

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>

A61K 31/47

A61K 38/00 A61K 31/715



# [12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 98810036.3

[45] 授权公告日 2004 年 6 月 23 日

[11] 授权公告号 CN 1154492C

[22] 申请日 1998.10.9 [21] 申请号 98810036.3

[30] 优先权

[32] 1997.10.9 [33] US [31] 60/062,947

[86] 国际申请 PCT/US1998/021313 1998.10.9

[87] 国际公布 WO1999/018961 英 1999.4.22

[85] 进入国家阶段日期 2000.4.10

[71] 专利权人 贝克诺顿制药公司

地址 美国佛罗里达州

共同专利权人 美国由卫生部代表

[72] 发明人 加里·E·斯特赖克

莉莲·斯特赖克

肯尼思·H·科特赖特

审查员 曲 燕

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

代理人 过晓东

权利要求书 5 页 说明书 14 页 附图 6 页

[54] 发明名称 包含戊聚糖多硫酸酯的药物组合物及其应用

[57] 摘要

本发明涉及一种防止、降低或反转向哺乳动物患者给药环孢菌素或他克莫司时所导致的肾毒性或肾功能障碍的方法。该方法包括在环孢菌素或他克莫司给药之前、同时或之后共同给药包含有效量的戊聚糖多硫酸酯(PPS)或其药物学上可接受的盐的药物组合物。优选的给药途径是口服给药。PPS 或 PPS 盐的总每日剂量范围是 2-50mg/kg 患者体重或者在成人患者时每日为 140-3500mg。本发明还公开了向患者提供免疫抑制治疗并同时避免环孢菌素或他克莫司诱导的肾毒性的方法,以及在该治疗方法中使用的组合药物组合物。

ISSN 1008-4274

1、戊聚糖多硫酸酯或其药物学上可接受的盐在制备用于防止由于向哺乳动物患者给药环孢菌素或他克莫司所诱导的肾毒性或肾功能障碍的药物组合物中的应用。

2、如权利要求 1 所述的应用，其中，所述患者已接受环孢菌素或他克莫司治疗。

3、如权利要求 1 所述的应用，其中，所述患者将要接受环孢菌素或他克莫司治疗。

4、如权利要求 1 所述的应用，其中，在环孢菌素或他克莫司给药之前的 24 小时内、或与其同时进行、或者在其随后的 24 小时之内向患者给药 1 个剂量的包含戊聚糖多硫酸酯或戊聚糖多硫酸酯盐的药物组合物。

5、如权利要求 1 所述的应用，其中，所述环孢菌素或他克莫司是经口服或非胃肠道给药于患者。

6、如权利要求 1 所述的应用，其中，所述包含戊聚糖多硫酸酯或戊聚糖多硫酸酯盐的药物组合物是经口服或非胃肠道给药于患者。

7、如权利要求 1 所述的应用，其中，所述环孢菌素选自于由环孢菌素 A-Z 组成的组。

8、如权利要求 7 所述的应用，其中，所述环孢菌素是环孢菌素 A。

9、如权利要求 1 所述的应用，其中，向患者给药足够量的所述药物组合物，所产生的每日剂量总共为 2—50 mg/kg 患者体重或者 140—3500 mg 的 PPS 或其药物学上可接受的盐。

10、如权利要求 9 所述的应用，其中，所述每日剂量为 5—30 mg/kg 或者 350—2000 mg。

11、如权利要求 1 所述的应用，其中，所述药物组合物是口服给药剂型。

12、如权利要求 11 所述的应用，其中，所述剂型选自于以下组中：常规或缓释片剂、包衣片、胶囊、胶囊型片剂、锭剂、液体和甘香酒剂。

13、如权利要求 11 所述的应用，其中，所述剂型包括至少一种药物学上可接受的惰性成分。

14、如权利要求 13 所述的应用，其中，所述惰性成分是填料、粘结剂、溶剂、赋形剂或载体。

15、如权利要求 11 所述的应用，其中，所述剂型每单元包含 50—300 mg 的戊聚糖多硫酸酯或其药物学上可接受的盐。

16、如权利要求 14 所述的应用，其中，所述药物组合物为明胶胶囊剂型，包含戊聚糖多硫酸酯钠、微晶纤维素和硬脂酸镁。

17、如权利要求 1 所述的应用，其中，所述药物组合物为非胃肠道给药剂型。

18、如权利要求 1 所述的应用，其中，所述药物学上可接受的盐是钠盐。

19、如权利要求 1 所述的应用，其中，所述患者是人。

20、包含选自环孢菌素和他克莫司的免疫抑制剂和戊聚糖多硫酸酯或其药物学上可接受的盐的组合物在制备用于在需要免疫抑制治疗的哺乳动物患者中产生免疫抑制作用并同时防止或降低发生肾毒性或肾功能障碍的药物中的应用。

21、如权利要求 20 所述的应用，其中，所述环孢菌素选自于由环孢菌素 A-Z 组成的组。

22、如权利要求 21 所述的应用，其中，所述环孢菌素是环孢菌素 A。

23、如权利要求 20 所述的应用，其中，向患者给药足够量的所述药物，所产生的剂量为 2-50 mg/kg 患者体重或者 140-3500 mg 的戊聚糖多硫酸酯或其药物学上可接受的盐。

24、如权利要求 23 所述的应用，其中，所述剂量为 5-30 mg/kg 或者 350-2000 mg。

25、如权利要求 20 所述的应用，其中，所述药物是口服给药剂型。

26、如权利要求 20 所述的应用，其中，所述药物为非胃肠道给药剂型。

27、如权利要求 20 所述的应用，其中，所述药物学上可接受的盐是钠盐。

28、如权利要求 20 所述的应用，其中，所述患者是人。

29、一种药物组合物，其包含 25—250 mg 的免疫抑制剂和 50—500 mg 的戊聚糖多硫酸酯或其药物学上可接受的盐，所述免疫抑制剂为环孢菌素或他克莫司。

30、如权利要求 29 所述的组合物，其中，所述免疫抑制剂是环孢菌素。

31、如权利要求 30 所述的组合物，其中，所述环孢菌素选自于由环孢菌素 A—Z 组成的组中。

32、如权利要求 31 所述的组合物，其中，所述环孢菌素是环孢菌素 A。

33、如权利要求 29 所述的组合物，其是以口服剂型给药。

34、如权利要求 33 所述的组合物，其中，所述剂型选自于以下组中：常规或缓释片剂、包衣片、胶囊、胶囊型片剂、锭剂、液体和甘香酒剂。

35、如权利要求 33 所述的组合物，其中，所述剂型包括至少一种药物学上可接受的惰性成分。

36、如权利要求 35 所述的组合物，其中，所述惰性成分是填料、粘结剂、溶剂、赋形剂或载体。

37、如权利要求 29 所述的组合物，其是以非胃肠道剂型给药。

38、如权利要求 29 所述的组合物，其中，戊聚糖多硫酸酯之所述药物学上可接受的盐是钠盐。

## 包含戊聚糖多硫酸酯的药物组合物及其应用

### 相关申请的交叉参考

本申请要求于 1997 年 10 月 9 日申请的第 60/062,947 号临时申请的优先权。

### 技术领域

本发明涉及用于防止给药环孢菌素或他克莫司（tacrolimus）时导致的肾毒性的方法和药物组合物。

### 背景技术

环孢菌素是中性、亲脂性的环状十一肽，其分子量为约 1200。静脉或口服使用这些药物作为免疫抑制剂，以延长皮肤、骨髓、心脏、肾、胰腺以及其他器官的同种异体移植物的存活，还可用于治疗自体免疫疾病。

环孢菌素治疗的主要一种副作用是肾功能障碍和毒性，这增加了环孢菌素类药物的在临床应用上的限制。的确，尽管提高了 1 和 2 年肾移植的存活率，但是尸体肾移植物的平均半衰期为 8 年，其在第 1 年时还发挥作用，在其后 15 年中使用基于环孢菌素的免疫抑制作用几乎没有产生变化。环孢菌素类药物，特别是最经常使用的环孢菌素——环孢菌素 A（CyA），对长期肾结构和功能的副作用没有被排除是慢性同种异体移植物衰竭综合症的重要因素。见 Bennet 等人，Kidney Intl., 50: 1089-1100 (1996)。

人们已经确认 CyA 在实验动物和人中导致剂量相关的肾功能降低，这被认为是由于药物在产生输入小动脉血管收缩方面的作用，并最终降低肾小球过滤速率。但是，这些急性血液动力学作用在精确监控和给药患者时在很大程度上是可控的，其明显不是 CyA 给药时对肾脏的唯一副作用。不仅给药 CyA 以防止器官移植排斥反应的患者，而且具有自体免疫疾病的患者也表现出发展了由已剥落的管间隙纤维变性、管萎缩和输入动脉病组成的形态学损伤。CyA 肾病的标志是这些血管损伤，而它们不一定是剂量相关的，并可在一些接受 2-4 mg/kg 之低剂量的患者中观察到。见：Bennett 等人, *ibid.*; Pankewycz 等人, *Kidney Intl.*, 50: 1634-1640 (1996)。

现有技术中没有公开对长期给药治疗剂量的 CyA 和其他环孢菌素类物质并同时避免肾毒性的严重后果的有效技术。已有人提出钙拮抗剂可改变 CyA 的代谢，使得使用较低剂量就可达到足够的免疫抑制作用。还有人建议二氢吡啶钙通道阻断剂可在肾移植接受者中减慢间隙纤维变性的产生，不影响环孢菌素的代谢。但是还未确定这些疗法的益处，而且尚有长期使用钙拮抗剂或钙通道阻断剂所产生的副作用，即使这些药物可有效避免肾脏损伤，但上述副作用超过了其作为环孢菌素之辅助药物的实用性。

### 发明内容

本发明的目的是提供一种防止或显著降低向哺乳动物患者给药环孢菌素类药物时产生的肾毒性的方法。

本发明的另一个目的是提供如上所述的方法，其不仅使疾病过程停止，而且还可实际上反转该过程，并使疤痕损伤消退。

本发明的再一个目的是提供如上所述的方法，其能够使得向需要环

孢菌素治疗的患者给药相对较高的治疗有效剂量的环孢菌素类药物，并同时避免环孢菌素的肾毒性和肾病。

本发明的又一个目的是提供如上所述的方法，其使用市售无毒性而且不会产生严重副作用的药物。

对于以后将显而易见的上述和其他目的，本发明简言之是在于一种在接受环孢菌素治疗的哺乳动物患者中防止、降低或反转环孢菌素诱导的肾毒性和肾功能障碍的方法，所述方法包括向所述患者给药有效降低肾毒性的量的戊聚糖多硫酸酯（PPS）或者其药物学上可接受的盐。口服给药 PPS 是优选的给药方式。

在另一个方面，本发明是在于提供一种通过共同给药有效免疫抑制诱导量的环孢菌素和有效肾毒性降低量的 PPS 或其药物学上可接受的盐来治疗需要免疫抑制治疗的哺乳动物患者以防止同种异体移植排斥反应或者治疗自体免疫疾病的方法。另外，有效量的 PPS 可与 FK-506（Fujisawa，也称为他克莫司）共同给药，用于在器官移植患者、特别是肝移植患者中产生免疫抑制作用。

在又一个方面中，本发明提供戊聚糖多硫酸酯或其药物学上可接受的盐在制备用于防止由于向哺乳动物患者给药环孢菌素或他克莫司所诱导的肾毒性或肾功能障碍的药物组合物中的应用。

在另一个方面中，本发明提供包含选自环孢菌素和他克莫司的免疫抑制剂和戊聚糖多硫酸酯或其药物学上可接受的盐的组合物在制备用于在需要免疫抑制治疗的哺乳动物患者中产生免疫抑制作用并同时防止或降低发生肾毒性或肾功能障碍的药物中的应用。

在另一个方面中，本发明提供一种药物组合物，其包含 25—250 mg 的免疫抑制剂和 50—500 mg 的戊聚糖多硫酸酯或其药物学上可接受的盐，所述免疫抑制剂为环孢菌素或他克莫司。

### 附图说明

图 1A 是喂以低钠食物 2 周然后通过每日注射 CyA 治疗 45 天的鼠肾脏的显微照片。

图 1B 是喂以低钠食物 2 周然后通过每日注射 CyA 和 PPS (ELMIRON®) 治疗 45 天的鼠肾脏的显微照片。

图 2 是反映在分别相对于图 1A 和 1B 的鼠肾脏的形态测定检查时发现的间隙纤维变性 (以任意单位表示) 的定量比较的方块图。

图 3 是反映在分别相对于图 1A 和 1B 的鼠肾脏的形态测定检查时评估的小球体积的定量比较的方块图。

图 4A 是喂以低钠食物 2 周然后通过每日注射 CyA 治疗 15 天的鼠肾脏的显微照片。

图 4B 是喂以低钠食物 2 周然后通过每日注射 CyA 和 PPS (ELMIRON®) 治疗 15 天的鼠肾脏的显微照片。

图 5 是反映分别在相对于图 4A (对照) 和 4B (ELMIRON®) 的鼠肾脏以及未治疗组的鼠肾脏中估算的纤维蛋白样损伤数量的定量比较的方块图。

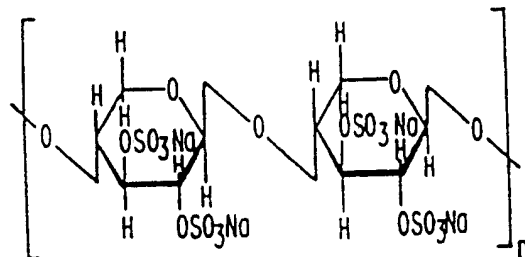
图 6A 是反映用管饲法给药在橄榄油中的 CyA 的大鼠组中在 24 小时的时间中测定的 CyA 血药浓度的方块图。

图 6B 是反映用管饲法给药在橄榄油中的 CyA 和在水中的 PPS (ELMIRON®) 的大鼠组中在 24 小时的时间中测定的 CyA 血药浓度的方块图。

## 具体实施方式

戊聚糖多硫酸酯（PPS）是一种高度硫酸酯化的、半合成的多糖，其分子量范围取决于分离方式是在约 1500—6000 道尔顿。PPS 与肝素和类肝素物质为相同的大类，但 PPS 和肝素之间在化学结构、衍生方法以及物理—化学性质方面有许多不同。肝素通常从哺乳动物组织如牛和猪肌肉、肝脏和肠中分离，而 PPS 则是半合成的化合物，其多糖骨架——木聚糖是从山毛榉树或其他植物的皮中提取出来的，然后用硫酸化剂如氯磺酸或磺酰三氯和酸处理。硫酸化后，PPS 通常用氢氧化钠处理，以形成钠盐。

PPS 的结构式如下所示：



如上所示，PPS 是（D）-木糖重复单体的硫酸化线性聚合物，木糖是一个 5-碳戊糖，为吡喃糖环的形式。肝素在右旋方向上旋转偏振光，而 PPS 在左旋方向上旋转偏振光。

根据生物性质，PPS 延长部分促凝血酶原激酶时间，并已用于防止深度静脉血栓形成，但其抗凝血效力仅为肝素的十五分之一（见 Wardle, *J. Int. Med. Res.*, 20: 361-370, 1992）。已有人公开使用 PPS 治疗尿道感染和间质性膀胱炎（第 5,180,715 号美国专利）；与血管抑制

(angiostatic) 甾体组合用于阻止血管形成以及毛细血管、细胞或膜的泄漏 (第 4,820,693 号美国专利); 以及治疗慢性、进行性血管疾病 (第 5,643,892 号美国专利), 包括肾脏的纤维变性疾病, 例如肾小球硬化症。

一些研究人员已证实 PPS 抑制平滑肌细胞增殖和降低高脂血症, 并在此基础上提出 PPS 可预防性地用于限制动脉粥样硬化斑块形成、抑制肾小球系膜细胞增殖以及防止胶原形成和肾小球硬化症 (Paul 等人, *Thromb. Res.*, 46: 793-80, 1987; Wardle, *ibid.*)。但是, 没有一位研究人员事前关注肾间隙或小血管 (与抑制细胞增殖相反) 或者证实对于停止和/或反转急性血管损伤和肾疤痕是可行的, 也就是说在此方面并没有考虑 PPS。再者, 现有技术中提出 PPS 在疤痕疾病中的可能应用都没有得到任何在完整动物中产生的基本上科学有效的数据支持, 而相反地仅是基于从动物组织中分离的细胞的体外研究。

虽然近来有人公开了 PPS 在抑制纤维化和疤痕形成中的应用 (参见例如: Roufa 等人, 第 5,605,938 号美国专利), 但这些文献仅涉及抑制皮肤和相关组织区域中的成纤维细胞侵入, 而不是平滑肌细胞和/或肾间隙的急性或慢性疤痕疾病, 它们在病因学和病理学方面是完全不同的。

在一个方面和实施方案中, 本发明涉及在接受环孢菌素或他克莫司治疗的哺乳动物患者中防止、降低或反转环孢菌素或他克莫司诱导的肾毒性的方法, 所述方法包括向所述患者给药有效降低肾毒性量的戊聚糖多硫酸酯 (PPS) 或其药物学上可接受的盐。在第二方面或实施方案中, 本发明涉及通过共同给药至少一种环孢菌素和有效降低肾毒

性量的 PPS 来治疗需要环孢菌素疗法的患者，即、需要免疫抑制作用以防止移植物排斥反应或治疗免疫疾病的患者。

环孢菌素类药物目前使用或者已公开认为在临床上可用于预防例如肾、肝、胰腺、骨髓和心脏之同种异体移植物中的器官排斥反应；治疗自体免疫疾病，例如类风湿性关节炎、全身性红斑狼疮、多发性硬化、重症肌无力、局限性回肠炎和原发性胆汁性肝硬变（见例如第 5,204,329 号美国专利）；以及免疫炎性皮肤病，例如牛皮癣、过敏性皮炎、接触性皮炎、湿疹性皮炎、皮质溢性皮炎、扁平苔藓、天疱疮、大疱性类天疱疮、大疱性表皮松解、荨麻疹、血管性水肿、脉管炎、红斑和皮肤嗜酸粒细胞增多（见例如第 5,286,730 号美国专利）。

根据本发明，已接受或将要接受环孢菌素疗法以治疗任何上述病症或者任何其他临床症状的哺乳动物患者可给药有效降低肾毒性量的 PPS 或其药物学上可接受的盐。在此所用术语“有效降低肾毒性量的”是指掺入在药物组合物中的 PPS 或其盐的量在预定的时间（该时间可在开始环孢菌素治疗之前、同时或之后进行）中每日给药 1 或更多次时可有效防止或大大消除给药环孢菌素所产生的肾毒性作用。

对于人类患者，以 1—4 个单独剂量给药 2—50 mg/kg、优选 5—30 mg/kg 患者体重的每日总剂量，或者成人每日给药 140—3500 mg（优选 350—2000 mg），对于实现防止、降低或反转环孢菌素诱导的肾毒性和肾病的治疗目的是有效的。在较小的哺乳动物时，可根据体重、物种和病症状况向上或向下调节剂量范围。

新治疗方法的优选实施方案是向患者给药包含有效量的 PPS 或 PPS

盐以及至少一种药物学上可接受的惰性成分的药物组合物。该组合物可为任何标准的药物剂型，但优选为口服给药剂型。

口服给药的剂型包括常规片剂、包衣片，胶囊或胶囊型片剂，缓释片、胶囊或胶囊型片剂，锭剂，液体，甘香酒剂或者制药领域中任何已知的其他口服剂型。

对于药物学上可接受的惰性成分，可包括填料、粘结剂、溶剂等，它们不干扰 PPS 之所希望的活性。如果需要，也可使用填料如粘土或硅藻土来调节剂型的尺寸。

其他成分如赋形剂和载体对于赋予剂型以所希望的物理性质有可能是必须的。此等物理性质例如是释放速率、结构和尺寸。可用于口服剂型中的赋形剂和载体的例子是蜡，例如蜂蜡、蓖麻蜡、glycowax 和巴西棕榈蜡；纤维素化合物，例如甲基纤维素、乙基纤维素、羧甲基纤维素、乙酸邻苯二甲酸纤维素、羟丙基纤维素和羟丙基甲基纤维素；聚氯乙烯，聚乙烯吡咯烷酮；硬脂醇；甘油单硬脂酸酯；甲基丙烯酸化合物，例如聚甲基丙烯酸酯、甲基丙烯酸甲酯和乙二醇二甲基丙烯酸酯；聚乙二醇；以及亲水性胶。

在本发明的组合物中，PPS 活性成分在每剂量单元中的量希望在 50—300 mg 之间。向每个患者给药的精确剂量取决于待治疗的病症以及患者的生理条件，例如年龄和体重。

活性药物成分是 PPS 或其药物学上可接受的盐，例如钠盐。用于本发明方法中的一个优选口服剂型是 Elmiron<sup>®</sup>明胶胶囊（Baker Norton Pharmaceuticals, Inc., Miami, Florida），其包含 100 mg 的 PPS 钠以及作

为赋形剂的微晶纤维素和硬脂酸镁。

虽然优选口服给药途径，但本发明的治疗方法也包括经由非胃肠道、透皮、经粘膜途径或者医疗和制药领域中已知的并通常使用的任何其他途径给药。同样，本发明的组合物包括在非胃肠道、透皮、经粘膜或其他常规载体和剂型中的 PPS 以及合适的惰性溶剂、赋形剂和添加剂。许多此等药物学上可接受的载体的例子可参见 Remington's Pharmaceutical Sciences (第 17 版, 1985) 和其他标准教科书。无论使用何种给药途径或药物剂型, PPS 活性成分的每日剂量范围为 2—50 mg/kg 患者体重或者成人为 140—3500 mg, 优选的是 5—30 mg/kg 患者体重或 350—2000 mg, 但是在经非胃肠道给药时, 可使用剂量范围较低端的剂量量。

本发明方法中所用的药物组合物可包括除 PPS 或 PPS 盐以外的活性成分, 例如其他可用于防止环孢菌素诱导的肾损伤或毒性的药物。

根据本发明之方法的各种实施方案, 包含 PPS (或 PPS 盐) 的组合物可在开始环孢菌素或他克莫司治疗之前 (例如开始前几天)、与环孢菌素或他克莫司治疗同时和/或环孢菌素或他克莫司治疗之后的合适时间时给药于患者。在优选的实施方案中, 在环孢菌素或他克莫司给药之前的 24 小时内、或与其同时进行、或者在其随后的 24 小时之内给药至少 1 个剂量的 PPS 或 PPS 盐。PPS 组合物可与环孢菌素或他克莫司组合物在相同的时间时给药于患者, 但以不同的剂型, 或者在与给药包含环孢菌素或他克莫司的组合物不同的时间时向患者给药 PPS 组合物。

另外，在本发明的另一个实施方案中，可向需要免疫抑制治疗的哺乳动物患者给药 PPS（或 PPS 盐）和环孢菌素（或他克莫司）的组合剂型。此等组合剂型包含有效诱导免疫抑制作用量的环孢菌素或他克莫司，例如约 25—250 mg 的环孢菌素、优选 CyA。组合剂型也可包含有效降低肾毒性量的 PPS 或 PPS 盐，例如 50—500 mg。此等剂型可为如上所述的适合于口服或非胃肠道给药的剂型，并可包含任何药物学上可接受的填料、粘结剂、溶剂、载体和本领域技术人员认为适当的其他赋形剂或惰性成分。

目前使用最广泛的环孢菌素是在临床应用中产生免疫抑制作用或者治疗载体免疫疾病或免疫炎性疾病者，即 CyA，也称为环孢菌素。但是，与环孢菌素同时给药根据本发明的 PPS 组合物以防止肾毒性也可用任何环孢菌素来进行，例如环孢菌素 A—Z 以及它们的衍生物。而且，任何的环孢菌素 A—Z 或者其他环孢菌素也可以与 PPS 或 PPS 盐一起在本发明的新型组合剂型中使用。同样，因为 FK—506 或他克莫司的细胞内信号途径和肾毒性作用类似于 CyA，也可通过共同给药 PPS 或 PPS 盐来缓解给药他克莫司所产生的毒性。

表 1 中示出了环孢菌素 A—Z 的结构（都是环状十一肽）。

表 1: 环孢菌素 A-Z

环孢菌素	氨基酸										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Cy-											
CyA	Mebmt	Abu	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal
CyB	Mebmt	Ala	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal
CyC	Mebmt	Thr	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal
CyD	Mebmt	Val	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal
CyE	Mebmt	Abu	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	Val
CyF	Desoxy-Mebmt	Abu	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal
CyG	Mebmt	Nva	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal
CyH	Mebmt	Abu	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	D-Mev
CyI	Mebmt	Val	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	Leu	MeVal
CyK	Desoxy-Mebmt	Val	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal
CyL	Bmt	Abu	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal
CyM	Mebmt	Nva	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal
CyN	Mebmt	Nva	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	Leu	MeVal
CyO	MeLeu	Nva	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal
CyP	Bmt	Thr	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal
CyQ	Mebmt	Abu	Sar	Val	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal
CyR	Mebmt	Abu	Sar	MeLeu	Val	Leu	Ala	D-Ala	MeLeu	Leu	MeVal
CyS	Mebmt	Thr	Sar	Val	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal
CyT	Mebmt	Abu	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	Leu	MeVal
CyU	Mebmt	Abu	Sar	MeLeu	Val	Leu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal
CyV	Mebmt	Abu	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal
CyW	Mebmt	Thr	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	Val
CyX	Mebmt	Nva	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	Leu	MeLeu	MeVal
CyY	Mebmt	Nva	Sar	MeLeu	Val	Leu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal
CyZ	MeAminoocetyl acid	Abu	Sar	MeLeu	Val	MeLeu	Ala	D-Ala	MeLeu	MeLeu	MeVal

以下实施例证实新方法在防止或基本上消除和反转环孢菌素诱导的肾毒性、特别是肾脏中动脉坏死损伤的效用。这些实施例仅是说明性的，而不是对实施本发明时必须使用的上述材料、组成或剂量范围的限制。

### 实施例 1

在接受本实验之前向两组 Sprague-Dawley 大鼠喂以低盐饲料共 2 周，并在研究期间保持该饲料。然后向第 1 组(对照)注射给药 15 mg/kg/天的 CyA 共 45 天。第 2 组给药与第 1 组相同剂量的 CyA，但还同时每日注射给药 10 mg/kg 的 PPS (ELMIRON®) 共 45 天。在研究结束时，杀死动物，然后显微检查它们的肾脏，并进行形态测定评估。

如图 1A 和 1B 的显微照片所示，对照组大鼠的肾脏有大范围的间质纤维变性。在纤维化区域中嵌有少量的炎性细胞。接受 CyA 和 ELMIRON®的肾脏表明大多数的小管与正常情况一样地紧密聚集在一起，而且小管之间的纤维变性和细胞滤液量明显降低。

形态测定检查各实验组的肾脏，由此定量评估间质纤维变性的量。如图 2 所示，在 ELMIRON®治疗的大鼠组中，间质纤维变性降低大约 50%。

用图象分析法测定了对照组和 ELMIRON®处理组中的大鼠肾小球尺寸。用标准形态测定法顺序地遇到了 50 个肾小球。如图 3 所示，接受 CyA 和 ELMIRON®注射液的组中的肾小球平均体积明显大于仅接受 CyA 的对照组。这表明 PPS 保护治疗组中的大鼠肾小球避免由 CyA 导

致的缺血反应。

### 实施例 2

在接受本实验之前向两组 Sprague-Dawley 大鼠喂以低盐饲料共 2 周，并在研究期间保持该饲料。然后向第 1 组(对照)注射给药 15 mg/kg/天的 CyA 共 15 天。第 2 组给药与第 1 组相同剂量的 CyA，但还同时每日注射给药 10 mg/kg 的 PPS (ELMIRON®) 共 15 天。在研究结束时，杀死动物，然后显微检查它们的肾脏，并进行形态测定评估。

图 4A 和 4B 分别是对照组(图 4A)和 ELMIRON®治疗组(图 4B)的大鼠肾脏中的肾小球截面显微照片。在图 4A 中，在肾小球的右侧(区域的中心处)即可见到小(输入)动脉已发生“纤维蛋白样”坏死，其涉及整个壁。

相反地，在图 4B 所示的肾小球血管极区未发现在输入和输出动脉中的损伤。

评估了对照组和 ELMIRON®治疗组以及正常组(未处理的 Sprague-Dawley 大鼠)的肾脏中的输入小动脉“纤维蛋白样”损伤的数量。在各肾脏中评估了 50 个连续的血管极区。如图 5 所示，在 ELMIRON®治疗组中发现的损伤数量明显低于仅接受 CyA 的动物组。

### 实施例 3

进行本研究以测定 PPS 是否对 CyA 的胃肠道吸收有影响，其以 CyA 血液浓度来表示。

1 组 10 只 sprague-Dawley 大鼠以管饲法接受在橄榄油中的 CyA(10 mg/kg)。在 CyA 给药后的 30 分钟、1 小时、2 小时、3 小时、4 小时、5 小时、6 小时、8 小时、12 小时、和 24 小时时测定各动物的全血浓度。样品中的 CyA 浓度以 ELISA 法测量。

该组的平均 CyA 浓度示于图 6A 中。在给药后的 5—8 小时时达到峰值血液浓度，然后在 24 小时时返回至接近基线浓度。在此动物之间有相当大的差异，用该形式的 CyA 有相同的发现。

第 2 组 10 只 Sprague-Dawley 大鼠以管饲法接受在橄榄油中的 CyA (10 mg/kg) 以及在水中的 PPS (ELMIRON®) 5 mg/kg。按照与对照组相同的间隔由各动物采取全血样品，然后测量 CyA 浓度。各时间间隔时的平均值示于图 6B 中。

可注意到，图 6B 中所示的曲线与图 6A 中的相似，但动物之间的差异大大降低。这些结果表明共同口服给药 PPS 和 CyA 不会破坏 CyA 的肠道吸收或者降低所达到的浓度。类似地，共同给药 PPS 不会影响 CyA 的血浆消除。

因此表明，所提供的方法和组合物能够实现本发明的各个目的，而且符合实际使用的条件。

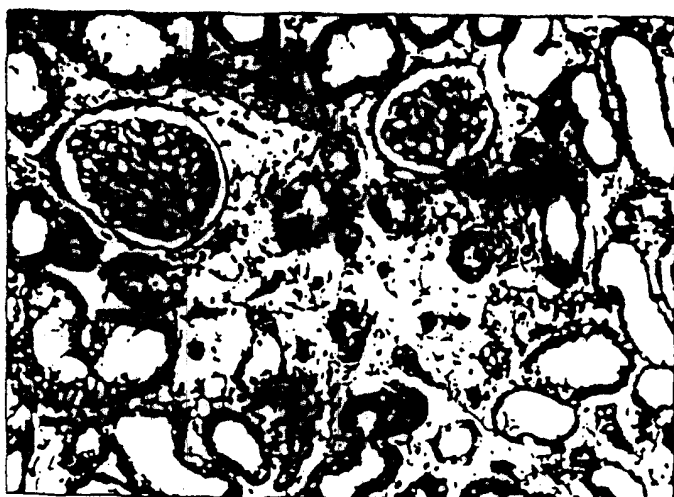
可以理解的是，所有在此描述的事情都是用于说明本发明，而不是对本发明的限制，这是因为本发明还有各种可能的实施方案，而且在上述各实施方案中还可进行各种改进。

本发明要求保护的范围见以下权利要求书。



ELMIRON

图1B



对照

图1A

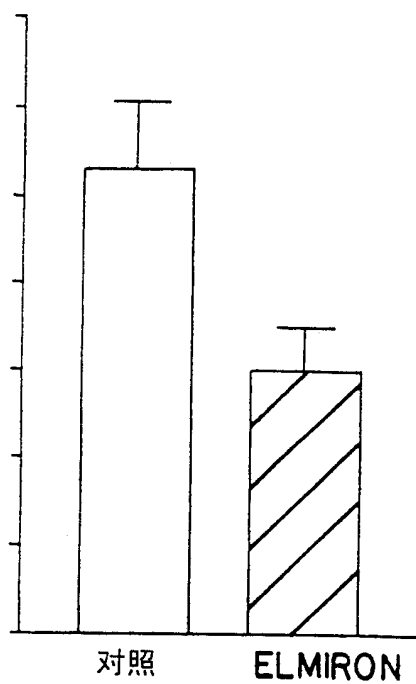


图2

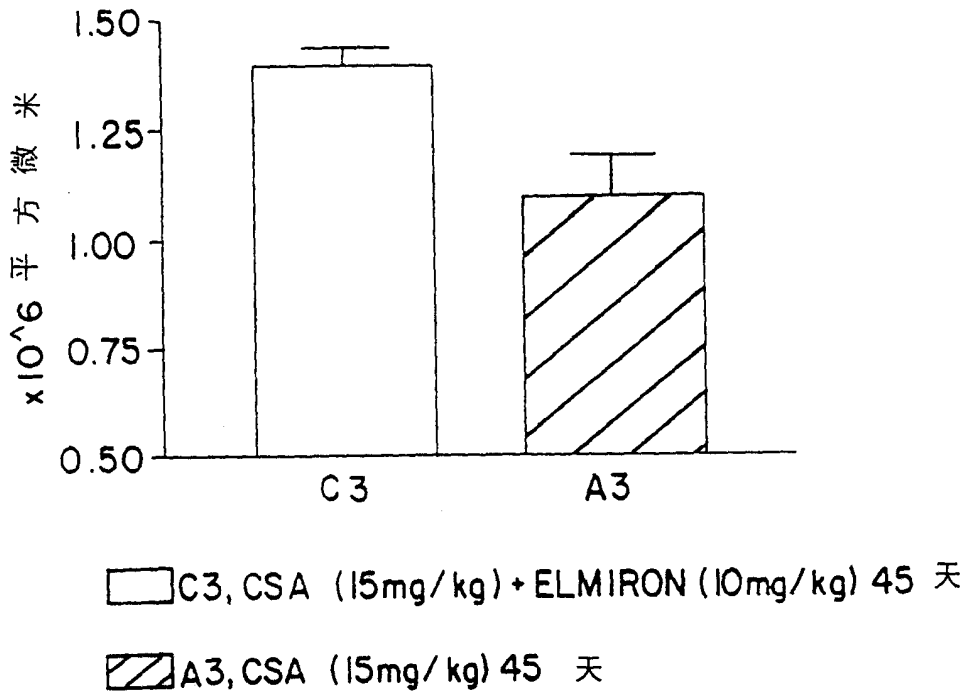


图3



CyA+E 15天

图4B



CyA 15天

图4A

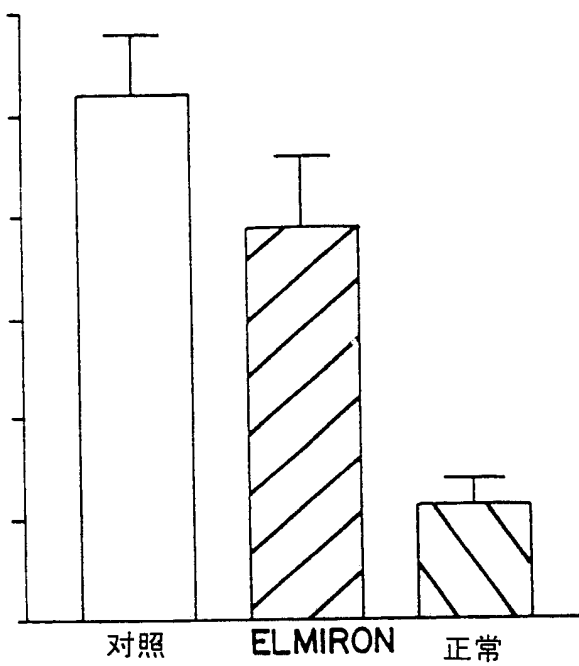


图5

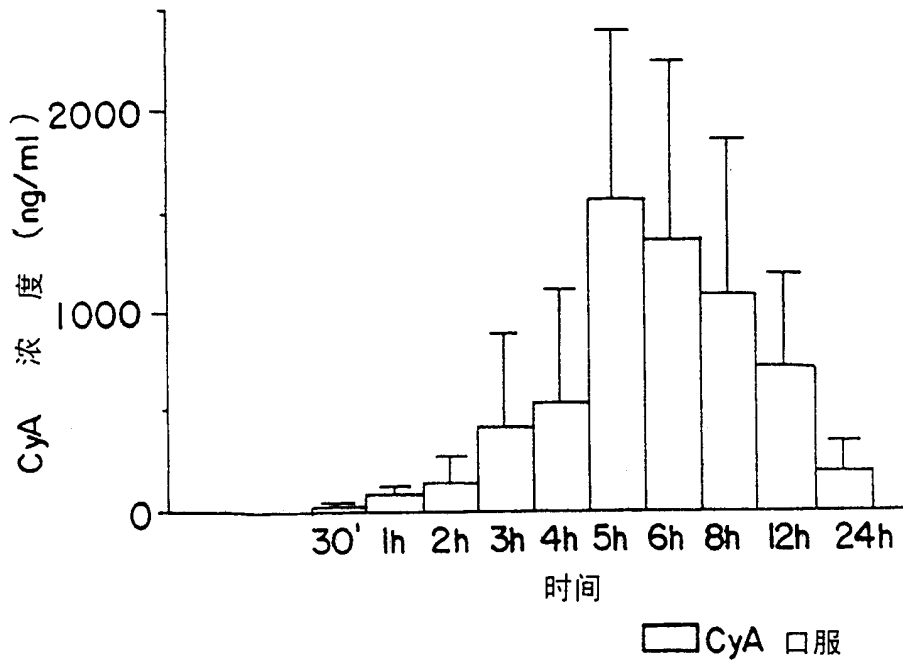


图6A

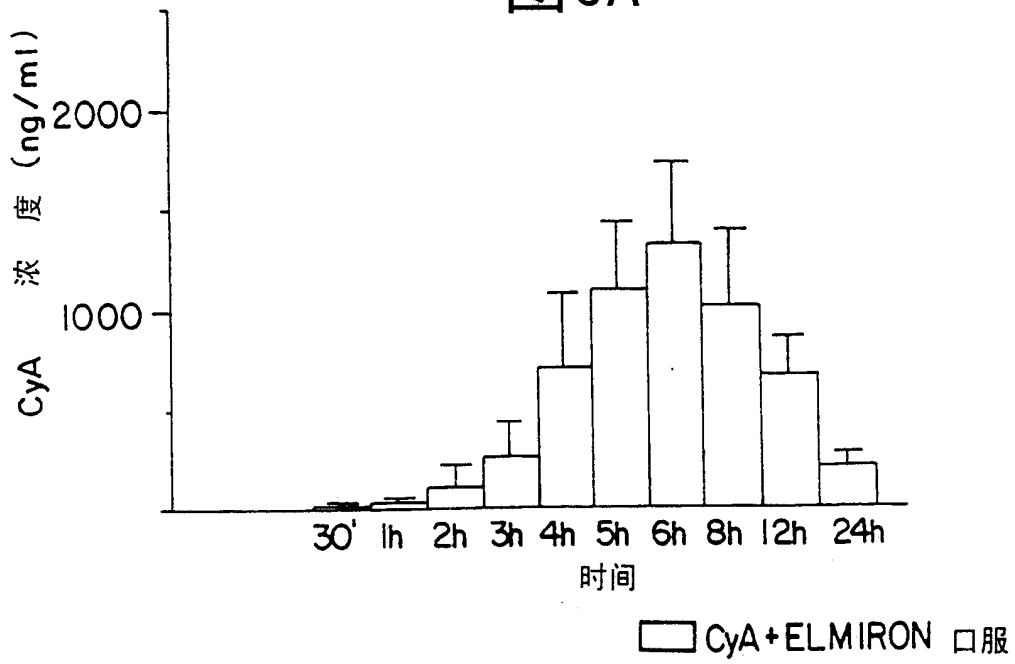


图6B