



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104768564 A

(43) 申请公布日 2015. 07. 08

(21) 申请号 201380049762. 4

代理人 黄志华 石磊

(22) 申请日 2013. 07. 31

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

A61K 38/00(2006. 01)

61/678, 992 2012. 08. 02 US

61/695, 850 2012. 08. 31 US

61/695, 807 2012. 08. 31 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 03. 24

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2013/053008 2013. 07. 31

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/022552 EN 2014. 02. 06

(71) 申请人 康肽德生物医药技术有限公司

地址 摩纳哥摩纳哥城

(72) 发明人 D·特拉维斯·威尔逊

马克·班伯格 布莱恩·布莱基

马克·W·安德森

(74) 专利代理机构 北京同达信恒知识产权代理

有限公司 11291

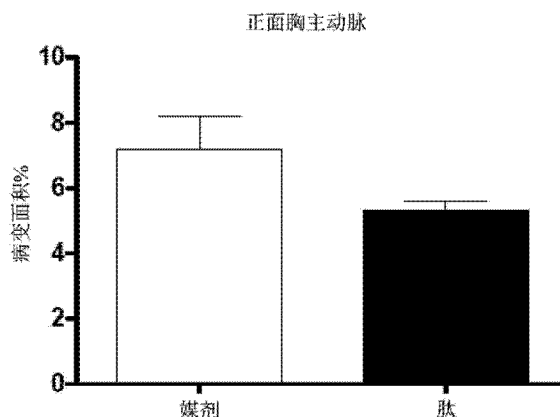
权利要求书4页 说明书54页 附图15页

(54) 发明名称

用于治疗动脉粥样硬化的方法

(57) 摘要

本文披露了用于预防或治疗哺乳动物受试者的动脉粥样硬化的方法和组合物。所述方法包括向所述受试者投予有效量的芳香族阳离子肽并且在一些应用中, 向有需要的受试者投予以化学方式连接到所述肽的第二活性剂。



1. 一种用于治疗有需要的哺乳动物受试者的动脉粥样硬化的方法,所述方法包括投予有效量的 (i) 肽 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐及 (ii) 抗高血脂药,其中所述肽和所述抗高血脂药是以化学方式连接的。

2. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述抗高血脂药是选自由以下组成的群组:阿托伐他汀、辛伐他汀、普伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、罗素他汀、克利贝特、氯贝丁酯、双贝特、非诺贝特、苯扎贝特、考来替兰、考来烯胺、ADVICOR[®] (烟酸缓释片/洛伐他汀)、ALTOPREV[®] (洛伐他汀缓释片)、CADUET[®] (氨氯地平和阿托伐他汀)、CRESTOR[®] (罗素他汀)、JUVISYNC[®] (西他列汀/辛伐他汀)、LESCOL[®] (氟伐他汀)、LESCOL XL (氟伐他汀缓释片)、LIPITOR[®] (阿托伐他汀)、LIVALO[®] (匹伐他汀)、MEVACOR[®] (洛伐他汀)、PRAVACHOL[®] (普伐他汀)、SIMCOR[®] (烟酸缓释片/辛伐他汀)、VYTORIN[®] (依泽替米贝/辛伐他汀)及 ZOCOR[®] (辛伐他汀)。

3. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述抗高血脂药是他汀。

4. 根据权利要求 3 所述的方法,其中所述他汀是选自由以下组成的群组: ADVICOR[®] (烟酸缓释片/洛伐他汀)、ALTOPREV[®] (洛伐他汀缓释片)、CADUET[®] (氨氯地平和阿托伐他汀)、CRESTOR[®] (罗素他汀)、JUVISYNC[®] (西他列汀/辛伐他汀)、LESCOL[®] (氟伐他汀)、LESCOL XL (氟伐他汀缓释片)、LIPITOR[®] (阿托伐他汀)、LIVALO[®] (匹伐他汀)、MEVACOR[®] (洛伐他汀)、PRAVACHOL[®] (普伐他汀)、SIMCOR[®] (烟酸缓释片/辛伐他汀)、VYTORIN[®] (依泽替米贝/辛伐他汀)及 ZOCOR[®] (辛伐他汀)。

5. 根据权利要求 1 所述的方法,其中治疗包括减小所述受试者体内动脉粥样硬化斑的大小或数量,和/或降低所述受试者体内动脉粥样硬化斑的胆固醇含量。

6. 一种用于预防有需要的哺乳动物受试者的动脉粥样硬化的方法,所述方法包括投予有效量的 (i) 肽 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐及 (ii) 抗高血脂药,其中所述肽和所述抗高血脂药是以化学方式连接的。

7. 根据权利要求 6 所述的方法,其中所述抗高血脂药是选自由以下组成的群组:阿托伐他汀、辛伐他汀、普伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、罗素他汀、克利贝特、氯贝丁酯、双贝特、非诺贝特、苯扎贝特、考来替兰、考来烯胺、ADVICOR[®] (烟酸缓释片/洛伐他汀)、ALTOPREV[®] (洛伐他汀缓释片)、CADUET[®] (氨氯地平和阿托伐他汀)、CRESTOR[®] (罗素他汀)、JUVISYNC[®] (西他列汀/辛伐他汀)、LESCOL[®] (氟伐他汀)、LESCOL XL (氟伐他汀缓释片)、LIPITOR[®] (阿托伐他汀)、LIVALO[®] (匹伐他汀)、MEVACOR[®] (洛伐他汀)、PRAVACHOL[®] (普伐他汀)、SIMCOR[®] (烟酸缓释片/辛伐他汀)、VYTORIN[®] (依泽替米贝/辛伐他汀)及 ZOCOR[®] (辛伐他汀)。

8. 根据权利要求 6 所述的方法,其中所述抗高血脂药是他汀。

9. 根据权利要求 8 所述的方法,其中所述他汀是选自由以下组成的群组: ADVICOR[®]

(烟酸缓释片/洛伐他汀)、ALTOPREV[®] (洛伐他汀缓释片)、CADUET[®] (氨氯地平和阿托伐他汀)、CRESTOR[®] (罗素他汀)、JUVISYNC[®] (西他列汀/辛伐他汀)、LESCOL[®] (氟伐他汀)、LESCOL XL (氟伐他汀缓释片)、LIPITOR[®] (阿托伐他汀)、LIVALO[®] (匹伐他汀)、MEVACOR[®] (洛伐他汀)、PRAVACHOL[®] (普伐他汀)、SIMCOR[®] (烟酸缓释片/辛伐他汀)、VYTORIN[®] (依泽替米贝/辛伐他汀)及ZOCOR[®] (辛伐他汀)。

10. 根据权利要求6到9中任一权利要求所述的方法,其中所述受试者易患动脉粥样硬化。

11. 一种用于改善动脉粥样硬化的病征、症状或并发症方法,所述方法包括投予有效量的(i) 肽 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐及(ii) 抗高血脂药,其中所述肽和所述抗高血脂药是以化学方式连接的。

12. 根据权利要求11所述的方法,其中所述动脉粥样硬化的病征、症状或并发症包括选自自由以下组成的群组的一种或多种:总胆固醇、VLDL 胆固醇、LDL 胆固醇、游离胆固醇、胆固醇酯、磷脂、三酸甘油酯含量升高及动脉粥样硬化病变。

13. 根据权利要求11所述的方法,其中所述抗高血脂药是选自自由以下组成的群组:阿托伐他汀、辛伐他汀、普伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、罗素他汀、克利贝特、氯贝丁酯、双贝特、非诺贝特、苯扎贝特、考来替兰、考来烯胺、ADVICOR[®] (烟酸缓释片/洛伐他汀)、ALTOPREV[®] (洛伐他汀缓释片)、CADUET[®] (氨氯地平和阿托伐他汀)、CRESTOR[®] (罗素他汀)、JUVISYNC[®] (西他列汀/辛伐他汀)、LESCOL[®] (氟伐他汀)、LESCOL XL (氟伐他汀缓释片)、LIPITOR[®] (阿托伐他汀)、LIVALO[®] (匹伐他汀)、MEVACOR[®] (洛伐他汀)、PRAVACHOL[®] (普伐他汀)、SIMCOR[®] (烟酸缓释片/辛伐他汀)、VYTORIN[®] (依泽替米贝/辛伐他汀)及ZOCOR[®] (辛伐他汀)。

14. 根据权利要求11所述的方法,其中所述抗高血脂药是他汀。

15. 根据权利要求14所述的方法,其中所述他汀是选自自由以下组成的群组:ADVICOR[®] (烟酸缓释片/洛伐他汀)、ALTOPREV[®] (洛伐他汀缓释片)、CADUET[®] (氨氯地平和阿托伐他汀)、CRESTOR[®] (罗素他汀)、JUVISYNC[®] (西他列汀/辛伐他汀)、LESCOL[®] (氟伐他汀)、LESCOL XL (氟伐他汀缓释片)、LIPITOR[®] (阿托伐他汀)、LIVALO[®] (匹伐他汀)、MEVACOR[®] (洛伐他汀)、PRAVACHOL[®] (普伐他汀)、SIMCOR[®] (烟酸缓释片/辛伐他汀)、VYTORIN[®] (依泽替米贝/辛伐他汀)及ZOCOR[®] (辛伐他汀)。

16. 根据权利要求11所述的方法,其中改善所述动脉粥样硬化的病征、症状或并发症包括减小所述受试者体内动脉粥样硬化斑的大小或数量,和/或降低所述受试者体内动脉粥样硬化斑的胆固醇含量。

17. 一种用于在有需要的受试者中延迟他汀副作用发作、改善或消除他汀副作用的方

法,所述方法包括授予有效量的肽 D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐,其中所述肽是以化学方式连接到所述他汀。

18. 根据权利要求 17 所述的方法,其中所述他汀的副作用包括以下一种或多种:肌病、横纹肌溶解症、肾衰竭、糖尿病、记忆丧失、辅酶 Q10 含量降低以及线粒体功能障碍。

19. 根据权利要求 17 所述的方法,其中所述他汀是选自以下组成的群组:阿托伐他汀、辛伐他汀、普伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、罗素他汀、ADVICOR[®] (烟酸缓释片/洛伐他汀)、ALTOPREV[®] (洛伐他汀缓释片)、CADUET[®] (氨氯地平和阿托伐他汀)、CRESTOR[®] (罗素他汀)、JUVISYNC[®] (西他列汀/辛伐他汀)、LESCOL[®] (氟伐他汀)、LESCOL XL (氟伐他汀缓释片)、LIPITOR[®] (阿托伐他汀)、LIVALO[®] (匹伐他汀)、MEVACOR[®] (洛伐他汀)、PRAVACHOL[®] (普伐他汀)、SIMCOR[®] (烟酸缓释片/辛伐他汀)、VYTORIN[®] (依泽替米贝/辛伐他汀)及 ZOCOR[®] (辛伐他汀)。

20. 一种用于增加有需要的受试者的他汀剂量的方法,所述方法包括:

授予有效量的第一剂量水平的他汀,及芳香族阳离子肽,其中所述他汀和所述芳香族阳离子肽是以化学方式连接的;

评价所述受试者的所述他汀的副作用特征,其中相较于授予所述他汀并且未授予所述芳香族阳离子肽的对照受试者,所述受试者的副作用减少或不存在;

授予第二剂量水平的他汀,其中所述第二剂量水平高于所述第一他汀剂量水平。

21. 根据权利要求 20 所述的方法,其中所述肽是 D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂。

22. 根据权利要求 20 所述的方法,其中所述他汀包含 LIPITOR[®]或CRESTOR[®]。

23. 根据权利要求 20 所述的方法,其中所述他汀的副作用特征包括以下一种或多种:肌病、横纹肌溶解症、肾衰竭、糖尿病、记忆丧失、辅酶 Q10 含量降低以及线粒体功能障碍。

24. 根据权利要求 1 到 23 中任一权利要求所述的方法,其中所述药学上可接受的盐包含乙酸盐或三氟乙酸盐。

25. 根据权利要求 1 到 25 中任一权利要求所述的方法,其中所述肽和所述抗高血脂药或所述他汀是使用不稳定键连接,所述不稳定键在体内水解以释放所述肽和所述抗高血脂药或所述他汀。

26. 根据权利要求 26 所述的方法,其中所述不稳定键包含酯键、碳酸酯键或氨基甲酸酯键。

27. 根据权利要求 1、6 或 11 中任一权利要求所述的方法,其中所述抗高血脂药是抗 PCSK9 抗体。

28. 根据权利要求 27 所述的方法,其中所述肽和所述抗 PCSK9 抗体是使用双官能蛋白质偶联剂连接的。

29. 根据权利要求 28 所述的方法,其中所述双官能蛋白质偶联剂是 N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP);琥珀酰亚胺基-4-(N-顺丁烯二酰亚胺基甲基)环己烷-1-甲酸酯(SMCC);亚氨基硫杂环戊烷(IT);酰亚胺酯、活性酯、醛的双官能衍生物;双叠氮基化合物;双重氮衍生物;二异氰酸酯;或双-活性氟化合物。

30. 根据权利要求 27 所述的方法,其中所述肽和所述抗 PCSK9 抗体是使用不稳定键连

接的。

31. 根据权利要求 30 所述的方法, 其中所述不稳定键包含酯键、碳酸酯键或氨基甲酸酯键。

32. 根据权利要求 1、6 或 11 中任一权利要求所述的方法, 其中所述抗高血脂剂是 Apo-B 反义寡核苷酸。

33. 根据权利要求 32 所述的方法, 其中所述肽和所述 Apo-B 反义寡核苷酸是使用不稳定键连接的。

34. 根据权利要求 33 所述的方法, 其中所述不稳定键包含酯键、碳酸酯键或氨基甲酸酯键。

用于治疗动脉粥样硬化的方法

[0001] 相关申请的交叉参考

[0002] 本申请要求 2012 年 8 月 2 日提交的美国申请第 61/678,992 号、2012 年 8 月 31 日提交的美国申请第 61/695,807 号及 2012 年 8 月 31 日提交的美国申请第 61/695,850 号的权益和优先权。每一申请的内容以引用的方式整体并入本文中。

技术领域

[0003] 本发明技术大体上涉及预防或治疗动脉粥样硬化的组合物和方法。确切地说,本发明技术的实施例涉及投予有效量的芳香族阳离子肽来预防或治疗哺乳动物受试者的动脉粥样硬化。

发明内容

[0004] 本发明技术涉及通过投予治疗有效量的芳香族阳离子肽并且在一些实施例中,投予第二活性剂来治疗或预防哺乳动物的动脉粥样硬化。在一些实施例中,所述第二活性剂包括抗高血脂药。在一些实施例中,所述第二活性剂包括他汀 (statin)。在一些实施例中,所述第二活性剂与所述芳香族阳离子肽是以化学方式连接的。

[0005] 在一个方面中,本发明提供一种药物组合物,所述药物组合物包含 (i) 肽 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐,如乙酸盐或三氟乙酸盐;和 (ii) 第二活性剂,例如抗高血脂剂。在一些实施例中,所述第二活性剂包含他汀。在一些实施例中,所述肽与所述第二活性剂是以化学方式连接的。

[0006] 在一个方面中,本发明提供一种治疗哺乳动物受试者的动脉粥样硬化的方法,所述方法包括投予有效量的肽 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂或药学上可接受的盐,如乙酸盐或三氟乙酸盐。

[0007] 在一个方面中,本发明提供一种用于治疗哺乳动物受试者的动脉粥样硬化的方法,所述方法包括投予有效量的 (i) 肽 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐和 (ii) 抗高血脂药。在一些实施例中,所述肽与所述抗高血脂药是以化学方式连接的。在一些实施例中,所述抗高血脂药包括以下各项中的一种或多种: 阿托伐他汀 (atorvastatin)、辛伐他汀 (simvastatin)、普伐他汀 (pravastatin)、氟伐他汀 (fluvastatin)、洛伐他汀 (lovastatin)、匹伐他汀 (pitavastatin)、罗素他汀 (rosuvastatin)、克利贝特 (clinofibrate)、氯贝丁酯 (clofibrate)、双贝特 (simfibrate)、非诺贝特 (fenofibrate)、苯扎贝特 (bezafibrate)、考来替兰 (colestimide)、考来烯胺 (colestyramine)、ADVICOR[®] (烟酸缓释片/洛伐他汀 (lovastatin))、ALTOPREV[®] (洛伐他汀缓释片)、CADUET[®] (氨氯地平 (amlodipine) 和阿托伐他汀)、CRESTOR[®] (罗素他汀)、JUVISYNC[®] (西他列汀 (sitagliptin)/辛伐他汀)、LESCOL[®] (氟伐他汀)、LESCOL XL (氟伐他汀缓释片)、LIPITOR[®] (阿托伐他汀)、LIVALO[®] (匹伐他汀)、MEVACOR[®] (洛伐他汀)、PRAVACHOL[®] (普伐他汀)、

SIMCOR[®]（烟酸缓释片 / 辛伐他汀）、VYTORIN[®]（依泽替米贝 (ezetimibe) / 辛伐他汀）以及 ZOCOR[®]（辛伐他汀）。在一些实施例中，所述抗高血脂药是他汀。在一些实施例中，所述他汀包括以下各项中的一种或多种：ADVICOR[®]（烟酸缓释片 / 洛伐他汀）、ALTOPREV[®]（洛伐他汀缓释片）、CADUET[®]（氨氯地平和阿托伐他汀）、CRESTOR[®]（罗素他汀）、JUVISYNC[®]（西他列汀 / 辛伐他汀）、LESCOL[®]（氟伐他汀）、LESCOL XL（氟伐他汀缓释片）、LIPITOR[®]（阿托伐他汀）、LIVALO[®]（匹伐他汀）、MEVACOR[®]（洛伐他汀）、PRAVACHOL[®]（普伐他汀）、SIMCOR[®]（烟酸缓释片 / 辛伐他汀）、VYTORIN[®]（依泽替米贝 / 辛伐他汀）以及 ZOCOR[®]（辛伐他汀）。

[0008] 在一些实施例中，所述肽与所述抗高血脂药是同时投予的。在一些实施例中，所述肽与所述抗高血脂药是以任一次序依序投予的。

[0009] 在一个方面中，本发明提供一种用于预防哺乳动物受试者的动脉粥样硬化的方法，所述方法包括投予治疗有效量的肽 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐。

[0010] 在一个方面中，本发明提供一种用于预防哺乳动物受试者的动脉粥样硬化的方法，所述方法包括投予有效量的 (i) 肽 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐和 (ii) 抗高血脂药。在一些实施例中，所述肽与所述抗高血脂药是以化学方式连接的。在一些实施例中，所述抗高血脂药包括以下各项中的一种或多种：阿托伐他汀、辛伐他汀、普伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、罗素他汀、克利贝特、氯贝丁酯、双贝特、非诺贝特、苯扎贝特、考来替兰、考来烯胺、ADVICOR[®]（烟酸缓释片 / 洛伐他汀）、ALTOPREV[®]（洛伐他汀缓释片）、CADUET[®]（氨氯地平和阿托伐他汀）、CRESTOR[®]（罗素他汀）、JUVISYNC[®]（西他列汀 / 辛伐他汀）、LESCOL[®]（氟伐他汀）、LESCOL XL（氟伐他汀缓释片）、LIPITOR[®]（阿托伐他汀）、LIVALO[®]（匹伐他汀）、MEVACOR[®]（洛伐他汀）、PRAVACHOL[®]（普伐他汀）、SIMCOR[®]（烟酸缓释片 / 辛伐他汀）、VYTORIN[®]（依泽替米贝 / 辛伐他汀）以及 ZOCOR[®]（辛伐他汀）。在一些实施例中，所述抗高血脂药是他汀。在一些实施例中，所述他汀包括以下各项中的一种或多种：ADVICOR[®]（烟酸缓释片 / 洛伐他汀）、ALTOPREV[®]（洛伐他汀缓释片）、CADUET[®]（氨氯地平和阿托伐他汀）、CRESTOR[®]（罗素他汀）、JUVISYNC[®]（西他列汀 / 辛伐他汀）、LESCOL[®]（氟伐他汀）、LESCOL XL（氟伐他汀缓释片）、LIPITOR[®]（阿托伐他汀）、LIVALO[®]（匹伐他汀）、MEVACOR[®]（洛伐他汀）、PRAVACHOL[®]（普伐他汀）、SIMCOR[®]（烟酸缓释片 / 辛伐他汀）、VYTORIN[®]（依泽替米贝 / 辛伐他汀）以及 ZOCOR[®]（辛伐他汀）。

[0011] 在一些实施例中，所述肽与所述抗高血脂药是同时投予的。在一些实施例中，所述肽与所述抗高血脂药是以任一次序依序投予的。在一些实施例中，所述受试者易患动脉粥样硬化。

[0012] 在一个方面中,本发明提供一种用于改善动脉粥样硬化的病征、症状或并发症的方法,所述方法包括投予治疗有效量的肽 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐。

[0013] 在一个方面中,本发明提供一种用于改善动脉粥样硬化的病征、症状或并发症的方法,所述方法包括投予有效量的 (i) 肽 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐和 (ii) 抗高血脂药。在一些实施例中,所述抗高血脂药与所述肽是以化学方式连接的。在一些实施例中,所述抗高血脂药包括以下各项中的一种或多种:阿托伐他汀、辛伐他汀、普伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、罗素他汀、克利贝特、氯贝丁酯、双贝特、非诺贝特、苯扎贝特、考来替兰、考来烯胺、ADVICOR[®] (烟酸缓释片 / 洛伐他汀)、ALTOPREV[®] (洛伐他汀缓释片)、CADUET[®] (氨氯地平和阿托伐他汀)、CRESTOR[®] (罗素他汀)、JUVISYNC[®] (西他列汀 / 辛伐他汀)、LESCOL[®] (氟伐他汀)、LESCOL XL (氟伐他汀缓释片)、LIPITOR[®] (阿托伐他汀)、LIVALO[®] (匹伐他汀)、MEVACOR[®] (洛伐他汀)、PRAVACHOL[®] (普伐他汀)、SIMCOR[®] (烟酸缓释片 / 辛伐他汀)、VYTORIN[®] (依泽替米贝 / 辛伐他汀) 以及 ZOCOR[®] (辛伐他汀)。在一些实施例中,所述抗高血脂药是他汀。在一些实施例中,所述他汀包括以下各项中的一种或多种: ADVICOR[®] (烟酸缓释片 / 洛伐他汀)、ALTOPREV[®] (洛伐他汀缓释片)、CADUET[®] (氨氯地平和阿托伐他汀)、CRESTOR[®] (罗素他汀)、JUVISYNC[®] (西他列汀 / 辛伐他汀)、LESCOL[®] (氟伐他汀)、LESCOL XL (氟伐他汀缓释片)、LIPITOR[®] (阿托伐他汀)、LIVALO[®] (匹伐他汀)、MEVACOR[®] (洛伐他汀)、PRAVACHOL[®] (普伐他汀)、SIMCOR[®] (烟酸缓释片 / 辛伐他汀)、VYTORIN[®] (依泽替米贝 / 辛伐他汀) 以及 ZOCOR[®] (辛伐他汀)。

[0014] 在一些实施例中,动脉粥样硬化的治疗包括减小受试者体内动脉粥样硬化斑的大小或数量,和 / 或降低受试者体内动脉粥样硬化斑的胆固醇含量。

[0015] 在一些实施例中,所述肽与所述抗高血脂药是同时投予的。在一些实施例中,所述肽与所述抗高血脂药是以任一次序依序投予的。

[0016] 在一些实施例中,动脉粥样硬化的病征、症状或并发症包括以下各项中的一种或多种:总胆固醇、极低密度脂蛋白胆固醇 (VLDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、游离 (未酯化的) 胆固醇、胆固醇酯、磷脂、三酸甘油酯含量升高,以及动脉粥样硬化病变。

[0017] 在一个方面中,提供一种用于在有需要的受试者中延迟他汀副作用的发作,改善或消除他汀副作用的方法。在一些实施例中,所述方法包括投予有效量的肽 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐,其中所述肽以化学方式连接到他汀。在一些实施例中,他汀的副作用包括以下一种或多种:肌病、横纹肌溶解症、肾衰竭、糖尿病、记忆丧失、辅酶 Q10 含量降低以及线粒体功能障碍。在一些实施例中,所述他汀包括以下一种或多种:阿托伐他汀、辛伐他汀、普伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、罗素他汀、ADVICOR[®] (烟酸缓释片 / 洛伐他汀)、ALTOPREV[®] (洛伐他汀缓释片)、

CADUET[®]（氨氯地平和阿托伐他汀）、CRESTOR[®]（罗素他汀）、JUVISYNC[®]（西他列汀 / 辛伐他汀）、LESCOL[®]（氟伐他汀）、LESCOL XL（氟伐他汀缓释片）、LIPITOR[®]（阿托伐他汀）、LIVALO[®]（匹伐他汀）、MEVACOR[®]（洛伐他汀）、PRAVACHOL[®]（普伐他汀）、SIMCOR[®]（烟酸缓释片 / 辛伐他汀）、VYTORIN[®]（依泽替米贝 / 辛伐他汀）、以及 ZOCOR[®]（辛伐他汀）。

[0018] 在一些方面中，提供一种用于增加有需要的受试者的他汀剂量的方法。在一些实施例中，所述方法包括投予有效量的第一剂量水平的他汀，以及以化学方式连接到所述他汀的芳香族阳离子肽；评价所述受试者的所述他汀的副作用特征，其中相较于投予所述他汀并且未投予所述芳香族阳离子肽的对照受试者，所述受试者的副作用减少或不存在；投予第二剂量水平的他汀，其中所述第二剂量水平高于所述第一他汀剂量水平。在一些实施例中，所述肽是 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂。在一些实施例中，所述他汀包括 LIPITOR[®] 或 CRESTOR[®]。在一些实施例中，所述他汀的副作用特征包括以下一种或多种：肌病、横纹肌溶解症、肾衰竭、糖尿病、记忆丧失、辅酶 Q10 含量降低以及线粒体功能障碍。

[0019] 在一些实施例中，改善动脉粥样硬化的病征、症状或并发症包括减小所述受试者体内动脉粥样硬化斑的大小或数量，和 / 或降低所述受试者体内动脉粥样硬化斑的胆固醇含量。

[0020] 如上所述，在本发明方法和组合物的一些实施例中，本发明的芳香族阳离子肽，如 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂ 或其药学上可接受的盐（如乙酸盐或三氟乙酸盐）与抗高血脂药是以化学方式连接。

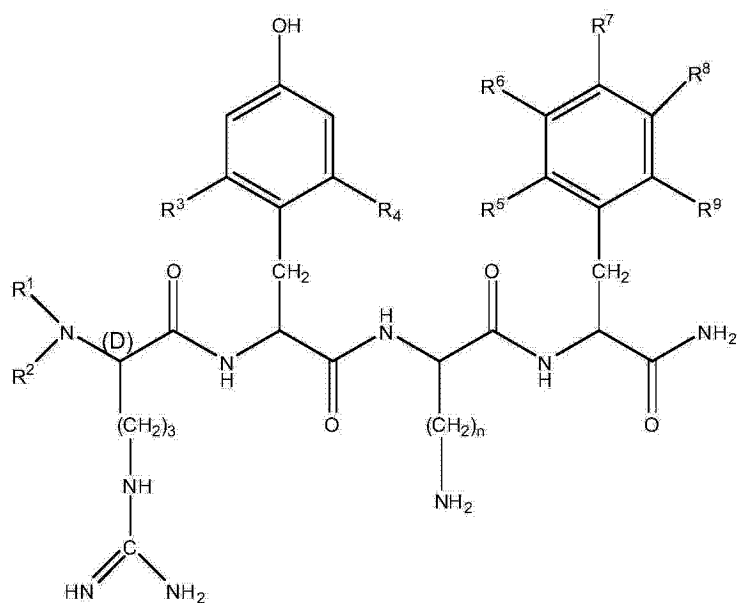
[0021] 在一些实施例中，所述抗高血脂药是他汀。在一些实施例中，芳香族阳离子肽与他汀是使用不稳定键连接的，所述不稳定键在体内水解以释放肽和抗高血脂药。在一些实施例中，所述不稳定键包含酯键、碳酸酯键或氨基甲酸酯键。

[0022] 在本文所披露的方法和组合物的一些实施例中，抗高血脂药是抗 PCSK9 抗体。在一些实施例中，芳香族阳离子肽与抗 PCSK9 抗体是使用双官能蛋白质偶联剂连接的。在一些实施例中，所述双官能蛋白质偶联剂是 N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯 (SPDP)；琥珀酰亚胺基-4-(N-顺丁烯二酰亚胺基甲基)环己烷-1-甲酸酯 (SMCC)；亚氨基硫杂环戊烷 (IT)；酰亚胺酯、活性酯、醛的双官能衍生物；双叠氮基化合物；双重氮衍生物；二异氰酸酯；或双-活性氟化合物。在一些实施例中，芳香族阳离子肽与抗 PCSK9 抗体是使用不稳定键连接的。在一些实施例中，所述不稳定键包含酯键、碳酸酯键或氨基甲酸酯键。

[0023] 在本文所披露的方法和组合物的一些实施例中，抗高血脂药是 Apo-B 反义寡核苷酸。在一些实施例中，芳香族阳离子肽与 Apo-B 反义寡核苷酸是使用不稳定键连接的。在一些实施例中，所述不稳定键包含酯键、碳酸酯键或氨基甲酸酯键。

[0024] 在一些实施例中，本文所披露的组合物和方法中使用的肽是由式 I 所定义：

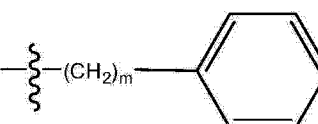
[0025]

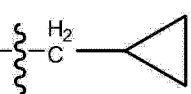


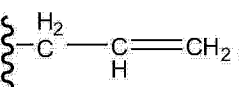
[0026] 其中 R^1 和 R^2 各自独立地选自

[0027] (i) 氢；

[0028] (ii) 直链或分支链 C_1 - C_6 烷基；

[0029] (iii)  其中 $m = 1-3$ ；

[0030] (iv) ；

[0031] (v) ；

[0032] R^3 和 R^4 各自独立地选自

[0033] (i) 氢；

[0034] (ii) 直链或分支链 C_1 - C_6 烷基；

[0035] (iii) C_1 - C_6 烷氧基；

[0036] (iv) 氨基；

[0037] (v) C_1 - C_4 烷基氨基；

[0038] (vi) C_1 - C_4 二烷基氨基；

[0039] (vii) 硝基；

[0040] (viii) 羟基；

[0041] (ix) 卤素，其中“卤素”包含氯、氟、溴及碘；

[0042] R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 及 R^9 各自独立地选自

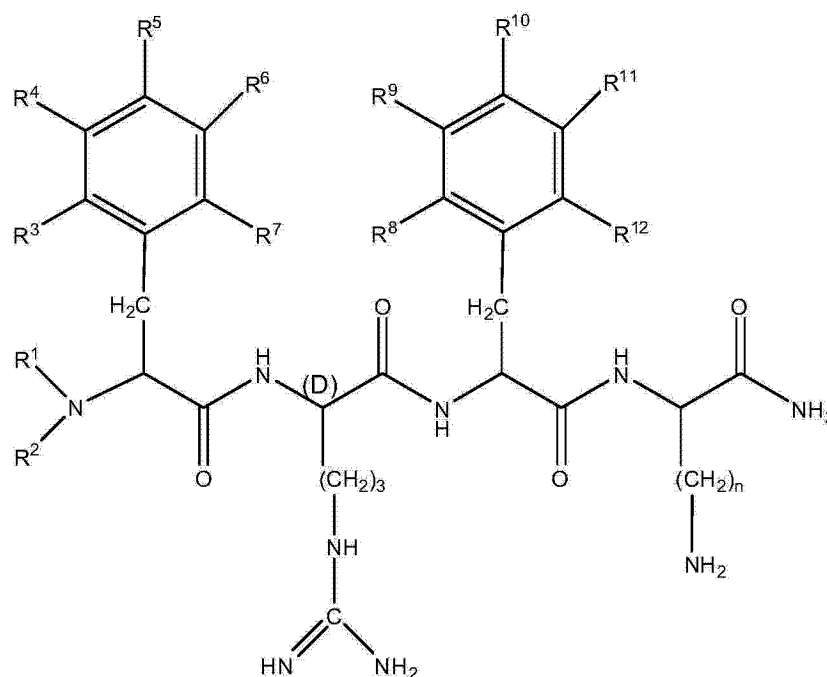
[0043] (i) 氢；

[0044] (ii) 直链或分支链 C_1 - C_6 烷基；

[0045] (iii) C_1 - C_6 烷氧基；

[0046] (iv) 氨基；

- [0047] (v) C_1 - C_4 烷基氨基；
 [0048] (vi) C_1 - C_4 二烷基氨基；
 [0049] (vii) 硝基；
 [0050] (viii) 羟基；
 [0051] (ix) 卤素，其中“卤素”包含氯、氟、溴及碘；并且
 [0052] n 是 1 到 5 的整数。
 [0053] 在一些实施例中， R^1 和 R^2 是氢； R^3 和 R^4 是甲基； R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 及 R^9 都是氢；并且 n 是 4。
 [0054] 在一些实施例中，本文所披露的组合物和方法中使用的肽是由式 II 所定义：
 [0055]



- [0056] 其中 R^1 和 R^2 各自独立地选自
 [0057] (i) 氢；
 [0058] (ii) 直链或分支链 C_1 - C_6 烷基；
 [0059] (iii) $\text{---}(\text{CH}_2)_m\text{---}$ 其中 $m = 1-3$ ；
 [0060] (iv) $\text{---}(\text{CH}_2)_m\text{---}$ 其中 $m = 1-3$ ；
 [0061] (v) $\text{---}(\text{CH}_2)_m\text{---}$ 其中 $m = 1-3$ ；

- [0062] R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 及 R^{12} 各自独立地选自
 [0063] (i) 氢；
 [0064] (ii) 直链或分支链 C_1 - C_6 烷基；
 [0065] (iii) C_1 - C_6 烷氧基；

- [0066] (iv) 氨基；
- [0067] (v) C_1 - C_4 烷基氨基；
- [0068] (vi) C_1 - C_4 二烷基氨基；
- [0069] (vii) 硝基；
- [0070] (viii) 羟基；
- [0071] (ix) 卤素，其中“卤素”包含氯、氟、溴及碘；并且
- [0072] n 是 1 到 5 的整数。
- [0073] 在一些实施例中， R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 及 R^{12} 都是氢；并且 n 是 4。在另一个实施例中， R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 及 R^{11} 都是氢； R^8 和 R^{12} 是甲基； R^{10} 是羟基；并且 n 是 4。
- [0074] 在一些实施例中，所述肽在 N 末端包含酪氨酸或 2', 6'-二甲基酪氨酸 (Dmt) 残基。举例来说，所述肽可以具有式 Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH₂ 或 2' 6'-Dmt-D-Arg-Phe-Lys-NH₂。在另一个实施例中，所述肽在 N 末端包含苯丙氨酸或 2' 6'-二甲基苯丙氨酸残基。举例来说，所述肽可以具有式 Phe-D-Arg-Phe-NH₂ 或 2' 6'-Dmp-D-Arg-Phe-Lys-NH₂。在特定实施例中，芳香族阳离子肽具有式 D-Arg-2' 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂。
- [0075] 芳香族阳离子肽可以通过多种方式投予。在一些实施例中，所述肽可以经口、表面、鼻内、腹膜内、经静脉内、皮下或透皮（例如通过离子导入疗法）投予。

附图说明

[0076] 图 1A 是绘示在投予媒介或肽 12 周之后对照小鼠（仅媒介—白色条柱）和测试小鼠（芳香族阳离子肽 D-Arg-2' 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂—深色条柱）中的病变面积%的图。图 1B 是示出在仅接受媒介（左图）或接受芳香族阳离子肽（右图）的受试者的主动脉上的动脉粥样硬化病变的照片。

[0077] 图 2 是绘示在投予媒介或肽 12 周之后对照小鼠（仅媒介—白色条柱）和测试小鼠（芳香族阳离子肽 D-Arg-2' 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂—深色条柱）中胸主动脉胆固醇（ μ g/mg 蛋白质）的图。TC = 总胆固醇；FC = 游离胆固醇；CE = 胆固醇酯。

[0078] 图 3 是绘示在 12 周之后对照小鼠（仅媒介）和测试小鼠（芳香族阳离子肽 D-Arg-2' 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂）中的平均病变面积（mm²）的图。

[0079] 图 4A-H 示出了在通过投予媒介或肽治疗 0、4、8 及 12 周之后以下各物的含量：(A) 总胆固醇；(B) 游离胆固醇；(C) 胆固醇酯；(D) HDL-C；(E) VLDL-C；(F) LDL-C；(G) 三酸甘油酯；以及 (H) 磷脂。每个图中的浅色条柱表示来自对照小鼠（仅媒介）的数据；深色条柱表示来自测试小鼠（芳香族阳离子肽 D-Arg-2' 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂）的数据。

[0080] 图 5 是绘示芳香族阳离子肽 D-Arg-2' 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 对成纤维细胞中辅酶 Q10 含量的影响的图。第一条柱表示生理盐水处理的成纤维细胞；第二条柱表示用 10nM 肽处理 16-24 小时的成纤维细胞；第三条柱表示用 10nM 肽处理 5 天的成纤维细胞。

[0081] 图 6A 是阿托伐他汀化学结构的图式。图 6B 是罗素他汀化学结构的图式。

[0082] 图 7A 是示出使用不稳定键将肽 D-Arg-2' 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 连接到他汀以便在体内水解前药以释放两种药物活性剂的示意图。图 7B 是示出使用不稳定键将肽 D-Arg-2' 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 连接到降血脂药以便在体内水解前药以释放两种药物活性

剂的示意图。

[0083] 图 8A 和 8B 示出了当 $X = 0$ 时形成碳酸酯连接的前药的说明性实施例。

[0084] 图 9 是绘示用于形成前药的 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂ 与他汀的潜在反应性连接位点 (箭头) 的图式。

[0085] 图 10 示出了使用碳酸酯键将 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂ 肽连接到 CRESTOR® 或 LIPITOR® 的说明性前药。

[0086] 图 11 示出了使用氨基甲酸酯键将 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂ 肽连接到 CRESTOR® 的说明性前药。

[0087] 图 12 示出了例示性自分解部分。

[0088] 图 13A 和 13B 示出了有关芳香族阳离子肽连接他汀 (A); 以及芳香族阳离子肽连接到抗体 (B) 的配制物的例示性示意图。图 13C 和 13D 示出了有关芳香族阳离子肽连接抗高血脂药 (C); 以及芳香族阳离子肽连接抗体 (D) 的配制物的例示性示意图。

具体实施方式

[0089] 应了解, 为了提供对本发明的实质了解, 以下通过各种细节水平描述本发明的某些方面、模式、实施例、变化及特征。

[0090] 在实践本发明时, 使用了分子生物学、蛋白质生物化学、细胞生物学、免疫学、微生物学以及重组 DNA 中的许多常规技术。这些技术是众所周知的并且在以下各项中有所解释: 例如, 最新分子生物学实验方法汇编 (Current Protocols in Molecular Biology), 第 I-III 卷, 奥斯贝 (Ausubel) 编 (1997); 萨姆布鲁克 (Sambrook) 等人, 分子克隆实验指南 (Molecular Cloning: A Laboratory Manual), 第二版 (纽约州冷泉港的冷泉港实验室出版社 (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY), 1989); DNA 克隆实用方法 (DNA Cloning: A Practical Approach), 第 I 卷和第 II 卷, 格洛弗 (Glover) 编 (1985); 寡核苷酸的合成 (Oligonucleotide Synthesis), 盖特 (Gait) 编 (1984); 核酸杂交 (Nucleic Acid Hybridization), 哈梅斯 (Hames) 和希金斯 (Higgins) 编 (1985); 转录与翻译 (Transcription and Translation), 哈梅斯和希金斯编 (1984); 动物细胞培养 (Animal Cell Culture), 弗瑞旭尼 (Freshney) 编 (1986); 固定化细胞和酶 (Immobilized Cells and Enzymes) (IRL 出版社, 1986); 佩巴尔 (Perbal), 分子克隆实践指南: 酶学方法系列 (A Practical Guide to Molecular Cloning; the series, Meth. Enzymol), (学术出版公司 (Academic Press, Inc.), 1984); 哺乳动物细胞的基因转移载体 (Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells), 米勒 (Miller) 和卡洛斯 (Calos) 编 (纽约州冷泉港实验室, 1987); 以及酶学方法 (Meth. Enzymol), 第 154 卷和第 155 卷, 分别由吴 (Wu) 与格罗斯曼 (Grossman) 及吴编。

[0091] 如本说明书中所使用的某些术语的定义提供于下。除非另外定义, 否则本文中所使用的所有科技术语一般具有与本发明所属领域的一般技术人员通常所理解相同的含义。

[0092] 除非内容另外明确规定, 否则如本说明书和所附权利要求书所使用的单数形式“一个 (种) (a/an)”和“所述 (the)”包括复数形式指示物。举例来说, 提及“一个细胞”包括两个或更多个细胞的组合等等。

[0093] 如本文中所使用,向受试者“投予”药剂、药物或肽包括将化合物引入或递送给受试者以执行其预期功能的任何途径。投药可以通过任何适合途径进行,包括经口、鼻内、肠胃外(经静脉内、肌肉内、腹膜内或皮下)或表面投予。投药包括自行投药和由另一者投药。

[0094] 如本文所使用,术语“氨基酸”包括天然存在的氨基酸和合成氨基酸,以及以类似于天然存在的氨基酸的方式起作用的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。天然存在的氨基酸是由遗传密码编码的那些氨基酸,以及后来被修饰的那些氨基酸,例如羟基脯氨酸、 γ -羧基谷氨酸以及 O-磷酸丝氨酸。氨基酸类似物是指具有与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构(即, α 碳结合到氢、羧基、氨基以及 R 基团)的化合物,例如高丝氨酸、正亮氨酸、蛋氨酸亚砷、蛋氨酸甲基砷。这些类似物具有修饰的 R 基团(例如正亮氨酸)或修饰的肽主链,但保持与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构。氨基酸模拟物是指具有与氨基酸的一般化学结构不同的结构但以与天然存在的氨基酸类似的方式起作用的化合物。氨基酸在本文中可以由其通常已知的三字母符号或由 IUPAC-IUB 生物化学命名法委员会(Biochemical Nomenclature Commission)所推荐的单字母符号来提及。

[0095] 如本文所使用,术语“有效量”是指足以达到期望的治疗和/或预防作用的量,例如,使动脉粥样硬化或与动脉粥样硬化有关的一种或多种症状得到预防或减少的量。在治疗或预防应用的情况下,投予受试者的组合物的量将取决于疾病的类型与严重性以及个体的特征,如一般健康状况、年龄、性别、体重和耐药性。它还将取决于疾病的程度、严重性和类型。熟练的业内人士将能够取决于这些和其它因素确定恰当剂量。所述组合物还可以与一种或多种另外的治疗性化合物组合投予。在本文所描述的方法中,可以向具有动脉粥样硬化的一种或多种病征或症状的受试者投予芳香族阳离子肽。举例来说,芳香族阳离子肽的“治疗有效量”意思指在最低限度上改善动脉粥样硬化的生理影响的量。在一些实施例中,动脉粥样硬化的病征、症状或并发症包括(但不限于):血浆总胆固醇增加、血浆游离胆固醇增加、血浆胆固醇酯增加、病变(例如主动脉病变)、血浆极低密度脂蛋白增加、血浆低密度脂蛋白增加和/或血浆磷脂增加。

[0096] “分离”或“纯化”的多肽或肽实质上不含得到所述药剂的细胞或组织来源中的细胞材料或其它污染性多肽,或当以化学方式合成时实质上不含化学前驱物或其它化学试剂。举例来说,分离的芳香族阳离子肽将不含会干扰药剂的诊断或治疗应用的物质。此类干扰物质可以包括酶、激素以及其它蛋白质和非蛋白质溶解物。

[0097] 如本文所使用,术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文中可互换地使用,意思指包含通过肽键或修饰的肽键(即,肽电子等排物)彼此接合的两个或更多个氨基酸的聚合物。多肽是指通常被称为肽、糖肽或寡聚物的短链,而且还指一般称为蛋白质的较长链。多肽可以含有除 20 种基因编码氨基酸以外的氨基酸。多肽包括通过如翻译后加工等自然过程或通过本领域中众所周知的化学修饰技术修饰的氨基酸序列。

[0098] 如本文所使用,术语“同时”治疗应用是指通过相同途径并且在相同时间或实质上相同的时间投予至少两种活性成分。

[0099] 如本文所使用,术语“分开的”治疗应用是指在相同时间或在实质上相同的时间通过不同途径投予至少两种活性成分。

[0100] 如本文所使用,术语“连续”治疗应用是指不同时间投予至少两种活性成分,投药途径相同或不同。更确切地说,连续使用是指全部投予一种活性成分,随后开始投予另一种

或其它活性成分。因此,有可能经数分钟、数小时或数天投予一种活性成分,随后投予另一种或其它活性成分。在此情况下不存在同时治疗。

[0101] 如本文所使用,术语“治疗 (treating)”或“治疗 (treatment)”或“减轻”是指治疗性治疗和防范性或预防性措施,其中目的是预防或减缓(减轻)目标病理病况或病症。举例来说,如果根据本文所描述的方法,在接受治疗量的芳香族阳离子肽之后,受试者显示出动脉粥样硬化的一种或多种病征、症状或并发症的可观察到的和 / 或可测量的减轻,如例如相较于未用治疗性芳香族阳离子肽治疗的受试者降低的总血浆胆固醇、游离胆固醇、胆固醇酯、极低密度脂蛋白胆固醇 (VLDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、磷脂、病变大小和 / 或数量(例如主动脉病变),减少的主动脉组织和 / 或主动脉斑中的胆固醇含量,和 / 或减少的胆固醇动脉粥样硬化病变或斑块的量,那么所述受试者的动脉粥样硬化成功地得到“治疗”。还应该了解,如所描述的医学病况的各种治疗或预防模式打算指“实质上”治疗或预防,它包括全部以及小于全部的治疗或预防,并且其中实现了一些生物学或医学相关结果。

[0102] 如本文所使用,病症或病况的“预防 (prevention)”或“预防 (preventing)”是指一种或多种化合物在统计学样品中使经过治疗的样品中病症或病况的发生相对于未治疗的对照样品有所减少,或相对于未治疗的对照样品,使所述病症或病况的一或多种症状延迟发作或降低其严重程度。如本文所使用,预防动脉粥样硬化包括相较于未用治疗性芳香族阳离子肽治疗的受试者,减轻动脉粥样硬化的一种或多种病征、症状或并发症,或使其维持在正常水平,包括(但不限于)总血浆胆固醇、游离胆固醇、胆固醇酯、极低密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、磷脂、病变(例如主动脉病变)的大小和 / 或数量、主动脉组织和 / 或主动脉斑块中胆固醇的量,和 / 或胆固醇动脉粥样硬化病变或斑块的量。

[0103] 如本文所使用,术语“药物”和“药剂”同义。

[0104] 如本文所使用,术语“抗高血脂剂”或“抗高血脂药”与术语“降血脂剂”或“降血脂药”同义。

[0105] 预防或治疗的方法

[0106] 本发明技术涉及通过向有需要的受试者投予芳香族阳离子肽并且在一些实施例中,投予芳香族阳离子肽和一种或多种活性剂来治疗或预防动脉粥样硬化。举例来说,本发明技术涉及通过向有需要的受试者投予芳香族阳离子肽,并且在一些实施例中,投予芳香族阳离子肽和一种或多种抗高血脂药(例如他汀)来治疗或预防动脉粥样硬化。在一些实施例中,抗高血脂药和芳香族阳离子肽是以化学方式连接的。

[0107] 在一个实施例中,芳香族阳离子肽和 / 或一种或多种药剂的投药剂量是每一药剂在分开投予时的亚治疗剂量。然而,在一些实施例中,两种药剂的组合引起协同效应,从而提供一种在单独地投予更高剂量各药剂时未观察到的增强的作用。在一个实施例中,投予芳香族阳离子肽和一种或多种药剂“准备 (prime)”组织,以使得所述组织对另一药剂的治疗作用更具反应性。因此,在一些实施例中,可以投予较低剂量的芳香族阳离子肽和 / 或一种或多种药剂(例如抗高血脂药,如他汀),并且仍观察到治疗作用。

[0108] 在一些实施例中,向受试者(例如,患有动脉粥样硬化,和 / 或展现动脉粥样硬化的病征、症状或并发症,和 / 或易患动脉粥样硬化或动脉粥样硬化的病征、症状或并发症的受试者)投予肽,或同时、分开或依序投予肽和一种或多种抗高血脂药(例如他汀)。在

一些实施例中,在动脉粥样硬化明显之前,或在动脉粥样硬化的病征、症状或并发症明显之前,向受试者授予所述肽,或授予所述肽和一种或多种抗高血脂药(例如他汀)。

[0109] 芳香族阳离子肽是水溶性的并且具有高极性。尽管有这些特性,但这些肽可以容易地穿透细胞膜。芳香族阳离子肽通常包括通过肽键共价接合的最少三个氨基酸或最少四个氨基酸。芳香族阳离子肽中存在的氨基酸的最大数目是通过肽键共价接合的约二十个氨基酸。氨基酸的最大数目宜为约十二个,更优选为约九个,并且最优选为约六个。

[0110] 芳香族阳离子肽的氨基酸可以是任何氨基酸。如本文所使用,术语“氨基酸”用于指含有至少一个氨基和至少一个羧基的任何有机分子。通常,至少一个氨基相对于羧基在 α 位。氨基酸可以天然存在的。天然存在的氨基酸包括例如通常见于哺乳动物蛋白质中的二十种最常见的左旋(L)氨基酸,即,丙氨酸(Ala)、精氨酸(Arg)、天冬酰胺(Asn)、天冬氨酸(Asp)、半胱氨酸(Cys)、谷氨酰胺(Gln)、谷氨酸(Glu)、甘氨酸(Gly)、组氨酸(His)、异亮氨酸(Ile)、亮氨酸(Leu)、赖氨酸(Lys)、甲硫氨酸(Met)、苯丙氨酸(Phe)、脯氨酸(Pro)、丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)、色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)及缬氨酸(Val)。其它天然存在的氨基酸包括例如以与蛋白质合成无关的代谢过程合成的氨基酸。举例来说,在哺乳动物代谢中在尿素制造期间合成氨基酸鸟氨酸和瓜氨酸。天然存在的氨基酸的另一个实例包括羟基脯氨酸(Hyp)。

[0111] 所述肽任选地含有一种或多种非天然存在的氨基酸。举例来说,所述肽可以不具有天然存在的氨基酸。非天然存在的氨基酸可以是左旋(L-)氨基酸、右旋(D-)氨基酸或其混合物。非天然存在的氨基酸是通常不在存活生物体的正常代谢过程中合成并且不天然存在于蛋白质中的那些氨基酸。此外,非天然存在的氨基酸也适合地不被常见蛋白酶识别。非天然存在的氨基酸可以存在于所述肽中的任何位置。举例来说,非天然存在的氨基酸可以在N末端、C末端或在N末端与C末端之间的任何位置。

[0112] 非天然氨基酸可以例如包含天然氨基酸中未发现的烷基、芳基或烷基芳基。非天然烷基氨基酸的一些实例包括 α -氨基丁酸、 β -氨基丁酸、 γ -氨基丁酸、 δ -氨基戊酸及 ϵ -氨基己酸。非天然芳基氨基酸的一些实例包括邻氨基苯甲酸、间氨基苯甲酸及对氨基苯甲酸。非天然烷基芳基氨基酸的一些实例包括邻氨基苯乙酸、间氨基苯乙酸及对氨基苯乙酸,以及 γ -苯基- β -氨基丁酸。非天然存在的氨基酸包括天然存在的氨基酸的衍生物。天然存在的氨基酸的衍生物可以例如包括将一个或多个化学基团添加到天然存在的氨基酸中。

[0113] 举例来说,可以将一个或多个化学基团添加到以下一种或多种中:苯丙氨酸或酪氨酸残基的芳香族环的2'、3'、4'、5'或6'位,或色氨酸残基的苯并环的4'、5'、6'或7'位。所述基团可以是能添加到芳香族环中的任何化学基团。此类基团的一些实例包括分支或未分支 C_1 - C_4 烷基(如甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基、异丁基或叔丁基)、 C_1 - C_4 烷基氧基(即,烷氧基)、氨基、 C_1 - C_4 烷基氨基及 C_1 - C_4 二烷基氨基(例如甲氨基、二甲氨基)、硝基、羟基、卤基(即,氟、氯、溴或碘)。天然存在的氨基酸的非天然存在的衍生物的一些具体实例包括正缬氨酸(Nva)和正亮氨酸(Nle)。

[0114] 肽中氨基酸修饰的另一个实例是所述肽中天冬氨酸或谷氨酸残基的羧基的衍生化。衍生化的一个实例是用氨或用伯胺或仲胺(例如甲胺、乙胺、二甲胺或二乙胺)进行酰胺化。衍生化的另一个实例包括用例如甲醇或乙醇进行酯化。另一种此类修饰包括赖氨酸、

精氨酸或组氨酸残基的氨基的衍生化。举例来说,此类氨基可以酰基化。一些适合的酰基包括例如苯甲酰基或包含上述任何 C_1-C_4 烷基的烷酰基,如乙酰基或丙酰基。

[0115] 非天然存在的氨基酸优选对常见蛋白酶具有抗性,并且更优选对常见蛋白酶不敏感。对蛋白酶具有抗性或不敏感的非天然存在的氨基酸的实例包括任何上述天然存在的 L-氨基酸的右旋 (D-) 形式,以及 L- 和 / 或 D- 非天然存在氨基酸。D- 氨基酸通常不存在于蛋白质中,不过这些氨基酸见于通过除细胞正常核糖体蛋白质合成机构外的方式合成的某些肽类抗生素中。如本文所使用, D- 氨基酸被认为是非天然存在的氨基酸。

[0116] 为了使蛋白酶敏感性降到最低,所述肽应当具有少于五个,优选少于四个,更优选少于三个并且最优选少于两个被常见蛋白酶识别的连续 L-氨基酸,无论所述氨基酸是天然还是非天然存在的。最佳地,所述肽仅具有 D- 氨基酸,并且不含 L- 氨基酸。如果所述肽含有蛋白酶敏感性氨基酸序列,那么至少一个氨基酸优选是非天然存在的 D- 氨基酸,由此赋予蛋白酶抗性。蛋白酶敏感性序列的一个实例包括易于被如肽链内切酶和胰蛋白酶等常见蛋白酶裂解的两个或更多个连续碱性氨基酸。碱性氨基酸的实例包括精氨酸、赖氨酸及组氨酸。

[0117] 芳香族阳离子肽相较于肽中氨基酸残基的总数在生理 pH 下应当具有最少数量的净正电荷。在生理 pH 下净正电荷的最少数量将在下文称为 (p_m)。所述肽中氨基酸残基的总数将在下文中称为 (r)。下文论述的最少数量的净正电荷全部是在生理 pH 下。如本文所使用的术语“生理 pH”是指哺乳动物身体的组织和器官的细胞中的正常 pH。举例来说,人类的生理 pH 值通常是约 7.4,但哺乳动物的正常生理 pH 值可以是约 7.0 到约 7.8 的任何 pH 值。

[0118] 如本文所使用的“净电荷”是指所述肽中存在的氨基酸所携带的正电荷数量与负电荷数量的对比。在本说明书中,应理解,净电荷是在生理 pH 下测量。在生理 pH 下带正电的天然存在的氨基酸包括 L- 赖氨酸、L- 精氨酸及 L- 组氨酸。在生理 pH 下带负电的天然存在的氨基酸包括 L- 天冬氨酸和 L- 谷氨酸。通常,肽具有带正电的 N 末端氨基和带负电的 C 末端羧基。这些电荷在生理 pH 下彼此抵消。

[0119] 在一个实施例中,芳香族阳离子肽在生理 pH 下净正电荷的最少数量 (p_m) 与氨基酸残基总数 (r) 之间具有一种关系,其中 $3p_m$ 是小于或等于 $r+1$ 的最大数量。在此实施例中,净正电荷的最少数量 (p_m) 与氨基酸残基总数 (r) 之间的关系如下:

[0120] 表 1. 氨基酸数量和净正电荷 ($3p_m \leq r+1$)

[0121]

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

[0122] 在另一个实施例中,芳香族阳离子肽在净正电荷的最少数量 (p_m) 与氨基酸残基总数 (r) 之间具有一种关系,其中 $2p_m$ 是小于或等于 $r+1$ 的最大数量。在此实施例中,净正电荷的最少数量 (p_m) 与氨基酸残基总数 (r) 之间的关系如下:

[0123] 表 2. 氨基酸数量和净正电荷 ($2p_m \leq r+1$)

[0124]

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

[0125] 在一个实施例中,净正电荷的最少数目 (p_m) 与氨基酸残基总数 (r) 是相同的。在另一个实施例中,所述肽具有三个或四个氨基酸残基以及最少一个净正电荷,适合地具有最少两个净正电荷并且更优选最少三个净正电荷。

[0126] 芳香族阳离子肽相较于净正电荷总数 (p_t) 具有最少数量的芳香族基团也很重要。最少数量的芳香族基团将在下文称为 (a)。具有芳香族基团的天然存在的氨基酸包括氨基酸组氨酸、色氨酸、酪氨酸及苯丙氨酸。举例来说,六肽 Lys-Gln-Tyr-D-Arg-Phe-Trp 的净正电荷是二 (由赖氨酸和精氨酸残基贡献) 并且具有三个芳香族基团 (由酪氨酸、苯丙氨酸及色氨酸残基贡献)。

[0127] 芳香族阳离子肽还应当在芳香族基团的最少数目 (a) 与在生理 pH 下的净正电荷总数 (p_t) 之间具有一种关系,其中 3a 是小于或等于 p_t+1 的最大数量,但当 p_t 是 1 时, a 也可以是 1。在此实施例中,芳香族基团的最少数目 (a) 与净正电荷总数 (p_t) 之间的关系如下:

[0128] 表 3. 芳香族基团和净正电荷 ($3a \leq p_t + 1$ 或 $a = p_t = 1$)

[0129]

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

[0130] 在另一个实施例中,芳香族阳离子肽在芳香族基团的最少数目 (a) 与净正电荷总数 (p_t) 之间具有一种关系,其中 2a 是小于或等于 p_t+1 的最大数量。在此实施例中,芳香族氨基酸残基的最少数目 (a) 与净正电荷总数 (p_t) 之间的关系如下:

[0131] 表 4. 芳香族基团和净正电荷 ($2a \leq p_t + 1$ 或 $a = p_t = 1$)

[0132]

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

[0133] 在另一个实施例中,芳香族基团的数量 (a) 与净正电荷总数 (p_t) 相同。在一个实施例中,芳香族阳离子肽是一种具有两个净正电荷及至少一个芳香族氨基酸的三肽。在特定实施例中,芳香族阳离子肽是一种具有两个净正电荷及两个芳香族氨基酸的三肽。

[0134] 羧基,尤其是 C 末端氨基酸的末端羧基宜用例如氨进行酰胺化以形成 C 末端酰胺。或者, C 末端氨基酸的末端羧基可以用任何伯胺或仲胺酰胺化。伯胺或仲胺可以例如是烷基胺,尤其是分支或未分支 C₁-C₄ 烷基胺,或芳基胺。因此,在所述肽的 C 末端的氨基酸可以转化成酰胺基、N- 甲酰胺基、N- 乙酰胺基、N, N- 二甲酰胺基、N, N- 二乙酰胺基、N- 甲基 -N- 乙酰胺基、N- 苯酰胺基或 N- 苯基 -N- 乙酰胺基。不在芳香族阳离子肽的 C 末端处的天冬酰胺、谷氨酰胺、天冬氨酸及谷氨酸残基每当出现在所述肽内时,其游离甲酸酯基团也可以酰

胺化。在这些内部位置处的酰胺化可以用氨或上述任何伯胺或仲胺进行。

[0135] 芳香族阳离子肽包括（但不限于）以下肽实例：

[0136] Lys-D-Arg-Tyr-NH₂

[0137] Phe-D-Arg-His

[0138] D-Tyr-Trp-Lys-NH₂

[0139] Trp-D-Lys-Tyr-Arg-NH₂

[0140] Tyr-His-D-Gly-Met

[0141] Phe-Arg-D-His-Asp

[0142] Tyr-D-Arg-Phe-Lys-Glu-NH₂

[0143] Met-Tyr-D-Lys-Phe-Arg

[0144] D-His-Glu-Lys-Tyr-D-Phe-Arg

[0145] Lys-D-Gln-Tyr-Arg-D-Phe-Trp-NH₂

[0146] Phe-D-Arg-Lys-Trp-Tyr-D-Arg-His

[0147] Gly-D-Phe-Lys-Tyr-His-D-Arg-Tyr-NH₂

[0148] Val-D-Lys-His-Tyr-D-Phe-Ser-Tyr-Arg-NH₂

[0149] Trp-Lys-Phe-D-Asp-Arg-Tyr-D-His-Lys

[0150] Lys-Trp-D-Tyr-Arg-Asn-Phe-Tyr-D-His-NH₂

[0151] Thr-Gly-Tyr-Arg-D-His-Phe-Trp-D-His-Lys

[0152] Asp-D-Trp-Lys-Tyr-D-His-Phe-Arg-D-Gly-Lys-NH₂

[0153] D-His-Lys-Tyr-D-Phe-Glu-D-Asp-D-His-D-Lys-Arg-Trp-NH₂

[0154] Ala-D-Phe-D-Arg-Tyr-Lys-D-Trp-His-D-Tyr-Gly-Phe

[0155] Tyr-D-His-Phe-D-Arg-Asp-Lys-D-Arg-His-Trp-D-His-Phe

[0156] Phe-Phe-D-Tyr-Arg-Glu-Asp-D-Lys-Arg-D-Arg-His-Phe-NH₂

[0157] Phe-Try-Lys-D-Arg-Trp-His-D-Lys-D-Lys-Glu-Arg-D-Tyr-Thr

[0158] Tyr-Asp-D-Lys-Tyr-Phe-D-Lys-D-Arg-Phe-Pro-D-Tyr-His-Lys

[0159] Glu-Arg-D-Lys-Tyr-D-Val-Phe-D-His-Trp-Arg-D-Gly-Tyr-Arg-D-Met-NH₂

[0160] Arg-D-Leu-D-Tyr-Phe-Lys-Glu-D-Lys-Arg-D-Trp-Lys-D-Phe-Tyr-D-Arg-Gly

[0161] D-Glu-Asp-Lys-D-Arg-D-His-Phe-Phe-D-Val-Tyr-Arg-Tyr-D-Tyr-Arg-His-Phe-NH₂

[0162] Asp-Arg-D-Phe-Cys-Phe-D-Arg-D-Lys-Tyr-Arg-D-Tyr-Trp-D-His-Tyr-D-Phe-Lys-Phe

[0163] His-Tyr-D-Arg-Trp-Lys-Phe-D-Asp-Ala-Arg-Cys-D-Tyr-His-Phe-D-Lys-Tyr-His-Ser-NH₂

[0164] Gly-Ala-Lys-Phe-D-Lys-Glu-Arg-Tyr-His-D-Arg-D-Arg-Asp-Tyr-Trp-D-His-Trp-His-D-Lys-Asp

[0165] Thr-Tyr-Arg-D-Lys-Trp-Tyr-Glu-Asp-D-Lys-D-Arg-His-Phe-D-Tyr-Gly-Val-Ile-D-His-Arg-Tyr-Lys-NH₂

[0166] 在一个实施例中，芳香族阳离子肽具有式 Phe-D-Arg-Phe-Lys-NH₂。在另一个实施例中，芳香族阳离子肽具有式 D-Arg-2' 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂。

[0167] 本文提到的肽及其衍生物可以另外包括功能性类似物。如果类似物具有与肽相同的功能,那么认为所述肽是功能性类似物。所述类似物可以例如是肽的取代变体,其中一个或多个氨基酸被另一个氨基酸取代。所述肽的适合取代变体包括保守氨基酸取代。氨基酸可以根据其物理化学特征分组如下:

[0168] (a) 非极性氨基酸 :Ala(A) Ser(S) Thr(T) Pro(P) Gly(G) Cys(C) ;

[0169] (b) 酸性氨基酸 :Asn(N) Asp(D) Glu(E) Gln(Q) ;

[0170] (c) 碱性氨基酸 :His(H) Arg(R) Lys(K) ;

[0171] (d) 疏水性氨基酸 :Met(M) Leu(L) Ile(I) Val(V) ;及

[0172] (e) 芳香族氨基酸 :Phe(F) Tyr(Y) Trp(W) His(H) 。

[0173] 肽中的氨基酸被同一组中的另一个氨基酸取代称为保守取代并且可以保持原始肽的物理化学特征。相比之下,肽中的氨基酸被不同组中的另一个氨基酸取代一般很可能改变原始肽的特征。

[0174] 肽的实例包括(但不限于)表5中所示的芳香族阳离子肽。

[0175] 表5. 具有 μ -类鸦片活性的肽类似物

[0176]

1 位氨基酸	2 位氨基酸	3 位氨基酸	4 位氨基酸	C 末端修饰
Tyr	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Tyr	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
Tyr	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
Tyr	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	Lys-NH(CH ₂) ₂ -NH-dns	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	Lys-NH(CH ₂) ₂ -NH-atn	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	dnsLys	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Cit	Phe	Lys	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Cit	Phe	Ahp	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂

[0177]

1 位氨基酸	2 位氨基酸	3 位氨基酸	4 位氨基酸	C 末端修饰
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	Ahp(2-氨基庚酸)	NH ₂
Bio-2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂
Tyr	D-Arg	Tyr	Lys	NH ₂
Tyr	D-Arg	Tyr	Orn	NH ₂
Tyr	D-Arg	Tyr	Dab	NH ₂
Tyr	D-Arg	Tyr	Dap	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Tyr	Lys	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Tyr	Orn	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Tyr	Dab	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Tyr	Dap	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	2' 6' Dmt	Lys	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	2' 6' Dmt	Orn	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	2' 6' Dmt	Dab	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	2' 6' Dmt	Dap	NH ₂

3' 5' Dmt	D-Arg	3' 5' Dmt	Arg	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Arg	3' 5' Dmt	Lys	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Arg	3' 5' Dmt	Orn	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Arg	3' 5' Dmt	Dab	NH ₂
Tyr	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
Tyr	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Lys	Phe	Lys	NH ₂
Tyr	D-Lys	Phe	Orn	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	Phe	Dab	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	Phe	Lys	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Lys	Phe	Orn	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Lys	Phe	Dab	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Lys	Tyr	Lys	NH ₂
Tyr	D-Lys	Tyr	Orn	NH ₂
Tyr	D-Lys	Tyr	Dab	NH ₂
Tyr	D-Lys	Tyr	Dap	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	Tyr	Lys	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	Tyr	Orn	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	Tyr	Dab	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	Tyr	Dap	NH ₂

2' 6' Dmt	D-Lys	2' 6' Dmt	Lys	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	2' 6' Dmt	Orn	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	2' 6' Dmt	Dab	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	2' 6' Dmt	Dap	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	dnsDap	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	atnDap	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Lys	3' 5' Dmt	Lys	NH ₂

[0178]

1 位氨基酸	2 位氨基酸	3 位氨基酸	4 位氨基酸	C 末端修饰
3' 5' Dmt	D-Lys	3' 5' Dmt	Orn	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Lys	3' 5' Dmt	Dab	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Lys	3' 5' Dmt	Dap	NH ₂
Tyr	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Dab	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Dap	Phe	Arg	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	Arg	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Dab	Phe	Arg	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Dap	Phe	Arg	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Arg	Phe	Arg	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂

Tyr	D-Lys	Tyr	Arg	NH ₂
Tyr	D-Orn	Tyr	Arg	NH ₂
Tyr	D-Dab	Tyr	Arg	NH ₂
Tyr	D-Dap	Tyr	Arg	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	2' 6' Dmt	Arg	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	2' 6' Dmt	Arg	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Orn	2' 6' Dmt	Arg	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Dab	2' 6' Dmt	Arg	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Dap	3' 5' Dmt	Arg	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Arg	3' 5' Dmt	Arg	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Lys	3' 5' Dmt	Arg	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Orn	3' 5' Dmt	Arg	NH ₂
Mmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Mmt	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
Mmt	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
Mmt	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂
Tmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Tmt	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
Tmt	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
Tmt	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂
Hmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Hmt	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
Hmt	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
Hmt	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂

Mmt	D-Lys	Phe	Lys	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Orn	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Dab	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Lys	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Orn	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Dab	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂

[0179]

1 位氨基酸	2 位氨基酸	3 位氨基酸	4 位氨基酸	C 末端修饰
Hmt	D-Lys	Phe	Lys	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Orn	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Dab	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Mmt	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂
Mmt	D-Dab	Phe	Arg	NH ₂
Mmt	D-Dap	Phe	Arg	NH ₂
Mmt	D-Arg	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂

Tmt	D-Dab	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Dap	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Arg	Phe	Arg	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Hmt	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂
Hmt	D-Dab	Phe	Arg	NH ₂
Hmt	D-Dap	Phe	Arg	NH ₂
Hmt	D-Arg	Phe	Arg	NH ₂

[0180] Dab = 二氨基丁酸

[0181] Dap = 二氨基丙酸

[0182] Dmt = 二甲基酪氨酸

[0183] Mmt = 2'-甲基酪氨酸

[0184] Tmt = N, 2', 6'-三甲基酪氨酸

[0185] Hmt = 2'-羟基, 6'-甲基酪氨酸

[0186] dnsDap = β-丹酰基-L-α, β-二氨基丙酸

[0187] atnDap = β-邻氨基苯甲酰基-L-α, β-二氨基丙酸

[0188] Bio = 生物素

[0189] 肽的实例还包括(但不限于)表6中所示的芳香族阳离子肽。

[0190] 表6. 不具有 μ-类鸦片活性的肽类似物

[0191]

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

Phe	Lys	D-Arg	Dmt	NH ₂
Phe	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Phe	D-Arg	Dmt	Lys	NH ₂
Phe	D-Arg	Lys	Dmt	NH ₂
Phe	Dmt	D-Arg	Lys	NH ₂

[0192]

Phe	Dmt	Lys	D-Arg	NH ₂
Lys	Phe	D-Arg	Dmt	NH ₂
Lys	Phe	Dmt	D-Arg	NH ₂
Lys	Dmt	D-Arg	Phe	NH ₂
Lys	Dmt	Phe	D-Arg	NH ₂
Lys	D-Arg	Phe	Dmt	NH ₂
Lys	D-Arg	Dmt	Phe	NH ₂
D-Arg	Dmt	D-Arg	Phe	NH ₂
D-Arg	Dmt	D-Arg	Dmt	NH ₂
D-Arg	Dmt	D-Arg	Tyr	NH ₂
D-Arg	Dmt	D-Arg	Trp	NH ₂
Trp	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Trp	D-Arg	Tyr	Lys	NH ₂
Trp	D-Arg	Trp	Lys	NH ₂
Trp	D-Arg	Dmt	Lys	NH ₂
D-Arg	Trp	Lys	Phe	NH ₂
D-Arg	Trp	Phe	Lys	NH ₂
D-Arg	Trp	Lys	Dmt	NH ₂

D-Arg	Trp	Dmt	Lys	NH ₂
D-Arg	Lys	Trp	Phe	NH ₂
D-Arg	Lys	Trp	Dmt	NH ₂
Cha	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Ala	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂

[0193] Cha = 环己基丙氨酸

[0194] 表 5 和表 6 中所示的肽的氨基酸可以是 L- 构型或 D- 构型。

[0195] 在一些实施例中,芳香族阳离子肽是一种具有以下各项的肽:

[0196] 至少一个净正电荷;

[0197] 最少四个氨基酸;

[0198] 最多约二十个氨基酸;

[0199] 净正电荷的最少数量 (p_m) 与氨基酸残基总数 (r) 之间的关系,其中 $3p_m$ 是小于或等于 $r+1$ 的最大数量;以及芳香族基团的最少数量 (a) 与净正电荷总数 (p_t) 之间的关系,其中 $2a$ 是小于或等于 p_t+1 的最大数量,不过当 a 是 1 时, p_t 也可以是 1。

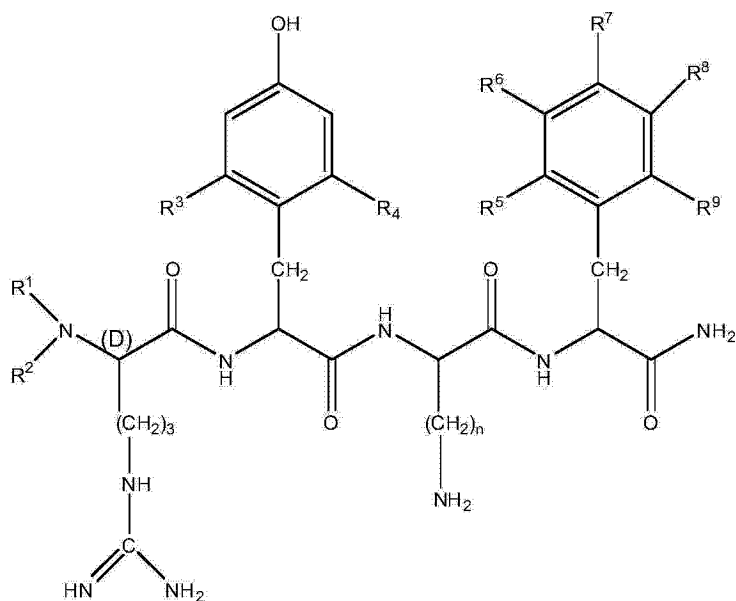
[0200] 在一个实施例中, $2p_m$ 是小于或等于 $r+1$ 的最大数量, a 可以等于 p_t 。芳香族阳离子肽可以是具有最少两个或最少三个正电荷的水溶性肽。

[0201] 在一个实施例中,所述肽包含一个或多个非天然存在的氨基酸,例如一个或多个 D- 氨基酸。在一些实施例中,在 C 末端的氨基酸的 C 末端羧基被酰胺化。在某些实施例中,所述肽具有最少四个氨基酸。所述肽可以具有最多约 6 个、最多约 9 个或最多约 12 个氨基酸。

[0202] 在一个实施例中,所述肽在 N 末端包含酪氨酸或 2', 6' - 二甲基酪氨酸 (Dmt) 残基。举例来说,所述肽可以具有式 Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH₂ 或 2' 6' -Dmt-D-Arg-Phe-Lys-NH₂。在另一个实施例中,所述肽在 N 末端包含苯丙氨酸或 2' 6' - 二甲基苯丙氨酸残基。举例来说,所述肽可以具有式 Phe-D-Arg-Phe-NH₂ 或 2' 6' -Dmp-D-Arg-Phe-Lys-NH₂。在特定实施例中,芳香族阳离子肽具有式 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂。

[0203] 在一个实施例中,所述肽是由式 I 定义:

[0204]



[0205] 其中 R^1 和 R^2 各自独立地选自

[0206] (i) 氢；

[0207] (ii) 直链或分支链 C_1 - C_6 烷基；

[0208] (iii) $\text{---}(\text{CH}_2)_m\text{---}$ 其中 $m = 1-3$ ；

[0209] (iv) $\text{---}(\text{CH}_2)_m\text{---}$ ；

[0210] (v) $\text{---}(\text{CH}_2)_m\text{---}$ ；

[0211] R^3 和 R^4 各自独立地选自

[0212] (i) 氢；

[0213] (ii) 直链或分支链 C_1 - C_6 烷基；

[0214] (iii) C_1 - C_6 烷氧基；

[0215] (iv) 氨基；

[0216] (v) C_1 - C_4 烷基氨基；

[0217] (vi) C_1 - C_4 二烷基氨基；

[0218] (vii) 硝基；

[0219] (viii) 羟基；

[0220] (ix) 卤素，其中“卤素”包含氯、氟、溴及碘；

[0221] R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 及 R^9 各自独立地选自

[0222] (i) 氢；

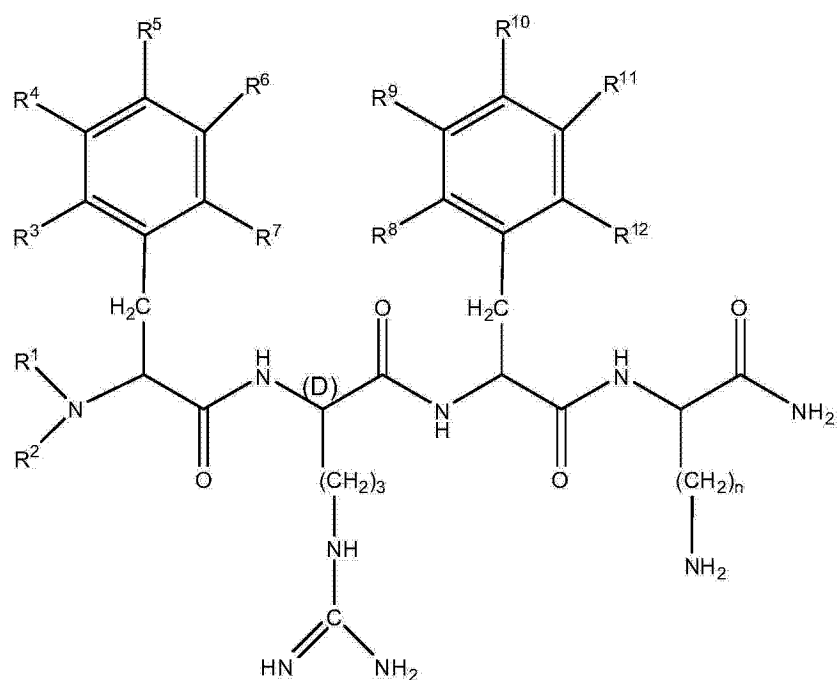
[0223] (ii) 直链或分支链 C_1 - C_6 烷基；

[0224] (iii) C_1 - C_6 烷氧基；

[0225] (iv) 氨基；

- [0226] (v) C_1 - C_4 烷基氨基；
 [0227] (vi) C_1 - C_4 二烷基氨基；
 [0228] (vii) 硝基；
 [0229] (viii) 羟基；
 [0230] (ix) 卤素，其中“卤素”包含氯、氟、溴及碘；并且
 [0231] n 是 1 到 5 的整数。
 [0232] 在特定实施例中， R^1 和 R^2 是氢； R^3 和 R^4 是甲基； R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 及 R^9 都是氢；并且 n 是 4。
 [0233] 在一个实施例中，所述肽是由式 II 定义：

[0234]



- [0235] 其中 R^1 和 R^2 各自独立地选自
 [0236] (i) 氢；
 [0237] (ii) 直链或分支链 C_1 - C_6 烷基；
 [0238] (iii) $-(CH_2)_m-$ 其中 $m = 1-3$ ；

- [0239] (iv) $-(CH_2)_m-$ 其中 $m = 1-3$ ；

- [0240] (v) $-(CH_2)_m-$ 其中 $m = 1-3$ ；

- [0241] R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 及 R^{12} 各自独立地选自
 [0242] (i) 氢；
 [0243] (ii) 直链或分支链 C_1 - C_6 烷基；
 [0244] (iii) C_1 - C_6 烷氧基；

[0245] (iv) 氨基；

[0246] (v) C_1 - C_4 烷基氨基；

[0247] (vi) C_1 - C_4 二烷基氨基；

[0248] (vii) 硝基；

[0249] (viii) 羟基；

[0250] (ix) 卤素，其中“卤素”包含氯、氟、溴及碘；并且

[0251] n 是 1 到 5 的整数。

[0252] 在特定实施例中， R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 及 R^{12} 都是氢；并且 n 是 4。在另一个实施例中， R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 及 R^{11} 都是氢； R^8 和 R^{12} 是甲基； R^{10} 是羟基；并且 n 是 4。

[0253] 所述肽可以通过本领域中众所周知的任何方法合成。以化学方式合成蛋白质的适合方法包括例如斯图尔特 (Stuart) 和杨 (Young) 在固相肽合成 (Solid Phase Peptide Synthesis)，第二版，皮尔斯化学公司 (Pierce Chemical Company) (1984) 中以及在酶学方法 (Methods Enzymol.)，289，学术出版社 (Academic Press, Inc)，纽约 (New York) (1997) 中所描述的那些。

[0254] 与芳香族阳离子肽一起用于组合疗法中的活性剂

[0255] 在一些方面中，本文所披露的方法提供了用于治疗动脉粥样硬化和 / 或他汀相关副作用的组合疗法，所述组合疗法包含投予有效量的芳香族阳离子肽或其药学上可接受的盐（如乙酸盐或三氟乙酸盐）及一种或多种活性剂（治疗剂 / 活性成分）。因此，举例来说，活性成分的组合可以：(1) 共调配成组合配制物并同时投予或递送；(2) 作为单独配制物交替或并行递送；或 (3) 通过本领域中已知的任何其它组合疗法方案递送。当以交替疗法递送时，本文所描述的方法可以包含例如以单独溶液、乳液、悬浮液、片剂、丸剂或胶囊形式，或以单独注射器通过不同注射依序投予或递送活性成分。一般而言，在交替疗法期间，依序（即，连续）投予每种活性成分的有效剂量，而在同时疗法中，一起投予两种或更多种活性成分的有效剂量。也可使用间歇性组合疗法的各种顺序。

[0256] 在一些实施例中，组合疗法包含向有需要的受试者投予芳香族阳离子肽组合一种或多种活性剂（例如一种或多种抗高血脂药，例如他汀）的组合物。在一些实施例中，抗高血脂药和芳香族阳离子肽是以化学方式连接的。

[0257] 抗高血脂药（降血脂药）和他汀

[0258] 在一些实施例中，与本文所披露的一种或多种芳香族阳离子肽（如 D-Arg-2' 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂）或其药学上可接受的盐（如乙酸盐或三氟乙酸盐）一起投予的一种或多种另外的活性剂是抗高血脂药（降血脂药）。如本文所使用，术语“抗高血脂药”和“降血脂药”是同义的并且可互换使用。举例来说，在一些实施例中，肽 D-Arg-2' 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 或其药学上可接受的盐（如乙酸盐或三氟乙酸盐）是与抗高血脂剂（抗高血脂药）同时投予的。在一些实施例中，抗高血脂药和芳香族阳离子肽是以化学方式连接的。在一些实施例中，肽 D-Arg-2' 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 或其药学上可接受的盐（如乙酸盐或三氟乙酸盐）是在抗高血脂剂（抗高血脂药）之前或之后投予的。

[0259] 在一些实施例中，抗高血脂药包含一种或多种他汀。在一些实施例中，他汀是包含他汀和非他汀的一种组合药物。例示性非限制性他汀包括以下各物中的一种或多种：洛

伐他汀（例如 **ADVICOR**[®]（烟酸缓释片）/ 洛伐他汀）、**ALTOPREV**[™]（洛伐他汀缓释片）、**MEVACOR**[®]）、阿托伐他汀（例如 **CADUET**[®]（氨氯地平和阿托伐他汀）、**LIPITOR**[®]）、罗素他汀和 / 或罗素他汀钙（例如 **CRESTOR**[®]）、辛伐他汀（例如 **JUVISYNC**[®]（西他列汀 / 辛伐他汀）、**SIMCOR**[®]（烟酸缓释片 / 辛伐他汀）、**VYTORIN**[®]（依泽替米贝 / 辛伐他汀）及 **ZOCOR**[®]）、氟伐他汀和 / 或氟伐他汀钠（例如 **LESCOL**[®]、**LESCOL XL**（氟伐他汀缓释片））、匹伐他汀（例如 **LIVALO**[®]）、普伐他汀和 / 或普伐他汀钠（例如 **PRAVACHOL**[®]）。

[0260] 在一些实施例中，降血脂剂是一种降低脂质的药物。在一些实施例中，活性剂是一种降低 LDL 的药物。在一些实施例中，活性剂是一种降低三酸甘油酯的药物。在一些实施例中，活性剂是一种升高 HDL 的药物。

[0261] 在一些实施例中，降血脂剂是一种胆固醇酯转移蛋白 (CETP) 抑制剂。在一些实施例中，CETP 抑制剂是 **TORCETRAPIB**[®]、**ANACETRAPIB**[®] 或 **DALCETRAPIB**[®]。

[0262] 在一些实施例中，降血脂剂靶向第 9 型前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶 / 蛋白酶 K (proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, PCSK9)。在一些实施例中，所述药剂是一种 PCSK9 抑制剂。在一些实施例中，所述药剂抑制 PCSK9 功能。在一些实施例中，所述药剂抑制 PCSK9 表达。在一些实施例中，PCSK9 抑制剂靶向 PCSK9 mRNA。在一些实施例中，PCSK9 抑制剂是 PCSK9 siRNA。在一些实施例中，PCSK9 抑制剂是 ALN-PCS 或 REGN727。在一些实施例中，靶向 PCSK9 的一种或多种疗法是抗 PCSK9 抗体。在一些实施例中，抗 PCSK9 抗体是单克隆抗体。在一些实施例中，抗 PCSK9 抗体被人类化。在一些实施例中，抗 PCSK9 抗体是人类抗体。在一些实施例中，抗 PCSK9 抗体构架序列的至少一部分是人类共同构架序列。在一些实施例中，所述抗体是选自 Fab、Fab'-SH、Fv、scFv 或 Fab₂ 片段的抗体片段。

[0263] 在一些实施例中，降血脂剂是贝特类 (fibrate)。在一些实施例中，贝特类是 **LIPOFEN**[®]（非诺贝特）、**LOPID**[®]（吉非罗齐 (gemfibrozil)）、**TRICOR**[®]（非诺贝特）、**LOFIBRA**[®]（非诺贝特）、**ATROMID-S**[®]（氯贝丁酯）、**TRILIPIX**[®]（非诺贝酸 (fenofibric acid)）、**FENOGLIDE**[®]（非诺贝特）、**ANTARA**[®]（非诺贝特）、**FIBRICOR**[®]（非诺贝酸）或 **TRIGLIDE**[®]（非诺贝特）。在一些实施例中，降血脂剂是克利贝特、双贝特、苯扎贝特。

[0264] 在一些实施例中，降血脂剂是烟酸。在一些实施例中，烟酸是 **NIASPAN**[®]。在一些实施例中，烟酸是 **NIACOR**[®]。

[0265] 在一些实施例中，降血脂剂是胆酸树脂。在一些实施例中，胆酸树脂是 **QUESTRAN**[®]、**QUESTRANLIGHT**[®]、**COLESTID**[®] 或 **WELCHOL**[®]。

[0266] 在一些实施例中，降血脂剂防止膳食脂质的吸收。在一些实施例中，所述药剂是依泽替米贝（例如 **ZETIA**[®]）、奥利司他 (orlistat)（例如 **XENICAL**[®]）或植物固醇。

[0267] 在一些实施例中，降血脂剂是角鲨烯合成酶抑制剂。在一些实施例中，降血脂剂是 ApoA-1 **MILANO**[®]。在一些实施例中，降血脂剂是 AGI-1067。在一些实施例中，降血脂剂是

MIPOMERSEN[®]。

[0268] 在一些实施例中,降血脂剂是以下一种或多种:考来替兰和考来烯胺。

[0269] 在一些实施例中,与本发明的芳香族阳离子肽组合投予的另外的活性剂包含有效用于载脂蛋白疗法的药剂。举例来说,在一个方面中,本发明提供了组合疗法,所述组合疗法包含投予有效量的肽 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂或药学上可接受的盐(如乙酸盐或三氟乙酸盐)以及一种或多种靶向载脂蛋白(Apo)的疗法。在一些实施例中,抗 Apo 疗法是一种反义疗法。在一些实施例中,抗 Apo 疗法是靶向载脂蛋白 B(Apo-B)的反义疗法。在一些实施例中,抗 Apo-B 反义疗法是例如包含以硫代磷酸酯键连接的核苷酸的一种反义寡核苷酸。在一些实施例中,抗 Apo-B 反义疗法是靶向载脂蛋白 B 的信使核糖核酸的反义治疗剂 MIPOMERSEN[®]。在一些实施例中,抗 Apo-B 反义疗法是 KYNAMRO[®]。在一些实施例中,抗 Apo-B 反义疗法具有以下序列:G*-C*-C*-U*-C*-dA-dG-dT-dC-dT-dG-dmC-dT-dT-dmC-G*-C*-A*-C*-C*,其中 d = 2'-脱氧,* = 2'-O-(2-甲氧基乙基),具有 3' → 5' 硫代磷酸酯键。在一些实施例中,肽 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐(如乙酸盐或三氟乙酸盐)是与抗 Apo-B 药剂同时投予的。在一些实施例中,抗 Apo-B 药剂与所述芳香族阳离子肽是以化学方式连接的。在一些实施例中,肽 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐(如乙酸盐或三氟乙酸盐)是在抗 Apo-B 药剂之前或之后投予的。

[0270] 他汀结构

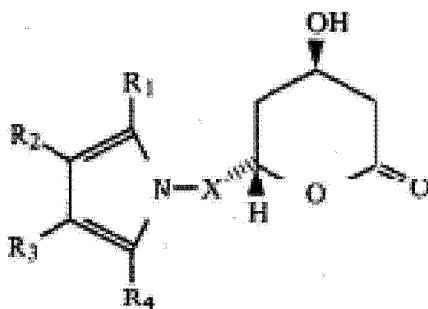
[0271] 如上所述,在一些实施例中,肽 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐(如乙酸盐或三氟乙酸盐)是与他汀同时投予的。在一些实施例中,他汀与所述芳香族阳离子肽是以化学方式连接的。在一些实施例中,肽 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂或药学上可接受的盐(如乙酸盐或三氟乙酸盐)是在他汀之前或之后投予的。通常,他汀的结构组分包括二羟基庚酸单元及具有不同取代基的环系统。他汀的药效团是经过修饰的羟基戊二酸组份,所述组份的结构类似于内源性底物 HMG CoA 和甲羟戊酰基 CoA 过渡态中间物。他汀药效团结合到与底物 HMG-CoA 相同的活性位点并抑制 HMG-CoA 还原酶。HMG-CoA 还原酶具有立体选择性并因此,功能性他汀通常具有 3R, 5R 立体化学。

[0272] 他汀可以分成两个种类:1 型(例如洛伐他汀、普伐他汀、辛伐他汀)和 2 型(例如氟伐他汀、西立伐他汀、阿托伐他汀、罗素他汀)。1 型他汀包括取代的十氢化萘环状结构,类似于美伐他汀(从霉菌桔青霉(*Penicillium citrinum*)分离的化合物)。洛伐他汀是从霉菌土曲霉(*Aspergillus terreus*)分离,并且普伐他汀和辛伐他汀是洛伐他汀的化学修饰型式。2 型他汀完全是合成的并且具有与 HMG-CoA 还原酶相互作用的较大取代基。此外,2 型他汀用氟苯基取代 1 型他汀上所见的丁酰基。氟苯基提供了另外的极性相互作用,通常引起与 HMG-CoA 还原酶更紧密的结合。罗素他汀具有亲水性磺酰胺基并且使与 HMG-CoA 还原酶的结合亲和力增加。

[0273] 阿托伐他汀结构

[0274] 阿托伐他汀是反-6-[2-(3-或 4-甲酰胺基取代的吡咯-1-基)烷基]-4-羟基吡喃-2-酮的开环羟基酸(有关化学结构参见例如,图 6A)。阿托伐他汀和相关化合物的一般结构以式 I 提供:

[0275]



[0276] 其中 X 是 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 或 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 。

[0277] R_1 是 1- 萘基 ; 2- 萘基 ; 环己基 ; 降冰片烯基 ; 2- 吡啶基、3- 吡啶基或 4- 吡啶基 ; 苯基, 被氟、氯、溴、羟基取代的苯基 ; 三氟甲基 ; 具有一个到四个碳原子的烷基、具有一个到四个碳原子的烷氧基或具有两个到八个碳原子的烷酰氧基。

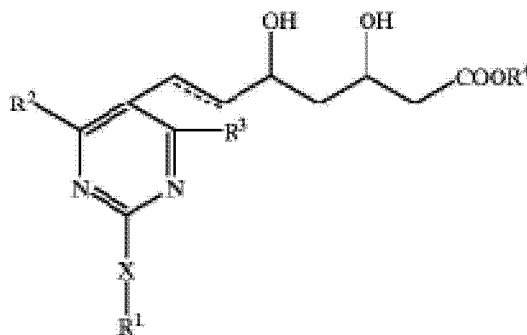
[0278] R_2 或 R_3 是 $-\text{CONR}_5\text{R}_6$, 其中 R_5 和 R_6 独立地是氢 ; 具有一个到六个碳原子的烷基 ; 2- 吡啶基、3- 吡啶基或 4- 吡啶基 ; 苯基 ; 被氟、氯、溴、氰基、三氟甲基取代的苯基, 或具有三个到八个碳原子的烷氧羰基 ; 并且 R_2 或 R_3 中的另一个是氢 ; 具有一个到六个碳原子的烷基 ; 环丙基 ; 环丁基 ; 环戊基 ; 环己基 ; 苯基 ; 或被氟、氯、溴、羟基取代的苯基 ; 三氟甲基 ; 具有一个到四个碳原子的烷基、具有一个到四个碳原子的烷氧基或具有两个到八个碳原子的烷酰氧基。

[0279] R_4 是具有一个到六个碳原子的烷基 ; 环丙基 ; 环丁基 ; 环戊基 ; 环己基 ; 或三氟甲基。

[0280] 罗素他汀结构

[0281] 罗素他汀是与式 II 中阐述的一般结构有关的一种化合物 :

[0282]



[0283] 其中 R_1 是低碳数烷基、芳基或芳烷基, 其各自可以具有一个或多个取代基 ; R_2 和 R_3 各自独立地是氢、低碳数烷基或芳基, 并且所述低碳数烷基和芳基各自可以具有一个或多个取代基 ; R_4 是氢、低碳数烷基, 或能够形成无毒药理学上可接受的盐的阳离子 ; X 是硫、氧或磺酰基, 或可以具有取代基的亚氨基 ; 所述虚线表示存在或不存在双键, 或相对应的闭环内酯。(参见例如图 6B)

[0284] 术语“低碳数烷基”是指直链、分支链或环状 C_1 到 C_6 烷基, 包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、环丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、环丁基、正戊基、异戊基、新戊基、叔戊基、环戊基、正己基及异己基, 及类似基团。另外, 低碳数烷基可以被 1 到 3 个取代基取代, 所述取代基独立地选自以下组成的群组 : 卤素、氨基及氰基。卤素意思指氟、氯、溴及碘。

[0285] 术语“芳基”是指 C_6 到 C_{12} 芳香族基团, 包括苯基、甲基苯基、二甲苯基、联二苯、萘基

及类似基团。芳基可以具有 1 到 3 个取代基,所述取代基独立地选自以下组成的群组:低碳数烷基、卤素、氨基及氰基。优选的芳基是被 1 到 3 个卤素取代的苯基。

[0286] 术语“芳烷基”是指被以上所定义的 C₆到 C₁₂芳香族芳基取代的 C₁到 C₆低碳数烷基。其实例是苯甲基、苯乙基、苯丙基及类似基团,其各自可以具有 1 到 3 个取代基,所述取代基独立地选自以下组成的群组:低碳数烷基、卤素、氨基、氰基及类似基团。

[0287] 术语“能够形成无毒药理学上可接受的盐的阳离子”是指碱金属离子、碱土金属离子及铵离子。碱金属的实例是锂、钠、钾及铯,并且碱土金属的实例是铍、镁及钙。钠和钙是特别优选的。

[0288] “酰基”的实例是甲酰基、乙酰基、丙酰基、丁酰基、异丁酰基、戊酰基及异戊酰基。

[0289] 在术语“可以具有取代基的亚氨基”中,优选的取代基是酰基、任选取代的氨基及取代的磺酰基。

[0290] 术语“作为取代基的取代的氨基”意思指被磺酰基和烷基磺酰基取代的氨基。其实例是磺酰基氨基和甲烷磺酰基氨基。

[0291] 术语“作为取代基的取代的磺酰基”意思指被烷基、氨基或烷基氨基取代的磺酰基。其实例是甲烷磺酰基、氨磺酰基、甲基氨磺酰基及 N-甲基氨磺酰基。

[0292] LIPITOR[®]和CRESTOR[®]

[0293] 阿托伐他汀(又称为商标名 LIPITOR[®])可以用于降低未患冠心病但存在多种风险因素的患者心肌梗塞、中风、血管再形成手术及心绞痛的风险。此类风险因素包括(但不限于)年龄、吸烟、高血压、低 HDL-C 或早期冠心病家族史。阿托伐他汀还可以用于降低未患冠心病但存在多种风险因素的 2 型糖尿病患者心肌梗塞和中风的风险。此类风险因素包括(但不限于)视网膜病、白蛋白尿、吸烟或高血压。阿托伐他汀可以用于降低冠心病患者非致命性 MI、致命性和非致命性中风、血管再形成手术、冠状动脉性心脏衰竭引起的住院及心绞痛的风险。阿托伐他汀可以用于在患有原发性高脂血症(杂合性家族性及非家族性)和混合型血脂异常的成人患者中降低升高的总胆固醇、LDL-C、ApoB 及三酸甘油酯含量并且增加 HDL-C。阿托伐他汀可以用于降低患有高三酸甘油酯血症和原发性异常 β 脂蛋白血症的患者体内升高的三酸甘油酯。阿托伐他汀还可以用于降低患有纯合性家族性高胆固醇血症(HoFH)的患者的总胆固醇和 LDL-C。阿托伐他汀可以用于在适当膳食疗法试验失败之后降低年龄在 10-17 岁之间并患有杂合性家族性高胆固醇血症的男孩和月经初潮后女孩的升高的总胆固醇、LDL-C 及 ApoB 含量。

[0294] 阿托伐他汀也已经被用于治疗啮齿动物脊髓损伤,促进运动和组织保留,并且在损伤前和损伤后授予时减少炎症。此外,阿托伐他汀已被用于丙型肝炎病毒(HCV)感染的体外模型中(单独及与干扰素组合)。在此类系统中,经显示,阿托伐他汀(以及洛伐他汀、辛伐他汀、氟伐他汀及匹伐他汀)具有抗 HCV 作用。因此,他汀适合与干扰素一起用于并行疗法。

[0295] 罗素他汀(又称为商标名 CRESTOR[®])可以作为膳食佐剂用于治疗患有原发性高脂血症和混合型血脂异常的患者以降低总胆固醇、LDL-C、ApoB、非 HDL-C 及三酸甘油酯含量并且增加 HDL-C 含量。罗素他汀还可以治疗以下患者:作为膳食佐剂治疗高三酸甘油酯血症、作为膳食佐剂治疗原发性异常 β 脂蛋白血症(II 型高脂蛋白血症)及治疗纯合

性家族性高胆固醇血症 (HoFH)。罗素他汀可以作为降低总胆固醇和 LDL-C 的治疗策略的一部分作为膳食佐剂用于减慢患者动脉粥样硬化的发展。罗素他汀可以在适当膳食疗法试验失败之后用于治疗 10 到 17 岁的患有杂合性家族性高胆固醇血症 (HeFH) 的患者以降低升高的总胆固醇、LDL-C 及 ApoB。罗素他汀可以用于降低未患有明显冠心病但存在多种风险因素的患者心肌梗塞、中风及动脉血管再形成手术的风险。此类风险因素包括高血压、低 HDL-C、吸烟或早发冠心病家族史。

[0296] 芳香族阳离子肽和活性剂的治疗应用

[0297] 动脉粥样硬化

[0298] 本文所描述的芳香族阳离子肽适用于预防或治疗如动脉粥样硬化等疾病。肽及如上述那些药剂 (例如抗高血脂剂, 如他汀) 等活性剂的组合适用于治疗任何动脉粥样硬化以及动脉粥样硬化的病征、症状或并发症。动脉粥样硬化 (又称为动脉硬化性血管疾病或 ASVD) 是动脉壁因如胆固醇等脂肪材料累积而增厚的病况。动脉粥样硬化是一种可以保持无症状达数十年的慢性疾病。它是影响动脉血管一种综合症, 主要由巨噬细胞白细胞累积所引起并且由低密度脂蛋白 (载送胆固醇和三酸甘油酯的血浆蛋白质) 促进, 不能通过功能性高密度脂蛋白 (HDL) 适当去除巨噬细胞中的脂肪和胆固醇的动脉壁慢性炎症反应。其通常被称为动脉硬化或堵塞。其是由动脉内形成多个斑块引起。

[0299] 动脉粥样硬化病变的病理学很复杂, 但一般来说, 往往无症状的稳定动脉粥样硬化斑富集于细胞外基质和平滑肌细胞中, 而不稳定斑块富集于巨噬细胞和泡沫细胞中并且分离病变与动脉内腔的细胞外基质 (又称为纤维帽) 通常较弱并易于破裂。纤维帽破裂将血栓形成材料 (如胶原蛋白) 暴露于循环并且最终诱导内腔中形成血栓。形成后, 内腔内的血栓会使动脉完全闭塞 (例如冠状动脉闭塞), 而更常见的是, 其分离, 移到循环中并且最终会使较小的下游分支闭塞, 从而引起血栓栓塞 (例如中风常常是由颈动脉中形成血栓引起)。除血栓栓塞之外, 持续扩大的动脉粥样硬化病变会引起内腔的完全封闭。持续扩大的病变常常是无症状的, 直至内腔狭窄严重到使得供应到下游组织的血液不足而导致局部缺血。

[0300] 晚期动脉粥样硬化的这些并发症是持续、缓慢发展并且累积的。在一些情况下, 软斑块突然破裂, 引起血栓形成, 此将迅速减慢或停止血流, 从而导致由动脉滋养的组织死亡 (梗塞)。冠状动脉的冠状动脉血栓形成也是一种常见并发症, 其可以引起心肌梗塞。到脑部的动脉堵塞可能引起中风。在晚期动脉粥样硬化疾病中, 可能发生由腿部血液供应不足引起的跛行, 这通常是由狭窄和因凝块而变窄的动脉瘤样区段的组合所引起。

[0301] 动脉粥样硬化可以影响整个动脉树, 但较大的高压血管, 如冠状动脉、肾动脉、股动脉、大脑动脉及颈动脉通常风险更高。

[0302] 动脉粥样硬化的病征、症状及并发症包括 (但不限于) 血浆总胆固醇、VLDL-C、LDL-C、游离胆固醇、胆固醇酯、三酸甘油酯、磷脂增加以及动脉中存在病变 (例如斑块), 如上文所论述。在一些实施例中, 可以在以下一种或多种中见到胆固醇 (例如总胆固醇、游离胆固醇及胆固醇酯) 增加; 血浆、主动脉组织及主动脉斑块。

[0303] 易患动脉粥样硬化的体质也是一个关注点。因此, 本发明涉及投予单独或与一种或多种抗高血脂剂 (例如他汀) 组合的芳香族阳离子肽来预防动脉粥样硬化或其病征、症状或并发症的方法。在一些实施例中, 易患动脉粥样硬化的受试者可以展现以下一种或多

种特征：高龄、心脏病家族史、生物学状况、高血液胆固醇。在一些实施例中，所述生物学状况包含血液中较高的低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）含量、血液中较低的高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）含量、高血压、胰岛素抵抗、糖尿病、过大体重、肥胖、睡眠呼吸暂停、生活方式选择和/或行为习惯。在一些实施例中，所述行为习惯包含吸烟和/或酒精使用。在一些实施例中，所述生活方式选择包含不活动的生活方式和/或高压水平。

[0304] 他汀相关副作用

[0305] 在一些实施例中，本发明的芳香族阳离子肽（例如 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂）或其药学上可接受的盐（如乙酸盐或三氟乙酸盐）是与一种或多种降血脂剂（例如他汀）一起投予的。在一些实施例中，他汀与所述芳香族阳离子肽是以化学方式连接的。在一些实施例中，本发明的芳香族阳离子肽延迟降血脂剂（例如他汀）的副作用和/或毒性的发作，改善、抑制或除去降血脂剂（例如他汀）的副作用和/或毒性。在一些实施例中，所述肽改善由降血脂剂（例如他汀）引起的器官损害。在一些实施例中，所述肽改善肝损害、肾脏损害、肾毒性或横纹肌溶解症。在一些实施例中，所述肽改善与降血脂剂的毒副作用相关的症状，包括（但不限于）肌肉无力、肌肉压痛、不适、头痛、发热、深色尿液、恶心及呕吐。

[0306] 降血脂剂的剂量

[0307] 在一些实施例中，本发明技术的芳香族阳离子肽与一种或多种降血脂剂（例如他汀）的一起投予允许向受试者投予比通过其它方式所述受试者所能耐受的剂量更高的降血脂剂剂量。本文还披露用于增加有需要的受试者的抗高血脂剂（如他汀）剂量，或允许向通常禁忌使用例如他汀治疗的受试者（例如展现与投予有效剂量他汀有关的负面副作用的受试者）投予抗高血脂剂（如他汀）的方法。例示性负面副作用如以上所描述并且更详细地描述于下，并且包括（但不限于）肌肉无力和器官损害。

[0308] 在一些实施例中，通过改善降血脂剂的有毒或负面副作用，降血脂剂的剂量可以增加至足以实现目标血脂含量的水平。

[0309] 在一些实施例中，目标血脂含量是总胆固醇含量。在一些实施例中，目标胆固醇含量低于约 200mg/dL。在一些实施例中，目标胆固醇含量是约 130 到约 200mg/dL。在一些实施例中，目标胆固醇含量低于约 200mg/dL、低于约 190mg/dL、低于约 180mg/dL、低于约 170mg/dL、低于约 160mg/dL、低于约 150mg/dL、低于约 140mg/dL 或低于约 130mg/dL。

[0310] 另外或替代地，在一些实施例中，目标血脂含量是目标 LDL 含量。在一些实施例中，目标 LDL 含量低于约 100mg/dL。在一些实施例中，目标 LDL 含量是约 50 到约 100mg/dL。在一些实施例中，目标 LDL 含量低于约 100mg/dL、低于约 90mg/dL、低于约 80mg/dL、低于约 70mg/dL、低于约 60mg/dL 或低于约 50mg/dL。

[0311] 另外或替代地，在一些实施例中，目标血脂含量是目标 HDL 含量。在一些实施例中，目标 HDL 含量超过约 60mg/dL。在一些实施例中，目标 HDL 含量是约 30 到约 65mg/dL。在一些实施例中，目标 HDL 含量超过约 30mg/dL、超过约 35mg/dL、超过约 40mg/dL、超过约 45mg/dL、超过约 50mg/dL、超过约 55mg/dL、超过约 60mg/dL 或超过约 65mg/dL。

[0312] 另外或替代地，在一些实施例中，目标血脂含量是目标三酸甘油酯含量。在一些实施例中，目标三酸甘油酯含量低于约 200mg/dL。在一些实施例中，目标三酸甘油酯含量是约 140 到约 200mg/dL。在一些实施例中，目标三酸甘油酯含量低于约 140mg/dL、低于约 150mg/dL、低于约 160mg/dL、低于约 170mg/dL、低于约 180mg/dL、低于约 190mg/dL 或低于约

200mg/dL。

[0313] 举例来说但并非限制,在一些实施例中,在 $t = 0$ 时投予具有不适合 / 不健康脂质含量的受试者第一剂量水平的抗高血脂剂 (例如他汀) 以及第一剂量水平的本发明的芳香族阳离子肽 (例如 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂) 以达到目标脂质含量。在一些实施例中,投予受试者抗高血脂剂,或投予第一剂量水平的抗高血脂剂和肽,持续 1 天、2 天、3 天、4 天、5 天、1 周、2 周、3 周、1 个月、2 个月、3 个月、4 个月、6 个月、1 年、2 年、3 年、4 年、5 年或 10 年。在一些实施例中,投予受试者抗高血脂剂,或每日一次、每日两次、每隔一天一次、每三天一次、每四天一次、每五天一次、每周一次或每隔一周一次投予第一剂量水平抗高血脂剂和肽。在一些实施例中,抗高血脂剂和芳香族阳离子肽是以化学方式连接的。

[0314] 在服用抗高血脂剂,或第一剂量水平的抗高血脂剂和肽之后,在随后的时间 ($t = 1$) (例如 1 天、2 天、3 天、4 天、5 天、1 周、2 周、3 周、1 个月、2 个月、3 个月、6 个月、1 年或 2 年),评价受试者的脂质含量和所述抗高血脂剂的任何负面或毒副作用特征。在一些实施例中,由于所述肽的积极作用,受试者未展现出抗高血脂剂的负面或毒副作用。在一些实施例中,抗高血脂剂的剂量水平增加到第二剂量水平以便更迅速或更有效地达到可接受的 (例如目标) 脂质含量。在一些实施例中,所述肽的剂量水平保持恒定,例如等于第一剂量水平。在一些实施例中,所述肽的剂量水平增加,例如超过第一剂量水平。在一些实施例中,所述肽的剂量水平降低,例如低于第一剂量水平。在一些实施例中,在第二剂量水平的抗高血脂剂下,未另外投予肽。在一些实施例中,肽的投予频率与抗高血脂剂相同。在一些实施例中,肽的投予频率高于或低于抗高血脂剂。在一些实施例中,抗高血脂剂和芳香族阳离子肽是以化学方式连接的。

[0315] 在一些实施例中,在 $t = 2$ 、 $t = 3$ 等时评价受试者的脂质含量以及抗高血脂剂的任何负面或毒副作用特征。在一些实施例中,抗高血脂剂的剂量水平增加到第三、第四、第五等剂量水平以便更迅速或更有效地达到目标脂质含量。在一些实施例中,在 $t = 2$ 、3 等时,肽的剂量水平可以降低、增加、保持相同 (例如第一剂量水平) 或省去一次或多次投药。

[0316] 辅酶 Q10 含量

[0317] 他汀 (辛伐他汀、洛伐他汀、普伐他汀、氟伐他汀及类似物) 是羟基 - 甲基戊二酰基辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶抑制剂。通过抑制此酶,他汀使甲羟戊酸 (胆固醇合成路径的中间物) 的合成减少。辅酶 Q10 共有相同的生物合成路径;甲羟戊酸还是辅酶 Q10 的前驱物。因此,用他汀治疗使胆固醇和辅酶 Q10 的生物合成都减少。

[0318] 他汀的一些副作用包括线粒体功能障碍、辅酶 Q10 含量降低、多种肌病 (从轻度肌痛到致命性横纹肌溶解症)、糖尿病、肾衰竭及记忆丧失。另外的副作用包括发热、深色尿液、肿胀、体重增加、排尿频率改变、口干、嗜眠、恶心、腹泻、黄疸、食欲不振、失眠及头痛。

[0319] 辅酶 Q10 (CoQ10) 是位于细胞膜疏水性部分中的一种天然存在的脂溶性醌。体内约一半的 CoQ10 是通过膳食脂肪摄取获得,而其余部分是由内源合成产生。辅酶 Q10 参与线粒体氧化磷酸化期间的电子输送,防止由自由基产生的氧化压力,并且使抗氧化剂抗坏血酸和生育酚 (维生素 E) 的活性形式再生。鉴于 CoQ10 在线粒体能量制造中的作用及线粒体在肌肉功能中的重要性,他汀诱导的 CoQ10 缺乏很可能在他汀相关性线粒体功能障碍及肌病 (例如横纹肌溶解症) 中起作用。在不希望受理论束缚的情况下,CoQ10 还可能另外的他汀诱导的副作用 (如但不限于,记忆丧失、肾衰竭及糖尿病) 中起作用。

[0320] 如实例 3 和图 5 中所示,本发明的芳香族阳离子肽使成纤维细胞中 CoQ10 含量增加。因此,在一些实施例中,将本发明的芳香族阳离子肽与一种或多种他汀一起投予以缓解或预防他汀投予的肌病副作用。所述肽可以在他汀投予之前、同时或之后投予。他汀投予的原因并不打算限制肽的投予。也就是说,受试者可以患有适用一种或多种他汀的多种疾病、病况或病症,或有患适用一种或多种他汀的多种疾病、病况或病症的风险。

[0321] 举例来说但并非限制,例示性疾病、病况、风险因素、特征或投予他汀的原因包括以下一种或多种:高龄、吸烟、高血压、低 HDL-C、早期冠心病家族史、患有 2 型糖尿病并且未患冠心病但具有其它或多种风险因素(例如视网膜病、白蛋白尿、吸烟或高血压)的受试者增加的心肌梗塞和中风风险,由此降低冠心病患者的非致命性 MI、致命性和非致命性中风、血管再形成手术、因冠状动脉心脏衰竭住院或心绞痛风险,降低患有原发性高脂质血症(杂合性家族性和非家族性)和混合型血脂异常的成人患者升高的总胆固醇、LDL-C、ApoB 及三酸甘油酯含量并增加 HDL-C,降低高三酸甘油酯血症和原发性异常 β 脂蛋白血症患者的升高的三酸甘油酯,降低纯合性家族性高胆固醇血症(HoFH)患者的总胆固醇和 LDL-C,在用适当膳食疗法试验失败之后降低患有杂合性家族性高胆固醇血症的 10-17 岁间男孩和月经初潮后女孩的升高的总胆固醇、LDL-C 及 ApoB 含量,作为膳食佐剂治疗患有原发性高脂质血症和混合型血脂异常的患者以降低总胆固醇、LDL-C、ApoB、非 HDL-C 及三酸甘油酯含量并增加 HDL-C 含量,治疗以下患者:作为膳食佐剂治疗高三酸甘油酯血症、作为膳食佐剂治疗原发性异常 β 脂蛋白血症(II 型高脂蛋白血症)及治疗纯合性家族性高胆固醇血症(HoFH),作为治疗策略的一部分作为膳食佐剂减慢患者动脉粥样硬化的发展以降低总胆固醇及 LDL-C,在适当膳食疗法试验失败之后治疗 10 到 17 岁的患有杂合性家族性高胆固醇血症(HeFH)的患者以降低升高的总胆固醇、LDL-C 及 ApoB,降低未患明显冠心病但具有多种风险因素(例如高血压、低 HDL-C、吸烟或早发冠心病家族史)的患者的心肌梗塞、中风及动脉血管再形成手术的风险,减少炎症,促进运动并促进脊髓损伤中的组织保留,和/或减少或除去患者的 HCV 感染。

[0322] 此外,在一些实施例中,投予本发明的一种或多种芳香族阳离子肽以及一种或多种抗高血脂剂(例如他汀)将允许受试者接受更高剂量的一种或多种抗高血脂剂以缓解疾病、病况或者疾病或病况的病征、症状或特征。举例来说但并非限制,他汀 CRESTOR[®] 上的标签强调了在 40mg 最高批准剂量下的风险(例如肌病、横纹肌溶解症及各种形式的肾衰竭)并推荐投予较低剂量。通过投予芳香族阳离子肽与抗高血脂剂,可以延迟、改善或除去利用较高剂量所观察到的不良副作用,由此允许投予较高的抗高血脂药(例如他汀)治疗剂量。在一些实施例中,抗高血脂剂和芳香族阳离子肽是以化学方式连接的。

[0323] 综述

[0324] 本发明还提供了治疗患有动脉粥样硬化及相关并发症或有患动脉粥样硬化及相关并发症风险(易患动脉粥样硬化及相关并发症)的受试者的预防和治疗方案。因此,本发明的方法提供了通过向有需要的受试者投予有效量的芳香族阳离子肽和一种或多种活性剂(如抗高血脂药,例如他汀)来预防和/或治疗受试者的动脉粥样硬化。在一些实施例中,抗高血脂剂和芳香族阳离子肽是以化学方式连接的。

[0325] 在各种实施例中,进行了适合的体外或体内检验来确定芳香族阳离子肽和一种或多种活性剂的特定组合的作用以及其投予是否适用于治疗。在各种实施例中,可以用代表

性动物模型进行检验以确定给定的芳香族阳离子肽及心血管剂治疗方案是否在预防或治疗动脉粥样硬化方面发挥期望的作用。在人类受试者中进行测试之前,用于疗法中的化合物可以在适合动物模型系统中进行测试,包括(但不限于)大鼠、小鼠、鸡、猪、母牛、猴、兔及类似物。在授予到人类受试者之前,本领域中已知任何动物模型系统都可以使用。

[0326] 在治疗应用中,向怀疑患有或已经患有此类疾病的受试者授予足以治愈或至少部分遏止所述疾病的症状(包括其并发症及所述疾病发展过程中的中间病理表型)的量的组合物或药剂。因此,本发明提供了治疗罹患动脉粥样硬化的个体的方法。

[0327] 投药模式、配制物及有效剂量

[0328] 配制物

[0329] 本领域技术人员已知的使细胞、器官或组织与肽和活性剂接触的任何方法都可以采用。适合的方法包括体外、离体或体内方法。体内方法通常包括向哺乳动物,适宜地向人类授予芳香族阳离子肽及活性剂(如以上所描述的那些)。当在体内用于疗法中时,可以向所述受试者授予有效量(即,具有期望的治疗效果的量)的芳香族阳离子肽和活性剂。所述剂量及给药方案将取决于受试者的损伤程度、所用特定芳香族阳离子肽和/或活性剂的特征,例如其治疗指数、受试者及受试者的病史。

[0330] 有效量可以在临床前试验和临床试验期间通过医生和临床医师熟悉的方法测定。有效量的适用于所述方法中的肽及一种或多种另外的活性剂可以通过众多众所周知的授予药物化合物的方法中的任一种授予有需要的哺乳动物。所述肽可以全身或局部授予。

[0331] 所述化合物可以调配成药学上可接受的盐形式。术语“药学上可接受的盐”意指由碱或酸制备的可接受授予患者(如哺乳动物)的盐(例如对给定剂量方案具有可接受的哺乳动物安全性的盐)。然而,应理解所述盐无需是药学上可接受的盐,如不打算授予患者的中间化合物的盐。药学上可接受的盐可以衍生自药学上可接受的无机碱或有机碱,以及衍生自药学上可接受的无机酸或有机酸。另外,当肽同时含有碱性部分(如胺、吡啶或咪唑)和酸性部分(如羧酸或四唑)时,可以形成两性离子,并且包括在如本文中所使用的术语“盐”范围内。衍生自药学上可接受的无机碱的盐包括铵盐、钙盐、铜盐、三价铁盐、亚铁盐、锂盐、镁盐、六价锰盐、二价锰盐、钾盐、钠盐及锌盐,及其类似物。衍生自药学上可接受的有机碱的盐包括伯胺盐、仲胺盐及叔胺盐,包括取代的胺、环状胺、天然存在的胺及其类似物,如精氨酸、甜菜碱、咖啡碱、胆碱、N,N'-二苯甲基乙二胺、二乙胺、2-二乙氨基乙醇、2-二甲基氨基乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-乙基吗啉、N-乙基哌啶、还原葡萄糖胺、葡萄糖胺、组氨酸、海卓胺(hydrabamine)、异丙胺、赖氨酸、甲基还原葡萄糖胺、吗啉、哌嗪、哌啶、聚胺树脂、普鲁卡因(procaine)、嘌呤、可可豆碱(theobromine)、三乙胺、三甲胺、三丙胺、缓血酸胺(tromethamine)及其类似物。衍生自药学上可接受的无机酸的盐包括硼酸盐、碳酸盐、氢卤酸盐(氢溴酸盐、盐酸盐、氢氟酸盐或氢碘酸盐)、硝酸盐、磷酸盐、氨基磺酸盐及硫酸盐。衍生自药学上可接受的有机酸的盐包括以下各物的盐:脂肪族羧酸(例如柠檬酸、葡萄糖酸、乙醇酸、乳酸、乳糖酸、苹果酸及酒石酸)、脂肪族一元羧酸(例如乙酸、丁酸、甲酸、丙酸及三氟乙酸)、氨基酸(例如天冬氨酸和谷氨酸)、芳香族羧酸(例如苯甲酸、对氯苯甲酸、二苯基乙酸、龙胆酸、马尿酸及三苯基乙酸)、芳香族羧酸(例如邻羟基苯甲酸、对羟基苯甲酸、1-羟基萘-2-甲酸及3-羟基萘-2-甲酸)、抗坏血酸、二羧酸(例如反丁烯二酸、顺丁烯二酸、草酸及琥珀酸)、葡萄糖醛酸、扁桃酸、粘液酸、烟碱酸、乳清酸、双羟萘酸、泛酸、磺

酸（例如苯磺酸、樟脑磺酸、乙二磺酸、乙磺酸、羟乙基磺酸、甲烷磺酸、萘磺酸萘-1, 5-二磺酸、萘-2, 6-二磺酸及对甲苯磺酸）、羟萘甲酸及类似物。在一些实施例中，所述药学上可接受的盐是乙酸盐或三氟乙酸盐。

[0332] 本文所描述的化合物可以并入药物组合物中以向受试者单独或组合投药用于治疗或预防本文所描述的病症。此类组合物通常包括活性剂（例如肽及一种或多种活性剂，例如他汀）及药学上可接受的载剂。如本文所使用，术语“药学上可接受的载剂”包括与投药相容的生理盐水、溶剂、分散介质、包衣剂、抗菌剂及抗真菌剂、等渗及吸收延迟剂，及类似物。还可以将补充性活性化合物并入到组合物中。

[0333] 药物组合物通常被调配成与其预定投药途径相容。投药途径的实例包括肠胃外（例如静脉内、皮内、腹膜内或皮下）、经口、吸入、透皮（表面）、眼内、离子导入疗法及透粘膜投予。用于肠胃外、皮内或皮下使用的溶液或悬浮液可以包括以下组分：无菌稀释剂，如注射用水、生理盐水溶液、非挥发性油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其它合成溶剂；抗菌剂，如苯甲醇或对羟苯甲酸甲酯；抗氧化剂，如抗坏血酸或亚硫酸氢钠；螯合剂，如乙二胺四乙酸；缓冲剂，如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐；以及用于调整张力的药剂，如氯化钠或右旋糖。可以用酸或碱，如盐酸或氢氧化钠调整 pH。可以将肠胃外制剂密封在由玻璃或塑料制成的安瓿、一次性注射器或多剂量小瓶中。为便利患者或治疗医师，可以将给药配制物提供于含有治疗过程的所有必要装置（例如药物小瓶、稀释剂小瓶、注射器及针）的试剂盒中。

[0334] 适合于注射使用的药物组合物可以包括用于临时制备无菌可注射溶液或分散液的无菌水溶液（在水溶性情况下）或分散液和无菌粉末。对于静脉内投药，适合的载剂包括生理盐水、抑菌水、Cremophor EL™（新泽西州派西派尼的巴斯夫（BASF, Parsippany, N. J.））或磷酸盐缓冲生理盐水（PBS）。在所有情况下，供肠胃外投予的组合物必须是无菌的并且其流动性应当使得容易注射。它应当在制造和储存条件下稳定并且必须被保存以免微生物（如细菌和真菌）的污染活动。

[0335] 所述药物组合物可以包括载剂，所述载剂可以是含有例如水、乙醇、多元醇（例如甘油、丙二醇及液体聚乙二醇及类似物）及其适合混合物的溶剂或分散介质。可以例如通过使用涂层（如卵磷脂）、在分散液情况下通过维持所需粒度和/或通过使用表面活性剂来维持适当流动性。微生物活动的预防可以通过各种抗菌和抗真菌剂实现，例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞及类似物。可以包括谷胱甘肽和其它抗氧化剂以防止氧化。在许多情况下，优选在组合物中包括等渗剂，例如糖、多元醇（如甘露糖醇、山梨糖醇）或氯化钠。可注射组合物的延长吸收可以通过在组合物中包括延迟吸收的化合物（例如单硬脂酸铝和明胶）实现。

[0336] 无菌可注射溶液可以通过如下方法来制备：将所需量的活性化合物与上文列举的成分中的一种或其组合并入适当溶剂中，视需要接着过滤灭菌。一般来说，通过将活性化合物并入含有基础分散介质和来自上文所列举的那些成分的所需其它成分的无菌媒剂中来制备分散液。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下，典型的制备方法包括真空干燥和冷冻干燥，由此可以得到活性成分加上来自其先前经无菌过滤的溶液的任何其它期望成分的粉末。

[0337] 口服组合物一般包括惰性稀释剂或可食用载剂。出于经口治疗性投药的目的，活性化合物可以结合有赋形剂并且以片剂、糖衣锭或胶囊（例如明胶胶囊）形式使用。口服

组合物还可以使用流体载剂来制备以便用作漱口剂。可以包括药学上相容的粘合剂和 / 或佐剂材料作为组合物的一部分。片剂、丸剂、胶囊、糖衣锭及类似物可以含有以下成分或具有类似性质的化合物中的任一种：粘合剂，如微晶纤维素、黄芪胶或明胶；赋形剂，如淀粉或乳糖；崩解剂，如海藻酸、普利莫吉尔 (Primogel) 或玉米淀粉；润滑剂，如硬脂酸镁或斯特罗特斯 (Sterotes)；助流剂，如胶状二氧化硅；甜味剂，如蔗糖或糖精；或调味剂，如胡椒薄荷、水杨酸甲酯或橙味调味剂。

[0338] 对于通过吸入投药，化合物可以呈气雾剂喷雾形式由含有适合推进剂（例如气体，如二氧化碳）的加压容器或分配器，或者由喷雾器递送。此类方法包括（但不限于）美国专利第 6,468,798 号中描述的那些。

[0339] 如本文中所述的治疗性化合物也可以通过透粘膜或透皮方式全身投予。对于透粘膜或透皮投药，在配制物中使用了适于渗透屏障的渗透剂。所述渗透剂一般是本领域中已知的，并且对于透粘膜投予，包括清洁剂、胆汁盐和梭链孢酸衍生物。透粘膜投药可以通过使用鼻喷雾实现。如本领域中一般已知的，对于透皮投药，活性化合物被调配成软膏、油膏、凝胶或乳膏形式。在一个实施例中，透皮投药可以通过离子导入疗法进行。

[0340] 治疗剂可以在载剂系统中调配。载剂可以是一种胶态系统。胶态系统可以是脂质体，一种磷脂双层媒剂。在一个实施例中，治疗肽被囊封在脂质体中，同时保持肽的完整性。本领域技术人员应理解，有多种制备脂质体的方法。（参见，理查特伯格 (Lichtenberg) 等人，生物化学分析方法 (Methods Biochem. Anal.), 33:337-462(1988)；安瑟姆 (Anselem) 等人，脂质体技术 (Liposome Technology), CRC 出版社 (CRC Press) (1993)）。脂质体制剂可以延迟清除并增加细胞摄取（参见雷迪 (Reddy)，药物疗法年鉴 (Ann. Pharmacother.), 34(7-8):915-923(2000)）。活性剂还可以被装载到由药学上可接受的成分制备的颗粒中，包括（但不限于）可溶性、不溶性、可渗透、不可渗透、可生物降解或胃滞留聚合物或脂质体。此类颗粒包括（但不限于）纳米颗粒、可生物降解的纳米颗粒、微米颗粒、可生物降解的微米颗粒、纳米球、可生物降解的纳米球、微米球、可生物降解的微米球、胶囊、乳液、脂质体、胶束及病毒载体系统。

[0341] 载剂还可以是一种聚合物，例如可生物降解的生物相容性聚合物基质。在一个实施例中，治疗肽可以包埋于聚合物基质中，同时维持蛋白质完整性。所述聚合物可以是天然的，如多肽、蛋白质或多糖，或是合成的，如聚 α -羟基酸。实例包括由例如胶原蛋白、纤维结合蛋白、弹性蛋白、乙酸钠纤维素、硝酸纤维素、多糖、纤维蛋白、明胶及其组合制成的载剂。在一个实施例中，所述聚合物是聚乳酸 (PLA) 或共聚乳酸 / 乙醇酸 (PGLA)。聚合物基质可以制备及分离成多种形式和大小，包括微米球和纳米球。聚合物配制物可以使治疗效果的持续时间延长。（参见雷迪，药物疗法年鉴，34(7-8):915-923(2000)）。人生长激素 (hGH) 的聚合物配制物已经用于临床试验中。（参见科扎里奇 (Kozarich) 和瑞奇 (Rich)，化学生物学 (Chemical Biology), 2:548-552(1998)）。

[0342] 聚合物微米球持续释放配制物的实例描述于以下各案中：PCT 公开 W0 99/15154 (翠西 (Tracy) 等人)、美国专利第 5,674,534 号和第 5,716,644 号（都颁予扎勒 (Zale) 等人）、PCT 公开 W0 96/40073 (扎勒等人) 及 PCT 公开 W0 0038651 (夏 (Shah) 等人)。美国专利第 5,674,534 号和第 5,716,644 号以及 PCT 公开 W0 96/40073 描述了一种含有提供稳定作用以防与盐聚集的红血球生成素颗粒的聚合物基质。

[0343] 在一些实施例中,治疗性化合物是用会保护治疗性化合物免于从体内快速消除的载体来制备,如控制释放配制物,包括植入剂和微封装的递送系统。可以使用可生物降解的生物相容性聚合物,如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原蛋白、聚原酸酯以及聚乳酸。此类配制物可以使用已知技术制备。所述物质还可以从例如阿尔扎公司 (Alza Corporation) 和诺瓦药物公司 (Nova Pharmaceuticals, Inc.) 商购获得。还可以使用脂质体悬浮液 (包括了用针对细胞特异性抗原的单克隆抗体靶向特定细胞的脂质体) 作为药学上可接受的载体。这些可以根据本领域的技术人员已知的方法制备,例如,如 (但不限于) 美国专利第 4,522,811 号中所描述。

[0344] 治疗性化合物还可以被调配用于增强细胞内递送。举例来说,脂质体递送系统是本领域中已知的,参见例如,科恩 (Chonn) 和库里斯 (Cullis), “脂质体药物递送系统研究进展 (Recent Advances in Liposome Drug Delivery Systems)”, 生物技术新见 (Current Opinion in Biotechnology) 6:698-708 (1995); 韦纳 (Weiner), “用于蛋白质递送的脂质体:选择制造和开发方法 (Liposomes for Protein Delivery:Selecting Manufacture and Development Processes)”, 免疫方法 (Immunomethods), 4(3):201-9 (1994); 以及格雷戈里迪斯 (Gregoriadis), “用于药物递送的工程改造的脂质体:进展及问题 (Engineering Liposomes for Drug Delivery:Progress and Problems)”, 生物技术趋势 (Trends Biotechnol.), 13(12):527-37 (1995)。沟口 (Mizguchi) 等人, 癌症快报 (Cancer Lett.), 100:63-69 (1996) 描述了在体内和体外使用膜融合脂质体将蛋白质递送到细胞。

[0345] 连接肽与另外的活性剂的配制物-组合法

[0346] 在一些实施例中,将至少一种另外的活性剂 (例如抗高血脂剂,例如他汀) 与至少一种如上文所描述的芳香族阳离子肽 (例如 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐) 缔合以形成一种络合物。抗高血脂剂与芳香族阳离子肽可以通过本领域技术人员已知的任何方法缔合。以下肽 / 活性剂键联的实例只是借助于说明提供,并且不打算作限制。一般来说,可以适当考虑药物动力学稳定性和对于受试者的较低总体毒性的需求,通过任何适合技术将另外的活性剂连接到本发明的芳香族阳离子肽。治疗剂可以直接或间接 (例如经由连接基团) 与芳香族阳离子肽偶联。

[0347] 适合的缔合类型包括化学键和物理键。化学键包括例如共价键和配位键。物理键包括例如氢键、偶极相互作用、范德华力、静电相互作用、疏水相互作用及芳环堆积。在一些实施例中,化合物之间的键快速降解或溶解;在一些实施例中,键是通过药物代谢或排泄化学和 / 或酶而断裂。

[0348] 对于化学键或物理键,所述分子上的官能团通常与芳香族阳离子肽上的官能团缔合。举例来说,降血脂剂 (如他汀) 常常含有羧基官能团以及羟基官能团。芳香族阳离子肽的游离胺基可以使用 1-乙基-3-[3-二甲氨基丙基] 碳化二亚胺盐酸盐 (EDC 或 EDAC) 或二环己基碳化二亚胺 (DCC) 与他汀的羧基直接交联。交联剂可以例如从伊利诺斯州罗克福德的皮尔斯生物技术公司 (Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL) 获得。皮尔斯生物技术公司网站可以提供帮助。

[0349] 在一些实施例中,另外的活性剂 (例如抗高血脂剂) 与芳香族阳离子肽 (例如 D-Arg-2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐) 当各自具有能够与对方反应的官能团时,形成两者间的直接反应。举例来说,亲核性基团 (如氨基或巯基) 能够与含羰基的

基团（如酞或酸卤化物），或与含有良好离去基团（例如卤基）的烯丙基反应。另外或替代地，可以使用适合的化学连接基团。连接基团可以充当间隔基以隔开所述肽与所述另外的活性剂，以避免干扰例如结合能力。连接基团还可以用来增加取代基的化学反应性，并由此增加偶联效率。

[0350] 在例示性实施例中，适合的键联化学包括顺丁烯二酰亚胺基连接基和烷基卤基连接基（这些连接基与抗体部分上的硫氢基反应）以及琥珀酰亚胺基连接基（所述连接基与抗体部分上的伯胺反应）。在免疫球蛋白上存在若干伯胺和硫氢基，并且另外的基团可以被设计于重组免疫球蛋白分子中。本领域的技术人员将显而易见，可以采用多种双官能或多官能试剂（同官能性和异官能性试剂，如伊利诺斯州罗克福德的皮尔斯化学公司的目录中所描述的那些）作为连接基团。可以例如通过氨基、羧基、硫氢基或氧化的碳水化合物残基影响偶联（参见例如美国专利第 4,671,958 号）。

[0351] 作为另外的或替代性偶联方法，可以例如通过糖基化位点处氧化的碳水化合物基团将另外的活性剂与本文所披露的芳香族阳离子肽偶联，例如美国专利第 5,057,313 号和第 5,156,840 号中所描述。将芳香族阳离子肽与另外的活性剂偶联的另一种替代性方法是使用非共价结合对，如抗生蛋白链菌素 / 生物素，或抗生物素蛋白 / 生物素。在这些实施例中，所述结合对的一个成员与芳香族阳离子肽共价偶联，并且结合对的另一个成员与所述另外的活性剂共价偶联。

[0352] 在一些实施例中，另外的活性剂当与芳香族阳离子肽分开时会更强效，并且可能需要使用在内化到细胞中期间或之后可裂解，或在细胞外环境中可随时间逐步裂解的连接基团。已经描述多个不同的可裂解连接基团。活性剂在细胞内从这些连接基团释放的实例包括（例如但不限于）通过还原二硫键（例如美国专利第 4,489,710 号）、通过照射光不稳定性键（例如美国专利第 4,625,014 号）、通过水解衍生化的氨基酸侧链（例如美国专利第 4,638,045 号）、通过血清补体介导的水解（例如美国专利第 4,671,958 号）及酸催化的水解（例如美国专利第 4,569,789 号）进行裂解。

[0353] 在一些实施例中，如本文所披露的芳香族阳离子肽与超过一种活性剂偶联。举例来说，在一些实施例中，芳香族阳离子肽与至少两种另外的活性剂的混合物偶联。也就是说，超过一种类型的活性剂可以与芳香族阳离子肽偶联。举例来说，可以将治疗部分（如抗高血脂剂，如他汀、多核苷酸、抗体或反义序列）结合到芳香族阳离子肽以增加疗法的效力，并且降低获得期望治疗效果必需的所需剂量。不管具体实施例如何，具有超过一个部分的配制物都可以通过多种方式制备。举例来说，超过一个部分可以与芳香族阳离子肽直接偶联，或可以使用提供多个附接位点的连接基（例如树枝状聚合物）。或者，可以使用能够保持超过一种活性剂的载体。

[0354] 如上文所解释，芳香族阳离子肽可以通过多种方式连接到另外的活性剂，包括直接或经由连接基团共价链接，及非共价缔合。举例来说，在一些实施例中，芳香族阳离子肽及另外的活性剂可以与囊封载体组合。在一些实施例中，此举特别适用于使治疗组合物随时间逐步地释放芳香族阳离子肽和另外的活性剂，同时将其集中在目标细胞附近。

[0355] 在一些实施例中，也可以使用在细胞内裂解的连接基。举例来说，可以使用杂环“自分解”连接部分将本发明的芳香族阳离子肽连接到另外的活性剂，如抗高血脂药，如他汀（参见例如，美国专利第 7,989,434 号和美国专利第 8,039,273 号，以引用的方式并入本

文中)。

[0356] 在一些实施例中,连接部分包含结合到芳香族阳离子肽(例如 D-Arg, 2' 6' -Dmt-Lys-Phe-NH₂)及另外的活性剂(例如抗高血脂剂,如他汀)的杂环“自分解部分”,并且并入酰胺基或 β-葡萄糖苷酸基团,所述基团在被细胞内蛋白酶或 β-葡萄糖苷酸酶水解时,引发一种反应,最终将所述自分解部分从芳香族阳离子肽裂解,从而从所述肽释放活性形式的所述另外的活性剂(例如他汀)。

[0357] 例示性自分解部分包括图 12 呈现的具有式 I、式 II 及式 III 的那些部分。在图 12 中,波状线指示与芳香族阳离子肽和他汀的共价附接位点,其中:

[0358] U 是 O、S 或 NR⁶;

[0359] Q 是 CR⁴或 N;

[0360] V¹、V²及 V³独立地是 CR⁴或 N,条件是对于式 II 和式 III,Q、V¹及 V²中至少一个是 N;

[0361] T 是侧接所述药物部分的 NH、NR⁶、O 或 S;

[0362] R¹、R²、R³及 R⁴独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、—N(R⁵)₂、—N(R⁵)₃⁺、C₁-C₈烷基卤基、羧酸酯基、硫酸酯基、氨基磺酸酯基、磺酸酯基、—SO₂R⁵、—S(=O)R⁵、—SR⁵、—SO₂N(R⁵)₂、—C(=O)R⁵、—CO₂R⁵、—C(=O)N(R⁵)₂、—CN、—N₃、—NO₂、C₁-C₈烷氧基、C₁-C₈卤代烷基、聚亚乙基氧基、膦酸酯基、磷酸酯基、C₁-C₈烷基、C₁-C₈取代的烷基、C₂-C₈烯基、C₂-C₈取代的烯基、C₂-C₈炔基、C₂-C₈取代的炔基、C₆-C₂₀芳基、C₆-C₂₀取代的芳基、C₁-C₂₀杂环及 C₁-C₂₀取代的杂环;或 R²和 R³当连在一起时形成羰基(=O),或具有 3 到 7 个碳原子的螺碳环;并且

[0363] R⁵和 R⁶独立地选自 H、C₁-C₈烷基、C₁-C₈取代的烷基、C₂-C₈烯基、C₂-C₈取代的烯基、C₂-C₈炔基、C₂-C₈取代的炔基、C₆-C₂₀芳基、C₆-C₂₀取代的芳基、C₁-C₂₀杂环及 C₁-C₂₀取代的杂环;

[0364] 其中 C₁-C₈取代的烷基、C₂-C₈取代的烯基、C₂-C₈取代的炔基、C₆-C₂₀取代的芳基及 C₂-C₂₀取代的杂环独立地被一个或多个取代基取代,所述取代基选自 F、Cl、Br、I、OH、—N(R⁵)₂、—N(R⁵)₃⁺、C₁-C₈烷基卤基、羧酸酯基、硫酸酯基、氨基磺酸酯基、磺酸酯基、C₁-C₈烷基磺酸酯基、C₁-C₈烷基氨基、4-二烷基氨基吡啶、C₁-C₈烷基羟基、C₁-C₈烷基硫醇、—SO₂R⁵、—S(=O)R⁵、—SR⁵、—SO₂N(R⁵)₂、—C(=O)R⁵、—CO₂R⁵、—C(=O)N(R⁵)₂、—CN、—N₃、—NO₂、C₁-C₈烷氧基、C₁-C₈三氟烷基、C₁-C₈烷基、C₃-C₁₂碳环、C₆-C₂₀芳基、C₂-C₂₀杂环、聚亚乙基氧基、膦酸酯基及磷酸酯基。

[0365] 连接部分可以另外包括邻近自分解部分的可裂解肽序列,所述肽序列是在与自分解部分共有的酰胺键(例如 Phe-Lys、Ala-Phe 或 Val-Cit)处裂解所述可裂解肽的细胞内酶(例如组织蛋白酶,如组织蛋白酶 B)的底物。在一些实施例中,可裂解肽序列的氨基酸残基链长从单个氨基酸到约八个氨基酸残基。以下是例示性酶促可裂解肽序列(按任一种定向):Gly-Gly、Phe-Lys、Val-Lys、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Ala-Lys、Val-Cit、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp-Cit、Phe-Ala、Ala-Phe、Gly-Gly-Gly、Gly-Ala-Phe、Gly-Val-Cit、Gly-Phe-Leu-Gly、Ala-Leu-Ala-Leu、Phe-N9-甲 苯 磺 酰 基 -Arg 及 Phe-N9-硝基 -Arg。可以设计出适用于本发明的配制物中的众多特定可裂解肽序列并且关于其对特定细胞内酶(例如肝细胞酶)的酶裂解选择性进行优化。

[0366] 间隔基单元可以经由酰胺、胺或硫醚键连接到芳香族阳离子肽。所述另外的活性剂（例如抗高血脂剂，如他汀）可以经由侧接所述另外的活性剂的化学反应性官能团（如伯胺或仲胺、羟基或羧基）连接到连接基的自分解部分上。

[0367] 另外或替代地，可以使用本文所描述的自分解连接基将芳香族阳离子肽连接到抗体、核酸或其它生物活性分子（例如抗高血脂剂）。举例来说，可以在存在或不存在间隔基情况下，将芳香族阳离子肽附接到连接基，所述连接基包括可裂解肽序列或 β -葡萄糖苷酸基团，以及附接到抗体，例如降低 LDL-C 的抗体（如抗 PCSK9 抑制剂抗体和 / 或抗 ApoB 剂，如反义 RNA）的自分解连接基。

[0368] 此类配制物的说明性实施例的例示性示意图示于图 13 中。

[0369] 在一些实施例中，一旦他汀-肽络合物进入细胞或血流，连接基就被裂解，从而从抗高血脂剂（例如他汀）释放肽。配制物不打算受连接基或裂解方式的限制。举例来说，在一些实施例中，连接基在体内（例如在血流、间质组织、胃肠道等中）经由酶（例如酯酶）或其它化学反应裂解，从而从第二活性剂（例如抗高血脂药，如他汀）释放肽。

[0370] 他汀一如上所述，在一个方面中，本发明提供了用于治疗动脉粥样硬化的组合疗法，所述组合疗法包含投予有效量的肽 D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或药学上可接受的盐（如乙酸盐或三氟乙酸盐）以及一种或多种他汀。在一些实施例中，肽 D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂是以化学方式连接到一种或多种他汀。在一些实施例中，所述肽是使用一种不稳定键连接到他汀，由此在体内水解而释放两种药物活性剂。示出例示性实施例的示意图示于图 7 中。在一些实施例中，所述键包含酯键、碳酸酯键、氨基甲酸酯键或其它不稳定键。图 8 显示了当 X = O 时形成碳酸酯连接的前药的说明性实施例。本领域技术人员应理解，当 X = NH 时，形成氨基甲酸酯连接的前药。肽 D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂和他汀上的潜在反应性位点示于图 9 中。

[0371] 举例来说但并非限制，图 10 示出了如何使用碳酸酯键将 D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂连接到 CRESTOR®或 LIPITOR®。举例来说但并非限制，图 11 示出了如何使用氨基甲酸酯键将 D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂连接到 CRESTOR®。

[0372] PCSK9—在一些实施例中，本发明提供的组合疗法包含投予有效量的肽 D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或药学上可接受的盐（如乙酸盐或三氟乙酸盐）以及靶向 PCSK9 的一种或多种疗法。在一些实施例中，D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂肽结合到抗 PCSK9 抗体，形成肽-抗体结合物。可以使用多种双官能蛋白质偶联剂。举例来说但并非限制，在一些实施例中，肽-抗体结合物是使用以下各物中的一种或多种制备：N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯 (SPDP)；琥珀酰亚胺基-4-(N-顺丁烯二酰亚胺基甲基)环己烷-1-甲酸酯 (SMCC)；亚氨基硫杂环戊烷 (IT)；亚氨基酯（如二亚胺代己二酸二甲酯盐酸盐）、活性酯（如二琥珀酰亚胺基辛二酸酯）、醛（如戊二醛）的双官能衍生物；双叠氮基化合物（如双（对叠氮基苯甲酰基）己二胺）；双-重氮衍生物（如双（对重氮苯甲酰基）-乙二胺）；二异氰酸酯（如 2,6-二异氰酸甲苯酯）；或双-活性氟化合物（如 1,5-二氟-2,4-二硝基苯）。

[0373] 如上所述，在一些实施例中，肽-抗体结合物是使用可裂解连接基产生以便在体内释放肽。在一些实施例中，可裂解连接基是一种酸不稳定性连接基、肽酶敏感性连接基、

光不稳定性连接基、二甲基连接基或含二硫键的连接基。在一些实施例中,连接基是在体内水解以释放抗体及肽的一种不稳定性键。在一些实施例中,所述不稳定性键包含酯键、碳酸酯键或氨基甲酸酯键。

[0374] 抗 Apo-B— 在一些实施例中,肽 D-Arg-2' 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂是使用不稳定性键以化学方式连接到抗 Apo-B 试剂(例如抗 Apo-B RNA,例如反义 RNA),由此形成在体内水解时释放作为活性剂的肽及抗 Apo-B 试剂的前药。在一些实施例中,所述不稳定性键包含酯键、碳酸酯键或氨基甲酸酯键。借助于说明但并非限制,图 9 显示了肽 D-Arg-2' 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂上可以连接抗 Apo-B 试剂的潜在反应性位点。

[0375] 另外的配制物—组合法

[0376] 在一些实施例中,抗高血脂剂和本发明的芳香族阳离子肽可以呈药物组合物形式投予,所述药物组合物包含至少一种本文所披露的化合物,以及药学上可接受的载剂或稀释剂。因此,在一些实施例中,本文所披露的化合物可以单独地或一起以任何常规口服、肠胃外或透皮剂型投予。在一些实施例中,抗高血脂剂可以与芳香族阳离子肽共调配成固定剂量组合。在一些实施例中,抗高血脂剂和芳香族阳离子肽被调配成胶囊或丸剂形式以用于口服给药,其中所述化合物是物理分离的。在此类配制物中,抗高血脂剂和芳香族阳离子肽中的一种或两种是固体、液体、粉末或凝胶形式。在一些实施例中,抗高血脂剂和芳香族阳离子肽是呈固定剂量组合形式,其中这两种化合物是例如以固体、液体、粉末或凝胶形式混合在一起。

[0377] 剂量

[0378] 治疗剂的剂量、毒性及疗效可以通过细胞培养或实验动物中的标准制药程序,例如通过测定 LD₅₀(群体中 50%死亡的剂量)和 ED₅₀(对于群体中的 50%治疗有效的剂量)来测定。毒性与治疗作用之间的剂量比率是治疗指数并且其可以表示为比率 LD₅₀/ED₅₀。展现高治疗指数的化合物是优选的。尽管可以使用展现毒副作用的化合物,但应小心设计递送系统,以使此类化合物靶向受影响组织的部位,以便使对于未感染细胞的潜在损害降到最低并且由此降低副作用。

[0379] 从细胞培养检验和动物研究获得的数据可以用于调配适用于人类的多种剂量。这类化合物的剂量优选在包括 ED₅₀ 在内的循环浓度范围内,并且具有极低毒性或无毒性。剂量可以取决于所用剂型和所用投药途径而在这个范围内变化。对于所述方法中使用的任何化合物,治疗有效剂量最初可以从细胞培养检验估计。可以在动物模型中调配剂量以获得如在细胞培养中所测定的包括 IC₅₀(即,测试化合物实现症状的半数最大抑制的浓度)的循环血浆浓度范围。可以使用这类信息更准确地确定人类适用的剂量。可以例如通过高效液相色谱法测量血浆中的含量。

[0380] 通常,足以实现治疗或预防作用的芳香族阳离子肽和/或心血管药剂的有效量在每天每公斤体重约 0.000001mg 到每天每公斤体重约 10,000mg 范围内。剂量范围优选是每天每公斤体重约 0.0001mg 到每天每公斤体重约 100mg。举例来说,剂量可以是每天、每两天或每三天每公斤体重 1mg 或每公斤体重 10mg,或在每周、每两周或每三周 1-10mg/kg 范围内。在一个实施例中,肽的单次剂量在每公斤体重 0.1-10,000 微克的范围内。在一个实施例中,载剂中的芳香族阳离子肽浓度在 0.2 到 2000 微克/递送的毫升范围内。

[0381] 在一些实施例中,芳香族阳离子肽的治疗有效量可以定义为在目标组织处达到

10^{-11} 到 10^{-6} 摩尔浓度（例如约 10^{-7} 摩尔浓度）的肽的浓度。这一浓度可以通过 0.01 到 100mg/kg 全身剂量或以体表面积计的等效剂量递送。给药时程将经过优化以在目标组织处维持治疗浓度，最优选通过单日或每周投药实现，并且还包括连续投药（例如肠胃外输注或透皮施用）。

[0382] 在一些实施例中，芳香族阳离子肽的剂量是按“低”、“中等”或“高”剂量水平提供的。在一个实施例中，提供的低剂量是约 0.0001 到约 0.5mg/kg/h，宜为约 0.001 到约 0.1mg/kg/h。在一个实施例中，提供的中等剂量是约 0.01 到约 1.0mg/kg/h，宜为约 0.01 到约 0.5mg/kg/h。在一个实施例中，提供的高剂量是约 0.5 到约 10mg/kg/h，宜为约 0.5 到约 2mg/kg/h。在说明性实施例中，心血管药剂的剂量是约 1 到 100mg/kg，宜为约 25mg/kg。

[0383] 熟练的业内人士应理解，某些因素可能影响有效治疗受试者所需的剂量和时间安排，包括（但不限于）疾病或病症的严重程度、先前治疗、受试者的一般健康状况和 / 或年龄，以及存在的其它疾病。此外，用治疗有效量的本文所描述的治疗组合物治疗受试者可以包括单一治疗或一系列治疗。

[0384] 根据本发明方法治疗的哺乳动物可以是任何哺乳动物，包括例如农畜，如绵羊、猪、母牛及马；宠物，如狗和猫；实验动物，如大鼠、小鼠及兔。在一些实施例中，哺乳动物是人类。

[0385] 实例

[0386] 通过以下实例进一步说明本发明，所述实例不应以任何方式解释为限制性的。

[0387] 实例 1. 芳香族阳离子肽在防止小鼠模型动脉粥样硬化中的作用

[0388] 对芳香族阳离子肽在防止小鼠模型动脉粥样硬化中的作用进行研究。

[0389] 在本研究中使用了脱辅基蛋白 E 缺陷型小鼠（杰克逊实验室 (Jackson Laboratories)，缅因州巴尔港主街 600 号 (600Main Street, Bar Harbor, ME)）。小鼠是雄性，7-8 周龄，体重介于 18-20g 之间。测量 30 只小鼠的初始总胆固醇，并且匹配所述总胆固醇测量值将小鼠分成 15 只的两个组。向两个组喂以“西餐”(40kcal% 牛乳脂、0.15% [wt/wt] 胆固醇，哈兰公司 (Harlan) Teklad 饲料 TD-88137)。从 $t = 0$ 开始，对照组的 15 只小鼠仅接受媒剂（磷酸盐缓冲生理盐水，pH 7.4），而测试组的 15 只小鼠接受在磷酸盐缓冲生理盐水中复水的芳香族阳离子肽。每周记录下小鼠的体重，并且每日进行死亡率检查。

[0390] 对芳香族阳离子肽 D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂（无菌冻干粉末，在磷酸盐缓冲生理盐水中复水）进行测试。在 12 周研究中，测试小鼠皮下接受 1mg/kg 的单次剂量剂的所述肽。对照小鼠接受单次剂量剂的媒剂。

[0391] 实验方案 / 数据采集每四周（眼血管丛）在异氟烷麻醉（3%）下收集血液并测定血液脂质。在 $t = 0, 4, 6, 8$ 及 12 周时，对两个组进行血浆脂质分析。使用自动分析仪进行血浆脂质分析包括总胆固醇 (TC)、三酸甘油酯 (Trigs)、磷脂 (PL)、游离胆固醇 (FC) 及胆固醇酯 (CE, 通过计算得到)。使用凝胶电泳测量高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 及极低密度脂蛋白胆固醇 (VLDL-C) 的含量。

[0392] 组织病理学 / 组织形态测定：在 12 周治疗之后，在最后一次剂量后 48 小时内通过 CO₂ 窒息法对小鼠实施安乐死并且用 5mL 磷酸盐缓冲生理盐水 (pH 7.4) 灌注血管树。取出主动脉和主动脉窦进行检查。分离出胸主动脉，去除脂肪并将其固定在福尔马林 (formalin) 中保持 48-72 小时以待分析。对于正面分析 (en face analysis)，铺开主动脉

并将其钉在黑色基质上以便摄影,并用苏丹 IV(Sudan IV) 染色。使用尼康计算机图像分析系统(Nikon computerized image analysis system) 获取血管的所涉及表面的图像,并计算被脂质覆盖的主动脉表面积百分比。每个图像进行两次测定(Quan 1 和 Quan 2) 并计算平均值。接着逐组计算数据并进行统计学分析。在染色和形态测定分析之后,使用布莱-代尔法(Bligh-Dyer method) 从主动脉提取总脂质。随后使用和光诊断试剂盒(WAKO Diagnostics kits;和光诊断设备公司(WAKO Diagnostics, Inc.),弗吉尼亚州里奇蒙贝尔伍德路1600号(1600Bellwood Road Richmond, VA),23237-1326) 评价总胆固醇、游离胆固醇及胆固醇酯。对胆固醇含量进行定量并相对于蛋白质含量进行表示。值表示为微克脂质/毫克蛋白质(参见例如图1)。

[0393] 对于主动脉窦,将心脏及约5毫米的升主动脉与主动脉其余部分切开。去除心尖并将附接有主动脉片段的其余心脏固定并且进行切片(在OCT介质中并冷冻于干冰-2甲基丁烷浴中)。从升主动脉开始并行进穿过整个主动脉窦,直至到达心室,产生一系列10 μm厚的冷冻切片。用油红O或苏丹IV对切片进行染色并用哈里斯苏木精(Harris hematoxylin) 复染色。备选切片用苏木精和伊红染色。主动脉窦在总距离为300 μm的相关区域(即,主动脉根)及脂质染色区域中分5级水平进行成像,并且使用尼康计算机图像分析系统进行测量(总横截面积)。接着逐组计算数据并进行统计学分析。

[0394] 结果示于下表及图1-4中。表7显示了研究中每只小鼠的动脉粥样硬化病变的正面分析。第1列:(样品ID#)表示每只小鼠,1-15是对照动物(仅接受媒剂),并且16-20是测试动物(接受芳香族阳离子肽);第2列:(Quan 1)显示了研究中每只小鼠的被脂质覆盖的主动脉表面的百分比的第一测定值;第3列(Quan 2)显示了研究中每只小鼠的被脂质覆盖的主动脉表面的百分比第二测定值;第4列:显示了研究中每只小鼠主动脉中显示病变的表面的平均百分比;第5列显示了对照小鼠或测试小鼠主动脉中显示病变的表面的平均百分比;第5列显示了每组(对照或测试动物)的平均值的标准误差。如表7中所示,用芳香族阳离子肽治疗使主动脉中动脉粥样硬化病变减少。因此,本发明的芳香族阳离子肽适用于治疗动脉粥样硬化及动脉粥样硬化的相关病征、症状和并发症。

[0395] 表7:动脉粥样硬化病变的正面分析

[0396]

样品 ID#	Quan 1	Quan 2	病变的平均%	平均值	SEM
1	5.810	6.517	6.164	7.189	0.990
2	4.501	5.089	4.795		
3	2.637	3.567	3.102		
4	3.416	3.719	3.568		
5	18.228	17.115	17.672		
6	2.951	3.919	3.435		

7	11.164	10.464	10.814		
8	4.492	4.538	4.515		
9	6.002	6.080	6.041		
10	6.303	5.610	5.957		
11	10.293	12.311	11.302		
12	8.044	7.019	7.532		
13	9.162	8.497	8.830		
14	8.610	7.629	8.120		
15	6.000	5.981	5.991		
16	2.562	2.667	2.615	5.328	1.027
17	0.914	0.870	0.892		
18	8.769	9.284	9.027		
19	2.832	3.205	3.019		
20	7.137	6.881	7.009		
21	5.198	4.468	4.833		
22	2.128	1.863	1.996		
23	1.388	1.021	1.205		
24	10.000	9.895	9.948		
25	2.990	2.536	2.763		
26	7.091	6.536	6.814		
27	4.700	4.768	4.734		
28	0.775	0.892	0.834		
29	11.589	10.888	11.239		
30	13.857	12.122	12.990		

[0397] 表 8 显示了在 12 周时研究中所测试的 30 只小鼠的胸主动脉中总胆固醇 (TC)、游离胆固醇 (FC) 及胆固醇酯 (CE) 的含量。小鼠“样品”1-15 是对照小鼠 (仅接受媒剂); 小鼠“样品”16-20 是测试小鼠 (接受芳香族阳离子肽)。如表 8 中所示, 用芳香族阳离子肽治疗使胸主动脉中总胆固醇、游离胆固醇及胆固醇酯减少。因此, 本发明的芳香族阳离子肽适用于治疗动脉粥样硬化及动脉粥样硬化的相关病征、症状和并发症。

[0398] 表 8 : 胸主动脉脂质

[0399]

	样品	TC	FC	CE
	#	$\mu\text{g}/\text{mg}$	$\mu\text{g}/\text{mg}$	$\mu\text{g}/\text{mg}$
媒剂	1	37.3	8.3	28.9
媒剂	2	28.7	7.2	21.5
媒剂	3	23.5	9.2	14.2
媒剂	4	28.7	7.7	21.0
媒剂	5	59.6	20.5	39.1
媒剂	6	21.3	6.2	15.1
媒剂	7	37.6	6.8	30.8
媒剂	8	19.0	5.0	14.0
媒剂	9	27.1	7.0	20.1
媒剂	10	31.7	12.5	19.2
媒剂	11	37.0	5.2	31.8
媒剂	12	20.6	3.0	17.6
媒剂	13	24.5	4.2	20.3
媒剂	14	27.3	3.5	23.7
媒剂	15	28.3	6.3	22.0
	AVE	30.1	7.5	22.6
	SEM	2.6	1.1	1.8
肽	16	21.4	7.6	13.8

肽	17	6.7	4.0	2.7
肽	18	35.4	5.1	30.3
肽	19	17.7	3.0	14.7
肽	20	38.8	8.1	30.7
肽	21	16.8	2.7	14.1
肽	22	8.1	3.5	4.6
肽	23	20.1	14.6	5.6
肽	24	35.1	6.6	28.5
肽	25	9.4	3.8	5.6
肽	26	24.9	3.6	21.3
肽	27	21.7	3.0	18.6
肽	28	7.9	3.3	4.6
肽	29	19.0	7.6	11.4
肽	30	22.5	9.5	13.0
	AVE	20.4	5.7	14.6
	SEM	2.6	0.9	2.5

[0400] 表 9 显示了横过主动脉瓣 300 μm 的主动脉根中的总病变面积。样品 ID#1-15 是对照小鼠（仅接受媒剂）；样品 ID#16-20 是测试小鼠（接受芳香族阳离子肽）。如表 9 中所示，用芳香族阳离子肽治疗减少总病变面积。因此，本发明的芳香族阳离子肽适用于治疗动脉粥样硬化及动脉粥样硬化的相关病征、症状和并发症。

[0401] 表 9：横过主动脉瓣 300 μm 的主动脉根中的总病变面积

[0402]

样品 ID#	面积 (mm^2)	样品 ID#	面积 (mm^2)
1	325.02	16	323.88
2	250.92	17	109.92
3	342.78	18	480.18

4	264.06	19	100.44
5	402.84	20	362.52
6	293.28	21	259.38
7	408.48	22	185.04
8	323.88	23	310.38
9	429.54	24	401.46
10	302.04	25	201.84
11	343.62	26	347.58
12	375.36	27	280.92
13	613.26	28	117.96
14	376.14	29	427.8
15	225.36	30	331.5
AVE	351.77		282.72
SEM	24.18		30.58

[0403] 表 10A-10D 及图 4A-H 显示了在 $t = 0$ 周、4 周、8 周及 12 周时的血浆脂质含量。对于每个表,显示了 15 只对照动物 (样品 #1-15) 和 15 只测试动物 (样品 #16-30) 各自的总胆固醇 (TC)、游离胆固醇 (FC)、胆固醇酯 (CE)、三酸甘油酯 (Trigs) 及磷脂 (PL)。还提供了平均值 (AVE) 及平均值的标准误差 (SEM)。如表 10A-10D 及图 4A-4H 中所示,在 4 周、8 周及 12 周时间点时,用芳香族阳离子肽治疗使血浆总胆固醇、VLDL-C、LDL-C、游离胆固醇、胆固醇酯、三酸甘油酯及磷脂含量减少。因此,本发明的芳香族阳离子肽适用于治疗动脉粥样硬化及动脉粥样硬化的相关病征、症状和并发症。

[0404] 表 10A :血浆脂质含量 -0 周

[0405]

	Spife (电泳) 结果							
样品	TC	mg/dL	mg/dL	mg/dL	FC	CE	Trigs	PL
#		HDL-C	VLDL-C	LDL-C				
1	405	22	25	358	136	269	84	255
2	546	63	39	444	159	387	174	357
3	304	28	19	258	110	194	132	248
4	320	28	18	274	119	201	75	263
5	323	29	24	270	118	205	96	277
6	302	34	25	242	120	182	165	277
7	381	38	24	319	140	241	167	328
8	342	12	24	307	120	222	158	285
9	361	25	31	305	127	234	179	288
10	434	15	21	398	139	295	151	316

[0406]

11	431	5	19	406	142	289	253	295
12	564	19	33	513	157	407	121	331
13	621	30	27	564	173	448	154	374
14	301	13	16	273	117	184	103	264
15	536	12	27	498	162	374	109	299
AVE	411	25	25	362	136	275	141	297
SEM	28	4	2	27	5	23	12	10
16	302	19	25	258	119	183	75	267
17	318	34	23	260	121	197	88	267
18	376	32	37	307	134	242	117	308
19	302	37	20	245	110	192	96	255
20	323	35	20	268	116	207	71	267
21	335	21	19	295	131	204	138	306
22	369	38	27	304	129	240	88	298
23	550	41	36	474	184	366	167	369
24	309	6	15	287	113	196	88	238
25	409	31	26	352	139	270	136	320
26	431	26	25	380	134	297	151	313
27	552	39	31	481	170	382	191	332
28	457	22	24	410	151	306	188	343
29	490	29	28	432	159	331	154	338
30	808	8	29	773	220	588	353	413
AVE	422	28	26	368	142	280	140	309
SEM	35	3	2	35	8	28	18	12

[0407] 表 10B : 血浆脂质含量 - 第 4 周

[0408]

样品 #	TC	Spife (电泳) 结果			FC	CE	Trigs	PL
		mg/dL HDL-C	mg/dL VLDL-C	mg/dL LDL-C				
1	1195	39	54	1101	456	739	82	634
2	1103	31	51	1022	394	709	54	558
3	1114	11	51	1052	424	690	44	540
4	876	18	37	822	328	548	59	436
5	1124	11	58	1058	444	680	18	480
6	913	23	27	863	332	581	62	456
7	1052	25	48	978	382	670	54	528
8	908	15	31	862	352	556	72	460
9	948	16	38	894	372	576	72	470
10	850	20	37	794	338	512	64	420
11	1245	32	34	1181	502	743	75	590
12	1274	42	32	1200	582	692	128	690
13	1267	33	22	1212	524	743	98	658
14	1116	32	30	1054	406	710	57	540
15	1177	32	29	1115	510	667	57	568
AVE	1078	25	39	1014	423	654	66	535
SEM	38	3	3	36	20	20	6	21
16	799	18	35	745	308	491	18	422
17	924	20	37	866	344	580	39	482
18	976	20	37	918	354	622	28	452

[0409]

19	1139	0	19	1120	408	731	85	560
20	1038	13	44	982	412	626	59	526
21	673	7	18	648	256	417	18	320
22	940	23	23	893	366	574	46	506
23	1046	32	39	975	386	660	108	556
24	835	20	44	770	320	515	59	446
25	822	15	41	766	286	536	33	416
26	1026	32	28	966	396	630	44	516
27	1223	45	31	1147	462	761	67	580
28	935	32	30	874	354	581	44	510
29	1248	44	32	1171	516	732	80	666
30	1337	49	35	1254	636	701	144	750
AVE	997	25	33	940	387	610	58	514
SEM	47	4	2	45	25	25	9	27

[0410] 表 10C : 血浆脂质含量 - 第 8 周

[0411]

样品 #	TC	Spife (电泳) 结果			FC	CE	Trigs	PL
		mg/dL HDL-C	mg/dL VLDL-C	mg/dL LDL-C				
1	1590	26	76	1488	418	1172	79	548
2	1342	10	107	1225	352	990	58	518
3	1270	4	66	1201	346	924	39	482
4	1611	40	82	1489	394	1217	60	526
5	1610	16	107	1488	420	1190	79	536
6	902	19	51	831	278	624	53	410
7	1484	28	54	1402	408	1076	89	564
8	986	23	75	887	288	698	58	380
9	1491	24	70	1397	394	1097	65	554
10	1568	23	86	1459	388	1180	63	534
11	1667	30	149	1488	470	1197	113	594
12	1842	86	143	1613	574	1268	209	738
13	1695	62	137	1496	448	1247	142	534
14	1719	22	106	1591	454	1265	96	570
15	765	18	39	708	250	515	41	396
AVE	1436	29	90	1318	392	1044	83	526
SEM	83	5	9	74	21	64	11	23
16	1262	42	101	1119	322	940	34	416
17	1004	34	73	897	294	710	31	456
18	1505	27	86	1392	386	1119	34	474
19	1183	33	79	1071	318	865	51	448
20	1545	19	112	1415	392	1153	48	516
21	943	8	34	901	290	653	31	424
22	1008	45	88	875	294	714	51	480
23	1473	16	79	1378	388	1085	53	488
24	1023	32	69	922	308	715	43	436
25	956	41	59	856	286	670	75	440
26	1435	25	93	1317	362	1073	63	556
27	1414	19	74	1320	366	1048	39	516
28	1147	41	80	1025	308	839	34	470

[0412]

29	1534	43	109	1382	404	1130	67	540
30	1797	57	119	1621	530	1267	195	728
AVE	1282	32	84	1166	350	932	57	493
SEM	69	3	6	64	17	53	10	20

[0413] 表 10D : 血浆脂质含量 - 第 12 周

[0414]

样品	Spife (电泳) 结果							
#	TC	mg/dL	mg/dL	mg/dL	FC	CE	Trigs	PL
		HDL-C	VLDL-C	LDL-C				
1	1115	39	36	1041	351	764	42	444
2	637	15	35	587	225	412	25	336
3	803	23	24	756	269	533	25	381
4	1243	48	105	1090	380	863	31	477
5	1335	9	69	1257	429	907	11	499
6	874	28	36	811	307	567	31	427
7	1077	35	43	998	346	731	20	445
8	827	23	44	759	277	550	20	379
9	1205	27	43	1135	376	829	24	586
10	910	36	44	830	306	604	16	417
11	1220	50	62	1108	371	848	93	497
12	1754	56	59	1640	543	1211	60	700
13	1710	17	83	1609	558	1152	97	689
14	1085	38	76	972	359	725	51	422
15	750	12	31	707	269	482	60	396
AVE	1103	30	53	1020	358	745	40	473
SEM	84	4	6	79	24	60	7	28
16	898	38	39	821	291	607	27	366
17	540	20	35	485	205	335	49	318
18	884	10	21	854	287	597	10	320
19	937	41	43	852	296	640	37	432
20	1420	21	71	1328	418	1002	18	491
21	719	5	21	693	242	477	39	321
22	674	31	32	611	229	445	39	363
23	745	20	33	692	269	476	37	394
24	990	2	26	962	315	675	13	374
25	999	40	63	896	312	687	25	423
26	1379	28	76	1275	419	960	74	536
27	1255	1	36	1218	386	869	89	521
28	558	23	30	505	219	339	97	340
29	1317	31	83	1203	413	904	112	575
30	1736	2	46	1688	535	1201	158	741
AVE	1003	21	44	939	322	681	55	434
SEM	90	4	5	88	24	66	11	31

[0415] 结果进一步显示于图 1-3 中。图 1A 显示了在 12 周时,病变面积%在治疗组(深色条柱)中比在未治疗组(白色条柱)中低。因此,相较于未治疗的受试者,经过治疗的受试者的胸主动脉中存在的斑块减少。图 1B 是仅媒剂的主动脉与经过治疗的主动脉上的病变的照片的比较。如图 2 中的条形图中所示,在 12 周时,胸主动脉斑块胆固醇含量(TC = 总胆固醇;FC = 游离胆固醇并且 CE = 胆固醇酯)在治疗组(深色条柱)中比在未治疗组(媒剂,白色条柱)中低。图 3 显示,在 12 周时,平均病变面积在治疗组中比在未治疗组(媒剂)中低。因此,本发明的芳香族阳离子肽适用于降低主动脉和主动脉根中动脉粥样硬化斑的量并降低斑块胆固醇含量。因此,本发明的芳香族阳离子肽适用于治疗或预防动脉粥样硬化及动脉粥样硬化的相关病征、症状和并发症。

[0416] 实例 2. 芳香族阳离子肽结合抗高血脂剂(例如他汀)在小鼠模型中防止动脉粥样硬化

样硬化及降低胆固醇含量的作用

[0417] 如下研究了芳香族阳离子肽结合一种或多种抗高血脂剂（在本实例中，他汀）在小鼠模型中防止动脉粥样硬化的作用。

[0418] 如实例 1 中所描述对小鼠进行治疗。也就是说，在研究中使用了如实例 1 中所描述的脱辅基蛋白 E 缺陷型小鼠。测量小鼠的初始总胆固醇，并且匹配所述总胆固醇测量值将小鼠分成 15 只的组。向各组喂以“西餐”（40kcal% 的牛乳脂、0.15% [wt/wt] 胆固醇）。从 $t = 0$ 开始，对照组的 15 只小鼠仅接受媒介剂，而测试组的 15 只小鼠接受芳香族阳离子肽及一种或多种他汀。每周记录下小鼠的体重，并且每日进行死亡率检查。

[0419] 对芳香族阳离子肽 D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂（无菌冻干粉末）进行测试。每组测试小鼠皮下接受单次 1mg/kg、3mg/kg、5mg/kg 或 10mg/kg 日剂量的肽，同时还接受 0.1mg/kg、0.5mg/kg、0.75mg/kg 或 1mg/kg 的阿托伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、普伐他汀或罗素他汀。对照小鼠仅接受媒介剂。注射持续 12 周，此时如实例 1 中所描述处死小鼠并进行分析。

[0420] 使用自动分析仪进行的血浆脂质分析包括总胆固醇（TC）、三酸甘油酯（Trigs）、磷脂（PL）、游离胆固醇（FC）及胆固醇酯（CE，通过计算得到）的评价。使用凝胶电泳测量高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）、低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）及极低密度脂蛋白胆固醇（VLDL-C）的含量。如上文在实例 1 中所描述进行组织病理学 / 组织形态测定。

[0421] 结果：预期与仅接受媒介剂的受试者相比较，接受肽和他汀的小鼠将显示降低的总胆固醇、游离胆固醇、三酸甘油酯、磷脂、胆固醇酯、LDL-C 及 VLDL-C 含量以及减小的病变。还预期在一些情况下，接受组合治疗（芳香族阳离子肽加他汀）的受试者将展现出两种药物之间的协同作用，由此较低剂量的肽、他汀或两者将达到期望的结果，例如总胆固醇、游离胆固醇、三酸甘油酯、磷脂、胆固醇酯、LDL-C 及 VLDL-C 的含量降低和 / 或病变减小。

[0422] 因此，预期结果将进一步证实，单独或与一种或多种他汀组合的本发明的芳香族阳离子肽将适用于治疗动脉粥样硬化，以及动脉粥样硬化的病征、症状或并发症，包括（但不限于）总胆固醇、游离胆固醇、三酸甘油酯、磷脂、胆固醇酯、LDL-C 及 VLDL-C 增加及动脉粥样硬化病变增加。

[0423] 实例 3. 芳香族阳离子肽增加辅酶 Q10 含量

[0424] 用本发明的芳香族阳离子肽处理成纤维细胞并评价辅酶 Q10 的含量。

[0425] 在含有高葡萄糖含量以支持厌氧条件的标准组织培养基下培育来自正常受试者的人皮肤成纤维细胞。在约 90% 汇合时，细胞在 10nM D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ 存在下培育一天（24 小时）或五天时间，如下表 11 中所示。培养基在培育期间不更换。采集细胞并使用本领域中已知的方法测定细胞 CoQ 含量。数据表示 $n = 3-6$ 的平均值。

[0426] 表 11：用芳香族阳离子肽处理成纤维细胞

[0427]

细胞	培养基	肽量	肽处理时间
成纤维细胞	DMEM	0	0
成纤维细胞	DMEM	10nM	16-24 小时

成纤维细胞	DMEM	10nM	5 天
-------	------	------	-----

[0428] 结果示于图 5 中。如图 5 中所示,暴露于本发明的芳香族阳离子肽使成纤维细胞中辅酶 Q10 含量增加。因此,本发明的芳香族阳离子肽适用于增加有需要的受试者体内的辅酶 Q10 含量。举例来说,本发明的芳香族阳离子肽适用于增加服用一种或多种他汀药物的受试者和 / 或患有以低 (例如低于正常或对照含量) 辅酶 Q10 含量为特征或由低辅酶 Q10 含量引起的疾病或病况的受试者体内的辅酶 Q10 含量。本发明的芳香族阳离子肽适用于治疗、预防或改善以低 (例如低于正常或对照含量) 辅酶 Q10 含量为特征的疾病或病况的病征和 / 或症状。

[0429] 本发明不限于在本申请中所描述的特定实施例,所述实施例仅旨在说明本发明的个别方面。本领域的技术人员将显而易见,可以在不脱离本发明的精神和范围的情况下对本发明进行许多修改和改变。除了本文中列举的方法和设备以外,本领域的技术人员从前述描述还将清楚在本发明范围内的功能上等效的方法和设备。这类修改和变化也打算在所附权利要求书的范围内。本发明仅受限于以上权利要求书各权项以及所述权利要求书所授权的等效物的整个范围。应了解,本发明不限于特定方法、试剂、化合物组合物或生物系统,当然这些可以改变。还应了解,本文中所用的术语仅仅是为了描述特定实施例,并且不打算作为限制。

[0430] 另外,当根据马库什群组 (Markush groups) 描述本发明的特征或方面时,本领域的技术人员将认识到本发明也由此根据马库什群组的任何个别成员或成员子群组进行描述。

[0431] 本领域技术人员将理解,出于任何和所有目的,特别是就提供书面说明来说,本文所披露的的所有范围还涵盖其任何和所有可能的子范围和子范围组合。任何列举的范围都可以因充分说明而容易地识别并且能够将同一个范围分解为至少相同的两份、三份、四份、五份、十份等。作为非限制性实例,本文中论述的每个范围可以容易分解为下部三分之一、中间三分之一和上部三分之一等。本领域技术人员还应理解,所有语言,例如“高达”、“至少”、“超过”、“低于”等都包括所列举的数字并且指可以随后如上文所论述而分解为子范围的范围。最后,本领域技术人员应理解,范围包括每一个别成员。因此,举例来说,具有 1-3 个细胞的群组是指具有 1、2 或 3 个细胞的群组。类似地,具有 1-5 个细胞的群组是指具有 1、2、3、4 或 5 个细胞的群组等等。

[0432] 本文参考或引用的所有专利、专利申请、临时申请及公开案都是以引用的方式整体并入,包括所有图式和表格,以致其不会与本说明书的明确教导不一致。

[0433] 其它实施例阐述于以上权利要求书内。

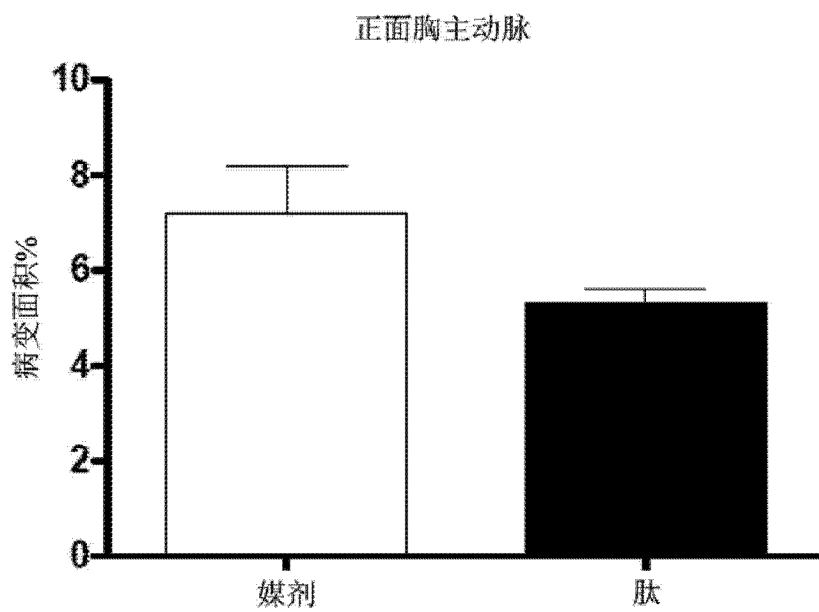
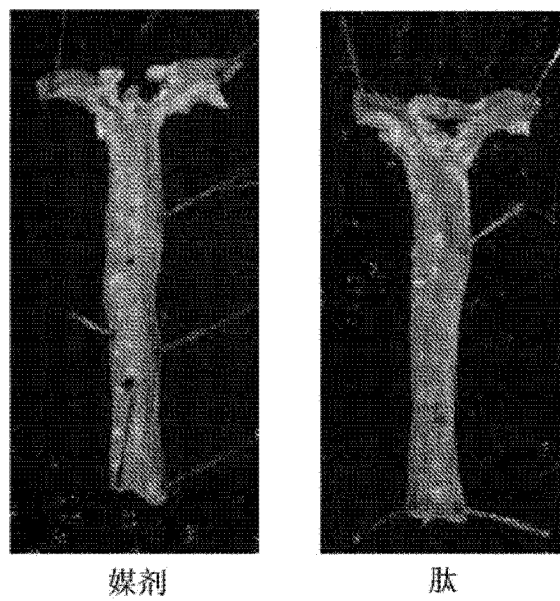
A.**B.**

图 1

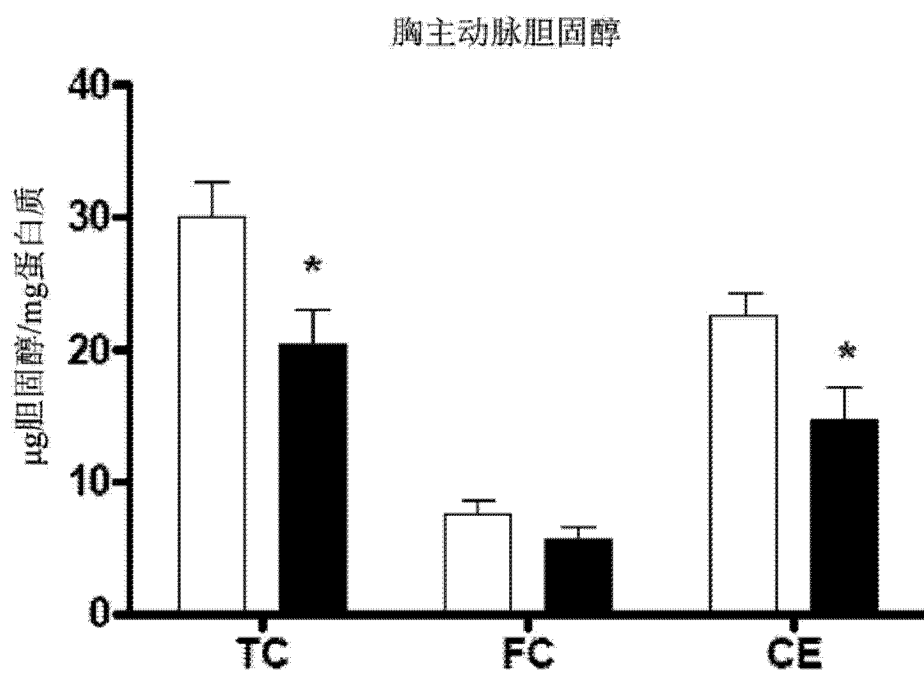


图 2

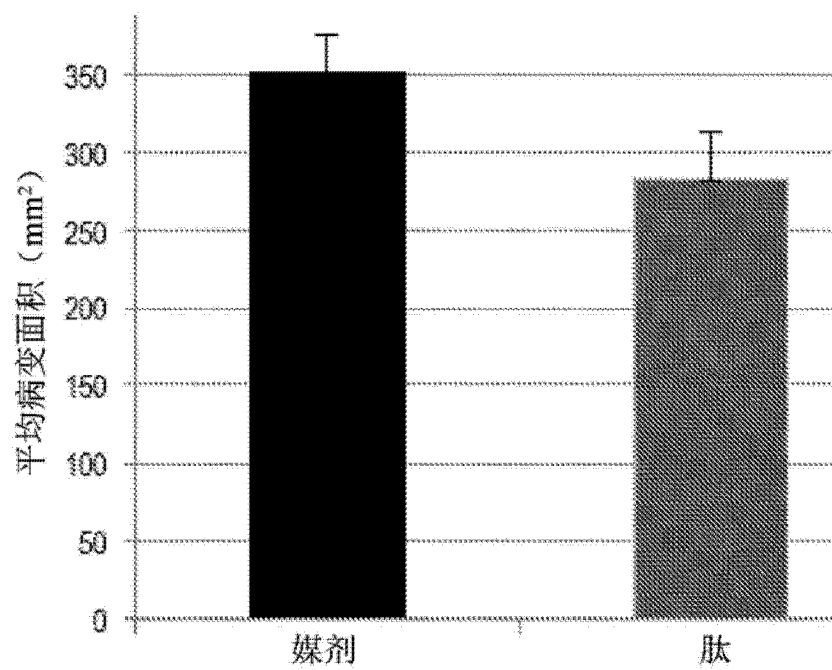


图 3

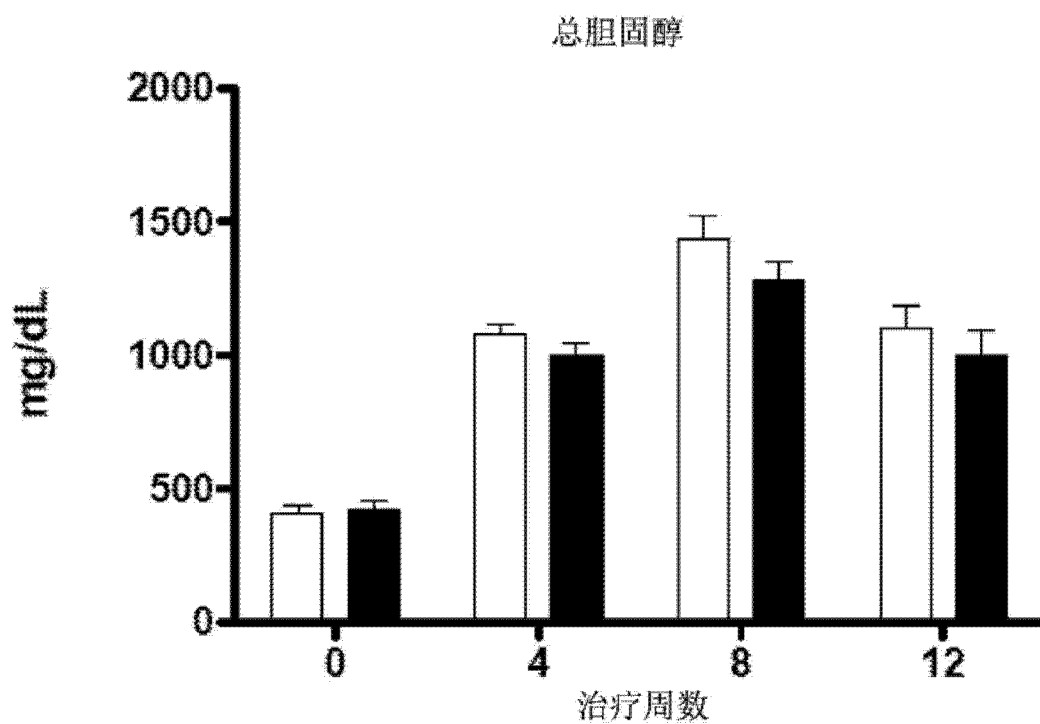
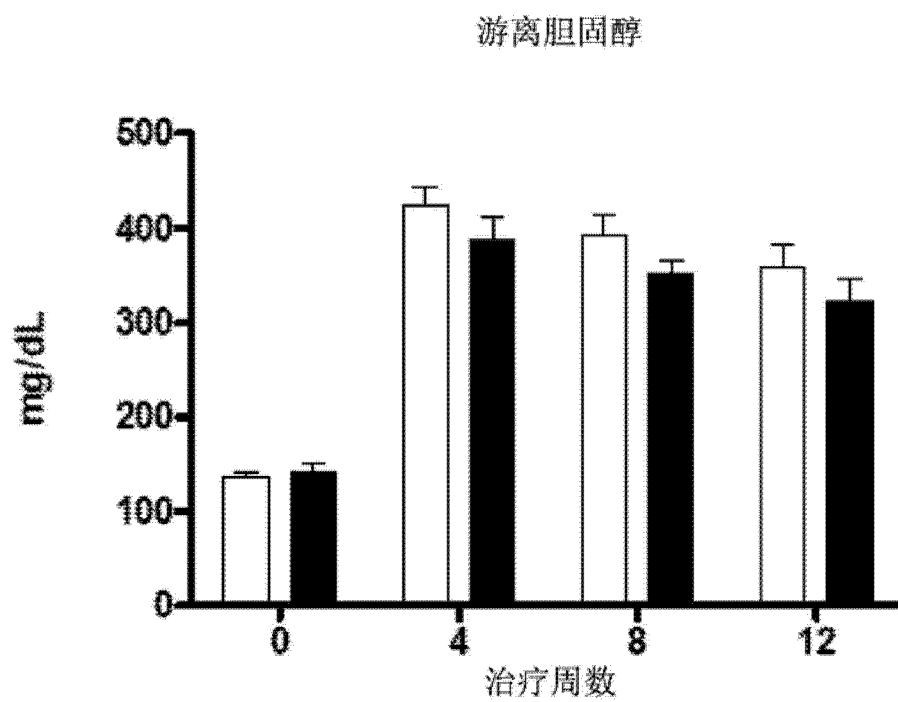
A.**B.**

图 4

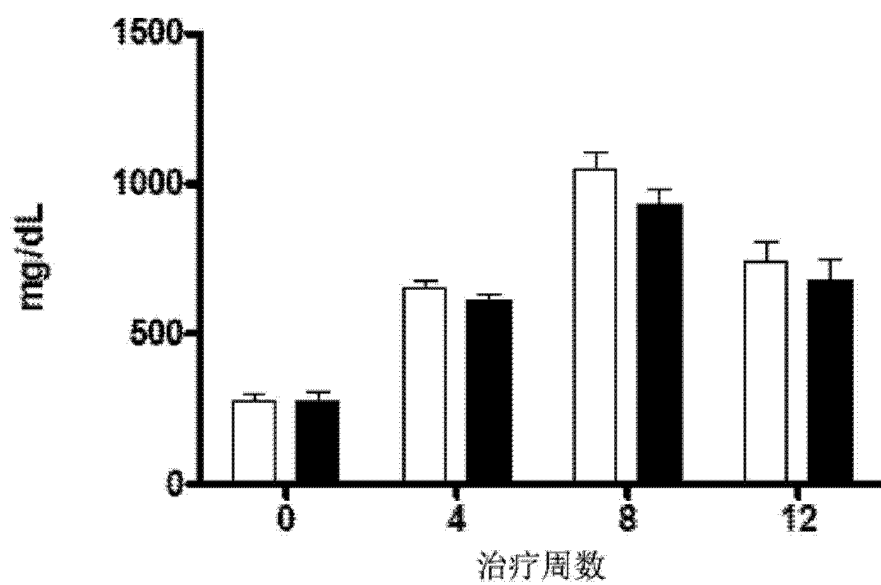
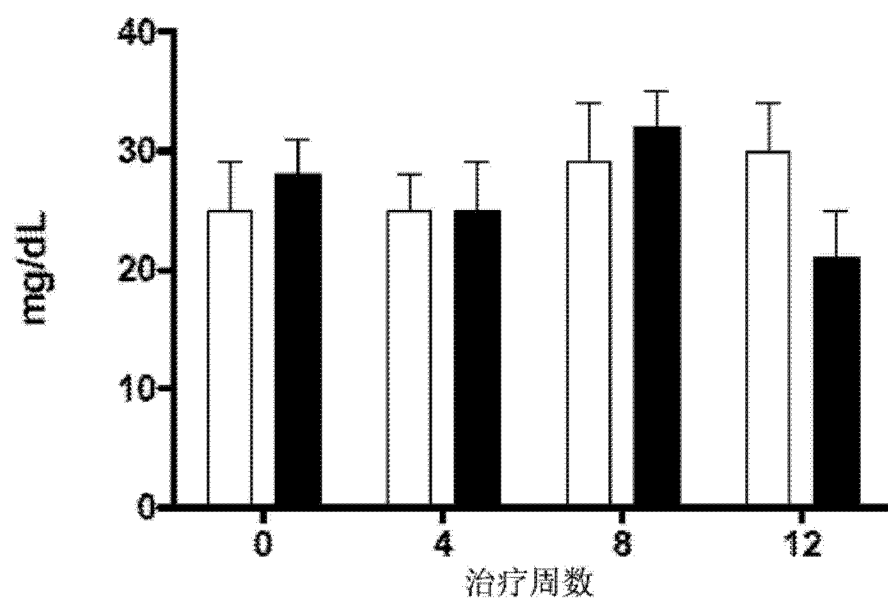
C.**胆固醇酯****D.****HDL-C**

图 4(续)

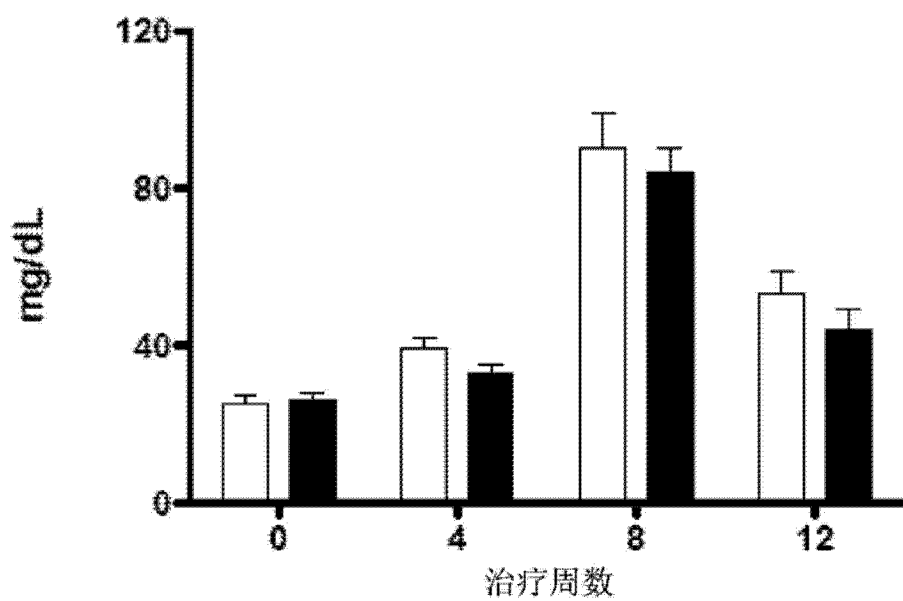
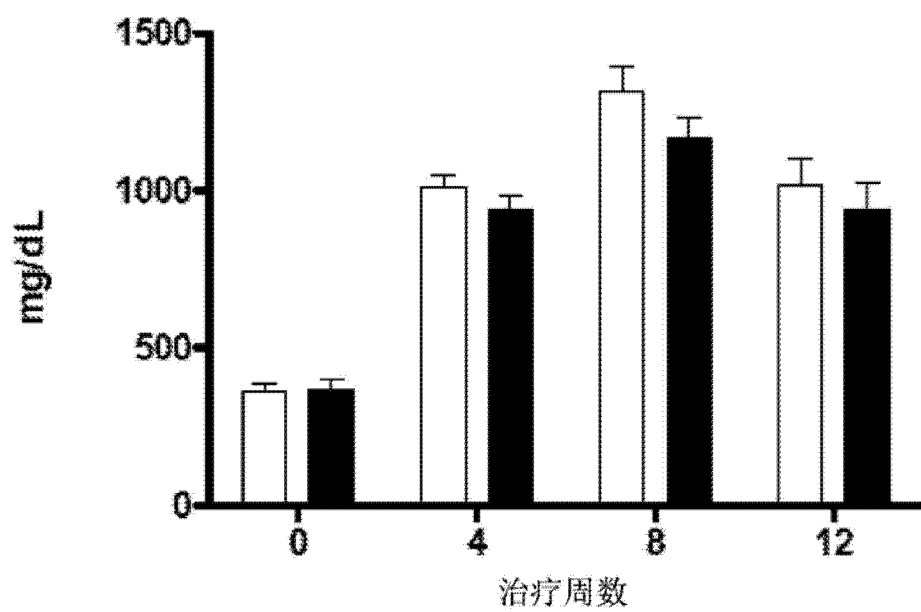
E.**VLDL-C****F.****LDL-C**

图 4(续)

G.

三酸甘油酯

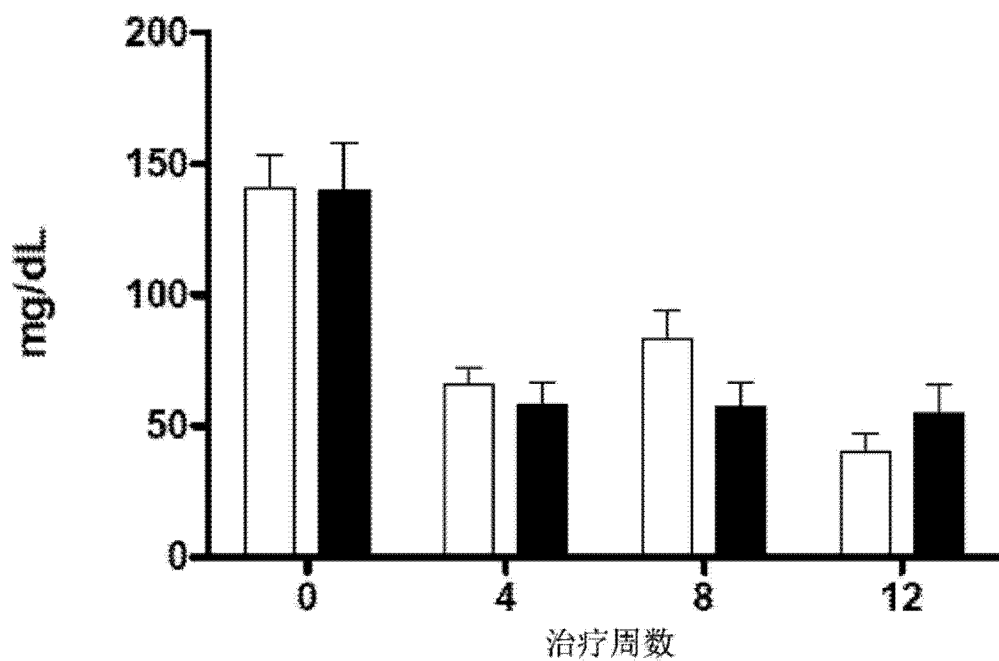


图 4(续)

H.

磷脂

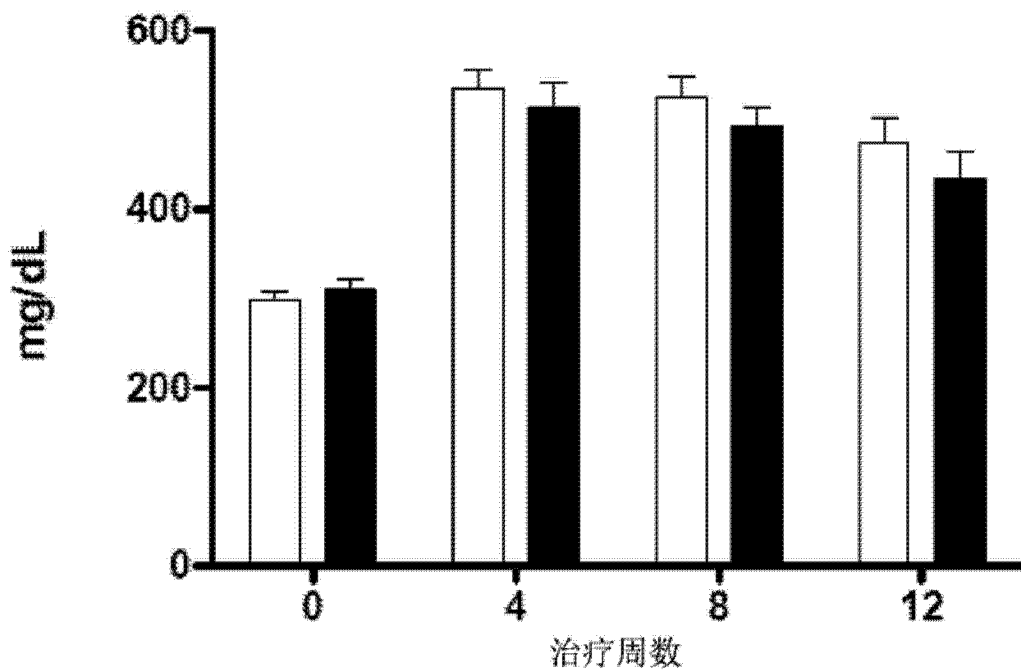


图 4(续)

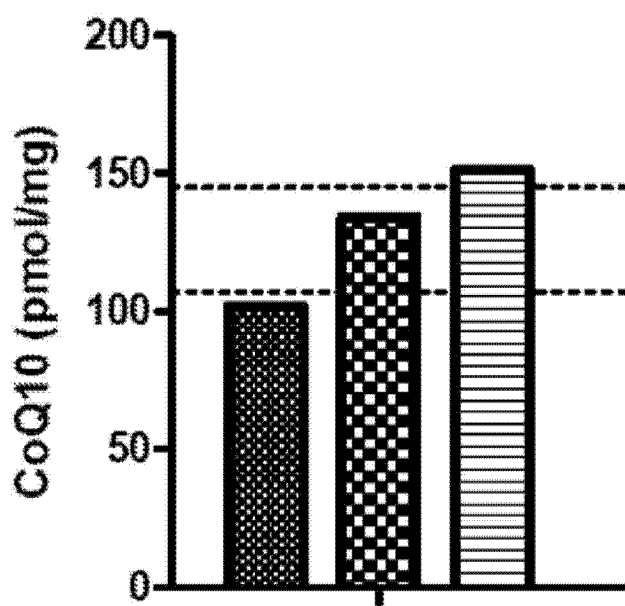


图 5

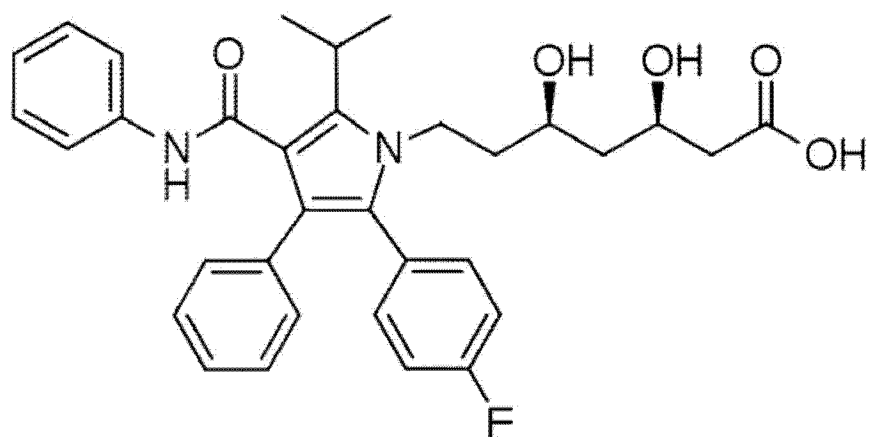
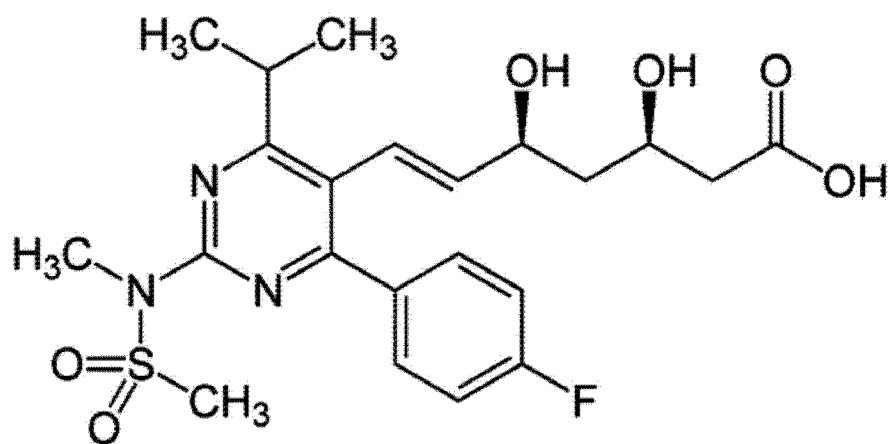
A.**B.**

图 6

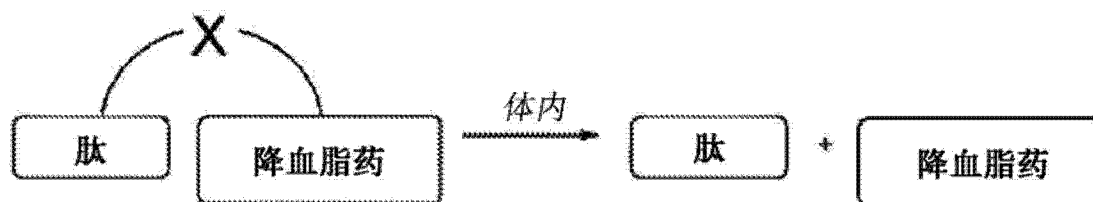
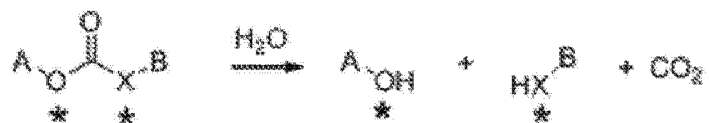
A.**B.**

图 7

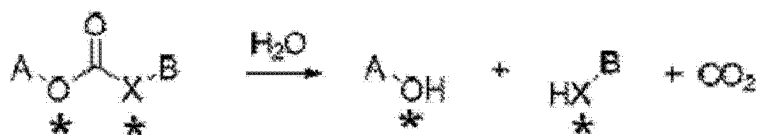
A.



前药

他汀 + D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂

B.



前药

抗高血脂药 + D-Arg-2'6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂

图 8

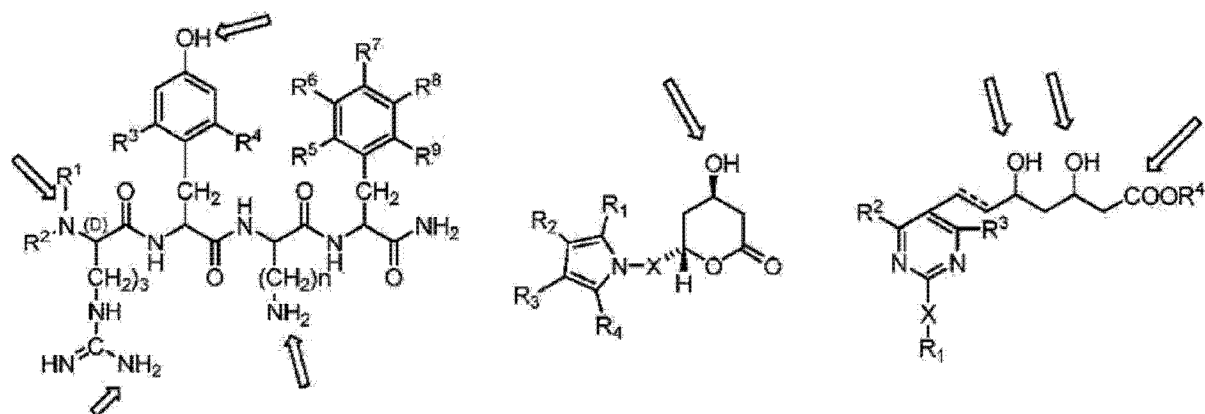
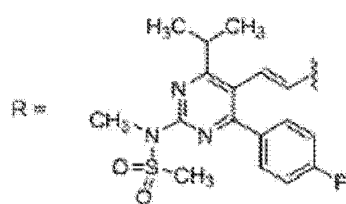
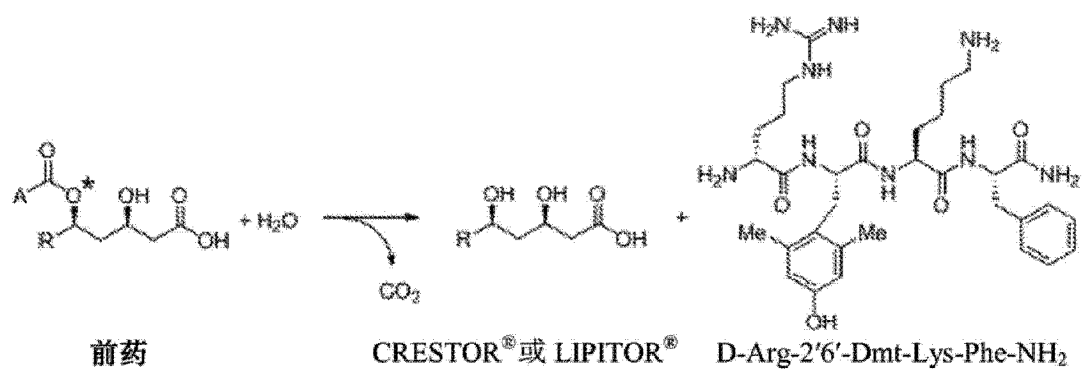
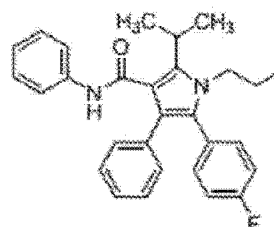


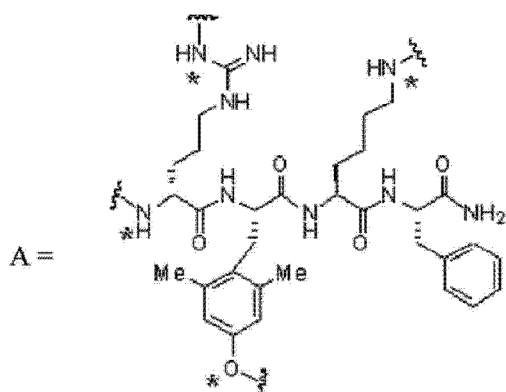
图 9



罗素他汀 (CRESTOR®)



阿托伐他汀 (LIPITOR®)



*指示形成前药键联的潜在反应性位点

图 10

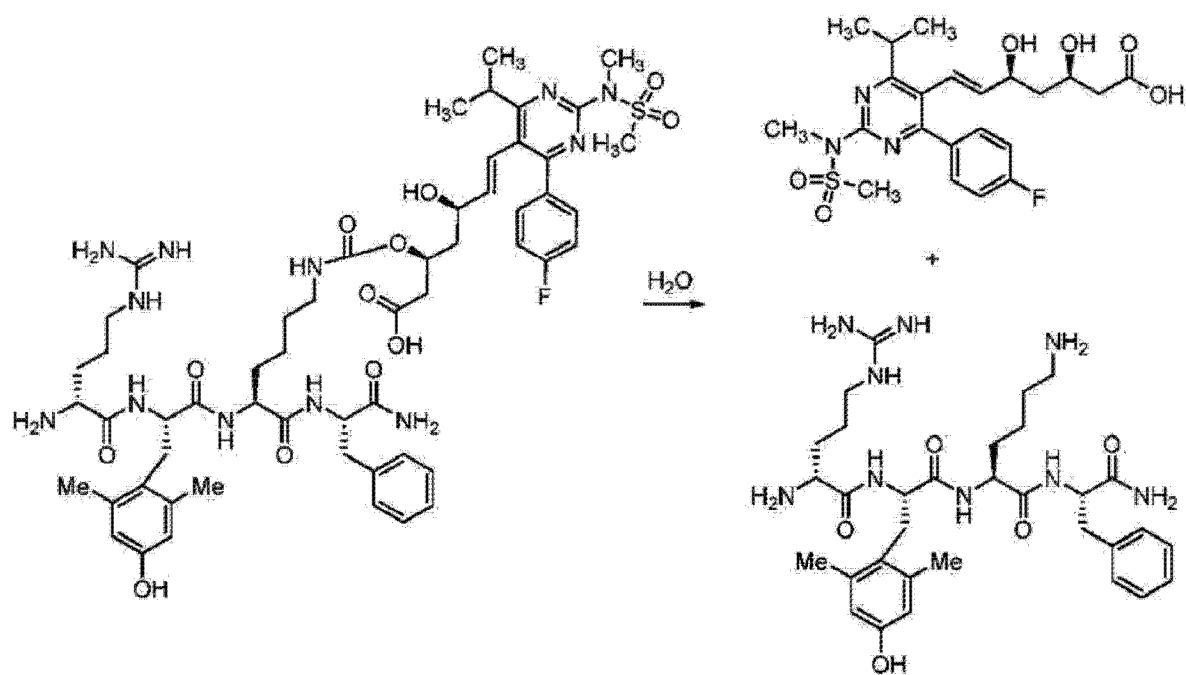
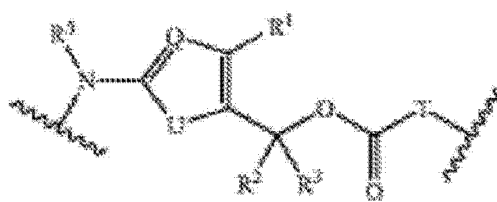
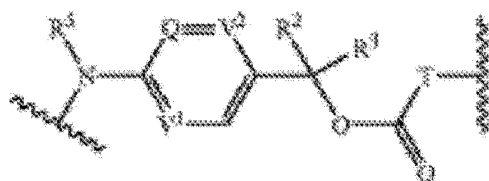


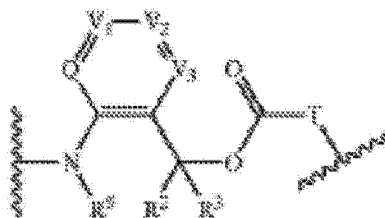
图 11



式I



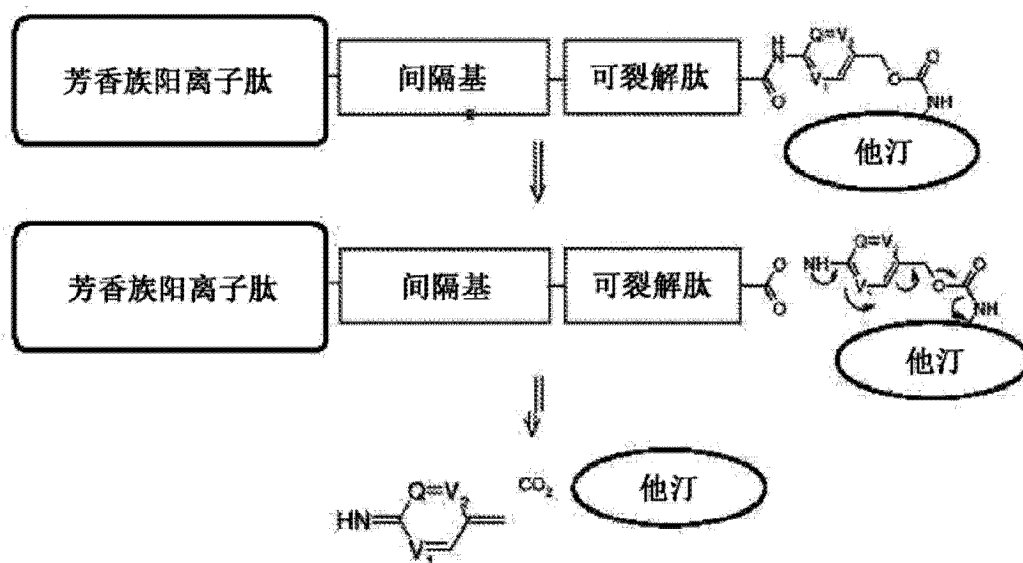
式II



式III

图 12

A.



B.

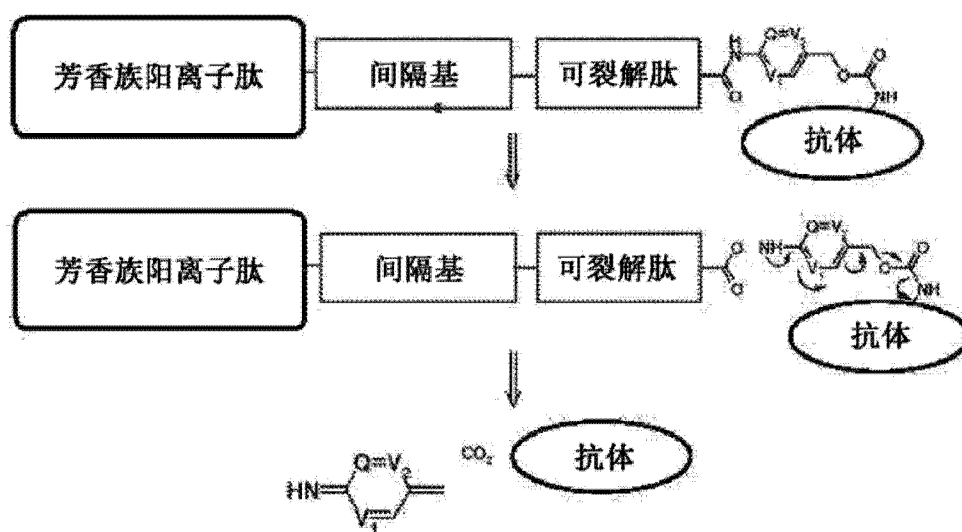
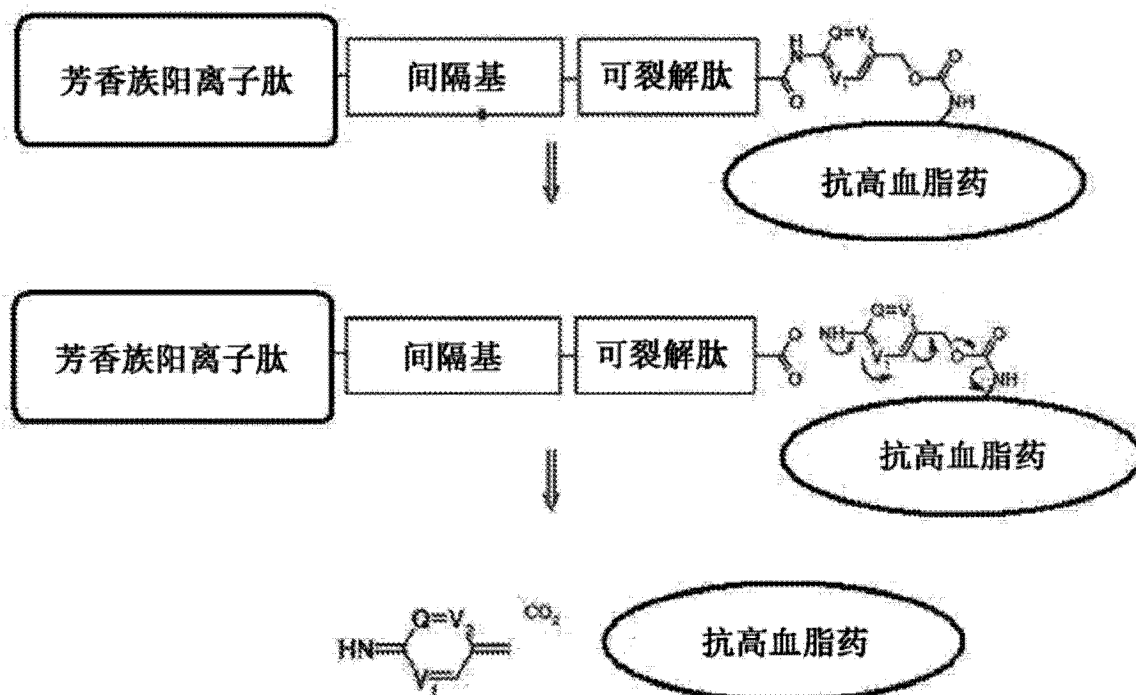


图 13

C.



D.

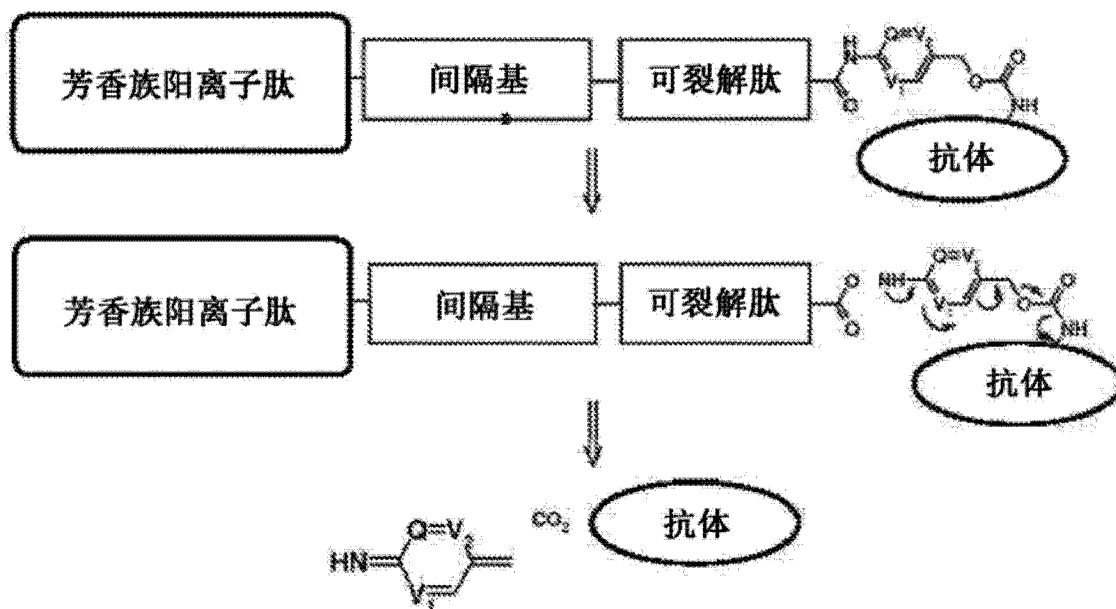


图 13(续)