

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷



[12] 发明专利说明书

C07K 7/06

A61K 38/08 A61K 38/10

A61P 1/00 A61P 7/00

A61P 9/00 A61P 11/00

A61P 15/00 A61P 17/00

A61P 19/00 A61P 21/00

A61P 25/00 A61P 31/00

[21] ZL 专利号 98805393.4

[45] 授权公告日 2004 年 9 月 15 日

[11] 授权公告号 CN 1166683C

[22] 申请日 1998.5.20 [21] 申请号 98805393.4

[30] 优先权

[32] 1997.5.23 [33] EP [31] 97108384.5

[86] 国际申请 PCT/EP1998/002953 1998.5.20

[87] 国际公布 WO1998/052973 英 1998.11.26

[85] 进入国家阶段日期 1999.11.23

[71] 专利权人 普雷德拉格·西基瑞克

地址 克罗地亚萨格勒布

共同专利权人 马里扬·佩特克

斯文·赛沃尔斯

布兰科·图尔科维克

泽尔科·格拉巴瑞维克

伊沃·罗特克维克 谢潘·米塞

马尔科·杜温雅克

伊万·乌多维斯科

[72] 发明人 普雷德拉格·西基瑞克

马里扬·佩特克 斯文·赛沃尔斯

布兰科·图尔科维克

泽尔科·格拉巴瑞维克

伊沃·罗特克维克 谢潘·米塞

马尔科·杜温雅克

伊万·乌多维斯科

审查员 林峻凯

[74] 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责
任公司

代理人 丁业平

A61P 35/00 A61P 37/00

A61P 43/00

权利要求书 5 页 说明书 49 页 附图 4 页

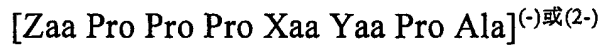
[54] 发明名称 具有器官保护活性的新的 BPC 肽盐,其制备方法及其在治疗中的应用

[57] 摘要

本发明公开了用于治疗各种人和动物疾病的新的药物组合物。这些药物组合物含有一种或多种 8-15 个氨基酸的 BPC(身体保护化合物)片段或其类似物的盐。盐的阳离子从有机或无机碱得到。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种 BPC(身体保护化合物)肽的盐, 其中所述盐的阴离子是具有如下通式所示 8 个氨基酸残基的带有负电荷的 8-15 个氨基酸残基的肽:



其中

Xaa 是中性和脂肪族氨基酸残基,

Yaa 是碱性氨基酸残基,

Zaa 是酸性氨基酸残基,

其中所述盐的阳离子是无机或有机无毒碱的阳离子。

2. 权利要求 1 的盐, 其中的阳离子选自碱金属、碱土金属、 Zn^{2+} 、伯胺、仲胺和叔胺。

3. 根据权利要求 2 的盐, 其中阳离子选自 Na^+ 、 K^+ 、 Li^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 NH_4^+ 、三乙醇胺⁺、环己基胺⁺、2-AMP⁺(2-氨基-1-丙醇)和 TRIS⁺(三(羟甲基)-氨基甲烷)。

4. 权利要求 1-3 中任一项所述的盐,

其中:

Xaa 是 Ala、bAla、Leu、Ile、Gly、Val、Nle 或 Nva,

Yaa 是 Lys、Arg、Orn 或 His,

Zaa 是 Glu、Asp、Aad 或 Apm。

5. 权利要求 1-3 中任意一项所述的盐, 其中还含有可药用或诊断用的载体。

6. 权利要求 1-3 中任意一项所述的盐, 其中还含有海藻糖。

7. 权利要求 1-3 中任意一项所述的盐，其中的通式是
 Xaa Zaa Pro Pro Pro Xaa Yaa Pro Ala Asp Zaa Ala Xaa Xaa Xaa。

5 10 15

5 8. 权利要求 1-3 中任意一项所述的盐，其中的肽选自：

Leu Glu Pro Pro Pro Gly Lys Pro Ala Asp Asp Ala Leu Gly Val;

5 10 15

Gly Glu Pro Pro Pro Gly Lys Pro Ala Asp Asp Ala Gly Leu Val;

5 10 15

10 Leu Glu Pro Pro Pro Leu Lys Pro Ala Asp Asp Ala Leu Gly Val;

5 10 15

Leu Glu Pro Pro Pro Leu Lys Pro Ala Asp Ala Leu Gly Val;

5 10 14

Gly Glu Pro Pro Pro Gly Lys Pro Ala Asp Ala Gly Leu Val;

15 5 10 14

Glu Pro Pro Pro Leu Lys Pro Ala;

5 8

Asp Pro Pro Pro Ile Arg Pro Ala Asp;

5 9

20 Glu Pro Pro Pro Leu Lys Pro Ala Asp;

5 9

Leu Glu Pro Pro Pro Leu Lys Pro Ala Asp Ala Leu Gly Val;

5 10 14

Gly Glu Pro Pro Pro Gly Arg Pro Ala Asp 和

25 5 10

Glu Pro Pro Pro Leu Lys Pro Ala Asn。

5 9

9. 权利要求 1-3 中任意所述的盐，其中的肽通过第一个和最后一个
 30 个氨基酸残基之间的酰胺键形成环。

10. 权利要求 1-3 中任意一项所述的盐，其中，所述的盐溶于含水或含水/醇溶液中。

5

11. 根据权利要求 10 所述的盐，其中所述含水或含水/醇溶液的 pH 为 6.0-8.5。

12. 一种存放稳定的药物组合物，其中含有药物有效量的权利要求 1-11 中任意一项所述的 BPC 肽盐和任选的生理可接受的载体。

10

13. 权利要求 12 的药物组合物，该组合物经口给药并且含有海藻糖。

14. 存放稳定的诊断用组合物，其中含有诊断有效量的权利要求 1-11 中任意一项所述的 BPC 肽盐。

15

15. 权利要求 1-11 中任意一项所述的 BPC 肽盐在制备权利要求 12 所述的存放稳定的药物组合物中的用途，其中，所述药物组合物用于治疗如下疾病：

20

与一氧化氮(NO)形成或损伤的 NO-系统功能有关的紊乱，

体位感觉神经功能障碍或机能亢进，

内皮紊乱；

创伤、溃疡；

与急性和/或慢性炎症有关的不健康情况，

25

肝脏疾病、由自由基引起的器官损伤；

与儿茶酚胺能系统紊乱有关的疾病，

与应激性有关的疾病；

急性胰腺炎；

心脏紊乱；

30

- 抑郁；
帕金森氏症和帕金森氏症样病变；
体温紊乱；
骨损伤；
5 高血压引起的各种器官损伤；
凝血障碍；
疼痛障碍；
惊厥；
脊髓损伤；
10 由酗酒和摄入过多的酒精引起的酒精性损伤；
大脑局部缺血；
外周神经损伤；
全身僵硬症和精神安定紊乱；
与异常或突变淋巴细胞有关的疾病；
15 胎儿扰动；
由卵巢切除术引起的阴道萎缩和骨质疏松症；
肿瘤；
病毒性疾病；
胃肠损伤；
20 认知障碍；
戒断紊乱；
肾脏紊乱；和
细胞免疫应答紊乱。
- 25 16. 权利要求 15 所述的用途，其中
所述与一氧化氮形成或损伤的 NO-系统功能有关的紊乱是指高血压、心绞痛、阳痿、循环和脓毒性休克、中风、炎症、呼吸窘迫综合征、血小板和白细胞的粘着和聚集、内皮功能障碍、胃肠损伤、蠕动紊乱、糖尿病、胰腺炎、低血压或帕金森氏症；
30 所述体位感觉神经功能障碍或机能亢进是指感觉神经病、带状疱疹

疹后神经痛、特应性皮炎、受伤组织的损害愈合、获得性寒冷性和热性荨麻疹、牛皮癣、大疱类天疱疮、湿疹、光照性皮肤病、慢性关节炎、胃肠损伤或特异性或非特异性的上和下呼吸道活动过强(哮喘、鼻炎);

5 所述与急性和/或慢性炎症有关的不健康情况是指慢性关节炎、与迟发型过敏有关的疾病或胃肠损伤;

 所述由自由基引起的器官损伤是指由辐射引起的器官损伤;

 所述与儿茶酚胺能系统紊乱有关的疾病是指精神分裂症、安非他明刺激效应或药物滥用;

10 所述急性胰腺炎是指胃十二指肠病伴发的急性胰腺炎;

 所述病毒性疾病是指 AIDS 或 ARC。

15 17. 权利要求 1-11 中任意一项所述的 BPC 肽盐在制备权利要求 12 所述的存放稳定的药物组合物中的用途, 其中, 所述药物组合物是细胞保护剂和器官保护剂。

20 18. 权利要求 1-11 中任意一项所述的 BPC 肽盐的制备方法, 该方法包括将至少一种 BPC 肽在水或水/醇溶剂中与一种或多种碱混合并得到 BPC 肽盐, 其中, 所述盐的阳离子是无机或有机无毒碱的阳离子。

具有器官保护活性的新的 BPC 肽盐，
其制备方法及其在治疗中的应用

5

本发明涉及含 8-15 个氨基酸残基、分子量为 900-1600 道尔顿并且具有器官保护活性的合成 BPC(身体保护化合物)肽的新的应用形式、其制备方法及其在诊断和治疗中的应用。

10

可用于治疗各种人和动物疾病的蛋白质和肽是已知的。这些试剂中有许多是在体内产生的，并且可以从动物或人中提取以制备药物组合物。可用作药物的蛋白质或肽的例子是胰岛素、促红细胞生成素、BMP、干扰素等。另一个例子是最近分离出来并被命名为 BPC 的具有粘膜保护活性的胃液蛋白。

15

WO92/04368 涉及具有身体保护活性、分子量约 40000 道尔顿的 BPC、其制备方法及其用途。WO93/24521 和 WO94/11394 公开了具有与亲本蛋白质 BPC 同种类型的器官保护活性的 BPC 肽。Sikiric 等在消化性疾病和科学(Digestive Diseases and Sciences), 41(1996) 7, 1518-1526 中描述了十五肽 BPC157，当该化合物溶于水和盐水时，可以对大鼠的急性胰腺炎和伴发的胃十二指肠损害显示出有益的和预防性作用。

20

因此，已知 BPC 肽可用于多种药物用途。但是，这些肽的物理化学稳定性，例如在生理盐水中的稳定性不能令人满意。此外，BPC 肽的给药，特别是通过注射水溶液或在生理盐水中的溶液进行给药时会引起疼痛和/或坏死。

25

蛋白质和肽的盐是本领域所熟知的。例如，从 Bertrand, M.等：肽研究(Peptide Research), 49(1997)3, 269-272 可以了解到，就肽的稳

30

定性和结构而言，特定盐的作用有很大选择性。例如，向最终浓度为 0.1M 的肽(聚(Glu-Leu))溶液中加入单价阳离子如 NH_4^+ ，可以诱导向水溶性 β -结构的转变。相反，使用 Li^+ 、 Na^+ 或 Cs^+ 离子，就不会引起这种转变。

5

通过测定在中性和酸性 pH 时加入盐(KCl、 MgCl_2 和 LaCl_3)对最初称为双链绕线式 α 螺旋稳定性的影响，研究了可进入表面的(surface-accessible)离子对在蛋白质稳定性中的作用。结果表明加入的盐对蛋白质的稳定性有复杂的影响，包括稳定和去稳定影响，因此，净的影响取决于蛋白质中带电残基的性质和离子间的相互作用(Kohn 等，分子生物学杂志(Journal of Molecular Biology)267(1997)4, 1039-1052)。

10

以前的模型肽的研究还表明肽链上 $i,i+4$ 间的盐桥比 $i,i+3$ 间的那些更稳定，更有利于从 N-至 C-末端的酸-碱顺序，而不是碱-酸顺序。但是，目前尚不了解表面盐桥是否对蛋白质的天然结构有强稳定作用(Berger 等，分子生物学结构和动力学杂志(Journal of Biomolecular Structure and Dynamics), 14(1996)3, 285-291)。

15

因此，就其稳定性、结构和功能而言，肽盐的性质很大程度上取决于与形成具体盐有关的具体离子和其他内在或外在的因素。目前，还不能预测具体肽的具体盐具有哪种特性。

20

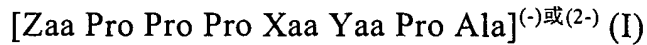
本发明的所基于的技术问题是提供更稳定形式的 BPC 肽和包含具有改进的稳定性并且至少与 BPC 肽本身具有同样治疗活性的 BPC 肽的诊断和/或药物组合物。此外，本发明所基于的技术问题是提供克服了上述缺陷、特别是可以无痛注射 BPC 肽的药物组合物。

25

本发明通过提供 BPC 肽盐和含有药物或诊断有效量的 BPC 肽盐的药物或诊断组合物解决了这些问题，其中，盐的阴离子是带有负电荷的、含 8-15 个氨基酸的肽，其分子量为 900-1600 道尔顿并且具有

30

通式(I)的结构:



5 其中 Xaa 是中性的脂肪族氨基酸残基, 特别是 Ala、bAla、Leu、Ile、Gly、Val、Nle 或 Nva,

 Yaa 是碱性氨基酸残基, 特别是 Lys、Arg、Orn 或 His,

 Zaa 是酸性氨基酸残基, 特别是 Glu、Asp、Aad 或 Apm,

 其中, 盐的阳离子是无机或有机无毒可药用碱的阳离子。具体地
10 讲, 盐的阳离子是碱金属或碱土金属, 例如 Na^+ 、 K^+ 、 Li^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+}
 或其它金属例如 Zn^{2+} , 或伯胺、仲胺或叔胺或有机化合物, 例如 NH_4^+ 、
 三乙醇胺⁺、环己基胺⁺、2-AMP⁺(2-氨基-1-丙醇)或 TRIS⁺(三(羟甲基)-
 氨基甲烷), 只要这些阳离子是生理可接受的即可。

15 令人惊奇的是, 本发明的 BPC 肽盐显示出至少与 BPC 肽相同的
 药物活性, 此外, 与游离的 BPC 肽或 BPC 肽的乙酸盐相比, 还显示
 出显著增加的物理化学稳定性。本发明所用的阳离子不会影响 BPC 肽
 的活性, 但会增加其稳定性。例如, 在生理盐水或水中, 本发明的 BPC
 肽盐比 BPC 肽或 BPC 肽的乙酸盐更稳定。此外, 本发明的盐很适于
20 口服使用而没有任何不利的副作用, 例如在给药、特别是注射给药过
 程中或给药之后出现的疼痛或坏死。因此, 本发明的 BPC 肽盐可以进
 行改进的肠道和胃肠外给药。此外, 本发明的盐在高达 50mg/kg 体重
 的剂量下没有任何毒性症状, 因而是非常有利的。

25 本发明的盐可以通过将游离的 BPC 肽和适宜的碱一起溶于含水
 或含水/醇性溶剂中或其它适宜的溶剂中, 然后通过将溶液蒸发、冷冻
 干燥或向 BPC 肽盐的含水和/或醇溶液中加入另一种溶剂如乙醚诱导
 析出不溶的粗品盐而分离得到本发明的盐。成盐时, 通常使用 1 摩尔
 或最多 2 摩尔的碱(即, 阳离子)和 1 摩尔的游离 BPC 肽。为了制备碱
30 金属 BPC 肽盐, 优选使用碱金属的碳酸盐或碳酸氢盐。制得的肽盐极

易溶于水。因此，本发明还涉及制备 BPC 肽盐的方法。

在本申请中，碱是指能够在溶液、特别是含水和含水/醇溶液中形成阳离子的物质。

5

在本申请中，药物活性包括预防和治疗活性。因此，药物组合物是指具有预防和/或治疗活性的组合物。

此外，本发明还涉及含有本发明的 BPC 肽盐以及选择性的一种或多种可药用载体的药物或诊断组合物以及这些组合物的制备方法。这些组合物适用于以例如可注射溶液、片剂、霜剂、胶囊、软膏、洗剂、舌含片(lingualettes)等剂型局部或全身给药。剂量优选在 10^{-5} - 10^{-2} mg/kg 体重的范围内，以 0.1%-0.5%的较高浓度全身或局部给药。对于具体治疗的最佳剂量的确定是本领域技术人员熟知的。

15

本发明还涉及上述的药物或诊断组合物，其中，除含有本发明的一种或多种 BPC 肽盐外，还含有海藻糖(特别是用于口服给药时)和/或药物或诊断可接受的载体、稀释剂和/或添加剂。

20

本发明的组合物、优选水溶性组合物，除 BPC 肽盐外，还可含有可注射到体液内并且在本发明的一单位剂量形式中所用的浓度下基本不显示药理学活性的水溶性蛋白质(以下称为“水溶性蛋白质”)。所述水溶性蛋白质优选血清白蛋白、球蛋白、胶原和/或明胶。这些蛋白质可以以常用于可注射药物组合物的量加入。因此，水溶性蛋白质和 BPC 肽盐之间的重量比为约 0.0001 :1-100: 1, 优选约 0.001 : 1-约 10: 1, 更优选约 0.01 :1-约 1:1。

25

本发明还涉及上述的 BPC 肽盐本身以及含有它们的组合物，特别是干燥和/或纯净形式的或水溶液或水/醇溶液。从本发明的水溶性组合物或肽盐制备的溶液的 pH 应满足如下条件，即该 pH 不会对药理

30

学活性肽的活性产生任何不利影响并且在注射液的可接受范围内，此外，所述 pH 值还不会引起溶液粘度的改变或引起沉淀等物质的形成。因此，该溶液的 pH 应为约 6-9，优选 6.5-7.5。

5 当将本发明的水溶性组合物转变成用于给药的水溶液时，所述溶液中药理学活性肽盐的浓度应为约 0.0000001-10% (w/v)，更优选约 0.000001-5% (w/v)，首选约 0.00001-1% (w/v)。

10 本发明的组合物优选为含有本发明的药理学活性 BPC 肽盐以及(如果需要的话)其它添加剂如上述水溶性蛋白质的单位剂量形式。因此，将上述的两种或三种成分通过溶解或悬浮在无菌水或无菌生理盐水中在安瓿或小瓶中混合。在该情况下，制备方法包括，将药理学活性 BPC 肽盐的溶液以及(如果需要的话)添加剂的溶液混合或将添加剂以粉末的形式加入到药理学活性 BPC 肽盐的溶液或任何其它适宜过程
15 的组合。所述剂量形式还可以通过将无菌水或无菌生理盐水加入到冷冻干燥或真空干燥的粉末中进行制备，所述粉末中含有药理学活性 BPC 肽盐以及(如果需要的话)添加剂。该单位剂量形式可含有一种或多种常规的添加剂，例如 pH 调节剂(例如甘油、盐酸、氢氧化钠)、局部麻醉剂(例如盐酸利多卡因、氯丁醇)、等渗剂(例如氯化钠、甘露醇、
20 山梨醇)、乳化剂、吸附抑制剂(例如吐温 60 或 80)、滑石、淀粉、乳糖和黄耆胶、硬脂酸镁、甘油、丙二醇、防腐剂、苜醇、羟基苯甲酸甲酯和/或氢化花生油。所述单位剂型还可含有可药用赋形剂如聚乙二醇 400 或葡聚糖。

25 本发明的水溶性组合物优选为胃肠外制剂的形式。所述胃肠外制剂优选可注射溶液、经粘膜给药的溶液、鼻溶液、耳溶液。

30 所述可注射溶液包括用于静脉内给药、皮下给药、动脉内给药、肌肉内给药和眼内给药的溶液。这些长效制剂很容易从安瓿或小瓶抽取到注射器中。在抽取过程中所产生的气泡很容易通过短时间的放置

而消除。

5 本发明的组合物可以是水溶液的形式或是含有结晶溶质如甘露醇的冷冻干燥的形式。向冷冻干燥物中加入无菌水或无菌生理盐水得到水溶液。

10 进行给药时，本发明水溶性组合物的水溶液的渗透压应在可耐受的范围内，并可通过等渗剂如氯化钠和甘露醇进行调节。该渗透压优选是生理盐水渗透压的 1/2 至 2 倍，更优选是生理盐水渗透压的 3/4 至 1.5 倍。

15 本发明水溶性组合物的水溶液的粘度应足够低以便进行注射。该粘度优选低于 500 cP，更优选低于 400 cP。该粘度值相当于采用 Cone LD 在 E 型粘度计(TOKIMEC, 日本)上于 25°C 测得的粘度值。

当组合物是冷冻干燥物的形式时，优选从该冷冻干燥物得到的水溶液的粘度、渗透压和各组分的浓度在上述各范围内。

20 本发明的组合物通过将把这些成分按照常规方法混合制得。将本发明的成分混合的目标是药理学活性 BPC 盐的活性得以保持并且在该过程中气泡的形成最少。将各成分同时或以任意顺序加入到容器(例如瓶子或转鼓中)。容器内的气体氛围可以是，例如无菌的清洁空气或无菌的清洁氮气。形成的溶液可以转移到小瓶或安瓿中或进一步进行冷冻干燥。

25 本发明组合物的液体形式或冷冻干燥物粉末的形式可以溶解或分散在生物可降解聚合物如聚(乳酸-乙醇酸)共聚物、聚(羟基丁酸)、聚(羟基丁酸-乙醇酸)共聚物或其混合物的溶液中，然后可以配制成例如薄膜、微胶囊(微球)或毫微胶囊(毫微球)，特别是软或硬胶囊。

30

此外，包封在含有磷脂、胆固醇或其衍生物的脂质体中的本发明组合物还可以分散在生理盐水或溶解在生理盐水中的透明质酸溶液中。

5 软胶囊可以用本发明组合物的液体形式填充。硬胶囊用本发明组合物的冷冻干燥物粉末填充，或者可以将本发明组合物的冷冻干燥物粉末压制成药片用于直肠给药或口服给药的片剂。

10 当然，本发明的组合物也可以是用于自我给药的以预填充的注射器形式供给。

 本发明的组合物可保存在常温如+10℃至+30℃或一般的冷藏温度下，优选约+2℃至+8℃。

15 本发明还涉及使用上述盐和/或组合物的新的用途和治疗方法，特别是治疗与一氧化氮(NO)形成或受损的 NO-系统功能有关的紊乱，特别是高血压、心绞痛、阳痿、循环和脓毒性休克、中风、炎症、呼吸窘迫综合征、血小板和白细胞的粘着和聚集、内皮功能障碍、胃肠损伤、蠕动紊乱、糖尿病、胰腺炎、低血压和帕金森氏症；体位感觉
20 神经功能障碍或机能亢进，特别是感觉神经病、带状疱疹后神经痛、特应性皮炎、受伤组织的损害愈合、获得性寒冷性和热性荨麻疹、牛皮癣、大疱类天疱疮、湿疹、光照性皮肤病、慢性关节炎、胃肠损伤和特异性或非特异性的上和下呼吸道活动过强(哮喘、鼻炎)；内皮紊
25 乱；创伤、溃疡；与急性和/或慢性炎症有关的情况，特别是慢性关节炎、与迟发型过敏有关的疾病、胃肠损伤；肝脏疾病、由自由基、特别是由辐射引起的器官损伤；与儿茶酚胺能系统紊乱有关的疾病，特别是精神分裂症、安非他明刺激影响、药物滥用；与应激性有关的疾
30 病；急性胰腺炎，对伴发的胃十二指肠病变有正性影响；心脏紊乱，特别是抗心律失常、抗心绞痛和心脏保护治疗；抑郁；帕金森氏症和帕金森氏症样病变；体温紊乱；骨损伤；高血压引起的各种器官损伤；

凝血障碍；疼痛障碍；惊厥；脊髓损伤；由酗酒和摄入过多的酒精引起的酒精损伤；大脑局部缺血；外周神经损伤；全身僵硬症和精神安定紊乱；与异常或突变体淋巴细胞有关的疾病；胎儿扰动；由卵巢切除术引起的阴道萎缩和骨质疏松症；肿瘤；病毒性疾病，特别是 AIDS 或 ARC；胃肠损伤；认知障碍；戒断紊乱；肾脏紊乱和细胞免疫应答紊乱。

本发明还涉及上述的 BPC 肽盐或药物或诊断组合物，其中，通式(II)是

Xaa Zaa Pro Pro Pro Xaa Yaa Pro Ala Asp Zaa Ala Xaa Xaa Xaa
(II)。

本发明尤其涉及 BPC 肽盐或含有上述通式(I)的 BPC 肽盐的药物或诊断组合物，其中的肽选自：

Leu Glu Pro Pro Pro Gly Lys Pro Ala Asp Asp Ala Leu Gly Val;
Gly Glu Pro Pro Pro Gly Lys Pro Ala Asp Asp Ala Gly Leu Val
(也称为 BPC157);
Leu Glu Pro Pro Pro Leu Lys Pro Ala Asp Asp Ala Leu Gly Val;
Leu Glu Pro Pro Pro Leu Lys Pro Ala Asp Ala Leu Gly Val;
Gly Glu Pro Pro Pro Gly Lys Pro Ala Asp Ala Gly Leu Val;
Glu Pro Pro Pro Leu Lys Pro Ala;
Asp Pro Pro Pro Ile Arg Pro Ala Asp;
Glu Pro Pro Pro Leu Lys Pro Ala Asp;
Leu Glu Pro Pro Pro Leu Lys Pro Ala Asp Ala Leu Gly Val;
Gly Glu Pro Pro Pro Gly Arg Pro Ala Asp
和
Glu Pro Pro Pro Leu Lys Pro Ala Asn。

这些肽记载于 WO 94/11394 和 WO 93/24521，其内容掺入本申请作为 BPC 肽的制备和用途的参考。

此外，肽可与其它功能基和/或结构部分如糖、脂肪、蛋白质或肽、抗体、受体、激素、细胞毒性物质、标记物质、染料、放射标记物、免疫调节剂、药物、载体、靶向或信号物质等。

5

此外，本发明还涉及上述的 BPC 肽盐和组合物，其中的肽是直链或环状的，特别是被第一个和最后一个氨基酸残基之间的酰胺键环化的形式。

10

以下将通过实施例和附图对本发明进行更详细的说明。

附图说明：

图 1 给出的是 NaBPC157 的 IR 光谱。

图 2 给出的是 Na₂BPC157 的 IR 光谱。

15

图 3 给出的是 BPC157 二铯盐(Cs₂BPC157)的 IR 光谱。

图 4 给出的是 BPC157 的 TRIS 盐(TRIS-BPC157)的 IR 光谱。

图 5 给出的是 BPC157 的二 TRIS 盐((TRIS)₂BPC157)的 IR 光谱。

图 6 给出的是 BPC157 的二氨基丙醇盐(2-AMP-BPC157)的 IR 光谱。

20

图 7 给出的是 BPC157 的三乙醇胺盐(TEAM-BPC157)的 IR 光谱。

实施例 1：BPC157 一钠盐(NaBPC157)的制备

将 0.5 g (0.35 mmol)序列为 Gly Glu Pro Pro Pro Gly Lys Pro Ala Asp Asp Ala Gly Leu Val 的十五肽(BPC157)溶于含有 29.6 mg 碳酸氢钠(0.35 mmol)的 10 ml 水中，用 0.2μ滤纸过滤灭菌后冷冻干燥得到 0.48g 米色固体。

25

所得盐的纯度: 99.4% (HPLC)。

30

质谱(FAB): 1419, 在 1441 有质量更高的离子 (M⁺Na⁺)。

将得到的肽盐用 6N-HCl 在密闭管中于 110℃水解 72 小时进行氨基酸分析，得到的结果相应于如下组成：3Gly, 4Pro, 2Ala, 2Asp, Glu, Leu, Val, Lys。

5

IR 谱(KBr): 图 1。

UV 谱(H₂O): λ_{\max} =190 nm, 无其它最大值。

熔点: 288-290℃(分解)。

10 实施例 2: BPC157 二钠盐(Na₂BPC157)的制备

将 0.5 g (0.35 mmol) BPC157 溶于 10 ml 乙醇。中速搅拌下加入 1.4 ml 0.5 mol/L 的氢氧化钠甲醇溶液。将该溶液用 0.2 μ 滤纸无菌过滤并缓慢加入到搅拌的乙醚(50ml)中。将析出的白色固体过滤并用乙醚洗涤得到 0.52 g 二钠盐。

15

所得盐的纯度: 99.4% (HPLC)。

质谱(FAB): 1419, 在 1441(M⁺Na⁺), 1464(M⁺Na₂⁺)有质量更高的离子。

20

所得肽盐的氨基酸分析相应于如下组成：3Gly, 4Pro, 2Ala, 2Asp, Glu, Leu, Val, Lys。

IR 谱(KBr): 图 2。

25

UV 谱(H₂O): λ_{\max} =190 nm, 无其它最大值。

熔点: 275-277℃。

实施例 3: BPC157 二铯盐(Cs₂BPC157)的制备:

30 将 0.5g(0.35mmol) BPC157 溶于含有 114 mg 碳酸铯(0.70 mmol)的 8ml 水中，用 0.2 μ 滤纸无菌过滤后冷冻干燥得到 0.55 g 米色固体。

所得盐的纯度: 99.3% (HPLC)。

5 质谱(FAB): 1419, 在 1551 (M^+Cs^+), 1684($M^+CS_2^+$) 有质量更高的离子。

所得肽盐的氨基酸分析相应于如下组成: 3Gly, 4Pro, 2Ala, 2Asp, Glu, Leu, Val, Lys。

10 IR 谱(KBr): 图 3。

UV 谱(H_2O): $\lambda_{max}=190$ nm。

熔点: 268°C

实施例 4: BPC157 的 TRIS 盐(TRIS-BPC157)的制备

15 将 0.5 g(0.35mmol)BPC157 溶于含有 42.6 mg(0.35 mmol)三(羟甲基)-氨基甲烷(TRIS)的 10 ml 甲醇中, 用 0.2 μ 滤纸无菌过滤, 然后于 40 °C 下真空蒸除甲醇得到 0.56 g 白色固体。

所得盐的纯度: 99.5% (HPLC)

20

质谱(FAB): 1419 (MH^+)

所得肽盐的氨基酸分析相应于如下组成: 3Gly, 4Pro, 2Ala, 2Asp, Glu, Leu, Val, Lys。

25

IR 谱(KBr): 图 4。

UV 谱(H_2O): $\lambda_{max}=190$ nm。

熔点: 250°C(分解)。

30

实施例 5: BPC157 的二 TRIS 盐($(TRIS)_2BPC157$)的制备

该化合物按照实施例 1 描述的方法制备,但使用的是 85.2 mg (0.70 mmol) TRIS。

所得盐的纯度: 99.5% (HPLC)。

5

质谱(FAB): 1419 (MH⁺)

所得肽盐的氨基酸分析相应于如下组成: 3Gly, 4Pro, 2Ala, 2Asp, Glu, Leu, Val, Lys。

10

IR 谱(KBr): 图 5。

UV 谱(H₂O): λ_{\max} =190 nm。

熔点: 188°-193°C。

15 实施例 6: BPC157 的 2-氨基丙醇盐(2-AMP-BPC157)的制备

该化合物按照实施例 1 中描述的方法制备。使用 2-氨基丙醇(2-AMP)作为碱。

所得盐的纯度: 96.6% (HPLC)。

20

质谱(FAB): 1419 (MH⁺)

所得肽盐的氨基酸分析相应于如下组成: 3Gly, 4Pro, 2Ala, 2Asp, Glu, Leu, Val, Lys。

25

IR 谱(KBr): 图 6。

UV 谱(H₂O): λ_{\max} =190 nm。

熔点: 158°C(分解)。

30 实施例 7: BPC157 的三乙醇胺盐(TEAM-BPC157)的制备

该化合物按照实施例 1 描述的方法制备。用三乙醇胺(TEAM)作为碱。

所得盐的纯度: 99.2% (HPLC)。

5

质谱(FAB): 1419 (MH⁺)

所得肽盐的氨基酸分析相应于如下组成: 3 Gly, 4 Pro, 2 Ala, 2 Asp, Glu, Leu, Val, Lys。

10

IR 谱(KBr): 图 7。

UV 谱(H₂O): λ_{max}=190 nm

熔点: 202°C-205°C。

15

EXAMPLE 8: 含 TRIS-BPC157 片剂的制备

组成	mg/片
TRIS-BPC157	0.5
海藻糖	20.0
乳糖	17.0
淀粉	6.5
滑石	3.0
黄耆胶	2.5
硬脂酸镁	0.5
<hr/>	
	50.0 mg

将 TRIS-BPC157 (0.5 mg)和海藻糖(20 mg)溶于 1 ml 水并蒸发干燥。干燥后, 将残余物与其它成分混合制备片剂。

20

实施例 9: 含 NaBPC157 胶囊的制备

<u>组成</u>	<u>Mg/胶囊</u>
NaBPC157	0.5
海藻糖	60.0
乳糖	39.0
硬脂酸镁	0.5
100.0mg	

将 NaBPC157 (0.5mg)和海藻糖(60mg)溶于 1 ml 水并通过蒸发溶剂进行干燥。将残余物与其它成分混合制备胶囊。

5

实施例 10: 含 NaBPC157 溶液剂的制备

<u>组成</u>	<u>g/25 ml</u>
NaBPC157	0.05
甘油	15.00
苜醇	0.01
pH 7.0 缓冲液加至	25ml

实施例 11: 含 TRIS-BPC157 霜剂的制备

<u>组成</u>	<u>g/25 g</u>
TRIS-BPC157	0.05
乳化剂	2.80
氢化花生油	7.08
吐温®60	12.08
丙二醇	3.00
羟基苯甲酸甲酯	0.07
25.00 g	

10

实施例 12: 稳定性试验

将 BPC 肽盐于 40℃保温 76 天和 120 天测试其稳定性。水溶液中

BPC 肽盐的浓度为 0.2% (w/v)。稳定性用 HPLC 方法测定：柱, Kromasil 100, 5 μ , 150 x 4.6 mm；流动相, 0.1% 三氟乙酸的水/乙腈溶液(0 至 50 vol.%), 在 25 分钟内梯度洗脱, 流速 1 ml/min；检测: UV, 214 nm。

5 为了进行比较, 使用游离的 BPC 肽及其单乙酸盐。

表 1 BPC 肽盐于 40 $^{\circ}$ C 下在第 0 天、76 天和 120 天的稳定性；以面积%(HPLC)分析。

化合物	pH 值 0.2%水溶液	0 天	76 天	120 天
游离肽 BPC157	4.46	99.3	98.1	97.4
肽 BPC157 单乙酸盐	4.53	99.2	97.8	95.3
BPC157 的钠盐	6.51	99.4	99.5	99.4
BPC157 的二钠盐	7.64	99.4	99.7	99.4
BPC157 的 TRIS 盐	6.31	99.5	99.5	99.4
BPC157 的二 TRIS 盐	8.24	99.5	99.5	99.5
BPC157 的 2-AMP 盐	8.20	99.6	99.4	99.5
BPC157 的 TEAM 盐	7.61	99.2	99.3	99.1

10

该表中所列数据清楚地表明, 相对于游离的 BPC 肽或其单乙酸盐, 本发明 BPC 肽的稳定性增加。此外, 可能是由于 BPC 肽盐的高 pH 值, 注射这些溶液时不会引起任何疼痛或坏死。

15

在另一个实验中, 在加入海藻糖后观察到了粗品形式和溶液形式的本发明 BPC 肽盐的稳定性进一步改善。因此, 加入海藻糖作为可药用添加剂来制备药物组合物、特别是片剂或胶囊, 是本发明的另一个重要方面。

20

以下实施例描述证实本发明 BPC 肽盐的药物活性的实验。这些

实验用不同的常用体外和体内模型进行。若无另外说明，这些实验中使用的是肽 BPC 157 的一钠盐(缩写 NaBPC157)。若无另外说明，在所有实验中均使用体重为 250-280g 的雄性 Wistar 大鼠。

5 实施例 13: NO-系统

引言:

一氧化氮(NO)具有在内皮和神经细胞中作为信号分子的功能以及由免疫细胞激活的杀伤分子的功能。最近的研究表明，可将 NO 作为通过吸入给药的药物。通常，NO 过量或不足时均会引起多种紊乱，特别是高血压、心绞痛、阳痿、循环性休克、脓毒性休克、中风、炎症、呼吸窘迫综合征、肺高压、血小板和白细胞的粘着和聚集、糖尿病、低血压和帕金森氏症。

材料和方法:

15 在大鼠中检测 NaBPC157(10 μ g 或 10ng/kg)的某些作用，例如对胃损伤的有益活性和 NaBPC157 对保持血压的活性。用乙醇处理(96%，胃内给药(i.g.))1 小时形成损伤。同时给药 NaBPC157(腹膜内(i.p.))。在保持血压的实验中，将 NaBPC157 静脉内(i.v.)给药。

20 还研究了 N^G-硝基-L-精氨酸甲酯(L-NAME)(5mg/kg, i.v.)(内皮一氧化氮(NO)-生成的竞争性抑制剂)和 NO-前体 L-精氨酸(200mg/kg i.v.)(D-精氨酸无效)的联合给药。在胃损伤分析中，在乙醇损伤和用 NaBPC157 处理前 5 分钟给予 NO-剂。

25 结果:

在乙醇模型中，将 NaBPC157 单独给药与 L-精氨酸同样具有抗溃疡作用。NaBPC157 可以预防在乙醇处理的对照大鼠中观察到的严重的胃损伤。L-NAME 无效。L-NAME 完全消除了 L-精氨酸的活性，但仅仅轻微减弱 NaBPC157 的活性。在联合给药 L-NAME+L-精氨酸后，NaBPC157 的活性进一步降低。

在血压研究中, NaBPC157(对基础的正常值无影响)和 L-精氨酸相比有模仿作用(在预防性给药时, 可使受损的 L-NAME 血压增加; 在 L-NAME 血压增加最大(即 L-NAME 给药后 10 分钟)时给药, 可降低已升高的 L-NAME 值)和预防活性(用 NaBPC157 预处理可防止 L-精氨酸诱导的中度的血压下降)。当将 NaBPC157 在联合给药 L-NAME+L-精氨酸 10 分钟后(仍能引起血压上升)给药时, 其清除作用(在 L-NAME 处理的大鼠中可观察到)消失。在体外, 在大鼠胃组织匀浆物的胃粘液中, 将 NaBPC157 与 L-精氨酸以相同的剂量(100 μ M)给药可引起相当的 NO 的形成。但 NaBPC157 的作用不会受到 L-NAME 的抑制, 即使在高于抑制 L-精氨酸的作用所需剂量的 10 倍(100 对 1000 μ M)的情况下也是如此。另一方面, 当将 NaBPC157 和 L-精氨酸联合给药时, NO 的合成减少。总而言之, NaBPC157 可以以特殊的方式干预 NO 对胃粘膜完整性和血压维持的影响, 特别是在与 L-精氨酸联合给药时, 对 NO 有更显著的和/或非常不同的影响。

由于对 NO 的影响比 L-精氨酸更为显著, NaBPC157 可防止伴有副作用的过量的 NO 形成(紊乱的 L-精氨酸的作用(例如低血压))。在体内, 这些副作用向正常值恢复; 在体外, 防止过量的 NO-形成。此外, 消除了抑制 NO-系统的消极后果(例如防止 L-NAME 引起的血压升高和使已经建立的 L-NAME 高血压恢复)。

基于在其它组织(肺、肝、血管等)和各种应用模型(胃损伤和血压维持)中进行的非常相似的 NO-分析, NaBPC157 对过量 NO-形成和受损的 NO-系统功能的有益效果非常明显。具体地讲, 本发明的 BPC 肽盐可用于治疗高血压、心绞痛、阳萎、循环性休克、脓毒性休克、中风、炎症、呼吸窘迫综合征、肺高压、血小板和白细胞的粘着和聚集、内皮功能障碍和帕金森氏症。

实施例 14: 体位感觉神经元

引言:

体位感觉神经元通常与内环境稳定的控制有关，特别是与对内环境稳定的攻击的反应有关。这些神经元可发现潜在的威胁。这些神经元本身能够立即进行适宜的调节以缓解危险。因此，作用于血管的传入神经元代表了抵御创伤的第一道防卫系统。总之，其保护能力通过皮肤和胃肠粘膜的实验性损伤而得到证实。机能障碍或机能亢进与各种疾病有关，特别是与先天性的感觉神经病、因糖尿病引起的感觉神经病、带状疱疹、带状疱疹后神经痛、特应性皮炎、受伤组织的不利愈合(例如，持续的皮肤创伤、酸诱发的皮肤损伤的加重和角膜角膜炎样损伤的形成)、获得性冷和热荨麻疹、牛皮癣、大疱性类天疱疮、湿疹、光照性皮肤病、上下呼吸道疾病、特异性和非特异性反应过度、血管舒缩性鼻炎、气喘、慢性关节炎和胃肠损伤有关。

材料和方法:

研究 NaBPC157 对胃损伤(通过用 96%乙醇处理、限制性应激性和消炎痛处理而在大鼠中产生的)的胃肠保护作用。用辣椒辣素研究感觉神经元在 NaBPC157 (10 μ g/kg, 10ng/kg, 腹膜内)的有益作用中可能起的作用，辣椒辣素对感觉神经元有非常不同的影响：高剂量施用给 3 个月的成年动物(125 mg/kg,皮下)或施用给(50 mg/kg,皮下)新生的动物(7 日龄)可破坏感觉纤维，而低剂量(500 μ g/kg, 腹膜内)可激活神经递质的释放并激活对粘膜的保护作用。

结果:

(i)不存在辣椒辣素的条件下，在进行乙醇、限制性应激性和消炎痛处理后，NaBPC157 对胃肠粘膜有保护作用。

(ii)存在神经毒性剂量辣椒辣素的条件下，辣椒辣素对限制性应激性、乙醇或消炎痛损伤的消极影响可持续影响 NaBPC157 的有益作用。在所有这些实验的辣椒辣素处理的模型(处理的成年或新生动物)中，NaBPC157 的保护作用仍很明显。在新生动物用辣椒辣素处理后，如果以 1ng 的方案施用 NaBPC157，NaBPC157 引起的胃肠保护作用

会完全消失。当每天使用相同的剂量时，粘膜的保护作用会完全逆转。

(iii)与兴奋剂量的辣椒辣素联用，NaBPC157 的有益作用会得到加强。

- 5 综上所述，这些数据表明了 NaBPC157 的有益作用与肽能感觉传入神经元活性之间的复杂的协同作用。考虑到辣椒辣素在动物和人以及上述实验中极类似的作用，可将 NaBPC157 用于治疗上述疾病。

实施例 15：内皮保护作用

10 引言：

已知血管内皮损伤出现在总器官损伤发生前并且是总器官损伤的前提。内皮保护作用可减少粘膜整体局部缺血的损伤性后果。作为一个有用的模型，在应用已知可引起大规模损伤的坏死剂(如胃内应用的乙醇)前不久，给大鼠施用化单星蓝被广泛接受。

15

材料和方法：

在乙醇处理前 3 分钟，所有大鼠静脉内接受化单星蓝(MB)(Sigma Company, USA)(1.0 ml/kg 体重)。乙醇处理后 1 分钟，将大鼠处死。在乙醇处理前 1 小时，施用 NaBPC157(10.0 μ g/kg，腹膜内)或盐水
20 (5.0ml/kg，腹膜内)。处死后，立即取出胃并通过无偏见观察者评估损伤。加工有代表性的胃和十二指肠切片以进行进一步的组织学分析。

用化单星蓝(MB)技术，早期(乙醇处理后 1 分钟)评估血管损伤。用 TEM 检测染色粘膜的面密度。

25

结果：

在用 NaBPC157 处理的组中，注意到 MB 染色的大量减少。所用模型与人疾病的极相似性说明了可将 NaBPC157 用于治疗与内皮紊乱有关的人的疾病。

30

实施例 16: 血管生成作用

引言:

血管生成作用对于肉芽组织的产生和伤口和/或溃疡愈合是非常重要的。用熟知的方法, 研究血管生成特性。

5

材料和方法:

在每只大鼠中, 将带有相同量 NaBPC157(50 μ g、10 μ g、10ng/ml 溶液)或参考试剂, 西咪替丁(10 mg, 100mg, 500mg/ml)、雷尼替丁(2.5 mg, 25 mg, 250 mg/ml)、法莫替丁(10 mg, 50 mg, 100mg/ml)和硫糖铝(1 mg, 5mg, 10 mg/ml)的两个无菌海绵(1 cm x1 cm x0.25 cm(V=0.25 ml)) 皮下植入腰部。3 和 7 天后, 取出所述海绵。然后, 将其用福尔马林固定并进行加工以用于组织学和组织化学评估和形态测定。所用的显微镜是: Leitz, DIAPLAN: 用于形态测定分析, 使用由 VAMS, Zagreb, Croatia 生产的程序“SFORM”。

15

结果:

通常用在植入的海绵周围新形成的肉芽组织作为在宿主外源体上反应的有价值的定量测量值。植入 3 天后处死的大鼠的实验表明了下列结果: 在用 NaBPC157 处理的动物组中, 与对照值相比, 有更多的肉芽组织。在所有剂量硫糖铝处理的大鼠中, 观察到类似的结果。与此相反, 在用所有 3 种 H₂ 阻断剂处理的组中, 对照值与分析试剂之间没有差异。在植入后 7 天处死的动物中, 用 3 种剂量硫糖铝处理动物和用高剂量 NaBPC157(50 μ g)处理的动物与对照组相比有显著差异。在这两组处死的时间上, 对照值没有显著差异。

25

在新形成的肉芽组织内, 计数内皮空间(space)。相对于对照值而言(在植入后 3 天, 对照组中新形成的内皮空间数为 7.94 ± 1.23 , 在植入后 7 天, 为 14.8 ± 3.12), 在两个间隔(第 3 和第 7 天)所有所用的物质均使数值有显著的增加。

30

除各种抗溃疡药物有血管生成特性外，与硫糖铝一样，NaBPC157也能够刺激肉芽形成。因此，可将 NaBPC157 用于引发并加强愈合过程，特别是伤口和/或溃疡愈合过程。

5 实施例 17：炎症

引言：

用很能代表人类中的急性和/或慢性炎症疾病的许多适宜模型，通常可评估目前使用的抗炎药物。但是，严重的胃肠损伤似乎是这些药物的主要副作用。

10

注意到了 NaBPC157 的急性抗炎和镇痛活性(例如由松脂、角叉菜胶、乙酸或硫酸镁引起的缠绕(前列腺素依赖型、非前列腺素依赖型)尾-收缩试验)以及解热作用(酵母引起的发烧(4000mg/kg, 皮下)的减退)。因此，用大鼠同时研究了其已知的对胃肠损伤的有益作用、其对慢性炎症损伤如佐剂关节炎的影响及其作为非甾体抗炎剂在 NSAIA 引起的胃肠损伤中的作用。

15

材料和方法：

在胃肠损伤(消炎痛(30 mg/kg, 皮下)、阿司匹林(400 mg/kg, 胃内)和双氯芬酸钠(125 mg/kg, 腹膜内))研究中，有规律地施用 NaBPC157(10 μ g 或 10 ng/kg 腹膜内)，同时和/或在药物(消炎痛)应用前 1 小时施用。在佐剂关节炎(经尾给药 0.2 ml 弗氏佐剂)研究(14 天、30 天、1 年)中，单次给药(在应用弗氏佐剂前或后 1 小时)NaBPC157 或以每天一次的方案(0-第 14 天、第 14-30 天和第 14 天-1 年)施用 NaBPC157。

25

结果：

与研究的 NSAIA 一起给药，NaBPC157 持续降低了对照大鼠胃中的其他显著损伤，以及消炎痛组中小肠中的损伤。在佐剂关节炎研究中，在单次给药 NaBPC157 后，甚至在每天用 NaBPC157 治疗的更

30

衰弱的大鼠中，损伤的发展明显降低。作为已经确立的佐剂关节炎的一种治疗方法，在仅治疗 2 星期后，NaBPC157 的有益效果就持续出现，而且在应用后 1 年更明显。这些数据表明了 NaBPC157 对粘膜整体的抗炎和保护作用。

5

已知在佐剂关节炎的治疗中，涉及两种不同的机制，炎症和迟发型的反应过度。NaBPC157 对这两者均有积极的效果。相对于参考标准(即阿司匹林、消炎痛)，NaBPC157 在相当低的剂量(μg 和 ng/kg 对 mg/kg)也是有效的。在佐剂关节炎预防中的这种初始有效性在每天的应用中甚至更高。在一次或每天给药时，较高剂量($10\mu\text{g}/\text{kg}$)均是有效的，而较低剂量($10\text{ ng}/\text{kg}$)，一次给药是无效的，但当每天给药时，是有效的。与 NaBPC157 对完全确立的关节炎的治疗效果相结合，这一发现证明了在佐剂关节炎的整个过程中的有用应用。NaBPC157 在佐剂关节炎中的显著效果(预防/治疗效果，未确立的/确立的佐剂关节炎)，用目前使用的治疗药物是无法观察到的。当每天施用₁₀时，糖皮质激素对于佐剂关节炎的预防是有效的，但在短期治疗中是无效的。免疫抑制剂(高剂量的)和非甾类镇痛药分别仅在治疗前或治疗后是有效的。₁₅

20

因此，基于所用模型与相应人疾病之间的极类似性，证明具有粘膜保护特性的 NaBPC157 可用于治疗与急性炎症和慢性关节炎有关的疾病。另外，NaBPC157 可用于治疗与迟发型过敏性疾病和在胃肠道各部分诱发的胃肠损伤特别是由药物如 NSAIA 诱发的损伤有关的疾病。

25

实施例 18：自由基清除剂作用

材料和方法：

在下列各种大鼠肝损伤的实验模型中，通过与参考标准物如溴隐亭、金刚烷胺和促生长素抑制素进行比较，来评估 NaBPC157 的肝保护作用：₃₀ 24 小时-胆管和肝动脉连接、48 小时-限制性应激反应和施用

CCl₄(自由基诱发剂)。胃内或腹膜内施用 NaBPC157。

结果:

5 在经 24 小时-胆管和肝动脉连接、48 小时-限制性应激反应和施用 CCl₄(自由基诱发剂)(1 ml/kg, 腹膜内, 此后 48 小时处死)的大鼠中, NaBPC157 显著抑制肝坏死的发展或脂肪变化。在这些模型中, 其他参考药物几乎没有或没有保护作用。胆红素的实验室试验表明 SGOT 和 SGPT 与大/显微镜下的发现完全相关。因此, NaBPC157 可用于治疗肝疾病。另外, 由辐射引起的骨髓抑制是研究恢复造血元件
10 (hematopoetic elements)动力学的可重复模型。NaBPC157 表明对因亚致死辐射引起的骨髓损伤有有益的效果。因此, NaBPC157 可用于治疗因辐射引起的骨髓损伤。考虑到通常认识到的 CCl₄ 与自由基形成和损伤发展之间的关系, NaBPC157 的有益效果似乎也可用于其他由自由基诱发的器官损伤, 特别是辐射引起的。

15

实施例 19: 儿茶酚胺能系统

引言:

20 间接作用的拟交感神经药物如苯异丙胺有共同的特性, 例如在中枢神经系统(CNS)中的神经末端引起儿茶酚胺释放增加和抑制儿茶酚胺的再摄入(主要是多巴胺)。定型化行为是纹状体中多巴胺能系统激活的结果。通常认为苯异丙胺爬行行为的增加是多巴胺拮抗剂氟哌啶醇应用后, 纹状体多巴胺受体上调的结果。这随后又引起苯异丙胺超敏感性的产生。NaBPC157 的应用并不影响总体行为或诱发定型化行为。

25

材料和方法:

30 研究 NaBPC157 对多巴胺激动剂苯异丙胺(10 mg/kg, 腹膜内)定型化行为和对兴奋性的影响。将 NaBPC157 作为预防性辅助治疗或有益治疗方案(10 μg 或 10 ng/kg, 腹膜内)应用。在大鼠中诱发定型化行为和兴奋性。

结果:

通常观察到明显减弱和逆转的(在苯异丙胺疾病最严重时治疗)定型化行为和提高的兴奋性(即较强的和剧烈的颤搐、惊慌跳跃和逃脱)。

5

进一步的焦点是 NaBPC157 对小鼠爬行行为增加的影响。将小鼠用多巴胺拮抗剂氟哌啶醇(5.0 mg/kg, 腹膜内)预处理, 随后用苯异丙胺(在氟哌啶醇预处理后 1、2、4 和 10 天, 用 20 mg/kg, 腹膜内攻击)处理, 这通常用于研究对苯异丙胺刺激作用的行为过敏。因此, 如果对苯异丙胺定型化行为的拮抗可能是待测 NaBPC157 的多巴胺拮抗剂活性的结果(直接或间接), 那么氟哌啶醇对苯异丙胺爬行行为的增加作用的加强就是可预期的。与此不同, 当将 NaBPC157 与氟哌啶醇共同给药时, 可观察到这些作用几乎完全抵消。综上所述, 这些数据为 NaBPC157 与多巴胺系统的相互作用提供了证据。此外, 还用其他实验模型(即对应激性溃疡的保护作用)说明 NaBPC157 与中枢多巴胺系统的相互作用。已经观察到许多肽(神经降压素、CCK 等)都与多巴胺系统有相互作用。另外, 应用 NaBPC157 也可逆转因 LSD(例如 0.3mg/kg, 腹膜内)诱发的行为障碍。NaBPC157 对多巴胺系统有调节作用。在因苯异丙胺诱发的多巴胺释放和合成增加的疾病中, NaBPC157 可以抑制和逆转所产生的障碍(即定型化行为)。同样, NaBPC157 可显著减轻因氟哌啶醇阻断的多巴胺受体的后果。这表明 NaBPC157 的调节作用还包括代替其他明显不足的多巴胺系统。这避免了因此而引起的多巴胺受体的过敏和苯异丙胺障碍的增加。

25

因此, NaBPC157 是治疗精神分裂症、苯异丙胺攻击效应(精神分裂症形式精神病)和药物滥用的有用试剂。

实施例 20: 应激反应

引言:

30

将应激性定义为在各种器官中导致损伤的非特异性事件。将应激

性反应定义为对各种有害事件的反应。最常使用的一种动物应激性模型是在大鼠中导致严重应激性胃损伤的限制性应激性模型。其他器官也会受到影响。

5 材料、方法和结果

在应激性诱导前 1 小时，腹膜内或胃内施用 10 μ g 或 10 ng/kg 体重剂量，NaBPC157 显著抑制了其他不可避免的严重胃损伤的发展。如果延长应用应激反应-减弱试剂与应激性诱导之间的时间(下文称为“期间”)，标准抗溃疡药物就会几乎无效，这与待测 NaBPC157 的显著效力形成强烈对比。甚至在延长所述期间达 48 小时时，NaBPC157 仍有有益活性。NaBPC157 所赋予的保护作用包括减轻在其他器官(例如肝、肾上腺、肾、睾丸、心、胰腺、脾)中经常出现的损伤。因此，由于另一些熟知的应激性参数明显地较少受干扰(胸腺淋巴腺退化和肾上腺的皮质肥大)，很明显可将 NaBPC157 用于各种应激性疾病。

15 NaBPC157 对与非特异性应激性病理学有关的在不同器官中出现的各种损伤有积极的效果。由于人与所用模型有相同的事件链，因此，这更强调了即使当应激性病理学已进一步发展(如应激性诱导后 24 小时)，NaBPC157 也有有益的效果。

20 实施例 21: 细胞保护作用的说明

引言:

细胞保护作用原来被定义为保护细胞抵御不同有害因素的特性，在胃粘膜中是胃酸的独立作用。后来，将该定义扩展到包括胃肠道外，涉及不同器官的本质相似的保护作用(细胞保护作用-器官保护作用)。

25 基于其对初始 Robert's 模型的作用，研究了应用 NaBPC157 的可能的细胞保护作用，该模型是筛选用于乙醇诱发的胃损伤的细胞保护剂模型。

材料、方法和结果:

30 NaBPC157(10 μ g 或 10 ng/kg 腹膜内)有预防作用(在应用 96%乙

醇(1 ml/大鼠, 胃内)前 1 小时或同时施用)和有益的效果(在应用乙醇后 1 小时损伤发展到最大时施用)。

5 为了产生用于细胞保护研究的无酸环境, 在溃疡产生前 24 小时进行全胃切除。在不存在胃和胃酸的情况下, 用半胱胺进一步攻击, 半胱胺迄今为止被认为是与酸有关的十二指肠溃疡原(ulcerogen), 通过与已知是细胞保护剂的参考试剂(西咪替丁(50)、雷尼替丁(10)、奥美拉唑(10)、溴隐亭(10)和阿托品(10)(数值单位是 mg/kg, 腹膜内, 半胱胺应用前 1 小时))进行比较, 研究半胱胺(400 mg/kg, 皮下, 此后 24 10 小时处死)的损伤效果, 和 NaBPC157(10 μ g 或 10 ng/kg, 腹膜内)的细胞保护作用。在有完整胃的幼大鼠中, 所有被应用的物质均有显著的有益效果。在胃切除的动物中, 施用被研究的试剂(即在半胱胺应用前, 施用 NaBPC157 或参考试剂)显著抑制严重的十二指肠损伤, 而这在对照的胃切除的半胱胺大鼠中观察到有发展。在未用半胱胺处理的组 15 中, 未观察到损伤(在外科手术后 24 小时或 48 小时, 进行腹壁部分切除和胃切除), 在用半胱胺处理的腹壁部分切除的动物中, 也没有观察到损伤的可能性。这些发现(在有完整胃的大鼠和没有胃的胃切除大鼠中, 有相同的半胱胺损伤效果, 相同的 NaBPC157 和参考试剂保护作用, 因此, 损伤或保护作用与胃酸分泌无关)是细胞保护作用的标志。 20 清楚地说明了胃(如乙醇)损伤与半胱胺十二指肠损伤之间的相似(损伤与胃酸无关)。说明了高度的“细胞保护能力”显然不是酸依赖性的, 对于所有检测试剂均是如此, 而对 NaBPC157 更明显。

25 由于很低剂量的 NaBPC157 比其他试剂也更有效(即 μ g 或 ng/kg 对 mg/kg), 所以可将其效力(和治疗应用)扩展至不同的器官损伤。这是因为, 在其他器官中, 其他试剂的效力也是来源于它们的“细胞保护”作用(例如促生长素抑制素: 肾上腺、胰腺、肝、肺和胃肠道损伤)。

实施例 22: 器官保护作用的说明

30 引言:

为了将“细胞保护”作用扩展至“器官保护”作用，通常进行内皮保护作用的研究。作为一个明显的指标，由于化单星蓝具有与损伤的内皮结合的能力，因此，广泛地使用乙醇损伤的胃大鼠粘膜的化单星蓝研究。

5

材料和方法：

在乙醇处理前 3 分钟，所有大鼠均接受化单星蓝(MB)(Sigma Company, USA)(1.0 ml/kg 体重，静脉内)，乙醇处理后 1 分钟处死动物。在乙醇处理前 1 小时，施用 NaBPC157(10.0 μ g/kg，腹膜内)或盐水(5.0 ml/kg，腹膜内)。处死后，立即取出胃，并按前述，由无偏见的观察者评估损伤。制作胃和十二指肠的代表性切片以进行进一步的组织学分析。用化单星蓝计数评估早期(乙醇处理后 1 分钟)血管损伤。用 TEM 检测染色粘膜的面密度。

10

15

结果：

在 NaBPC157 处理组中，均观察到 MB 染色的明显减少。此外，应用 NaBPC157 没有消极影响。尽管使用了高剂量(例如 g/kg 体重，腹膜内)，但对不同的基础参数没有影响，也没有毒性。

20

由于在体内广泛存在内皮维管组织以及内皮保护作用对器官保护作用的重要性，在不同的器官损伤中，可用 NaBPC157 作为器官保护剂。

实施例 23：急性胰腺炎

25

材料和方法：

在大鼠急性胰腺炎(由胆管连接诱发的)中，用 NaBPC157 作为保护和治疗剂。同时，研究 NaBPC157 对伴随发展的胃和十二指肠损伤的影响。

30

在连接前 1 小时，预防性施用 NaBPC157(10 μ g 或 10 ng/kg 体重，

腹膜内，胃内)，而治疗是从连接后 1 天开始，每天给药(处死前 24 小时，最后一次给药)。每天研究所述作用，直到连接后第 5 天结束。

结果：

5 治疗前的施用，产生显著的胰腺保护作用。当用于已经确定的严重急性胰腺炎时，持续观察到明显的有益作用。评估坏死、水肿、中性白细胞和单核细胞的出现，但在 NaBPC157 处理的大鼠中有更多的单核细胞。在相对于对照数据的血清淀粉酶值研究中，观察到已经升高的数值只有很小的增加(NaBPC157 预处理应用)和该数值减小
10 (NaBPC157 治疗应用)。与其对胰腺炎的有益作用一起，在胆管连接大鼠中，NaBPC157 对胃和十二指肠损伤的积极影响在治疗前和治疗后应用中均被观察到。综上所述，可将 NaBPC157 用于治疗急性胰腺炎，并对并发的胃十二指肠疾病有积极的作用。

15 实施例 24：对心脏毒性的影响

材料和方法：

 用 Albino Wistar 大鼠和 Hartley 豚鼠完成试验。通过颈静脉插管施用氯化钡(10 mg/kg 体重)、地昔帕明(10 mg/kg 体重)、洋地黄(总剂量 6.5 mg/kg)和异丙去甲肾上腺素(15 mg/kg)来诱发心脏毒性。另外，
20 以多次剂量(3 mg/kg，皮下，一周一次，至 13 周)和单次剂量(7 mg/kg，静脉内)应用阿霉素并诱发心肌病。还通过非药理学心肌损伤的固定应激来诱发心脏毒性。按下列说明施用 NaBPC157：

1. 氯化钡

25 a) 治疗前(前 1 小时)：NaBPC157 50 µg/kg，10 µg/kg 和 10 ng/kg，腹膜内；

 b) 治疗后(60 秒后)：NaBPC157 10 µg/kg 和 10 ng/kg，静脉内；

2. 地昔帕明：NaBPC157 50 µg/kg 和 50 ng/kg，前 1 小时腹膜内；

30 3. 洋地黄：NaBPC157 50 µg/kg 和 50 ng/kg，以 15 分钟的间

隔，静脉内；

4. 异丙去甲肾上腺素：NaBPC157 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 50 ng/kg ，前 15 分钟，静脉内；

5. 固定应激性：NaBPC157 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 10 ng/kg ，捆绑前 1 小时和捆绑后立即，以及固定后 24 和 48 小时，静脉内；

6. (a) 慢性阿霉素毒性：NaBPC157 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 10 ng/kg ，腹膜内，同时应用阿霉素；

(b) 急性阿霉素毒性：NaBPC157 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 10 ng/kg ，阿霉素应用前 1 小时，腹膜内。

10

在心律不齐模型中，给麻醉动物连续记录心电图。每 15 秒钟或发生心律紊乱时，以 50 mm/s 或 100 mm/s 再记录。在其他模型中，在延续的记录中，用 50 mm/s 的纸速，用短暂麻醉的动物记录一次或重复记录心电图。通过生物化学分析，用肉眼和显微镜检测心和其他器官来评估阿霉素的心脏毒性。在固定应激试验中，使用相似的方法。

15

结果：

在氯化钡诱发的心律不齐模型中，观察到 NaBPC157 的抗心律不齐作用。在治疗前研究中，NaBPC157 延缓并抑制了心律不齐的发生并减少和/或抑制了局部缺血。在治疗后研究中，NaBPC157 引起向室性节律的快速转变并防止了心律不齐的再发生。

20

NaBPC157 完全抑制了心率的突然降低和因地昔帕明诱发的传导障碍(PQ 延长和 QRS 加宽)。NaBPC157 还抑制了与地昔帕明的前心律不齐(proarrhythmic)作用有关的心室性心博过速和严重的房室阻断。所述作用是剂量依赖性的。

25

此外，NaBPC157 对洋地黄诱发的心脏毒性有选择性作用。NaBPC157 通过抑制或减弱作用而对心率突然降低和心律紊乱(室性期外收缩、心室性心博过速和房室阻断)有积极的作用。ng 剂量的

30

NaBPC157 对因毒性剂量洋地黄引起的传导减慢的影响不显著。用微克剂量的 NaBPC157 时，所述影响更为明显。

5 NaBPC157 明显抑制局部缺血和心肌梗死。以微克剂量使用时，所述作用更强。在固定应激试验中，以治疗前的形式，单次施用 NaBPC157 可抑制心电图表明的局部缺血和组织学心肌损伤。在已经明显的心电图改变中，治疗后施用 NaBPC157 也可缓解局部缺血。微克剂量的 NaBPC157 可提高 QRS 复合电压，特别是在治疗前应用中。

10 应用 NaBPC157 可使在单次以及多次(程度更大)应用阿霉素后引起的 antracyclin 心脏病(严重的肌细胞和血管壁损伤，以及空泡形成)的病理形态学参数显著降低。尽管绝对值显著增加，但 LDH 活性显著降低。

15 总之，证明 NaBPC157 可用作抗心律不齐、抗绞痛的药剂和心脏保护剂。

实施例 25：抗抑郁活性

材料和方法

20 各种抗抑郁药物具有抗溃疡活性，而且在溃疡和抑郁研究中目前所用的模型中都有相当程度的相似性。因此，在两种大鼠抑郁试验中研究抑郁疾病可通过具有细胞-/器官保护活性的主要抗溃疡剂如 NaBPC157 有效治疗的可能性：强迫游泳试验(Porsolt's 方法)和慢性不可预测的应激性方法(在不可预测的应激性方法施用 5 天后，在应激过程中每天给药一次，然后在治疗的第 4 天和第 6 天进行开放场地的固定试验评估)。

结果：

30 在强迫游泳试验中，相对于分别用 15 mg 或 40mg(腹腔内)常规抗抑郁药丙咪嗪或尼阿拉米治疗的动物的活动而言，NaBPC157

(10 μ g、10 ng 或 10 pg/kg, 腹膜内)治疗的大鼠的固定时间减少。在慢性不可预测的应激试验中的剧烈试验条件下, 丙咪嗪活性(30 mg)不产生作用, 而 NaBPC157(10 μ g, 10 ng)以剂量依赖方式改善慢性应激大鼠的活动性。

5

实施例 26: 帕金森氏病模型

材料和方法

施用致帕金森病试剂, 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)(已知通过形成自由基而破坏多巴胺黑质纹状体系统)(30.0 mg/kg 体重, 10 腹膜内, 每天一次, 6 天, 并在 4 天后一次 50.0 mg/kg 体重腹膜内给药)或利血平(儿茶酚胺小泡消除剂)(5.0 mg/kg 体重, 腹膜内)。在每次施用 MPTP 前 15 分钟或者之后 15 分钟施用 NaBPC157(1.50 μ g 或 15.0 ng/kg 体重, 腹膜内)。在利血平研究中, 在施用利血平前 15 分钟, 或者在此后 24 小时的已完全强直性昏厥中, 施用 NaBPC157(10.0 μ g 或 15 10.0 ng/kg 体重, 腹膜内)。

结果:

NaBPC157 显著改善 MPTP 损伤的体位感觉方向并降低了 MPTP-诱发的机能亢进。此外, NaBPC157 减少 MPTP 运动的异常(震颤、运动不能、强直性昏厥, 而且在盐水对照中很显著), 几乎完全消除了在对照中 MPTP 处理的正常致死过程。在利血平试验中, NaBPC157 显著抑制了很显著的强直性昏厥的发展。在此后 24 小时应用时, NaBPC157 逆转了已确立的强直性昏厥。而且已经持续观察到利血平-20 低温的减少(NaBPC157 治疗前)和逆转进一步的显著体温下降(NaBPC157 治疗后)。

25

已知上述所用的两种常规动物模型是人疾病及其治疗方法的象征。由于在 μ g 和 ng 方案的治疗前和治疗后研究中证实了其高效力, 因此可以看出, NaBPC157 很适用于治疗帕金森氏病和帕金森氏病样30 疾病。

此外，在利血平低温中观察到的效果使得可以得出结论，NaBPC157 很适用于治疗体温紊乱。

5 实施例 27：对骨缺损愈合的治疗
材料和方法：

用 42 只兔，经术后 6 周，研究骨髓和 TRIS-BPC157 对节骨 (segmental)骨缺损愈合的成骨作用。损伤诱发后(在两个辐射线中部产生一个 0.8 cm 的骨膜缺损)，用骨髓和 TRIS-BPC157(每组 6 只兔)按下列方法完成试验：用盐水(2 ml 肌肉内和 2ml 局部施用到每个骨缺损中)处理的损伤动物作为对照(组 1)。在第 2 和第 3 组中，用 2 毫升自体骨髓(术后第 7 天)或 TRIS-BPC157(10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重，术后第 7 天和第 14 天)局部处理每个骨缺损。在第 4、5 和 6 组中，在术后第 7 天、第 9 天、第 14 天和第 16 天(10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重)肌肉内施用 TRIS-BPC157，或者在术后第 7 天-第 21 天的期间，每天施用一次 TRIS-BPC157(10 μg 或 10 ng/kg 体重)。作为其形成立即进行的标准处理，用自体皮质移植填充第 7 组的骨质缺损。

在术后第 6 周，处死所有动物。用 2 周的放射照片和组织学检测评估节骨缺损的愈合。

结果：

平行比较在 4 个时间间隔拍摄的放射照片(骨痂表面，骨质缺损的显微照相密度测量)和定量组织形态学测量表明局部注射到骨质缺损中的骨髓和肌肉内施用的 TRIS-BPC157(特别在 14 天的期间内，每天施用 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重)显著改善了骨质愈合($p<0.001$)。该效果对应于自体皮质移植的效果。

鉴于该研究的临床相关性，骨髓和 TRIS-BPC157 (特别在 14 天的期间内，每天施用 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重)引起了骨质缺损的愈合。由于其

施用简单并且并发症的危险小，对于治疗人类中的愈合损伤来说，局部应用的自体骨髓和特别是肌肉内施用的成骨物质如 TRIS-BPC157 优于其他更复杂的外科手术方法(即骨移植、维管化的骨移植、Ilizarov 方法)。

5

实施例 28：对伤口愈合的作用

材料和方法：

使用 NaBPC157 以确定其对与愈合过程有关的各种因素的影响。在愈合过程中，很重要的因素是肉芽组织的形成、血管生成和胶原蛋白的产生。用下列 3 个试验大鼠模型检测 NaBPC157 对肉芽组织形成、胶原蛋白形成和血管生成作用的影响：1)皮肤切开的伤口 2)结肠-结肠吻合和 3)食管-十二指肠吻合。用计分和形态学测量方法，组织学评估样品的胶原蛋白、网硬蛋白和血管。

15

结果：

在所有试验中 NaBPC157 处理的大鼠与对照之间有显著差异。试验表明，在愈合过程中，NaBPC157 有显著的促进作用。这些效果是通过不同给药途径包括胃内和局部应用而得到的。此外，牵引韧力评估也表明，在 NaBPC157 处理的大鼠中数值增加。

20

基于动物模型与相应的人疾病之间的极相似性以及大鼠和人愈合过程之间的高度相似性，可用 NaBPC157 治疗人类中的伤口愈合。

实施例 29：对呼吸疾病的影响

25

材料和方法：

在本试验中使用整体体积描记法、尿烷麻醉(1.5 g/kg 腹膜内)，以恒压(0.98 kPa)人工通气和通过丁二酰胆碱(0.2 mg/kg 静脉内)放松骨骼肌肉系统的豚鼠(Hartley, 两种性别均有, 500-700 g 体重)。在应用致痉物(组胺、5-羟色胺、乙酰胆碱、缓激肽, 静脉内)或 NaBPC157(重复施用致痉物前 10 分钟, 静脉内)前后, 评估膨胀体积(mm, 平均值

30

±SD)。

结果:

5 因 5-羟色胺、组胺、乙酰胆碱和缓激肽诱发的膨胀体积的减少受到 NaBPC157 的抑制(10 μg/kg 体重, 静脉内和/或 10 ng/kg 体重, 静脉内)。

10 基于观察到的 NaBPC157 对由各种致痉物诱发的支气管缩小的有益作用以及所用模型与人疾病之间已知的极类似性, 在治疗与支气管缩小和/或呼吸道疾病有关的各种疾病中, 可成功地应用 NaBPC157。

实施例 30: 对肺动脉高血压综合征的作用

材料和方法:

15 本试验描述了在鸡中, 一氧化氮(NO)激动剂和拮抗剂以及 NaBPC157 对肺动脉高血压综合征(PHS)的影响。完成研究急性毒性的实验。这些实验包括单剂量施用盐水(1 毫升, 腹膜内), NaBPC157 (10 μg/kg 体重)、L-NAME(无拮抗剂/剂量 50、100、150 mg/kg 体重)和 L-精氨酸(无激动剂/剂量 100 mg/kg 体重/及其组合(L-NAME + NaBPC157, L-NAME + L-精氨酸))。对脾、心、肝和肺进行病理学检测并进行血液分析。此外, 完成慢性毒性试验。在 5 周内, 每天用 L-NAME(10 mg/kg 体重)、L-精氨酸(100 mg/kg 体重)、NaBPC157 (10 μg/kg 体重)和其组合(L-NAME + NaBPC157, L-NAME + L-精氨酸)腹膜内处理所述动物。每周处死来自各组包括对照(盐水 1 毫升腹膜内)的 7 只动物。

25

结果:

30 在处理的鸡中施用 L-NAME, 可引起 PHS。该作用因 L-精氨酸和 NaBPC157 的同时施用而得到抑制。急性和慢性毒性的病理学检测表明 L-NAME 引起严重的组织损伤(心肌和肝细胞坏死, 脾中淋巴样细胞坏死), 而 L-精氨酸在所有器官中引起显著的充血、水肿和出血。

血液分析表明在 L-NAME 处理组的鸡中，血红蛋白和白细胞数量显著减少。通过施用 L-精氨酸和 NaBPC157 而成功地抑制了 L-NAME 的所述作用。NaBPC157 没有引起任何组织或器官损伤。

- 5 鉴于上述所用动物模型与相应的人疾病之间的相似性，可将 NaBPC157 用于治疗肺动脉高血压综合征。此外，其在商业育种中的有用应用也得到证实。

实施例 31：实验性高血压

10 材料、方法和结果：

 在有两个肾(2K1C)或一个肾(1K1C)的高血压动物(Goldblatt 高血压)中,NaBPC157 迅速降低了血压(注射后 5 或 10 分钟)。该作用在 1K1C 大鼠中持续了 15 分钟,在 2K1C 动物中持续了至少 12 小时。此后 24-48 小时,第 2 或第 3 次施用,重复得到了所述结果。同样,在用高果糖(80%)或高盐(15%)食物长期喂养的大鼠中,NaBPC157 将连续升高的血压值降至正常值。治疗效果持续了很长时间,甚至在 6 个月后,也没有发生耐受性。NaBPC157 对基础血压值没有影响。

 除降低升高的血压值外,NaBPC157 还可显著缓解或者甚至消除各种器官中的损伤和疾病,它们是(在对照中,提供 3 周高盐食物后):很严重的玻璃样变性,同时有显著的 parenhymaous 出血、动脉壁降解、心脏中细胞的空泡形成、严重的充血、肾中的 parenhymaous 出血与血尿以及脾中的含铁血黄素沉积和噬红细胞增多。除很少有壁的空泡形成并没有出血外,NaBPC157 处理的大鼠的血管极少受到损伤。此外,在 NaBPC157 处理的大鼠中,持续观察到对基底损伤的保护作用。

 用不同的动物高血压模型,以 10 μ g 或 10 ng/kg 体重静脉内、腹腔内或胃内施用的 NaBPC157 在不同的方案中可得到一致的结果。鉴于这些模型与相应人疾病的显著相似性,可用 NaBPC157 治疗高血压和由高血压引起的各种器官损伤。

实施例 32：对出血时间的影响：

材料和方法：

5 与人血凝集参数的体外活性相结合，研究 2-AMP-BPC157 对小鼠和大鼠(用和不用肝素预处理)出血时间的影响。

结果：

10 在基础条件下(2-AMP-BPC157, 10 μ g, 10 ng, 10pg, 1 pg, 10fg/kg 体重, 腹膜内, 与尾切割同时), 在 小鼠和大鼠中均有显著的剂量依赖性出血时间减少。在肝素(1000 IU /kg, 腹膜内)预处理研究(出血开始前 2 小时)中, 在用 10 μ g 或 10 ng/kg 体重 2-AMP-BPC157 腹膜内处理的动物中, 观察到明显增加的出血时间有显著减少。在体外, 对人血的凝集参数没有影响(2-AMP-BPC157, 浓度为 10 μ g/ml, 保温 1 小时)。因此, 说明对内皮层有影响。

15

鉴于人与动物出血机制中的明显相似性以及广泛认识到的用于试剂筛选的模型的显著性, 可将 2-AMP-BPC157 用于治疗失调的凝固(如肝素化)。

20 实施例 33：对实验性糖尿病的作用

材料、方法和结果：

25 当腹膜内给药(即 10 μ g/kg 体重)时, NaBPC157 可抑制大鼠中四氧嘧啶以及链尿菌素诱发的糖尿病的发展。在 14 天内, 观察到糖尿减少和较少的胰岛损伤。在我们的预备实验中, 在存在已确立的 14 天的四氧嘧啶损伤的条件下应用时, NaBPC157 也是有效的。在进一步的试验中, 进一步研究 NaBPC157 的抗糖尿病作用, 特别集中在当胃内应用时, 其可能的活性上。在治疗前(四氧嘧啶应用前 24 小时或 1 小时), 同时治疗和治疗后(四氧嘧啶应用后 48 小时), 将 NaBPC157 (10 μ g 和 10 ng/kg 体重)与 300 mg/kg 皮下或 200 mg/kg 体重四氧嘧啶皮下联用。总而言之, NaBPC157 降低了升高的葡萄糖血清水平, 并

30

显著增加了四氧嘧啶处理动物的存活率(在用高剂量四氧嘧啶处理的组中, 效果特别明显)。令人感兴趣的是, 除提高四氧嘧啶处理动物的葡萄糖血清水平外, 在对照糖尿病大鼠中, 观察到胃损伤加重。无论治疗条件如何, 每个 NaBPC157 方案均显著减轻了溃疡的严重性。在小鼠中观察到基本相同的结果。

鉴于人病理学与所用模型间的相似性以及就其广泛用于筛选药物活性而言, 可将 NaBPC157 用于治疗糖尿病。

10 实施例 34: 抗感受伤害作用

材料和方法:

与阿司匹林和吗啡参照标准物相比较, 在各种间接/直接感受伤害和神经毒性实验模型中评估 NaBPC157 的抗感受伤害作用, 所述模型是: 缠绕(乙酸/硫酸镁)、尾闪躲、热板和施用辣椒辣素。

15

结果:

在缠绕(炎症和无炎症, 前列腺素依赖型和不依赖型)和尾闪躲试验中, NaBPC157(以 ng 或 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围, 腹膜内给药)显著减轻了反应。在热板试验中, 与吗啡不同, NaBPC157 对正常动物没有影响。此外, 以治疗前的形式或在注射辣椒辣素后 14 天, 每天一次施用 NaBPC157。在该试验中, NaBPC157 显著缓解了辣椒辣素-异常性疼痛。在存在确立的辣椒辣素-体位感觉神经元退化(仅在辣椒辣素应用后的第 14 天给药)的条件下, 应用 NaBPC157 时, 未观察到在辣椒辣素作用中的减轻。因此, 由于每天施用 NaBPC157 可完全避免辣椒辣素应用后不可避免的体位神经元衰竭, 所以可能的情况是, NaBPC157 的作用可能特异性地与辣椒辣素敏感性体位感觉神经元和其保护作用有关(即初级的传入神经元具有小直径体和未有髓鞘的(C-)或薄髓鞘(A-8)纤维)。

鉴于辣椒辣素在人和动物中可诱发基本上相同的疾病, 所以可将 NaBPC157 用于治疗各种疼痛疾病以及伴随体感觉神经元功能损伤的

疾病。

实施例 35: 对抽搐的作用

材料和方法

- 5 检测 KBPC157 对荷包牡丹硷、印防己毒素、士的宁、异烟肼诱发的抽搐的影响。在应用抽搐剂(mg/kg 体重, 腹膜内) 印防己毒素(3)、士的宁(6、3 或 1.5)、荷包牡丹硷(2.5)和异烟肼的同时或之前 15 分钟, 施用(腹膜内)KBPC157(100 µg、10µg 或 10 ng/kg 体重)。

10 结果:

KBPC157 对所有应用的抽搐剂均产生了持续的积极的(剂量和时间依赖型)抗抽搐作用。鉴于所用模型与人疾病之间的相似性, 可用 KBPC157 治疗抽搐疾病。

15 实施例 36: 脊髓损伤

材料和方法:

- 在将脊髓(在 Th12 的水平)暴露 30 秒后, 通过控制压力(血管夹 Aesulap 0.10-0.15 N), 在雄性 Albino Wistar 大鼠中诱发脊髓损伤。损伤后, 用 NaBPC157(10 µg、10 ng/kg 体重, 腹膜内)或盐水立即处理
20 所述动物并在损伤后用 NaBPC157 每天处理一次, 直到第 10 天。最后施用一次给药后 24 小时, 将动物处死。

结果:

- 进行仔细的临床(每天评估, 分数 1-5)和显微镜检测。在用
25 NaBPC157 处理的大鼠中, 持续麻痹(在对照大鼠中)明显缓解。鉴于所用模型与人疾病之间的相似性, 可用 NaBPC157 治疗脊髓损伤。

实施例 37: 慢性醇中毒

材料和方法:

- 30 研究 NaBPC157 对慢性醇中毒的作用。将雄性 Albino Wistar 大

鼠用于这些试验。给大鼠饮用商业威士忌或乙醇(10-20%水溶液)3 个月。预防性胃内或腹膜内施用 NaBPC157(10 μ g、10ng/kg 体重)、丙醇(10 mg/kg 体重)和雷尼替丁(10 mg/kg 体重)(对照大鼠接受等体积的盐水 5.0 mg/kg)，或作为辅助治疗与乙醇一同施用或治疗施用(在两个月末开始，即在所述试验的最后一个月)。

结果：

直接评估门静脉中的血压清楚地表明 NaBPC157 以及普萘洛尔(所有给药方案)显著抑制和/或降低在对照大鼠中升高的门静脉血压。相反，雷尼替丁治疗会使门静脉血压值比对照动物中的血压值还高。此外，超出普萘洛尔很多，NaBPC157 能够显著缓解乙醇处理大鼠的胃中发展的损伤。在其他器官(即肾、心)损伤中也观察到相似的有益作用。

鉴于这些一致的积极效果以及通常已知乙醇摄入增加会在人中产生相似的变化，可以证明 NaBPC157 可用于治疗乙醇损伤。

实施例 38：对脑局部缺血疾病的作用

材料和方法：

在大鼠中，将颈动脉连接 3 或 6 小时之前 1 小时或之后 1 小时施用 NaBPC157(10 μ g 或 10 ng/kg 体重，腹膜内)或盐水(5.0 ml/kg 体重，腹膜内)。

结果：

在处理前(连接前 1 小时)以及处理后(连接后 1 小时)给药，NaBPC157 均产生了显著的积极作用。这是以 μ g 或 ng 范围，在 3 或 6 小时研究中的情况。除分值外，严重的血管周和脑组织水肿及脑充血是最显著和最典型的发现。特别是在小脑中观察到脱髓鞘区。无论治疗何种疾病，所有这些特征在 NaBPC157 处理的动物组中均很不明显。

鉴于在对照动物中观察到的严重局部缺血损伤和大鼠与人局部缺血疾病间的相似性，显然，可将 NaBPC157 用于治疗人脑的局部缺血疾病。

5 实施例 39：对神经损伤的作用

材料和方法：

研究 NaBPC157 对外周神经再生的影响。在麻醉的成年雄性 Wistar 大鼠(225-250 克)中，暴露右坐骨神经，清除结缔组织，在距坐骨神经切迹 5 cm 处横切。用 3 个神经周缝线(10.0 Ethilon, Ethicon)进行吻合以确保束状排列。在吻合形成即后，于吻合位点，通过 1ml NaBPC157(2 $\mu\text{g/ml}$ 或 2ng/ml)洗浴进行局部处理、胃内或者腹膜内(10 $\mu\text{g/kg}$ 或 2ng/kg 体重)处理动物。在指定的手术后天数(3、6、9、12 或 30 天)，完成功能检测。这些试验包括热水检测(60°C)、冷水检测(2°C)、行走路线分析、EMG 末梢潜伏和 CMAP 的幅度。并取组织学和形态学分析样品。

15 在使用相同外科手术和相同神经位点的另一试验中，用显微外科钳经 60 秒诱发压碎损伤，然后局部施用 NaBPC157。在 2、7、10、50 和 100 天后进行评估。

结果：

20 临床或显微镜观察，特别是早期评估表明，NaBPC157 的应用显著改善了受伤大鼠的愈合。

鉴于动物损伤与人疾病之间的极相似性，可将 NaBPC157 用于治疗外周神经损伤。

25

实施例 40：对神经安定剂诱发的紊乱的作用

研究 NaBPC157 对各种神经安定剂诱发的疾病的作用。

材料、方法和结果：

30 在随后的时间间隔中，应用 NaBPC157(10 μg 或 10 ng/kg 体重，

5 腹膜内)可持续缓解低剂量神经安定剂氟哌啶醇和羟哌氟丙嗪(氟哌啶醇 0.625, 1.25, 2.5, 5.0 和 10.0 mg/kg 体重, 腹膜内, 羟哌氟丙嗪 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5 和 5.0 mg/kg 体重, 腹膜内(4.0 ml/kg))强直性昏厥。除对低剂量神经安定剂有有益的作用外, 用 μg 或 ng 剂量的 NaBPC157 与较高剂量的两种神经安定剂, 可观察到 NaBPC157 更强的有益的抗强直性昏厥作用。这种作用在舒必利(20、40、80 和 160 mg/kg 体重, 腹膜内)处理的动物的体位感觉方向上也可观察到, 尽管在对照的舒必利小鼠中没有观察到强直性昏厥。

10 证实了 NaBPC157 可用于治疗与多巴胺系统有关的疾病、强直性昏厥疾病和神经安定剂诱导的紊乱。

实施例 41: 在休克治疗中的应用

材料和方法:

15 用麻醉的大鼠研究实验性出血性休克(在颈动脉颈静脉插管)。定量取出一定体积的血液直到死亡或者稳定在低血压(30-35 mm Hg)。在这些实验中, 在出血前 15 分钟, 将 CaBPC157(10 μg 或 10 ng/kg 体重)或盐水腹膜内(5.0 ml/kg)给药, 或者低血压稳定 5 分钟后, 静脉内(3.0 ml/kg)给药。

20

结果:

相对于对照值, 在 CaBPC157 处理的大鼠死亡前, 均观察到保持了显著大量的失血(是剂量依赖性的)。在用 CaBPC157 处理的血容量减少和压力过低的动物中, 观察到血压迅速且持续的显著升高, 而且没有死亡。这与对照组中在 45 分钟的试验期结束之前, 血压短而弱的升高和 75%的大鼠死亡形成对比。在麻醉后仅接受外科手术并不 exanguated 的大鼠中, 在稳定期 65 分钟后施用 CaBPC157(腹膜内或静脉内), 在相同的应用后期间内, 对动脉血压没有影响。这些数据表明 CaBPC157 能够有效缓解急性血液损失的结果。鉴于所用动脉模型与人疾病间的显著相似性, 可用 CaBPC157 治疗休克。

25

30

实施例 42: 对异常淋巴细胞的作用

材料、方法和结果:

5 对两名女性患者进行免疫学检测, 所述患者患有与表皮内大疱皮炎和亚急性致硬化的 panenciphalitis 有关的一种罕见的临床症状-遗传性嗜曙红细胞增多。研究 NaBPC157(体外)对淋巴细胞染色体遗传和 T 细胞增殖的影响。NaBPC157 使严重的染色体异常显著减少(即正常化的淋巴细胞发现)并对有丝分裂循环有刺激作用。

10 实施例 43: 畸形的作用

材料和方法:

研究 NaBPC157 对小鼠中维生素 A 诱发的畸形的作用。在怀孕的第 10 天, 将 NaBPC157(10 ng/kg 体重或 10 μ g/kg 体重, 腹膜内)或盐水(5 ml/kg 体重, 腹膜内)与维生素 A(15700 IU/kg 体重, 肌肉内)同时施用。将未用维生素 A 处理但接受相同剂量盐水的小鼠作为对照。

结果:

维生素 A 的应用诱发了许多畸形。在用 NaBPC157 处理的组中, 观察到畸形数量显著减少。证明可将 NaBPC157 用于治疗胎儿疾病。

20

实施例 44: 卵巢切除

材料和方法:

完成常规的卵巢切除。从卵巢切除的第 15 天开始, 每天一次, 连续 28 天, 或每天一次, 连续 14 天施用 NaBPC157(10 μ g 或 10 ng/kg 25 体重, 腹膜内)。在有规律延长的给药方案中, 最后一次给药是在处死前 24 小时。其他组在卵巢切除后第 15 天接受一次 μ g 剂量的给药。用 5 个组作为对照: 2 个组是卵巢切除的, 用盐水处理, 并在卵巢切除后第 15 天和第 28 天处死, 1 个组是未进行卵巢切除的, 但用盐水处理, 2 个未进行卵巢切除的组用 NaBPC157(10 μ g 或 10 ng/kg 体重, 30 腹膜内)每天处理一次, 连续 28 天。在试验第 9、14 和 28 天的外科手

术前 5 分钟, 从每个动物体内取阴道涂片, 然后进行 Pap 染色用于细胞学评估。用成熟值表示表示阴道上皮的成熟程度。处死后, 在每个动物中收集肢骨, 用于下列所述的生物化学检测。

5 生物化学检测:

以不同的方向, 前-后-和侧-侧, 根据弯曲力矩(一个点弯曲)(弯曲力矩=Nm)检测所有的骨。在本试验中, 使用股骨和胫骨。在 1 厘米长的金属试管中, 用骨粘固粉(Palacos)固定骨端。测量游离部分骨的长度以及从固定部分到承重点的长度。根据弹性限度内, 弯曲固定一端的棒的原理, 完成试验。负荷是 0.1、0.2、0.5、0.7、1.0N。用激光束的偏离角度测量变形或弯曲角度, 所述激光束从固定在骨末端的小镜子折射。将镜子的重量加到施加的弯曲力中。激光束所指向的微米纸距离有小镜子固定于其上的骨约 1.5-1.8 m。用三角学方法测量变形角度。在每次负重过程中, 测量变形的持续(随即恢复)。未负重时, 骨恢复到其初始位置, 证明骨中没有结构变化, 而且负重 Hook's 图的弹性限度内。该发现表明可以以不同的方向使相同的骨负重两次, 而不会改变其结构。如果在随后的两分钟内没有其他变形或者如果恢复, 则将这些点估为终点(总之, 测量时间是约 30 秒(卵巢切除对照)或 16 分钟(健康的动物))。用 mm/秒表示骨角变形(负重和负重后恢复)。

20

结果:

与未处理的对照大鼠中发生的萎缩性的降低的成熟值相比, 用两个剂量的 NaBPC157 每天处理可显著增加成熟值。因此, 表明 NaBPC157 能够抑制大鼠因卵巢切除而引起的阴道萎缩。

25

在卵巢切除的对照组中, 观察最短时间的最小弯曲幅度以及最小恢复幅度。在 15 或 28 天后处死的两个对照组中也得到同样低的值。在两个卵巢切除的盐水处理的组(在第 15 天或第 28 天处死)中也观察到这种情况。在卵巢切除后第 15 天接受一次微克量 NaBPC157 的组中, 观察到有积极的趋势。在所有以 ng 或 μg 量 NaBPC157 处理的组中,

30

均得到显著好的结果。在每天接受 μg 量 NaBPC157 的组中，得到了最好的结果。在卵巢切除动物中的所有参数均得到显著提高，而且提高的水平接近在健康组中观察到的数值。无论是用盐水处理还是用 NaBPC157(μg 或 ng)处理，健康大鼠之间没有差异。

5

鉴于通常接受的这些动物模型与人卵巢切除情况在阴道萎缩和骨质疏松症发展方面的显著相似性，证明可将 NaBPC157 用于治疗卵巢切除。

10 实施例 45：肿瘤

材料、方法和结果：

15 实验性肿瘤的常用模型之一涉及评估小鼠体内癌和黑素瘤 B-16 的转移灶的数量。与各种实验性肿瘤的模式一样，这些实验性肿瘤与人类患者中观察到的紊乱非常相似。当以不同的方案给药时，相对于相应的对照组，NaBPC157 显示出可以减少治疗小鼠中转移灶的数量。欧利希腹水瘤(EAT)是一种可以在所有小鼠品系中生长的肿瘤。根据肿瘤细胞的接种形式，该肿瘤可以在腹水中生长或以实体瘤的形式生长。尽管动物的肿瘤模型与人类疾病通常仅有部分的相似性，但由于其在抗肿瘤剂研究中的潜在用途，该模型的使用已得到了普遍的认
20 可。

25 注射了欧利希腹水瘤细胞的小鼠，绝大部分的存活时间(天)不到 25 天。将肿瘤细胞与 NaBPC157($2\mu\text{g}/\text{ml}$)预保温导致注射所述肿瘤细胞的动物寿命延长。90%以上的动物存活到了 45 天观察期的结束。此外，各种细胞抑制药物可以引起患者以及实验动物中性白细胞减少。环磷酰胺是可以引起中性白细胞减少的常用药物。施用环磷酰胺($180\text{mg}/\text{kg}$, 腹膜内)可引起明显的紊乱。NaBPC157 可预防中性白细胞减少，减少网状细胞并改善血色素值。

30 因此，NaBPC157 作为抗肿瘤剂的潜力是显而易见的。考虑到动

物模型与人类疾病的相似性以及体内和体外实验中获得的有益效果，NaBPC157 可用于抗肿瘤治疗。NaBPC157 适于缓解细胞抑制剂的有害效果。

5 实施例 46: 抗病毒活性

材料、方法:

10 将 ARBO 病毒(蜱新生儿脑炎(TBE)、Bhanja、Dengue 1、2、3、4、Sinbis、West Nile、Éalovo)、甲肝、淋巴脉络丛脑膜炎(LCM)和 1 型疱疹用 10^{-2} 的稀释液(0.02ml/小鼠)以病毒混悬液的形式皮内(或 p.o.(手术后)一甲肝)施用。将 NaBPC157(20 μ k/kg 体重)或 0.9% NaCl(0.02ml/小鼠)皮内或腹膜内 a)以预处理的方案施用, b)与病毒同时施用或 c)感染 4 天后在出现了确定的疾病症状的情况下施用。

结果:

15 将 NaBPC157 与病毒同时施用后, 观察到出现疾病症状以及由此引起的死亡(在对照动物中, 通常在感染后的第 4 天和第 5 天出现)明显延迟。在存在严重疾病症状的情况下给药时, 相应地观察到了存活时间的显著延长。在用 NaBPC157 预处理后, 完全没有出现症状或随后的死亡。

20

为了证实所得到的结果, 还通过接种大脑混悬液测试了所用病毒混悬液(ARBO 病毒感染的)的毒性, 所述大脑混悬液从用 NaBPC157 或盐水预处理并且存活(NaBPC157)(虽然施用了病毒)或自然死亡的(盐水)小鼠制备。与盐水一大脑混悬液接种的小鼠(与病毒混悬液接种的
25 用盐水处理的小鼠没有区别)不同, 在 NaBPC157一大脑混悬液接种的小鼠中未观察到疾病症状或死亡。在接种大脑混悬液后对小鼠观察 50 天。

30

NaBPC157 的有益效果可以耐受高温保温(56 $^{\circ}$ C 下 30 分钟)。

考虑到这些病毒可在人类中引起类似的紊乱，可将 NaBPC157 用于治疗病毒性疾病，特别是治疗一般状况明显变差的疾病(例如 AIDS 或 AIDS-相关疾病)。

5 实施例 47：肠损伤

材料和方法：

用大鼠在多种实验性溃疡模型(48 小时限制性应激、皮下给药巯乙胺、胃内给药 96%乙醇溃疡试验、NSAIA-损伤、DNFB(二硝基氟苯)、食管胃末端侧面吻合术后的返流性食管炎)中研究了 NaBPC157 与多种参照标准物相比较的效果(预处理/同时处理/后处理)。

结果：

仅有 NaBPC157 的方案在所有实验模型中有效。溴隐亭、金刚烷胺、法莫替丁、西米替丁和生长激素释放抑制因子均无效(限制性应激)或仅部分有效(溴隐亭，DNFB-肠损伤；硫糖铝、雷尼替丁、消胆胺，返流性食管炎)。对于参照物肽，用胰高血糖素、NPY 和胰泌素获得了剂量依赖性的保护作用(巯乙胺)和/或部分阳性作用(与治疗条件有关)(乙醇)，而 CCK/26-30/无效。

20 鉴于所有这些模型都是用于筛选目前治疗胃肠损伤所用药物的以及 NaBPC157 在所有这些模型中的有益效果，其在治疗整个肠道损伤中的价值是显而易见。

实施例 48：对认知障碍的影响

25 材料和方法：

施用抗胆碱能药物(东莨菪碱、阿托品，10mg/kg 体重，腹膜内)可以导致大鼠明显的认知缺陷，这是一种重现性很好的长时间评估动物在水面 T-迷宫(water T-maze)中行为的方法。

30 结果：

相对于对照，在东莨菪碱和阿托品处理的大鼠中可以清楚地证实错误次数的增加。这种认知缺陷可以通过随后共同给药 NaBPC157(10 μ g 或 10ng/kg 体重，腹膜内)而消除(得到的数值与对照值相等)。

5

鉴于这些模型对于人类认知功能损伤的广泛意义，NaBPC157 显然可以用于治疗认知障碍。

实施例 49：对戒断(withdrawal)紊乱的影响

10

材料、方法和结果：

NaBPC157 显示出与 GABA 能系统相互作用的抗惊厥作用，并且在与安定(5.0mg/kg，腹膜内，每天两次共 10 天)同时给药(10 μ g，10ng/kg，腹膜内)时可以增强安定的效力。NaBPC157 可以减弱安定的耐受性并且延缓戒断作用和生理依赖性。在实施调理方案 42 小时后进行耐受性试验中，如果向预先用安定调理过的小鼠再次单独给药安定(5.0mg/kg，腹膜内)，可以观察到惊厥前的潜伏期比用异烟肼处理(800mg/kg，腹膜内)后的健康小鼠短。在用 NaBPC157(两种剂量)和安定调理过的动物中，该情况完全被避免。在生理依赖性试验中(调理化处理后 6、14、42 和 72 小时评估)，可以观察到用安定调理过的小鼠的惊厥前潜伏期比调理处理 42 和 72 小时后用异烟肼处理的未调理化的健康小鼠的短。将 NaBPC157(10 μ g/kg 剂量)和安定联合给药可使该作用延缓至最后的观察期。在间隔 6 小时的该组中，与安定调理过的小鼠不同，异烟肼的惊厥前潜伏期比相应的对照还长。NaBPC157 不引起任何耐受作用。

25

鉴于这些模型对于人类疾病的意义，显然 NaBPC157 可用于治疗戒断紊乱。

实施例 50：对肾紊乱的影响

30

材料和方法：

施用氯化汞(1mg/kg, i.v.)或顺铂(10mg/kg, s.c.)引起实验动物的急性肾衰竭。当采用该方法时,所引起的肾衰竭与相应的人类的紊乱非常相关。因此,在大鼠中引起的损伤与人类患者的相应损伤的相似程度非常高。

5

结果:

在预处理和后处理的条件下, NaBPC157 能显著缓解大鼠的损伤。单侧肾切除术可造成剩余的肾在功能上明显过负荷和功能性肥大。NaBPC157 处理可使单侧肾切除术动物的尿增加并降低剩余肾的肥大。因此,就代偿性肾肥大的功能理论而言,这些结果强烈表明了剩余肾功能的改善。这也得到了生物化学结果的支持。此外,这些数据与肾动脉狭窄和/或单侧肾切除术的高血压大鼠中得到的结果完全符合。NaBPC157 在治疗肾紊乱中的价值是显而易见的。

10

实施例 51: 外周血淋巴细胞的细胞免疫应答

在对照和患有表 2 所列不同疾病的患者中研究外周血淋巴细胞对 BPC 的细胞免疫应答。通过 deSmet 等(deSmet MD 等,“患有眼色素层炎的患者对视网膜抗原及其片段的细胞免疫应答”,美国眼科学杂志(Am. J. Ophthal.), 110:135-142, 1990)所述的方法用第 7 天的细胞培养物检测对 BPC 的外周血 T 细胞应答。在不含抗原和含有 20 μ g/l 抗原(BPC157 十五肽)的条件下培养细胞。对于每一患者,将经抗原刺激的培养物的平均计数除以不加抗原(即 BPC157 十五肽)的对照细胞培养基的平均计数计算出刺激指数。结果如表 2 所示。

20

25

在对照个体中测得的 ≤ 2 的对照值(表 2)与使用相同分子量的肽的其它调查者的值相当,也就是说,在对照个体中,未观察到外周血淋巴细胞对 BPC157 十五肽的敏化。在患有不同疾病的患者中,表 2 所示的对 BPC 的明显的细胞应答表明了对该胃液肽的全身性淋巴细胞敏化作用。这些数据清楚地证实了在患有不同疾病的患者中存在着 BPC 相关性的紊乱。这提示 BPC 相关药物(例如十五肽 BPC157 的盐)在相

30

应紊乱的免疫调节治疗中有用途。

表 2 在 11 个患有不同疾病的患者中的升高的
外周血 T 细胞刺激指数

疾病	性别	刺激指数 对照值 \leq 2
消化性溃疡	女	26.82
多发性硬化	女	13.80
亚急性的 sclerosans pancencephalitis	女	2.54
视神经炎	男	3.54
视神经炎	女	9.53
眼色素层炎	女	16.87
眼色素层炎	男	15.21
眼色素层炎	女	22.30
血清反应阴性的脊椎关节病	女	4.99
遗传性嗜曙红细胞增多 和大疱性皮炎	女	2.70
眼色素层炎	女	4.75

5

上述药理学研究的结果证实了 BPC 肽盐在保护生物体不受应激和疾病损害以及使器官功能正常化中的优良活性。本发明的肽盐还可以有效地预防和治疗多种人和/或动物的疾病和障碍。

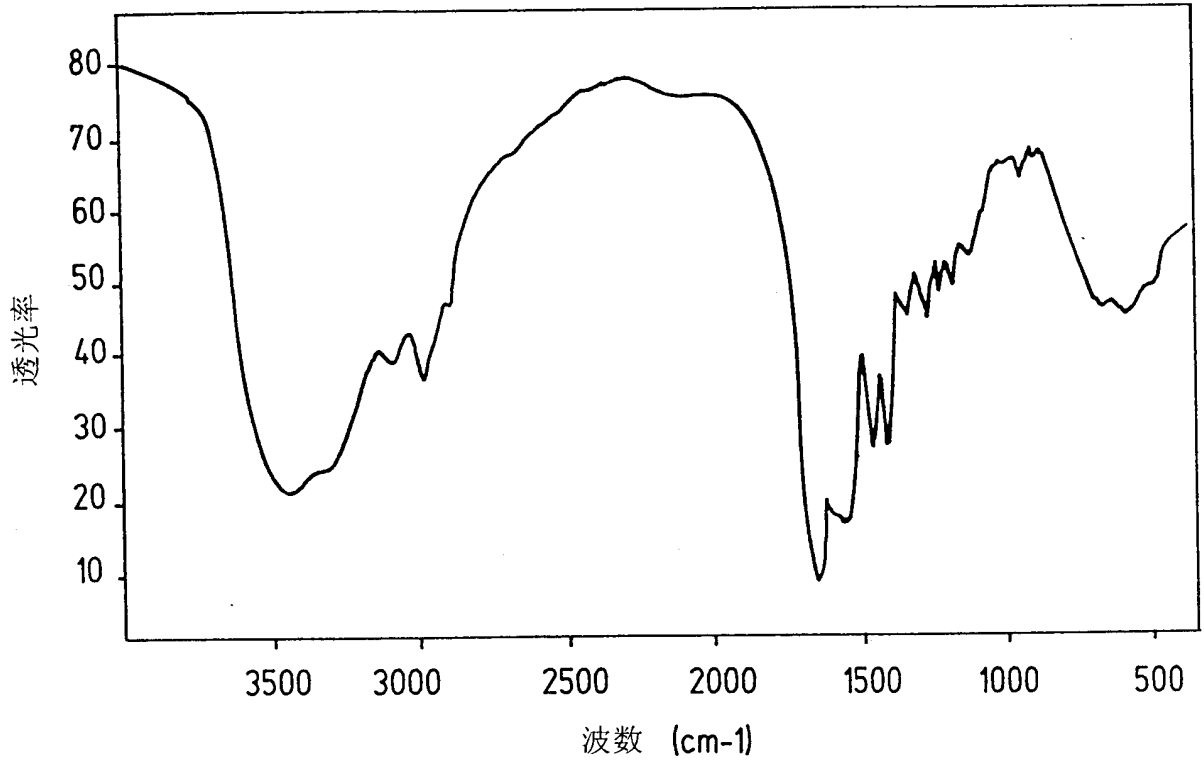


图 1

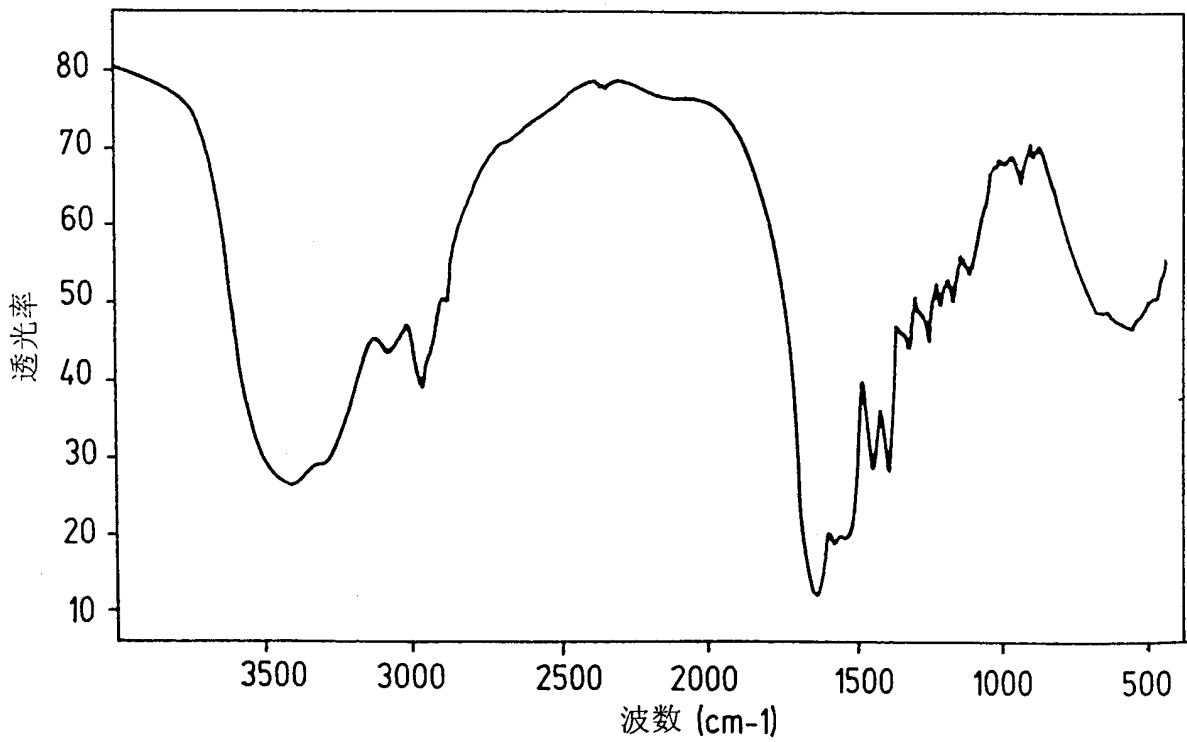


图 2

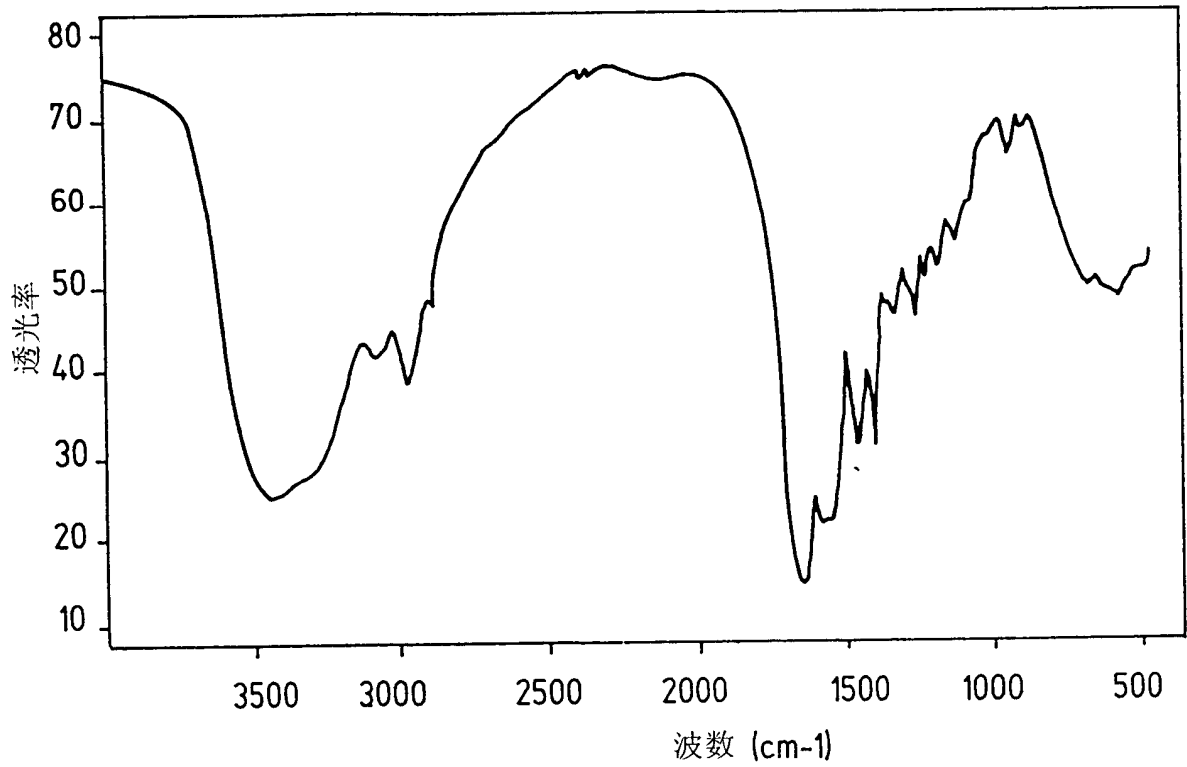


图 3

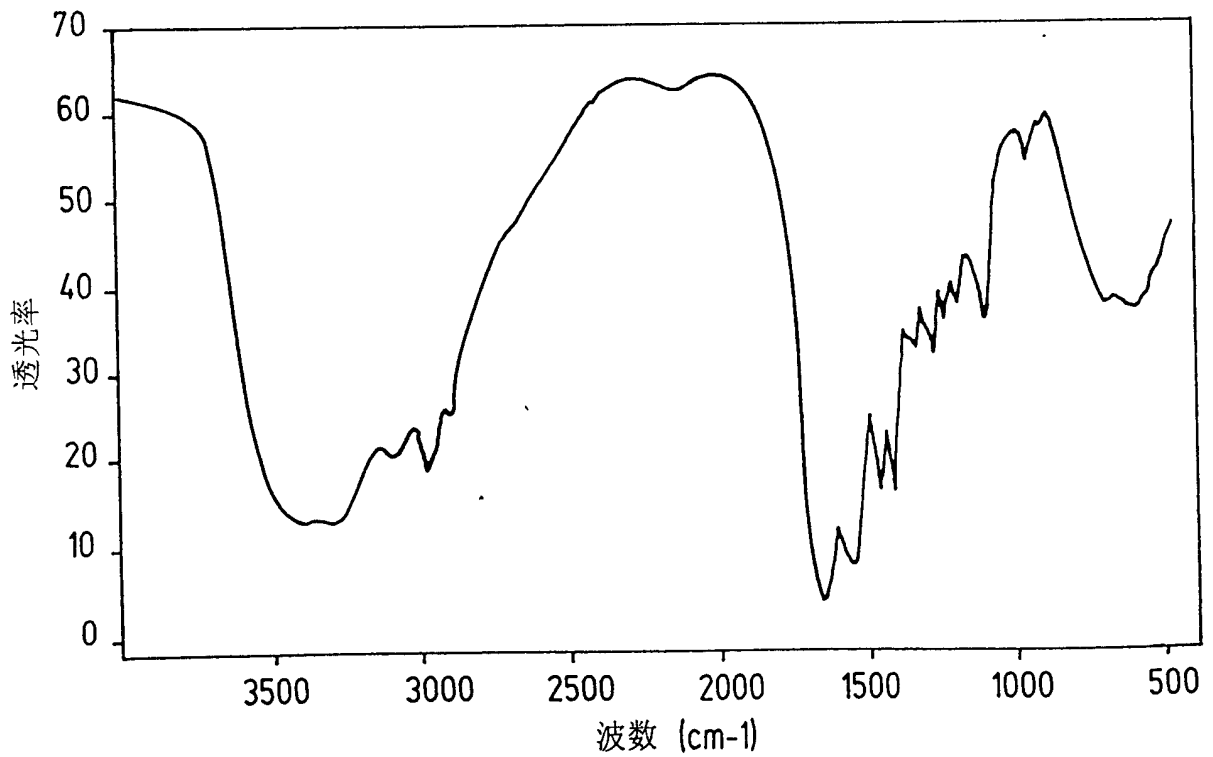


图 4

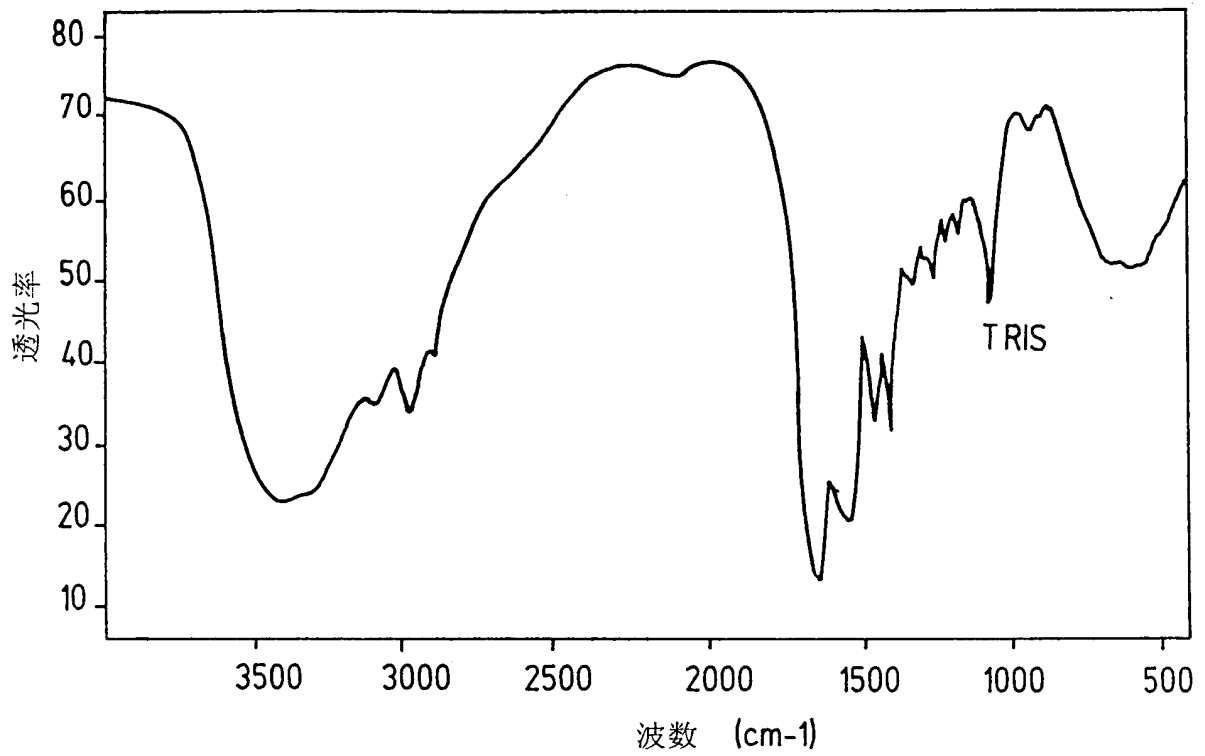


图 5

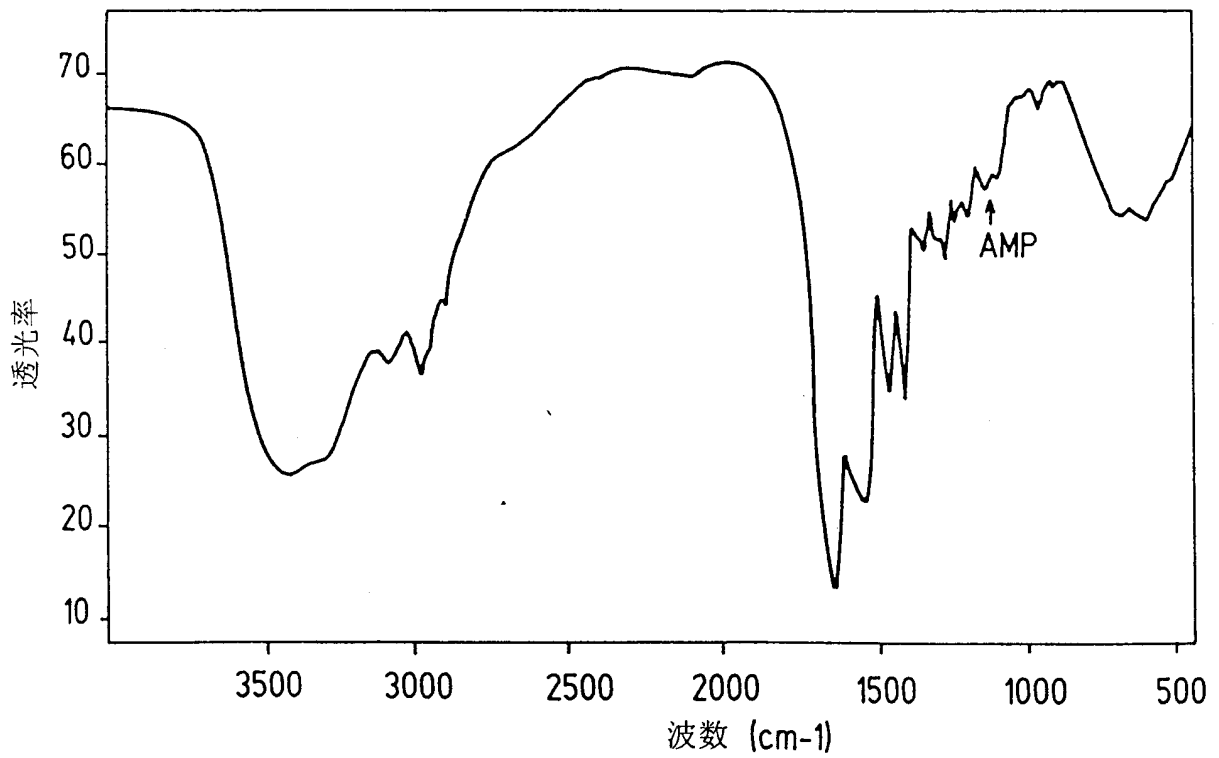


图 6

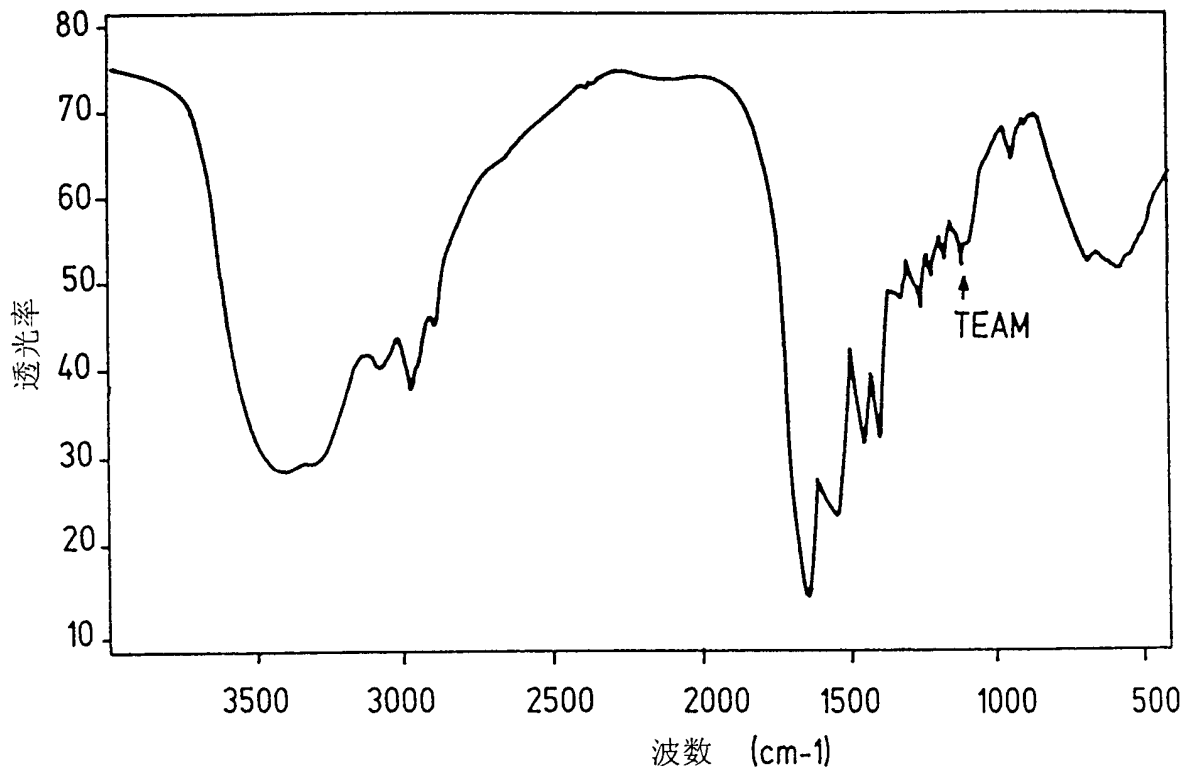


图 7