025.00	228.230	0.99998	1023.99

最终估计质量; 1023.99 标准偏差: **0.01**
使用了 2/2 个估计值

图 14H

外部标准报告

方法名: D:\32Kara\projects\Default\Methods\0-60 in 60 min. det220.met
数据: D:\32Kara\projects\Default\Data\Fmoc-ydkvaekfkeaf-nh2-D4f fragment
使用者: 系统
获取: 7/16/04 7:51:38 PM
打印: 7/16/04 9:02:15 PM

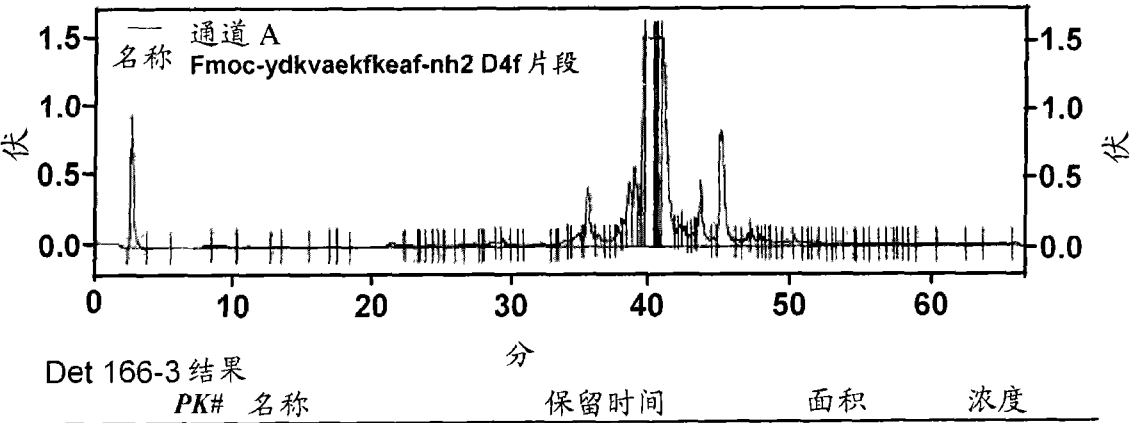


图 14I

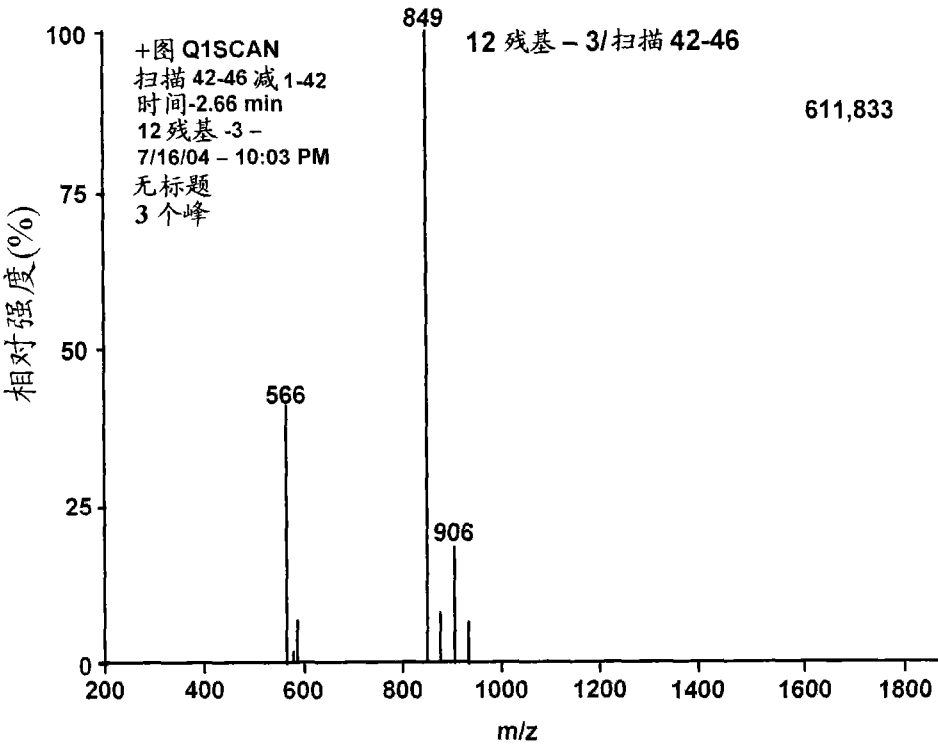


图 14J

HyperMass 信息 12残基 -3
12残基 -3/扫描 39-46

扫描 39-46 减 1-38 时间 = 2.56 min
无标题

HyperMass 方法所用标准:
主电荷介质: H, 1.0079 质量, 1.0000 电荷, 介质增益
电荷估计容限: 0.1500
质量估计之间的容限: 20.0000

峰	强度	电荷	质量估计值
566.00	271.546	3.00000	1694.98
849.00	689.967	199644	1695.98
>>> 849.00 -> 906.00, 估计质量 13,574.88 偏差 11,878.90 > 质量容限			

最终估计质量: 1695.48 标准偏差: 0.71
使用了 2/3 个估计值

图 14K

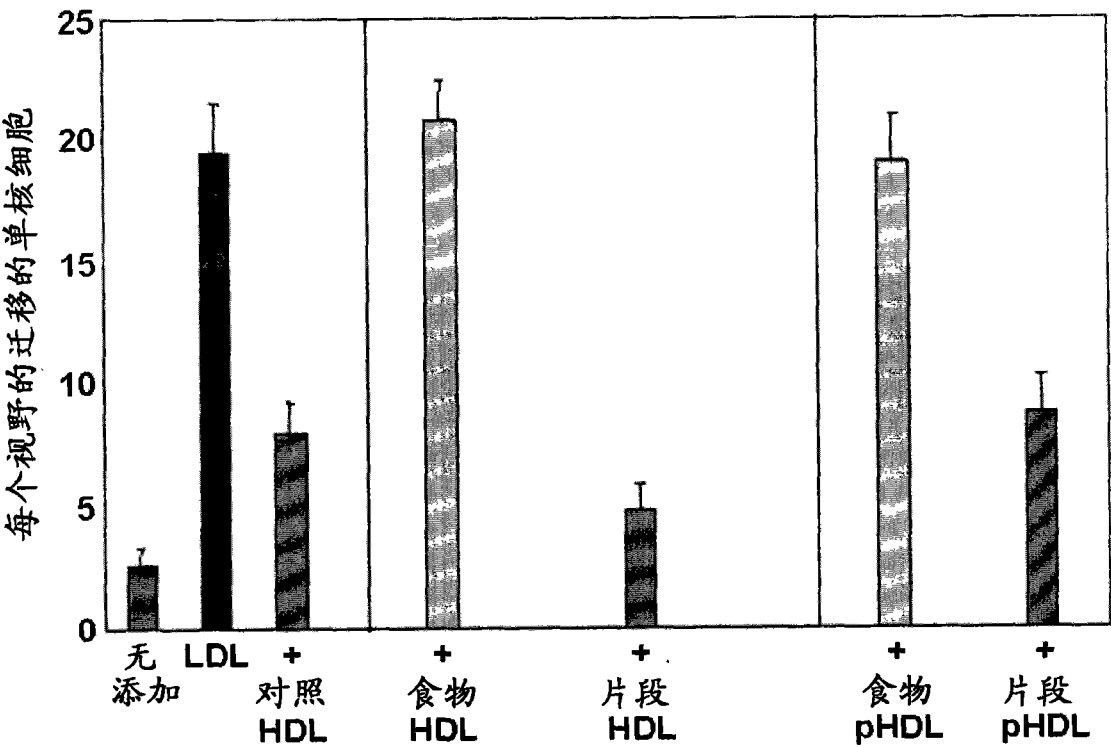


图 15

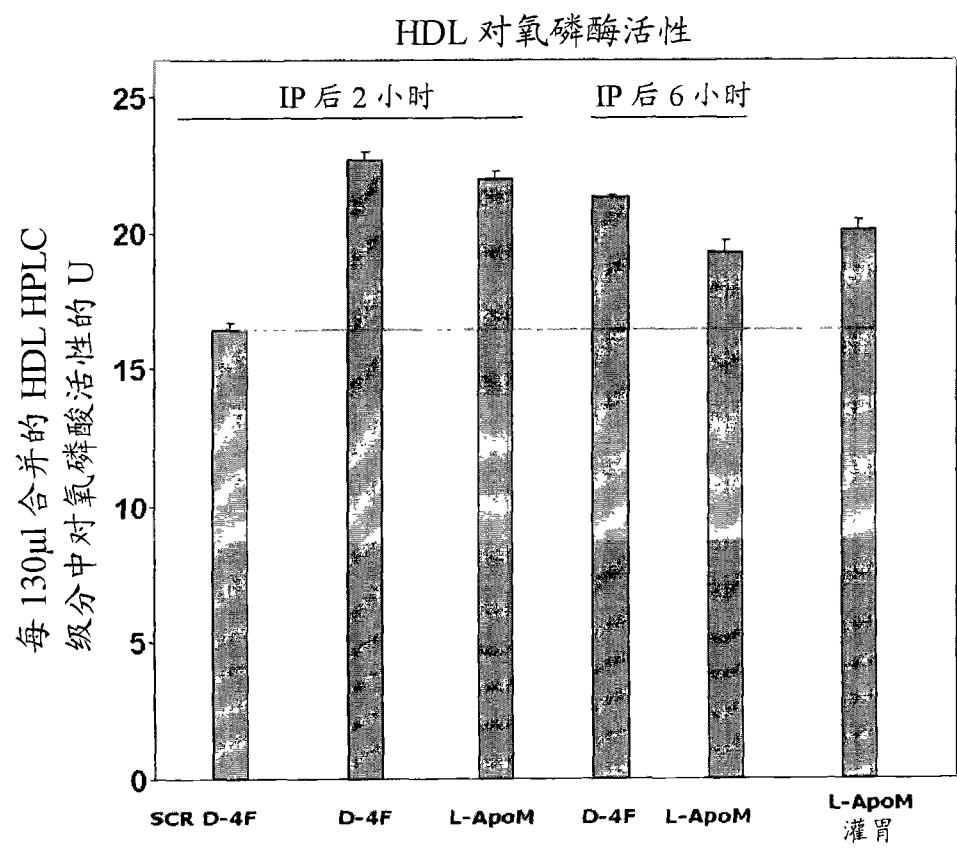


图 16

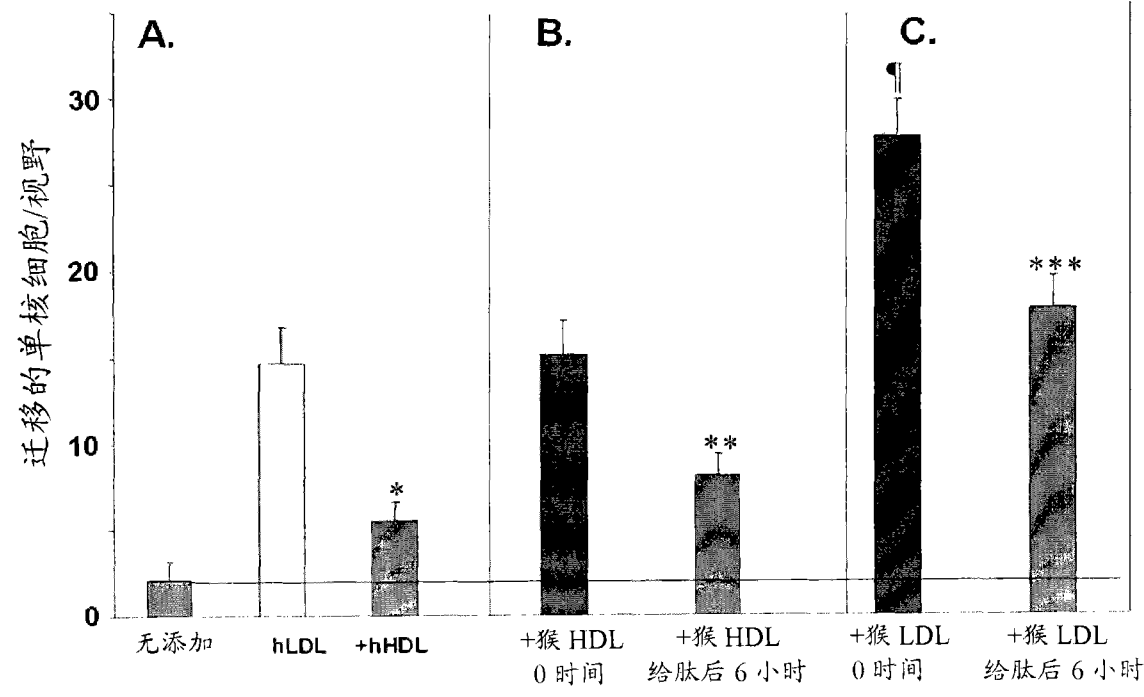


图 17

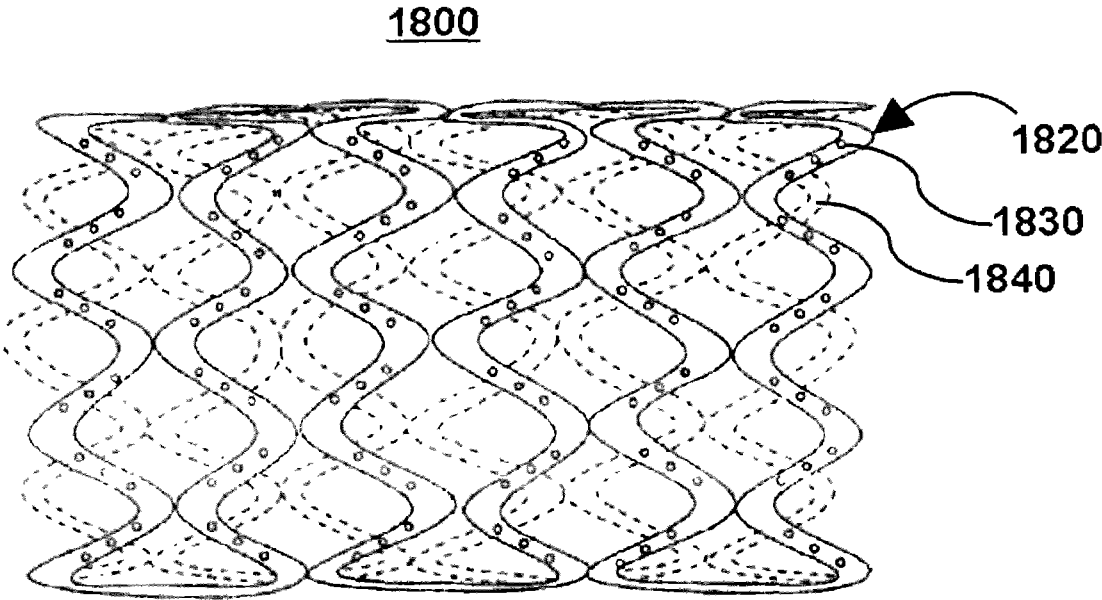


图 18A

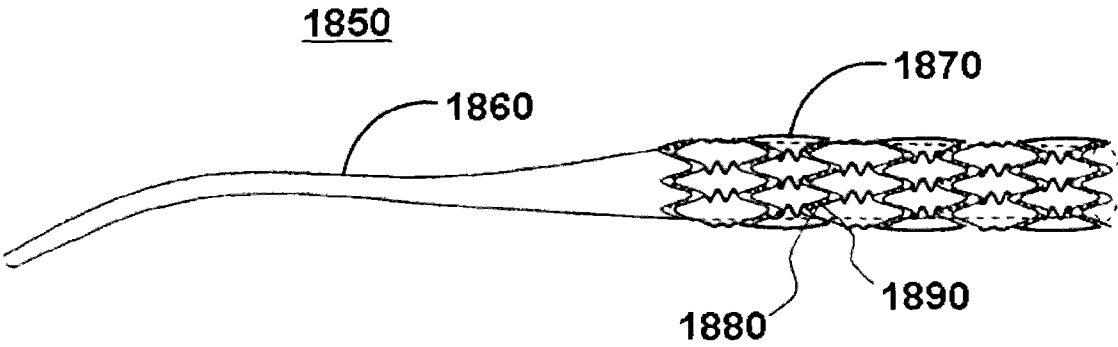


图 18B