

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(43) 国际公布日
2020年7月16日 (16.07.2020)

(10) 国际公布号
WO 2020/143548 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 38/18 (2006.01) *A61K 31/713* (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01) *C12N 15/113* (2010.01)
A61K 38/17 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)

CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

(21) 国际申请号: PCT/CN2020/070299

(22) 国际申请日: 2020年1月3日 (03.01.2020)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

201910015257.7 2019年1月7日 (07.01.2019) CN
201911412811.1 2019年12月31日 (31.12.2019) CN

根据细则4.17的声明:

- 关于申请人有权申请并被授予专利(细则4.17(ii))
- 关于申请人有权要求在先申请的优先权(细则4.17(iii))

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
- 包括说明书序列列表部分(细则5.2(a))。

(71) 申请人: 上海泽生科技开发股份有限公司 (ZENSUN (SHANGHAI) SCIENCE & TECHNOLOGY, CO., LTD.) [CN/CN]; 中国上海市浦东新区张江高科技园区居里路68号蔡哲峰, Shanghai 201203 (CN)。

(72) 发明人: 周明东 (ZHOU, Mingdong); 澳大利亚新南威尔士州贝克斯利韦斯特伯恩1号周明东, New South Wales 2207 (AU)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG,

(54) Title: METHOD FOR PREVENTING, TREATING OR DELAYING MYOCARDIAL DAMAGE USING NEUREGULIN AND COMPOSITION

(54) 发明名称: 神经调节蛋白用于预防、治疗或延迟心肌损伤的方法和组合物

(57) Abstract: A method for preventing, treating or delaying myocardial damage in a mammal using neuregulin and a composition. An administration method for, an administration frequency of and an administration dosage of a pharmaceutical formulation or composition for reducing myocardial damage. It can be proved in a rat myocardial damage model that neuregulin can improve the cardiac function after myocardial infarction, suggesting that neuregulin can be used for preventing, treating or delaying myocardial infarction damage.

(57) 摘要: 一种神经调节蛋白用于预防、治疗或延迟哺乳动物心肌损伤的方法和组合物。一种减少心肌损伤的药物制剂或者组合物的给药方法, 给药频率和给药剂量。通过大鼠心肌损伤模型, 证明神经调节蛋白可以改善心肌梗死后的心脏功能, 提示神经调节蛋白可以用于预防、治疗或延迟心肌梗死损伤。



WO 2020/143548 A1

神经调节蛋白用于预防、治疗或延迟心肌损伤的方法和组合物

技术领域

本发明涉及神经调节蛋白在制备用于预防、治疗或延迟哺乳动物心肌损伤的药物中的用途，同时本发明涉及一种预防、治疗或延迟哺乳动物心肌损伤的神经调节蛋白药物制剂或者组合物的给药方法，给药频率和给药剂量。更为特别地，涉及神经调节蛋白用于预防、治疗或延迟心肌损伤的方法和组合物以及一种预防、治疗或延迟哺乳动物心肌梗死的神经调节蛋白药物制剂或者组合物的给药方法，给药频率和给药剂量。

背景技术

全球范围内，心血管对人们的生命和健康构成了严重威胁，心血管疾病包括多种疾病状态比如心力衰竭，心肌梗死，冠状动脉粥样硬化性心脏病，心律失常，心肌疾病，心脏瓣膜病，感染性心内膜炎，心包疾病，缺血性心脏病，先天性心脏病等之类的。心血管疾病会导致心肌损伤并影响心脏的功能从而影响人类的健康。其中心肌梗死是一种严重危害人类健康的心血管疾病，随着人民生活水平的不断提高，缺血性心肌梗死的发病率也在不断上升。心肌梗死是心肌缺血性坏死，大多是在冠状动脉病变的基础上，由于冠状动脉的持续堵塞而导致的冠状动脉血供急剧减少或者中断，导致相应的心肌严重而持久的缺血所致。缺血性心肌梗死会导致心肌细胞坏死和瘢痕形成，进而影响心脏功能。

心肌梗死发生时，冠状动脉闭塞 20-30 分钟，受供血的心肌细胞即有少数的坏死，开始了心肌梗死的病理过程，随时间推移坏死的心肌量逐渐增加，2 小时后绝大部分受累的心肌细胞逐渐呈凝固性坏死，心肌间质则充血，水肿，伴随多量炎症细胞浸润。6-12 小时后心肌坏死过程接近完成。1-2 周后心肌纤维溶解，被巨噬细胞吞噬并逐渐纤维化，直到梗死后 6 周坏死区域完全被致密的纤维疤痕取代，称为陈旧性或愈合性心肌梗死。

心肌梗死后左心室的正常功能会受到明显的影响，如果心脏遭受缺血的范围较大，左心室的泵血功能会受到损害，心输出量，每搏输出量，血压降低，收缩末期的容积增加，在梗死后的数周时间里，舒张末期的容积增加。

心脏重构为心肌梗死后发生了一个重要的病理性行为。心肌梗死后心室重构是指心肌梗死后心室梗死区和非梗死区的结构及形态的改变：梗死区的变化主要包括梗死的扩展，非梗死区的变化主要表现为心室的扩大。心肌重构其典型表现是心室失代偿性肥厚；心室重量、容积增加及形态改变，可以引起心室泵血功能低下，并发展为心力衰竭。导致心力衰竭发生

发展的基本机制即为心室重塑。该症状是继于心肌梗死后的持续性、进行性变化，其严重程度决定着患者心功能状况及预后。心肌梗死后的心室重构成为影响患者心脏功能威胁公众生命安全的主要心血管疾病之一。

针对心肌梗死后的病人，目前主要的治疗方法包括对心肌梗死后患者进行早期再灌注（包括溶栓治疗和介入治疗）、血管紧张素 II 受体阻滞剂、血管紧张素转换酶抑制剂和 β -受体阻滞剂等治疗以缩小梗死面积、减少复发性心肌缺血、改善血运重建、减轻心室过度扩张而减少慢性心力衰竭的发生。

患者心肌梗死后的症状与梗死的面积、部位、冠状动脉侧支血管的情况密切相关，主要的症状包括疼痛、发热、心动过速、恶心、呕吐、低血压、休克、心律失常等。心肌梗死后的主要的并发症包括：乳头肌功能失调或者断裂、心脏破裂、心室壁瘤、栓塞以及心肌梗死后综合症等。

目前的药物或介入治疗大多只能缓解心梗患者的症状，却不能逆转心脏组织损伤。对于心梗后终末期状态的病人，心脏移植作为最终的治疗选择，虽能改善心脏状态，拯救濒临死亡的患者，但因供体来源稀缺、手术复杂、免疫排斥以及昂贵的治疗费用等因素的限制，在临床上很难得到广泛应用。

综上所述，心血管疾病导致的心肌损伤严重危害人类健康，特别是目前心肌梗死作为严重危害人类健康的致死性疾病，目前临床亟需更有安全有效的药物对其进行治疗。

神经调节蛋白 (Neuregulin, NRG; Heregulin, HRG), 属于表皮生长因子样 (EGF-like) 家族，是一类结构上相似的生长分化因子，包括 NRG1、NRG2、NRG3 和 NRG4 以及它们的异构体，行使了一系列的生物学作用：刺激乳腺癌细胞分化和乳蛋白的分泌 (Lessor T 等, *J Cell Biochem.* 1998;70(4):587-595); 诱导神经脊细胞分化为 Schwann 细胞 (Topilko P 等, *Mol Cell Neurosci.* 1996;8(2-3):71-75); 刺激骨骼肌细胞内乙酰胆碱受体的合成 (Altiok N 等, *EMBO J.* 1995 ;14(17):4258-4266); 以及促进心肌细胞成活和 DNA 合成 (Zhao YY 等, *J Biol Chem.* 1998;273(17):10261-10269)。用 NRG 基因严重缺陷的小鼠胚胎做的活体研究证明 NRG 对于心脏和神经发育是必需的。

NRG 的受体属于 EGF 受体家族，包括 EGFR, ErbB2, ErbB3 和 ErbB4，它们在多种细胞功能比如细胞生长、分化和存活中发挥了重要的作用。它们属于络氨酸激酶受体，有胞外的配体结合功能区、跨膜区和胞内的络氨酸激酶功能区组成。当 NRG 结合到 ErbB3 或 ErbB4 的胞外区后，引起其构象改变从而导致 ErbB3/ ErbB4 或 ErbB2/ ErbB3 异二聚体的形成或 ErbB4/ ErbB4 同二聚体的形成，并且引起其 C 末端的磷酸化。磷酸化的 C 末端可以进一步结合胞内的下游信号蛋白，激活 AKT 和 (或) ERK 信号通路，并最终引起一系列的细胞反应比如刺激

或抑制细胞增殖、细胞分化、细胞凋亡、细胞迁移或细胞黏附。在这些受体中，在心脏组织表达的主要是 ErbB2 和 ErbB4 (Zhao YY 等, *Circ Res.* 1999; 84 (12): 1380-1387)。

已有的证据表明, NRG-1 的 EGF 样结构域, 包含 50 到 64 个氨基酸, 足以结合并激活受体 (Culouscou JM 等, *J Biol Chem.* 1995;270(21):12857-12863)。NRG-1 β 可以以较高的亲和力结合到 ErbB3 和 ErbB4。而 ErbB2 可与 ErbB3 或 ErbB4 形成异源二聚体, 其与配体的亲和力高于 ErbB3 或 ErbB4 同源二聚体与配体的亲和力。神经发育学的研究证实交感神经系统的形成需要 NRG-1 β 、ErbB2 和 ErbB3 的信号传导 (Britsch S 等, *Genes Dev.* 1998;12(12):1825-1836)。而干扰 NRG-1 β 或 ErbB2 或 ErbB4 的表达将由于心脏发育的缺陷引起胚胎死亡 (Gassmann M 等, *Nature.* 1995; 378(6555): 390-394)。最近的研究强调, NRG-1 β 、ErbB2 和 ErbB4 不仅对心脏发育至关重要, 同时对成年心脏的功能维持也起到非常重要的作用 (Kuramochi Y 等, *J Mol Cell Cardiol.* 2006; 41(2):228-235)。NRG-1 β 被证明可以加强成年心肌细胞肌小节的形成。在多种心衰动物模型中发现, NRG-1 β EGF 样结构域的摄入可以显著提高心脏功能, 防止心功能的恶化 (Liu 等, *J Am Coll Cardiol.* 2006;48:1438-1447)。在临床试验中, NRG 也显示了对各种病因引起的慢性心力衰竭患者的治疗作用, 显著提高了其心脏功能(CN200910057390.5)。在大脑缺血再灌注动物模型中, NRG-1 也显示了对脑细胞显著的保护性作用, 抑制脑细胞凋亡, 增强神经功能, 减小梗死面积 (Li Q 等, *Neurosci Lett.* 2008; 443(3): 155-159)。有证据表明, 心脏缺血再灌注诱导了 NRG-1 的释放, 激活心肌细胞 NRG/ErbB 信号通路 (Kuramochi Y 等, *J Biol Chem.* 2004; 279(49): 51141-51147), NRG-1 对心脏缺血再灌注损伤具有预防、治疗或者延迟的作用(WO2011091723)。

心肌损伤作为一种严重威胁人类健康的致死性疾病, NRG-1 在心肌损伤中的给药方法, 给药频率和给药剂量仍然没有被清楚的阐明。本发明提供了上述需求的方法和组合物。值得一提的是, 本发明尤其特别的提供了一种优化后的给药频率, 本发明尤其特别的提供了一种优化后的给药剂量, 本发明尤其特别的是提供了一种优选的给药方法。本发明进一步涉及神经调节蛋白在制备用于预防、治疗或延迟哺乳动物心肌梗死损伤的药物中的用途。在治疗心肌梗死方面, 本发明尤其特别的提供了一种优化后的给药频率, 本发明尤其特别的提供了一种优化后的给药剂量, 本发明尤其特别的是提供了一种优选的给药方法。

发明内容

A. 发明概述

本发明发现神经调节蛋白在制备用于预防、治疗或延迟哺乳动物心肌损伤的药物中的用途。本发明进一步涉及神经调节蛋白在制备用于预防、治疗或延迟哺乳动物心肌梗死损伤的

药物中的用途。其中所述哺乳动物优选的是人。神经调节蛋白能够改善对心肌损伤后的心脏功能并减轻其心脏重构。

多种心血管疾病例如心力衰竭，心肌梗死，冠状动脉粥样硬化性心脏病，心律失常，心肌炎，心脏瓣膜病，感染性心内膜炎，心包疾病，缺血性心脏病，先天性心脏病等会导致心肌损伤。发生心肌损伤时会影响心脏的功能从而影响人类的健康。其中心肌梗死患者发病时随着冠状动脉闭塞时间的延长，通常会伴随着心肌细胞凋亡坏死，大量炎症细胞浸润，心肌纤维化并导致心肌损伤。心肌梗死损伤通常会降低心脏功能并影响人类健康。

本发明是基于 NRG 对心脏发育至关重要，对成年心脏的功能维持也起到非常重要的作用的科学发现；基于 NRG 可以加强心肌细胞肌小节和细胞骨架以及细胞间连接的形成的科学发现；基于 NRG 在各种动物模型和临床试验中可以提高心衰动物或病人的心脏功能的科学发现；基于 NRG 在大脑缺血再灌注动物模型中显示对脑细胞的保护作用的科学发现；基于 NRG 在心脏缺血再灌注动物模型中显示对脑细胞的保护作用的科学发现。NRG，NRG 多肽，NRG 突变体或其它具有 NRG 样功能的复合物都属于本发明的范畴。

本发明的第一个方面，是提供了一种预防、治疗或延迟哺乳动物心肌损伤的药物制剂。进一步提供了一种预防、治疗或延迟哺乳动物心肌梗死损伤的药物制剂。其中哺乳动物优选的是人。该药物制剂包含有效量的 NRG 或其功能片段，或编码 NRG 或其功能片段的核酸，或提高 NRG 产量和/或功能的物质，以及药学上可以接受的载体、赋形剂等。该药物制剂可以和其它可用于预防、治疗或延缓心肌损伤的药物或者治疗方法一起使用。在某一实施例中，使用该 NRG 药物制剂能够增强哺乳动物左心室的 EF 值，在另一实施例中，使用该 NRG 药物制剂能够减少左室舒张末期容积 (LVEDV) 或左室收缩末期容积 (LVESV)。在另一实施例中，该 NRG 药物制剂通过注射器或者其它装置经皮下输注给药。在另一实施例中，该 NRG 药物制剂通过使用一个泵，例如注射泵，经皮下输注给药。在一些实施例中，注射泵是微型泵。在进一步的实施例中，微型泵是一个胰岛素泵。值得一提的是，任何药物上可用的制剂均适用本发明，该药物制剂含有如上所述的神经调节蛋白或者包含神经调节蛋白和可药用的赋形剂、稀释或载体。本发明所采用的药物制剂包括但不限于本申请中的内容。

本发明的第二个方面，是提供了一种预防、治疗或延迟哺乳动物心肌损伤的方法。进一步提供了一种预防、治疗或延迟哺乳动物心肌梗死损伤的方法。其中哺乳动物优选的是人。包括对需要或希望预防、治疗或延迟心肌损伤的哺乳动物施用有效量的 NRG 或其功能片段，或编码 NRG 或其功能片段的核酸，或提高 NRG 产量和/或功能的物质，从而达到预防、治疗或延迟心肌损伤的效果。组合其它药物包括对需要或希望预防、治疗或延迟心肌梗死损伤的哺乳动物施用有效量的 NRG 或其功能片段，或编码 NRG 或其功能片段的核酸，或提高 NRG 产量

和/或功能的物质，从而达到预防、治疗或延迟心肌梗死损伤的效果。

本发明的第三个方面，是提供了一种用于预防、治疗或延迟哺乳动物心肌损伤的组合物。进一步提供了一种用于预防、治疗或延迟哺乳动物心肌梗死损伤的组合物。其中哺乳动物优选的是人。该组合物包含了本发明所提供的用于预防、治疗或延迟哺乳动物心肌损伤的神经调节蛋白，以及其它预防、治疗或延缓心肌损伤的药物。其中，所述的组合物包括 EGF 样功能域，该区已被证明足以结合并活化受体。特别地，作为例子，但并非为了限制的目的，本发明的神经调节蛋白是 NRG-1 β 2 异构体的一个片段，包含 177-237 位氨基酸片段，该片段的氨基酸序为：SHLVKCAEKEKTFVNGGECFMVKDLSNPSRYLCKCPNEFTGDRCQNYVMASFYKAEELYQ (SEQ ID NO:1)。

本发明的第四个方面，是提供了一种用于预防、治疗或延迟哺乳动物心肌损伤神经调节蛋白药物制剂的给药剂量。进一步提供了一种用于预防、治疗或延迟哺乳动物心肌梗死神经调节蛋白药物制剂的给药剂量。其中哺乳动物优选的是人。该有效剂量是指将该剂量的 NRG 蛋白施用给哺乳动物时，可以带来一种或多种有益效果。该有益效果可以是心肌损伤的患者的心脏功能的改善，或者是防止其心脏功能的进一步恶化，或者延迟可能患有心肌损伤导致的心脏功能的恶化。本发明对于哺乳动物所述的剂量在 0.1 μ g/kg/day (蛋白/体重) 至 360 μ g/kg/day (蛋白/体重) 的范围内。在一个实施方案中，所述的剂量在 0.3 μ g/kg/day (蛋白/体重) 至 50 μ g/kg/day (蛋白/体重) 的范围内；在一个实施方案中，所述有效剂量为 7.5 μ g/kg/day；在一个实施方案中，所述有效剂量为 15 μ g/kg/day；在另一个实施方案中，所述有效剂量为 30 μ g/kg/day。

本发明的第五个方面，是提供了一种用于预防、治疗或延迟哺乳动物心肌损伤神经调节蛋白药物制剂的给药方法。进一步提供了一种用于预防、治疗或延迟哺乳动物心肌梗死神经调节蛋白药物制剂的给药方法。其中哺乳动物优选的是人。该药物制剂可以通过口服给药、直肠给药、局部给药、吸入给药、口腔给药（如舌下给药）、非肠道给药（如皮下注射、肌肉注射、皮内注射或静脉注射）、经皮给药或者其他合适的给药方式进行施用。在一个实施方案中，NRG 蛋白每天只被施用一次。在另一个实施方案中，NRG 蛋白每天被施用多次。在一个实施方案中，NRG 蛋白在一天内施用。在另一个实施方案中，该耐受剂量范围内的 NRG 蛋白在几天或者数日内施用。在另一个实施方案中，NRG 蛋白每天被施用多次，连续施用多天。在另一个实施方案中，NRG 蛋白每周被施用 2 天，每天被施用多次，连续多周施用。在另一个实施方案中，NRG 蛋白每周被施用 2 天，每天被皮下施用 3 次，连续多周施用。在另一个实施方案中，NRG 蛋白每天被皮下注射三次，连续施用多天。在另一个实施方案中，NRG 蛋白每天被皮下注射三次，连续施用 35 天。在另一个实施方案中，NRG 蛋白每天被皮下注射三次，

连续施用 38 天。在另一个实施方案中，NRG 蛋白每天被皮下注射三次，连续施用 49 天。在另一个实施方案中，NRG 蛋白每天被皮下注射三次，连续施用 60 天。在另一个实施方案中，NRG 蛋白每天被皮下注射三次，连续施用 35 天以上。在另一个实施方案中，NRG 蛋白每天被施用多次，连续施用多天，后续缓慢撤药。在另一个实施方案中，NRG 蛋白每天被施用多次，连续施用多天，后续进行连续 3 周的缓慢撤药计划，第 1 周每隔一天给一天药；第 2 周隔两天给一天药；第 3 周每隔三天皮下给一天药。在另一个实施方案中，NRG 蛋白每天被皮下注射三次，连续施用 38 天以上后缓慢撤药。在另一个实施方案中，NRG 蛋白每天被皮下注射三次，连续施用 49 天，之后开始进行连续 3 周的缓慢撤药计划，第 1 周每隔一天给一天药；第 2 周隔两天给一天药；第 3 周每隔三天皮下给一天药。在另一个实施方案中，NRG 蛋白每天被施用多次，连续施用多天，后续缓慢递减每天药物的给药剂量。在另一个实施方案中，NRG 蛋白每天被皮下注射三次，连续施用多天，后续缓慢递减每天药物的给药剂量。在另一个实施方案中，NRG 蛋白每天被皮下注射三次，连续施用 60 天以上，后续缓慢递减每天药物的给药剂量。在另一个实施方案中，NRG 蛋白每天被皮下注射三次，连续施用 60 天，之后开始进行连续 3 周的缓慢撤药计划，第 1 周每天施用剂量为连续施用剂量的一半；第 2 周每天施用剂量为连续施用剂量的四分之一；第 3 周每天施用剂量为连续施用剂量的八分之一。

本发明还提供了一种用于预防、治疗或延迟哺乳动物心肌损伤的药盒。进一步提供了一种用于预防、治疗或延迟哺乳动物心肌梗死损伤的药盒。其中哺乳动物优选的是人。其中包含了一次或多次使用剂量的上述预防、治疗或延迟心肌损伤的药物制剂或组合物，以及如何使用该药物制剂或组合物的说明书。

本发明所提供的药物制剂或组合物，可以在心脏疾病发生前、发生时或发生后给予。当用于预防时，一般在心脏疾病发生前给药。当用于治疗时，一般在心脏疾病发生时或者发生后给药。在一个实施方案中，本发明所提供的药物制剂或组合物，在发生之前给药。在另一个实施方案中，本发明所提供的药物制剂或组合物，在心肌梗死发生时给药。在另一个实施方案中，本发明所提供的药物制剂或组合物，在发生后给药。

本发明所提供的药物制剂或者组合物，可以通过口服给药、直肠给药、局部给药、吸入给药、口腔给药（如舌下给药）、非肠道给药（如皮下注射、肌肉注射、皮内注射或静脉注射）、经皮给药或者其他合适的给药方式进行施用。其中皮下注射可以通过注射器，泵（微量注射泵）或者其他给药装置设备进行。本发明所提供的药物制剂或者组合物的剂型包括但不限于片剂、锭剂、扁囊剂、分散剂、悬浊液、溶液、胶囊、药膏和类似形态。

B. 释义

除另有定义，这里使用的所有科技术语与本发明所属技术领域的普通技术人员理解含义

相同。所有专利文献、专利申请文献、公开的专利文献和其它出版物均作为参考。如本节阐述的定义与上述参考文献所述的定义不一致或相反时，以本节阐述的定义为准。

除非特别指明，在此所用“一个”的意思是“至少一个”或“一个或多个”。

此处所用“哺乳动物”，是指非灵长类动物（牛、猪、马、猫、狗、大鼠、小鼠等）或灵长类动物（猴、人），更为优选的是人。

此处所用“心肌损伤”是指由心脏病理性疾病例如心力衰竭，心肌梗死，冠状动脉粥样硬化性心脏病，心律失常，心肌疾病，心脏瓣膜病，感染性心内膜炎，心包疾病，缺血性心脏病，先天性心脏病导致的心肌损伤，心肌损伤往往会导致心脏功能的降低从而影响人类的健康。心肌损伤的机理涉及氧自由基的产生，钙离子超载，中性粒细胞损伤区浸润导致的炎症反应，心肌细胞的凋亡或者坏死，能量供应失调导致的组织代谢失调，心脏电信号传导的异常，胆固醇的累积，动脉粥样硬化斑块的形成等多重病理生理改变。

此处所用“心肌梗死损伤”是指心肌梗死损伤是指心肌缺血后对组织和器官造成的损伤，大多是在冠状动脉病变的基础上，由于冠状动脉的持续堵塞而导致的冠状动脉血供急剧减少或者中断，导致相应的心肌严重而持久的缺血所致。其损伤的机理涉及氧自由基的产生，钙离子超载，中性粒细胞损伤区浸润导致的炎症反应，心肌细胞的凋亡或者坏死，能量供应失调导致的组织代谢失调等多重病理生理改变。

此处所用“神经调节蛋白”或“neuregulin”或“NRG”是指能够结合并激活 ErbB2、ErbB3、ErbB4 或其异源或同源二聚体的蛋白或多肽，包括神经调节蛋白的异构体、神经调节蛋白中的 EGF 样功能域、包含神经调节蛋白 EGF 样功能域的多肽、神经调节蛋白的突变体或衍生物以及其它能够激活上述受体的神经调节蛋白样的基因产物。神经调节蛋白还包括 NRG-1，NRG-2，NRG-3 和 NRG-4 蛋白、多肽、片段以及具有 NRG 样功能的复合物。优选的，神经调节蛋白是可以结合并激活 ErbB2/ ErbB4 或 ErbB2/ ErbB3 异源二聚体的蛋白或多肽。作为例子，但并非为了限制的目的，本发明的神经调节蛋白（重组人纽兰格林 rhNRG）是 NRG-1 β 2 异构体的一个片段，即 177-237 位氨基酸片段，其中包含了 EGF 样功能域。该片段的氨基酸序列为：SHLVKCAEKEKTFVNGGECFMVKDLSNPSRYLCKCPNEFTGDRCQNYVMASFYKAEELYQ (SEQ ID NO:1)。本发明所用神经调节蛋白可以激活上述受体并调节它们的生物学功能，比如刺激骨骼肌细胞合成乙酰胆碱受体；促进心肌细胞的分化、存活以及 DNA 合成。神经调节蛋白还包括那些具有并不实质性影响生物学功能的保守性突变的神经调节蛋白突变体。本技术领域普通技术人员熟知，非关键区域的单个氨基酸的突变一般不会引起该蛋白或多肽的生物学功能的改变（参见 Watson 等人, *Molecular Biology of the Gene*, 4th Edition, 1987, The Bejacmin/Cummings Pub. co., p. 224）。本发明所用神经调节蛋白可以从天然的来源分离得到，

或者通过重组技术、人工合成或其它手段得到。

此处所用“EGF 样功能域”或“EGF-like domain”是指由 neuregulin 基因所编码的可以结合并激活 ErbB2、ErbB3、ErbB4 或其异源或同源二聚体的多肽片段，并且与下述参考文献中描述的 EGF 受体结合区域具有结构相似性：WO 00/64400；Holmes 等，*Science*, 256:1205-1210 (1992)；美国专利 5,530,109 和 5,716,930；Hijazi 等，*Int. J. Oncol.*, 13:1061-1067 (1998)；Chang 等，*Nature*, 387:509-512 (1997)；Carraway 等，*Nature*, 387:512-516 (1997)；Higashiyama 等，*J. Biochem.*, 122:675-680 (1997)；以及 WO 97/09425。在某些实施方案中，EGF 样功能域结合并激活 ErbB2/ ErbB4 或 ErbB2/ ErbB3 异源二聚体。在某些实施方案中，EGF 样功能域包含 NRG-1 的受体结合区氨基酸。在某些实施方案中，EGF 样功能域是指 NRG-1 的第 177-226 位、177-237 位或 177-240 位氨基酸。在某些实施方案中，EGF 样功能域包含 NRG-2 的受体结合区氨基酸。在某些实施方案中，EGF 样功能域包含 NRG-3 的受体结合区氨基酸。在某些实施方案中，EGF 样功能域包含 NRG-4 的受体结合区氨基酸。在某些实施方案中，EGF 样功能域包含美国专利 5,834,229 中描述的氨基酸序列：Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro。

神经调节蛋白，可被制成口服给药、直肠给药、局部给药、吸入给药、口腔给药（如舌下给药）、非肠道给药（如皮下注射、肌肉注射、皮内注射或静脉注射）、经皮给药或者其他合适的给药方式的制剂。在所有给药方式中，最合适的给药途径取决于治疗状况的性质和严重程度，以及所使用特殊神经调节蛋白的性质。神经调节蛋白可以单独给药。或者更适宜的，神经调节蛋白可以与一些药物可接受的载体或赋形剂共同给药。任何适宜的药物可接受载体或赋形剂能够用于目前的方法（参见如 Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, Alfonso R. Gennaro (Editor) Mack Publishing Company, April 1997）。

此处所用的“泵”是一个给药装置，能够皮下输注治疗液体，药物，蛋白和/或其他组合物，具有连续精确定量给药的性能。泵采用一个皮下导管用于连续的皮下输注。导管可以置于外部或导管端口可嵌于泵的机械装置中。微量注射泵是一种能够精确输出液体、便携、便利的装置。例如，胰岛素泵是一种在糖尿病治疗或其他治疗中用于施用胰岛素或其他药物的医疗器械，也被认为用于连续皮下胰岛素输注治疗。胰岛素泵能够配置一个一次性薄塑料管或一个导管使胰岛素或其他药品进入组织。导管能够皮下插入并根据需要改变位置。泵能够装配在一个可连接病人的外部装置内，也可以装配在一个可植入病人体内的装置中。外置泵包含在固定地点如医院、诊所、或其他类似地方使用所设计的装置，进一步包含非固定或可便携使用的装置，比如设计成能够被病人携带的泵，或类似的东西。外置泵包含能够储存流体介质的储液器，例如但不限于包含神经调节蛋白的流体介质。

外置泵能够经液体流动与病人相连，比如，通过适当的中空管。中空管能够与中空针相连，中空针用于刺穿病人皮肤输送药液。可选择的，中空管可以直接通过一个插管或类似物直接与病人相连。外置泵能够穿戴或附着于病人衣服上或衣服下。适当的泵包括但不限于具有紧密输注功能的微量注射泵，例如 MiniMedParadigm522 胰岛素泵，MiniMedParadigm722 胰岛素泵，MiniMedParadigm515 胰岛素泵，MiniMedParadigm715 胰岛素泵，MiniMedParadigm512R 胰岛素泵，MiniMedParadigm712R 胰岛素泵，MiniMedParadigm508 胰岛素泵，MiniMedParadigm508R 胰岛素泵(美敦力公司；加拿大北岭市)，和其他为本领域技术人员所知的类似装置。

美国专利 US11/211,095(申请日 2005.8.23, 公布号 US2006/0264894, 授权 US7686787) 和已公布的 PCT 申请 W001/70307 (PCT/US01/09139), W004/030716 (PCT/US2003/028769,), W004/030717 (PCT/US2003/029019), W02013075622 (PCT/CN2012/084936), 美国专利 US2005/0065760 (Method For Advising Patients Concerning Doses Of Insulin) 和 US6,589,229(Wearable Self-Contained Drug Infusion Device), 描述了外置泵类型给药装置的例子，都通过引用整合于此。

此处所用“其它可用于预防、治疗或延缓心肌损伤的药物或者治疗方法”是指已知的可用于治疗心肌损伤的药物和器械介入治疗等，也包括已知的可用于治疗心肌梗死损伤的药物和器械介入治疗。其中治疗心肌梗死的药物包括抗血小板药物(例如阿司匹林，氯吡格雷等)，抗凝药物(肝素，比伐卢定等)，溶栓剂(阿替普酶，替奈普酶，尿激酶，重组人尿激酶原等)，降脂药物(他汀类药物，胆固醇吸收抑制剂)，血管紧张素转换酶抑制剂/血管紧张素 II 受体抑制剂， β 受体阻滞剂，钙离子拮抗剂，硝酸酯类药物，磷酸酯酶抑制剂，利尿剂，肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAS)拮抗剂，心肌能量优化剂，改善缺血组织代谢的药物，自由基清除剂等。其中介入治疗包括冠状动脉介入治疗等。

附图说明

图 1 NRG 不同给药剂量皮下长时间给药治疗大鼠急性心梗药效实验心超结果

图 2 NRG 不同给药频率皮下长时间给药治疗大鼠急性心梗药效实验心超结果

图 3 NRG 皮下长时间给药后降低给药频率撤药对大鼠急性心梗的治疗作用

图 4 NRG 皮下长时间给药后降低给药剂量撤药对大鼠急性心梗的治疗作用

具体实施方式

实施例 1：重组人组兰格林（rhNRG）不同给药剂量 皮下长时间给药对大鼠急性心梗的治疗作用-NRG 量效关系研究实验

1. 实验目的

在左侧冠脉结扎致心梗大鼠模型上，长时间皮下给予不同剂量的重组人组兰格林（rhNRG）观察对急性心梗大鼠的治疗作用，探索 NRG 治疗大鼠急性心梗的量效关系。

2. 受试药物

2.1 赋形剂：上海泽生科技开发股份有限公司研制

2.2 重组人组兰格林（NRG）成品：上海泽生科技开发股份有限公司研制

3. 实验动物

3.1 品系、来源：Wistar 大鼠，由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供

3.2 性别、体重、合格证：雄性，200~270g

4. 实验材料与设备

麻醉机 异氟烷蒸发器 MSS INTERNATIONAL LTD

异氟烷 100ml/瓶 瑞沃德生命科技有限公司

心脏超声检测仪 Vivid E95

宁波灵桥带线缝合针 宁波医用缝针有限公司

5. 实验方法

5.1 大鼠冠状动脉结扎致心力衰竭模型的建立

大鼠通过气体麻醉机用异氟烷麻醉，麻醉后仰卧固定，胸部去毛后用 75%酒精皮肤消毒。胸部左前皮肤切开后，钝性分离胸部肌肉，暴露第 4、5 肋骨，用止血钳钝性分开 4、5 肋的肋间肌，双手配合挤压，使心脏从胸腔内挤出，充分暴露心脏，观察肺充气及心跳情况，充分暴露左心耳和肺动脉圆锥，于二者之间用手术缝线结扎左冠状动脉前降支。结扎后心脏快速复位，再缝合胸部肌肉和皮肤，术后放回笼内饲养，并密切观察大鼠状况。

5.2 实验分组及给药

表 1, 实验动物分组及给药计划表

组别	给药剂量	给药途径	给药频率及周期
对照组	--	皮下注射	3 次/天×60 天
NRG 高剂量	15 μ g/kg/D	皮下注射	3 次/天×60 天
NRG 中剂量	7.5 μ g/kg/D	皮下注射	3 次/天×60 天
NRG 低剂量	3.75 μ g/kg/D	皮下注射	3 次/天×60 天

动物心梗造模后第二天开始给药。

5.3 观测指标

5.3.1 心脏功能检测

通过气体麻醉机用 4%异氟烷麻醉大鼠后，左侧卧位固定在手术板上。将大鼠头部固定在气体麻醉机的呼吸面罩内，异氟烷维持麻醉。胸部去毛，用 75%酒精消毒后，涂抹耦合剂，用大鼠心超探头检测大鼠左心室回声信号。测量舒张末期及收缩末期左室内径(D)，计算左心室舒张末期及收缩末期容积 EDV、ESV，并计算出射血分数 (Ejection Fraction, EF) 值，EF=(EDV-ESV) /EDV*100%。

5.3.2 数据处理

所有实验数据用 ±SD 表示。

6. 实验结果

6.1 心超结果

NRG 连续给药 60 天心超检测，赋形剂组的 LVEDd、LVEDs、EF 值分别为 0.971±0.07cm、0.832±0.08cm、34.6±7.00%，NRG 治疗 15 μg/kg 组为 0.975±0.07cm、0.794±0.10cm、42.9±11.32%，NRG 治疗 7.5 μg/kg 组为 0.965±0.07cm、0.808±0.11cm、38.4±12.17%，NRG 治疗 3.75 μg/kg 组为 0.994±0.08cm、0.839±0.12cm、37.0±12.23%，从 LVEDd、LVEDs 数据看，NRG 中高剂量组可缩小左心室舒张及收缩末期的内径。从 EF 值数据看，连续给药 60 天高中低剂量组均有改善心功能，三组之间呈现出量效关系。结果详见表 2 及图 1。

表 2、NRG 不同给药剂量皮下长时间给药治疗 60 天大鼠心梗药效实验心超结果 (x̄ ± SD)

时间	剂量 (μg/kg)	组别	动物数	LVEDd (cm)	LVEDs (cm)	EF (%)
DAY20	--	赋形剂	15	0.903±0.06	0.762±0.08	37.1±8.27
	15	NRG	18	0.908±0.05	0.750±0.08	40.6±9.15
	7.5	NRG	16	0.924±0.05	0.756±0.08	41.9±15.17
	3.75	NRG	13	0.937±0.06	0.777±0.08	39.7±10.84
DAY40	--	赋形剂	15	0.953±0.06	0.807±0.09	36.4±10.24
	15	NRG	18	0.946±0.08	0.775±0.11	42.2±11.27
	7.5	NRG	16	0.946±0.08	0.782±0.12	40.5±13.39
	3.75	NRG	13	0.982±0.09	0.813±0.13	40.4±12.86
DAY60	--	赋形剂	15	0.971±0.07	0.832±0.08	34.6±7.00
	15	NRG	18	0.975±0.07	0.794±0.10	42.9±11.32
	7.5	NRG	16	0.965±0.07	0.808±0.11	38.4±12.17
	3.75	NRG	13	0.994±0.08	0.839±0.12	37.0±12.23

7. 结论

重组人纽兰格林治疗 60 天后，与空白对照组相比，NRG 5ug/kg, 2.5ug/kg, 1.25ug/kg 每天三次皮下注射治疗组 EF 值改善，3 个剂量具有一定的量效关系。

实施例 2：重组人纽兰格林（rhNRG）不同给药频率皮下长时间给药对大鼠急性心梗的治疗作用

1. 实验目的

在左侧冠脉结扎致心梗大鼠模型上，探索相同剂量，不同频率下长时间皮下给予重组人纽兰格林（rhNRG）对急性心梗大鼠的治疗作用。

2. 受试药物

2.1 赋形剂：上海泽生科技开发股份有限公司研制

2.2 重组人纽兰格林（NRG）成品：上海泽生科技开发股份有限公司研制

3. 实验动物

3.1 品系、来源：Wistar 大鼠，由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供

3.2 性别、体重、合格证：雄性，200~270g

4. 实验材料与设备

同实施例 1 中 4. 实验材料与设备

5. 实验方法

5.1 大鼠冠状动脉结扎致心力衰竭模型的建立

同实施例 1 中 5.1 大鼠冠状动脉结扎致心力衰竭模型的建立

5.2 实验分组与给药

表 3 实验动物分组及给药安排

组别	给药剂量	给药途径	给药频率及周期
对照组	--	皮下注射	3 次/天×35 天
NRG/30μg/kg/Day	30μg/kg/天	皮下注射	3 次/天×35 天
NRG/30μg/kg/BIW	30μg/kg/天	皮下注射	3 次/天, 2 天/周×5 周
NRG/30μg/kg/Day*7+QW	30μg/kg/天	皮下注射	3 次/天×7 天
	+30μg/kg/7 天		1 次/天, 1 天/周×4 周

三批动物均是心脏冠脉结扎后立即随机分组给药。大鼠根据结扎存活情况按体重随机分成 4 组：赋形剂组（对照组），NRG 30μg/kg/Day 组，NRG 30μg/kg/BIW 组，NRG 30μg/kg/Day*7+QW 组。动物心梗造模后第二天开始给药，前三组及第四组的前 7 天，与给药当天均采用皮下注射 3 次，称量动物体重 1 次，根据动物的体重进行给药，给药剂量是

30μg/kg/天，第四组的后面四周每周给药 1 天，给药当天采用单针注射 30μg/kg 的 NRG。

5.3 观测指标

5.3.1 心脏功能检测

通过气体麻醉机用 4%异氟烷麻醉大鼠后，左侧卧位固定在手术板上。将大鼠头部固定在气体麻醉机的呼吸面罩内，异氟烷维持麻醉。胸部去毛，用 75%酒精消毒后，涂抹耦合剂，用大鼠心超探头检测大鼠左心室回声信号。测量舒张末期及收缩末期左心室内径(D)，计算左心室舒张末期及收缩末期容积 EDV、ESV，并计算出射血分数 (Ejection Fraction, EF) 值，EF=(EDV-ESV) /EDV*100%。心梗造模后第 1、2、3 及 5 周分别心超检测大鼠的心功能。

5.3.2 数据处理

所有实验数据用 ±SD 表示。

6. 实验结果

6.1 心超结果

NRG 连续给药 35 天心超检测，对照组组的 LVEDd、LVEDs、EF 值分别为 0.925±0.084 cm、0.756±0.107cm、42.5±10.174%；NRG/30μg/kg/Day 组为 0.879±0.058cm、0.694±0.077cm、47.9±8.342%；NRG/30μg/kg/BIW 组为 0.928±0.084cm、0.746±0.110cm、45.2±10.248%；NRG/30μg/kg/Day*7+QW 组为 0.931±0.070cm、0.760±0.097cm、42.7±9.892%。

NRG 连续给药 35 天从 LVEDd、LVEDs 数据看，NRG/30μg/kg/Day 能明显缩小左心室舒张及收缩末期的内径；从 EF 值数据看，NRG/30μg/kg/Day 组与对照组相比明显升高；NRG/30μg/kg/BIW 组与对照组相比呈升高趋势；NRG/30μg/kg/Day*7+QW 组与对照组相比在前 7 天连续给药时，对心功能有一定的改善作用，与空白组相比呈升高趋势，之后每 7 天一针的维持效果一般。结果详见表 4，图 2。

表 4 NRG 不同给药频率皮下长时间给药治疗大鼠心梗药效实验心超结果 (x̄ ± SD)

时间	组别	动物数	LVEDd (cm)	LVEDs (cm)	EF (%)
DAY8	对照组	52	0.800±0.060	0.629±0.074	48.6±7.992
	NRG/30ug/kg/Day	48	0.785±0.046	0.601±0.063	52.2±7.802
	NRG/30ug/kg BIW	48	0.809±0.045	0.625±0.068	50.9±8.958
	NRG/30ug/kg Day*7+QW	50	0.785±0.045	0.607±0.061	50.9±7.337
DAY15	对照组	50	0.863±0.058	0.696±0.081	44.6±9.297
	NRG/30ug/kg/Day	47	0.832±0.054	0.646±0.075	50.3±8.49
	NRG/30ug/kg BIW	48	0.856±0.065	0.671±0.091	48.9±9.893
	NRG/30ug/kg Day*7+QW	50	0.864±0.054	0.686±0.074	47.1±8.344
DAY22	对照组	50	0.898±0.070	0.728±0.090	43.8±8.854
	NRG/30ug/kg/Day	46	0.859±0.057	0.670±0.069	49.5±7.897
	NRG/30ug/kg BIW	48	0.896±0.074	0.711±0.102	47.1±10.427
	NRG/30ug/kg Day*7+QW	50	0.905±0.062	0.729±0.08	44.7±8.434
	对照组	50	0.925±0.084	0.756±0.107	42.5±10.174

DAY36	NRG/30ug/kg/Day	46	0.879±0.058	0.694±0.077	47.9±8.342
	NRG/30ug/kg BIW	48	0.928±0.084	0.746±0.110	45.2±10.248
	NRG/30ug/kg Day*7+QW	50	0.931±0.070	0.76±0.097	42.7±9.892

实施例 3：重组人组兰格林（rhNRG）皮下长时间给药后降低给药频率撤药对大鼠急性心梗的治疗作用

1. 实验目的

在左侧冠脉结扎致心梗大鼠模型上，观察下长时间给予重组人组兰格林（rhNRG）后降低给药频率撤药对急性心梗大鼠的治疗作用。

2. 受试药物

2.1 赋形剂：上海泽生科技开发股份有限公司研制

2.2 重组人组兰格林（NRG）成品：上海泽生科技开发股份有限公司研制

3. 实验动物

3.1 品系、来源：Wistar 大鼠，由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供

3.2 性别、体重、合格证：雄性，200~270g

4. 实验材料与设备

同实施例 1 中 4. 实验材料与设备

5. 实验方法

5.1 大鼠冠状动脉结扎致心力衰竭模型的建立

同实施例 1 中 5.1 大鼠冠状动脉结扎致心力衰竭模型的建立

5.2 实验分组及给药

心脏冠脉结扎后立即随机分组给药。大鼠根据结扎存活情况随机依次分成 2 组，赋形剂组和 NRG 30 μ g/kg 组，赋形剂组 19 只，NRG 治疗组 18 只，造模以后第二天开始进行每天连续给药，每天皮下给药 3 次，给药剂量 10 μ g/kg/次，造模后 day14 心超检测。所有动物连续给药至 day38，NRG 给药组动物进行心超检测，根据心超检测结果将 NRG 治疗组动物平均分为两部分，一半继续给药，一半进行早期停药。赋形剂组继续给药。NRG 继续给药组在 day49 时进行连续 3 周的逐步停药计划，第 1 周每隔一天给一天药；第 2 周隔两天给一天药；第 3 周每隔三天皮下给一天药；给药方式仍然是每天皮下给药 3 次，与前面完全相同。NRG 停药组则进行临床症状观察。所有动物每周一次心超监测心功能变化。

5.3 观测指标

5.3.1 心脏功能检测

通过气体麻醉机用 4%异氟烷麻醉大鼠后，左侧卧位固定在手术板上。将大鼠头部固定在气体

麻醉机的呼吸面罩内，异氟烷维持麻醉。胸部去毛，用 75%酒精消毒后，涂抹耦合剂，用大鼠心超探头检测大鼠左心室回声信号。测量舒张末期及收缩末期左心室内径(D)，计算左心室舒张末期及收缩末期容积 EDV、ESV，并计算出射血分数 (Ejection Fraction, EF) 值， $EF = (EDV - ESV) / EDV * 100\%$ 。

5.3.2 数据处理

所有实验数据用 $\pm SD$ 表示，采用 GraphPad Prism 6 软件进行单因素方差分析， $P < 0.05$ 表明组间具有显著性差异， $P < 0.01$ 表明组间具有极显著性差异。

6. 实验结果

6.1 心超结果

NRG 连续给药 35 天心超检测，赋形剂组的 LVEDd、LVEDs、EF 值分别为 $0.988 \pm 0.08\text{cm}$ 、 $0.850 \pm 0.10\text{cm}$ 、 $33.6 \pm 11.36\%$ ，NRG 治疗组为 $0.953 \pm 0.05\text{cm}$ 、 $0.767 \pm 0.06\text{cm}$ 、 $44.9 \pm 6.09\%$ ，NRG 能显著缩小左心室舒张及收缩末期的内径，加强心脏的收缩功能，逆转左心室的重构过程；连续给药 49 天后赋形剂组的 LVEDd、LVEDs、EF 值分别为 $1.020 \pm 0.10\text{cm}$ 、 $0.881 \pm 0.15\text{cm}$ 、 33.1 ± 14.55 ，NRG 一半停药组分别为 $0.987 \pm 0.05\text{cm}$ 、 $0.807 \pm 0.06\text{cm}$ 、 $42.2 \pm 5.48\%$ ，NRG 继续给药组 $0.973 \pm 0.07\text{cm}$ 、 $0.783 \pm 0.08\text{cm}$ 、 $45.0 \pm 5.51\%$ ，说明 NRG 突然停药对大鼠的心功能产生了一定的影响；后续一半进行逐步停药计划，停药第二周心超检测，早期停药组 LVEDd、LVEDs、EF 值分别为 $1.043 \pm 0.06\text{cm}$ 、 0.887 ± 0.06 、 $35.4 \pm 6.78\%$ ；NRG 逐步停药组为 $0.989 \pm 0.07\text{cm}$ 、 0.814 ± 0.08 、 $41.3 \pm 4.92\%$ 与赋形剂组相比有显著性差异，停药第三周心超检测，早期停药组 LVEDd、LVEDs、EF 值分别为 $1.010 \pm 0.06\text{cm}$ 、 $0.842 \pm 0.06\text{cm}$ 、 $38.9 \pm 5.04\%$ ；NRG 逐步停药组为 $0.976 \pm 0.06\text{cm}$ 、 $0.805 \pm 0.07\text{cm}$ 、 $40.8 \pm 4.67\%$ 。与赋形剂组相比，NRG 逐步停药对大鼠心功能的影响得到了缓解。结果详见表 5、6，图 3。

表 5 NRG 皮下长时间给药治疗 35 天大鼠心梗药效实验心超结果 ($\bar{x} \pm SD$)

时间	剂量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	组别	动物数	LVEDd (cm)	LVEDs (cm)	EF (%)
DAY14	--	赋形剂	16	0.878 ± 0.05	0.740 ± 0.08	37.1 ± 11.11
	30	NRG	18	0.860 ± 0.04	0.694 ± 0.06	$44.5 \pm 7.85^*$
DAY21	--	赋形剂	16	0.941 ± 0.06	0.801 ± 0.09	35.4 ± 11.91
	30	NRG	18	0.905 ± 0.04	$0.725 \pm 0.06^*$	$45.5 \pm 7.96^{**}$
DAY28	--	赋形剂	16	0.961 ± 0.07	0.832 ± 0.11	32.4 ± 13.34
	30	NRG	18	0.928 ± 0.05	$0.749 \pm 0.06^{**}$	$44.3 \pm 6.95^{***}$
DAY35	--	赋形剂	16	0.988 ± 0.08	0.850 ± 0.10	33.6 ± 11.36
	30	NRG	18	0.953 ± 0.05	$0.767 \pm 0.06^{**}$	$44.9 \pm 6.09^{***}$

***: 治疗后各组与赋形剂组相比 $p < 0.001$;
 **: 治疗后各组与赋形剂组相比 $p < 0.01$;
 *: 治疗后各组与赋形剂组相比 $p < 0.05$

表 6 NRG 皮下长时间给药 38 天分组后大鼠心梗药效实验心超结果 ($\bar{x} \pm SD$)

时间	剂量 (μ g/kg)	组别	动物 数	LVEDd (cm)	LVEDs (cm)	EF (%)
DAY38	30	给药组	9	0.953±0.06	0.764±0.07	44.9±7.03
	--	停药组	9	0.952±0.05	0.767±0.07	44.7±6.26
DAY42	--	赋形剂	16	1.005±0.09	0.883±0.11	29.8±11.43
	30	给药组	8	0.948±0.04	0.755±0.04*	46.5±4.01***
DAY49	--	停药组	9	0.969±0.04	0.808±0.05	39.1±7.11*
	--	赋形剂	16	1.020±0.10	0.881±0.15	33.1±14.55
DAY56	30	给药组	8	0.973±0.07	0.783±0.08*	45.0±5.51**
	--	停药组	9	0.987±0.05	0.807±0.06	42.2±5.48*
DAY63	--	赋形剂	16	1.046±0.08	0.920±0.11	29.4±10.34
	30	给药组	8	1.008±0.06	0.843±0.06*	38.8±3.78*
DAY68	--	停药组	9	1.031±0.05	0.859±0.07	39.0±6.24*
	--	赋形剂	16	1.040±0.11	0.907±0.14	31.2±12.43
DAY74	30	给药组	8	0.989±0.07	0.814±0.08*	41.3±4.92*
	--	停药组	9	1.043±0.06	0.887±0.06	35.4±6.78
DAY74	--	赋形剂	16	1.036±0.10	0.905±0.12	30.9±9.23
	30	给药组	8	0.976±0.06	0.805±0.07	40.8±4.67*
DAY74	--	停药组	9	1.010±0.06	0.842±0.06	38.9±5.04*
	--	赋形剂	16	1.043±0.11	0.920±0.12	29.1±9.63
DAY74	30	给药组	8	1.004±0.05	0.842±0.05*	38.0±3.81*
	--	停药组	9	1.060±0.05	0.905±0.05	34.6±7.55

***: 治疗后各组与赋形剂组相比 $p < 0.001$;**: 治疗后各组与赋形剂组相比 $p < 0.01$ *: 治疗后各组与赋形剂组相比 $p < 0.05$

7. 结论

重组人纽兰格林皮下长时间给药后降低给药频率撤药能够改善对心肌梗死后大鼠的心脏功能并减轻其心脏重构。

实施例 4: 重组人纽兰格林 (rhNRG) 皮下长时间给药后降低给药剂量撤药对大鼠急性心梗的治疗作用

1. 实验目的

在左侧冠脉结扎致心梗大鼠模型上, 观察下长时间给予重组人纽兰格林 (rhNRG) 后降低给药剂量撤药对急性心梗大鼠的治疗作用。

2. 受试药物

2.1 赋形剂: 上海泽生科技开发股份有限公司研制

2.2 重组人纽兰格林 (NRG) 成品: 上海泽生科技开发股份有限公司研制

3. 实验动物

3.1 品系、来源: Wistar 大鼠, 由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供

3.2 性别、体重、合格证: 雄性, 200~270g

4. 实验材料与设备

同实施例 1 中 4. 实验材料与设备

5. 实验方法

5.1 大鼠冠状动脉结扎致心力衰竭模型的建立

同实施例 1 中 5.1 大鼠冠状动脉结扎致心力衰竭模型的建立

5.2 实验分组及给药

5.3 观测指标

心脏冠脉结扎后立即随机分组给药。大鼠根据结扎存活情况按体重均值随机分成 2 组，每天皮下注射 3 次，称量动物体重 1 次，根据动物的体重进行给药，造模后 Day10 开始心超检测，所有动物每 10 天进行一次心超检测，降剂量后每周进行一次心超检测，完全停药后每 2 周进行一次心超检测。所有动物连续给药到 Day60，进行三周剂量递减的停药计划，第一周降剂量给药剂量是 $15 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，第二周降剂量给药剂量是 $7.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，第三周降剂量给药剂量是 $3.75 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，进行三周的给药剂量递减后，停止给药观察临床症状。

5.3.1 心脏功能检测

通过气体麻醉机用 4%异氟烷麻醉大鼠后，左侧卧位固定在手术板上。将大鼠头部固定在气体麻醉机的呼吸面罩内，异氟烷维持麻醉。胸部去毛，用 75%酒精消毒后，涂抹耦合剂，用大鼠心超探头检测大鼠左心室回声信号。测量舒张末期及收缩末期左室内径(D)，计算左心室舒张末期及收缩末期容积 EDV、ESV，并计算出射血分数 (Ejection Fraction, EF) 值， $EF = (EDV - ESV) / EDV * 100\%$ 。

5.3.2 数据处理

所有实验数据用 $\pm SD$ 表示，采用 GraphPad Prism 6 软件进行单因素方差分析， $P < 0.05$ 表明组间具有显著性差异， $P < 0.01$ 表明组间具有极显著性差异。

6. 实验结果

6.1 心超结果

NRG 连续给药 60 天心超检测，赋形剂组的 LVEDd、LVEDs、EF 值分别为 $1.048 \pm 0.07\text{cm}$ 、 $0.910 \pm 0.09\text{cm}$ 、 $32.1 \pm 6.6\%$ ，NRG $30\mu\text{g}/\text{kg}/\text{Day}$ 治疗组为 $0.981 \pm 0.08\text{cm}$ 、 $0.794 \pm 0.08\text{cm}$ 、 $43.8 \pm 8.0\%$ 。从 LVEDd、LVEDs 数据看，NRG 每天给药组可明显缩小左心室舒张及收缩末期的内径，与空白对照组相比有极显著性 ($p < 0.001$)。从 EF 值数据看，连续给药 60 天 NRG 治疗组 EF 值明显升高，与空白组相比有极显著性差异， $P < 0.001$ 。60 天后进行频率不变，剂量递减的治疗，第三周心超检测空白对照组的 LVEDd、LVEDs、EF 值分别为 $1.038 \pm 0.07\text{cm}$ 、 $0.899 \pm 0.10\text{cm}$ 、 32.4 ± 9.5 ，NRG/ $30\mu\text{g}/\text{kg}/\text{Day}$ 组为 $0.981 \pm 0.08\text{cm}$ 、 0.799 ± 0.08 、 $42.3 \pm 11.2\%$ ；降剂量三周结束后进行停药观察，停药第一周心超检测，空白对照组 LVEDd、LVEDs、EF 值分别为 $1.065 \pm 0.07\text{cm}$ 、 0.942 ± 0.10 、 $28.3 \pm 9.4\%$ ；NRG/ $30\mu\text{g}/\text{kg}/\text{Day}$ 组为 $0.994 \pm 0.08\text{cm}$ 、

0.826±0.10、39.3±12.7%；直到停药后第九周心超检测，空白对照组 LVEDd、LVEDs、EF 值分别为 1.137±0.08cm、1.006±0.08、28.0±5.7%；NRG/30μg/kg/Day 组为 1.104±0.08cm、0.950±0.09、33.4±7.6%，停药九周后 NRG 每天给药组 LVEDd、LVEDs 与空白组相比仍有显著性差异；EF 值与空白组相比有仍有增高的趋势。结果详见表 7, 8, 9 及图 4。

7. 结论

重组人组兰格林（rhNRG）相同剂量，不同频率对心梗大鼠在连续给药期间都有一定的治疗作用, 挽救急性心肌梗死大鼠心脏功能和改善心室重构，减缓心梗后心衰的进展，停药后很长时间对心梗大鼠的心功能仍然具有显著的改善作用。

表 7、NRG 皮下长时间给药治疗 60 天大鼠心梗药效实验心超结果（ $\bar{x} \pm SD$ ）

时间	剂量 (μg/kg)	组别	动物 数	LVEDd (cm)	LVEDs (cm)	EF (%)
DAY10	--	赋形剂	17	0.840±0.04	0.683±0.05	43.5±6.77
	30	NRG/Day	15	0.821±0.05	0.637±0.06	50.5±4.96*
DAY30	--	赋形剂	16	0.940±0.05	0.805±0.06	34.4±6.82
	30	NRG/Day	14	0.912±0.06	0.725±0.07*	46.8±6.37***
DAY50	--	赋形剂	16	0.995±0.06	0.869±0.08	30.9±7.75
	30	NRG/Day	14	0.934±0.07*	0.754±0.09***	44.4±7.85***
DAY60	--	赋形剂	16	1.048±0.07	0.910±0.09	32.1±6.61
	30	NRG/Day	14	0.981±0.08**	0.794±0.08***	43.8±8.04***

***：治疗后各组与赋形剂组相比 p<0.001；

**：治疗后各组与赋形剂组相比 p<0.01

*：治疗后各组与赋形剂组相比 p<0.05

表 8、NRG 皮下长时间给药 60 天降剂量后三周大鼠心梗药效实验心超结果（ $\bar{x} \pm SD$ ）

时间	剂量 (μg/kg)	组别	动物 数	LVEDd (cm)	LVEDs (cm)	EF (%)
DAY81	--	赋形剂	16	1.038±0.07	0.899±0.10	32.4±9.51
	30	NRG/Day	14	0.981±0.07**	0.799±0.08***	42.3±11.20**

***：治疗后各组与赋形剂组相比 p<0.001；

**：治疗后各组与赋形剂组相比 p<0.01

*：治疗后各组与赋形剂组相比 p<0.05

表 9、NRG 皮下长时间给药治疗 81 天停药后大鼠心梗药效实验心超结果（ $\bar{x} \pm SD$ ）

时间	剂量 (μg/kg)	组别	动物 数	LVEDd (cm)	LVEDs (cm)	EF (%)
DAY88	--	赋形剂	17	1.065±0.07	0.942±0.10	28.3±9.40
	30	NRG/Day	15	0.994±0.08**	0.826±0.10***	39.3±12.71***
DAY102	--	赋形剂	16	1.072±0.09	0.946±0.13	29.0±11.41
	30	NRG/Day	14	1.031±0.07*	0.872±0.08*	36.6±7.69**
DAY116	--	赋形剂	16	1.107±0.08	0.985±0.12	27.2±9.67
	30	NRG/Day	14	1.054±0.07	0.908±0.08**	33.3±5.12*
DAY143	--	赋形剂	14	1.137±0.08	1.006±0.08	28.0±5.70
	30	NRG/Day	14	1.104±0.08	0.950±0.09	33.4±7.60

***：治疗后各组与赋形剂组相比 p<0.001；

**：治疗后各组与赋形剂组相比 p<0.01

*：治疗后各组与赋形剂组相比 p<0.05

权 利 要 求 书

1. 神经调节蛋白或其功能片断在制备药物中的应用，该药物用来预防、治疗或延迟哺乳动物的心肌损伤。
2. 权利要求 1 所述的应用，其中所述的 NRG 选自 NRG-1，NRG-2，NRG-3 或 NRG-4。
3. 权利要求 1 所述的应用，其中所述的 NRG 是 NRG-1。
4. 权利要求 1 所述的应用，包括给哺乳动物施用其它可用于预防、治疗或延缓心肌梗死损伤的药物或者治疗方法。
5. 权利要求 1 所述的应用，其中神经调节蛋白提高改善哺乳动物的心脏功能并减轻其心脏重构。
6. 权利要求 1 所述的应用，其中所述的哺乳动物是人。
7. 一种用于预防、治疗或延迟哺乳动物心肌损伤的组合物，其特征在于其含有有效剂量的 NRG 或功能片段。
8. 一种预防、治疗或延迟哺乳动物的心肌损伤的方法，该方法包含皮下注射剂量在大约 2.5ug/kg/day 至 50ug/kg/day 的范围内神经调节蛋白。
9. 一种预防、治疗或延迟哺乳动物的心肌损伤的方法，该方法包含每天被施用多次，连续施用多天的神经调节蛋白。
10. 根据权利要求 9 所述的方法，该神经调节蛋白每天被施用多次，连续施用多天，后续缓慢撤药。

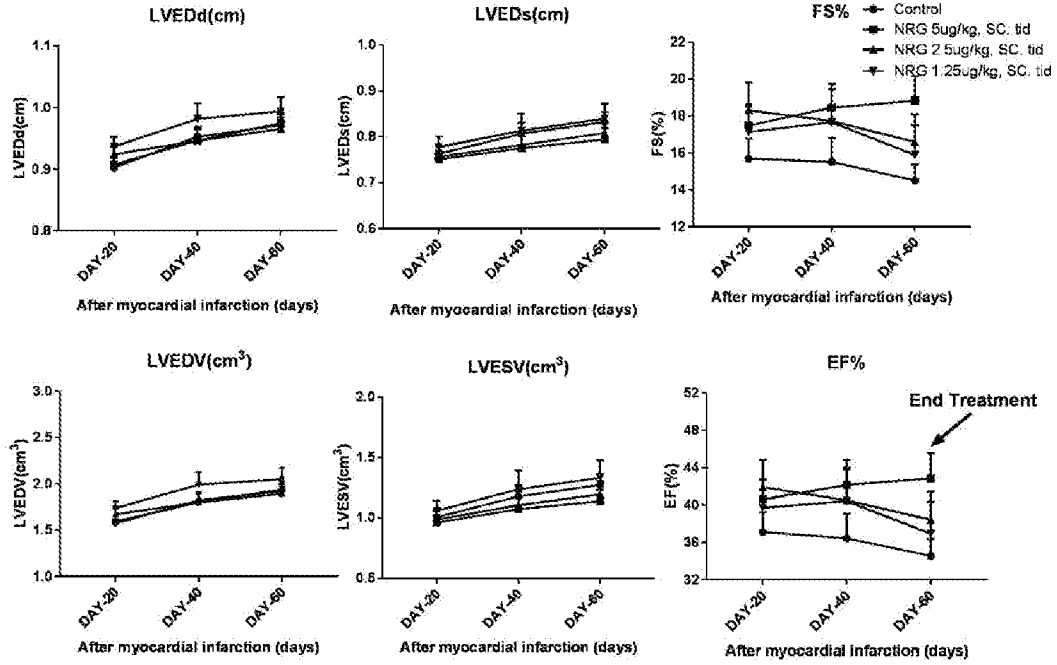


图 1 NRG 不同剂量皮下长时间给药治疗大鼠急性心梗药效实验心超结果

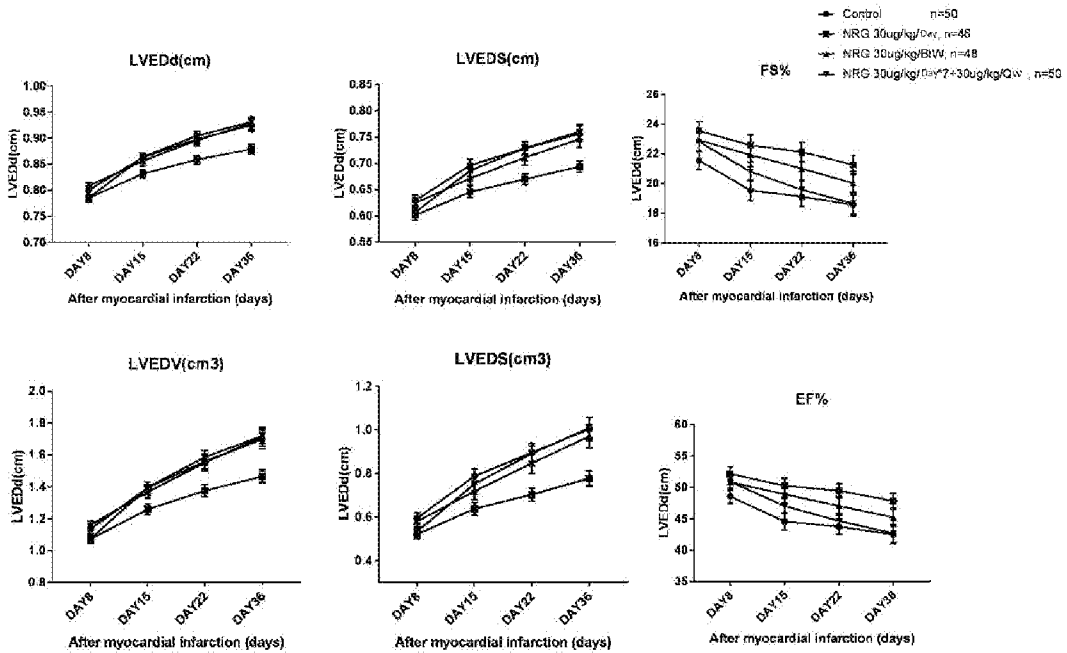


图 2 NRG 不同频率皮下长时间给药治疗大鼠急性心梗药效实验心超结果

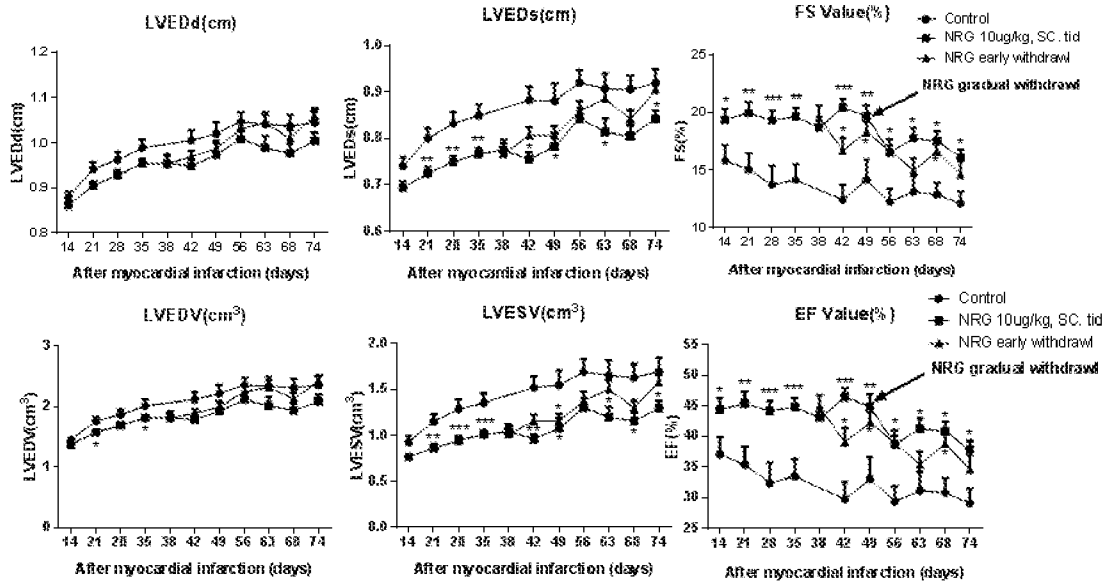


图 3 NRG 皮下长时间给药后降低给药频率撤药对大鼠急性心梗的治疗作用

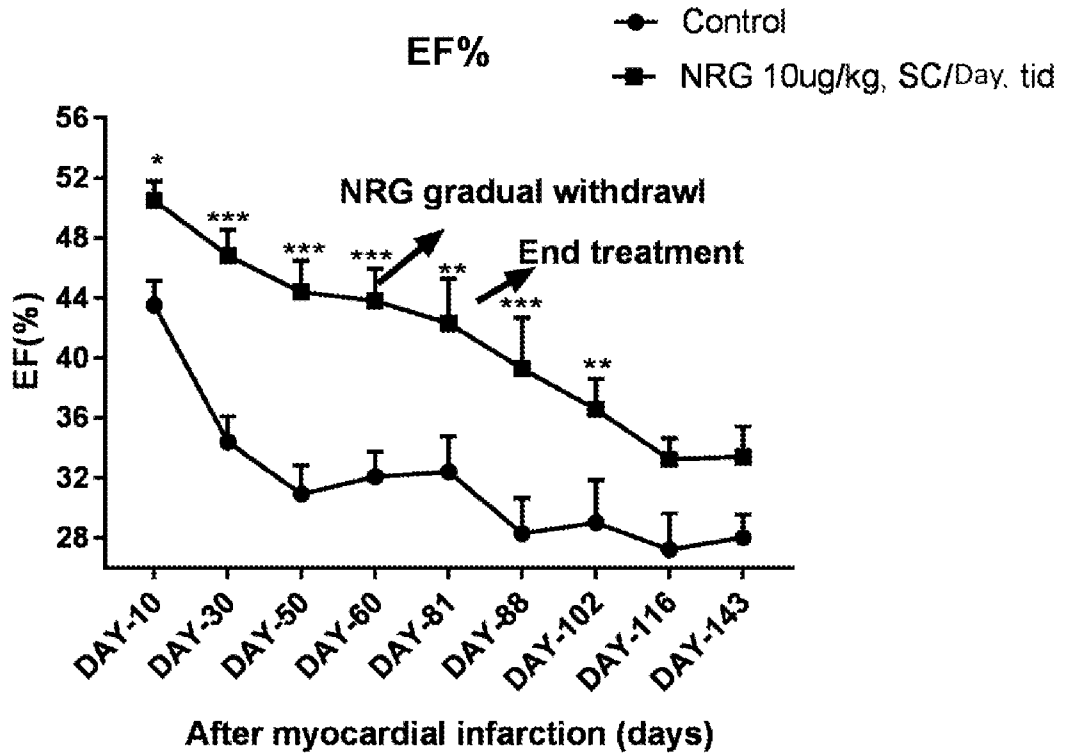


图 4 NRG 皮下长时间给药后降低给药剂量撤药对大鼠急性心梗的治疗作用

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/070299

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 38/18(2006.01)i; A61P 9/10(2006.01)i; A61K 38/17(2006.01)i; A61K 31/713(2006.01)i; C12N 15/113(2010.01)i; A61K 45/06(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K; A61P; C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, CNKI, CNTXT, WOTXT, USTXT, EPTXT, JPTXT, PubMed, ISI web of knowledge, google scholar: 神经调节蛋白, 功能片断, 心肌损伤, 心肌梗死损伤, 心脏重构, neuregulin, prevent, treat, delay, cardiac injuries, human, infarction

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 1498656 A (ZESHENG SCI-TECH CO., LTD., SHANGHAI) 26 May 2004 (2004-05-26) the abstract, claims 1-33, description, page 8, line 16 to page 14, line 33	1-10
PX	CN 110167564 A (AGENCY FOR SCIENCE TECHNOLOGY AND RESEARCH, SINGAPORE et al.) 23 August 2019 (2019-08-23) the abstract, and claims 1-11	1-10
X	CN 102139095 A (ZENSUN (SHANGHAI) SCIENCE & TECHNOLOGY CO., LTD.) 03 August 2011 (2011-08-03) the abstract, claims 1-13, and embodiment 1	1-10
X	CN 101491670 A (ZENSUN (SHANGHAI) SCIENCE & TECHNOLOGY LTD.) 29 July 2009 (2009-07-29) claims 1 and 8, and description, page 7, paragraphs 2-5	1-10
X	WO 2017053794 A1 (SAWYER, DOUGLAS, B.) 30 March 2017 (2017-03-30) the abstract, and claims 1-49	1-10
X	CN 102245189 A (AMORCYTE INC.) 16 November 2011 (2011-11-16) claims 1-13	1-10

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 March 2020

Date of mailing of the international search report

02 April 2020

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing
100088
China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/070299

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: **8-10**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
 - [1] Claims 8-10 relate to methods of treatment or diagnosis of the living human or animal body, and therefore do not warrant an international search according to the criteria set out in PCT Rule 39.1(iv). The report is made on the basis of a search for “neuromodulin or the functional fragments thereof in the preparation of a medicine for the prevention, treatment or delay of the myocardial damage in mammals”.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/070299

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	1498656	A	26 May 2004	None			
CN	110167564	A	23 August 2019	US	2019256846	A1	22 August 2019
				WO	2018052374	A1	22 March 2018
				EP	3512528	A1	24 July 2019
				SG	11201811768 W	A	30 January 2019
CN	102139095	A	03 August 2011	JP	2013518066	A	20 May 2013
				US	2013078235	A1	28 March 2013
				EP	2528616	B1	27 September 2017
				EP	2528616	A4	17 July 2013
				CN	102869370	A	09 January 2013
				EP	2528616	A1	05 December 2012
				JP	5905833	B2	20 April 2016
				WO	2011091723	A1	04 August 2011
CN	101491670	A	29 July 2009	ES	2627547	T3	28 July 2017
				JP	2014094951	A	22 May 2014
				US	2017360889	A1	21 December 2017
				JP	2005532332	A	27 October 2005
				US	7795212	B2	14 September 2010
				CN	1655804	A	17 August 2005
				WO	03099321	A1	04 December 2003
				EP	1553960	B1	22 March 2017
				EP	2606901	A1	26 June 2013
				JP	2018052957	A	05 April 2018
				WO	03099320	A1	04 December 2003
				AU	2003238336	A1	12 December 2003
				CN	101007027	A	01 August 2007
				US	8785387	B2	22 July 2014
				US	2015065418	A1	05 March 2015
				JP	2016166172	A	15 September 2016
				US	9555076	B2	31 January 2017
				CN	100522997	C	05 August 2009
				US	2011135595	A1	09 June 2011
				WO	03099300	A1	04 December 2003
				JP	6603149	B2	06 November 2019
				EP	1553960	A4	22 July 2009
				CA	2487112	A1	04 December 2003
				AU	2002336030	A1	12 December 2003
				AU	2003238336	B2	16 July 2009
				CA	2487112	C	04 July 2017
				CN	1935254	A	28 March 2007
				JP	5809789	B2	11 November 2015
				EP	1553960	A1	20 July 2005
				JP	5964868	B2	03 August 2016
				CN	1935254	B	29 September 2010
				US	2006019888	A1	26 January 2006
				JP	2011037873	A	24 February 2011
				AU	2002304965	A1	12 December 2003
				CN	101491670	B	18 January 2012
WO	2017053794	A1	30 March 2017	US	2018296642	A1	18 October 2018
				CN	108474787	A	31 August 2018

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/070299

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
				EP	3353546	A1	01 August 2018
				JP	2018533922	A	22 November 2018
				CA	2999301	A1	30 March 2017
				AU	2016327974	A1	12 April 2018
				IL	258197	D0	31 May 2018
				MX	2018003780	A	28 September 2018
CN	102245189	A	16 November 2011	RU	2013136170	A	10 February 2015
				US	2010143317	A1	10 June 2010
				RU	2550959	C2	20 May 2015
				US	9034316	B2	19 May 2015
				EP	2367432	A4	02 May 2012
				RU	2011127184	A	10 January 2013
				JP	5705127	B2	22 April 2015
				CA	2743255	A1	10 June 2010
				ES	2640587	T3	03 November 2017
				CA	2743255	C	18 February 2014
				WO	2010065601	A1	10 June 2010
				EP	2367432	A1	28 September 2011
				ZA	201104059	B	29 February 2012
				JP	2012510521	A	10 May 2012
				RU	2497532	C2	10 November 2013
				CN	102245189	B	17 June 2015
				BR	PI0920976	A2	18 August 2015
				JP	2013166803	A	29 August 2013
				EP	2367432	B1	30 August 2017
				HK	1163542	A1	22 January 2016

A. 主题的分类 A61K 38/18(2006.01)i; A61P 9/10(2006.01)i; A61K 38/17(2006.01)i; A61K 31/713(2006.01)i; C12N 15/113(2010.01)i; A61K 45/06(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) A61K; A61P; C12N 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) CNABS, CNKI, CNTXT, WOTXT, USTXT, EPTXT, JPTXT, PubMed, ISI web of knowledge, google scholar:神经调节蛋白, 功能片断, 心肌损伤, 心肌梗死损伤, 心脏重构, neuregulin, prevent, treat, delay, cardiac injuries, human, infarction		
C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 1498656 A (上海泽生科技开发有限公司) 2004年 5月 26日 (2004 - 05 - 26) 摘要, 权利要求1-33, 说明书第8页第16行-第14页第33行	1-10
PX	CN 110167564 A (新加坡科技研究局 等) 2019年 8月 23日 (2019 - 08 - 23) 摘要, 权利要求1-11	1-10
X	CN 102139095 A (上海泽生科技开发有限公司) 2011年 8月 3日 (2011 - 08 - 03) 摘要, 权利要求1-13, 实施例1	1-10
X	CN 101491670 A (上海泽生科技开发有限公司) 2009年 7月 29日 (2009 - 07 - 29) 权利要求1、8, 说明书第7页第2-5段	1-10
X	WO 2017053794 A1 (SAWYER, DOUGLAS, B.) 2017年 3月 30日 (2017 - 03 - 30) 摘要, 权利要求1-49	1-10
X	CN 102245189 A (阿莫塞特公司) 2011年 11月 16日 (2011 - 11 - 16) 权利要求1-13	1-10
<input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。		
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期	
2020年 3月 12日	2020年 4月 2日	
ISA/CN的名称和邮寄地址	授权官员	
中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451	吕健 电话号码 86-(10)-53962098	

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. 权利要求： 8-10
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：
[1] 权利要求8-10涉及对有生命的人体或动物体的治疗或诊断方法，属于PCT细则39.1(IV)中所列的无需进行国际检索的情形。本报告基于“神经调节蛋白或其功能片断制备预防、治疗或延迟哺乳动物的心肌损伤的药物”进行检索。
2. 权利要求：
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：
3. 权利要求：
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/070299

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	1498656	A	2004年 5月 26日	无			
CN	110167564	A	2019年 8月 23日	US	2019256846	A1	2019年 8月 22日
				WO	2018052374	A1	2018年 3月 22日
				EP	3512528	A1	2019年 7月 24日
				SG	11201811768W	A	2019年 1月 30日
CN	102139095	A	2011年 8月 3日	JP	2013518066	A	2013年 5月 20日
				US	2013078235	A1	2013年 3月 28日
				EP	2528616	B1	2017年 9月 27日
				EP	2528616	A4	2013年 7月 17日
				CN	102869370	A	2013年 1月 9日
				EP	2528616	A1	2012年 12月 5日
				JP	5905833	B2	2016年 4月 20日
				WO	2011091723	A1	2011年 8月 4日
CN	101491670	A	2009年 7月 29日	ES	2627547	T3	2017年 7月 28日
				JP	2014094951	A	2014年 5月 22日
				US	2017360889	A1	2017年 12月 21日
				JP	2005532332	A	2005年 10月 27日
				US	7795212	B2	2010年 9月 14日
				CN	1655804	A	2005年 8月 17日
				WO	03099321	A1	2003年 12月 4日
				EP	1553960	B1	2017年 3月 22日
				EP	2606901	A1	2013年 6月 26日
				JP	2018052957	A	2018年 4月 5日
				WO	03099320	A1	2003年 12月 4日
				AU	2003238336	A1	2003年 12月 12日
				CN	101007027	A	2007年 8月 1日
				US	8785387	B2	2014年 7月 22日
				US	2015065418	A1	2015年 3月 5日
				JP	2016166172	A	2016年 9月 15日
				US	9555076	B2	2017年 1月 31日
				CN	100522997	C	2009年 8月 5日
				US	2011135595	A1	2011年 6月 9日
				WO	03099300	A1	2003年 12月 4日
				JP	6603149	B2	2019年 11月 6日
				EP	1553960	A4	2009年 7月 22日
				CA	2487112	A1	2003年 12月 4日
				AU	2002336030	A1	2003年 12月 12日
				AU	2003238336	B2	2009年 7月 16日
				CA	2487112	C	2017年 7月 4日
				CN	1935254	A	2007年 3月 28日
				JP	5809789	B2	2015年 11月 11日
				EP	1553960	A1	2005年 7月 20日
				JP	5964868	B2	2016年 8月 3日
				CN	1935254	B	2010年 9月 29日
				US	2006019888	A1	2006年 1月 26日
				JP	2011037873	A	2011年 2月 24日
				AU	2002304965	A1	2003年 12月 12日
				CN	101491670	B	2012年 1月 18日
WO	2017053794	A1	2017年 3月 30日	US	2018296642	A1	2018年 10月 18日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/070299

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
		CN 108474787 A	2018年 8月 31日
		EP 3353546 A1	2018年 8月 1日
		JP 2018533922 A	2018年 11月 22日
		CA 2999301 A1	2017年 3月 30日
		AU 2016327974 A1	2018年 4月 12日
		IL 258197 D0	2018年 5月 31日
		MX 2018003780 A	2018年 9月 28日
CN 102245189 A	2011年 11月 16日	RU 2013136170 A	2015年 2月 10日
		US 2010143317 A1	2010年 6月 10日
		RU 2550959 C2	2015年 5月 20日
		US 9034316 B2	2015年 5月 19日
		EP 2367432 A4	2012年 5月 2日
		RU 2011127184 A	2013年 1月 10日
		JP 5705127 B2	2015年 4月 22日
		CA 2743255 A1	2010年 6月 10日
		ES 2640587 T3	2017年 11月 3日
		CA 2743255 C	2014年 2月 18日
		WO 2010065601 A1	2010年 6月 10日
		EP 2367432 A1	2011年 9月 28日
		ZA 201104059 B	2012年 2月 29日
		JP 2012510521 A	2012年 5月 10日
		RU 2497532 C2	2013年 11月 10日
		CN 102245189 B	2015年 6月 17日
		BR PI0920976 A2	2015年 8月 18日
		JP 2013166803 A	2013年 8月 29日
		EP 2367432 B1	2017年 8月 30日
		HK 1163542 A1	2016年 1月 22日