

(19) 中华人民共和国国家知识产权局



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112168953 A

(43) 申请公布日 2021.01.05

(21) 申请号 202011061572.2

(22) 申请日 2014.05.22

(30) 优先权数据

61/826,433 2013.05.22 US

(62) 分案原申请数据

201480038610.9 2014.05.22

(71) 申请人 上海泽生科技股份有限公司

地址 201203 上海市浦东新区张江高科技
园区居里路68号

(72) 发明人 周明东

(51) Int.Cl.

A61K 38/18 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61P 9/04 (2006.01)

权利要求书1页 说明书14页 附图6页

(54) 发明名称

缓释纽兰格林治疗心力衰竭

(57) 摘要

本发明提供了通过对哺乳动物缓释纽兰格林预防、治疗或延迟各种心血管疾病或失常尤其是心力衰竭的方法和药盒。更进一步，缓释纽兰格林是通过使用一个泵皮下输注完成的。

1. 一种预防、治疗或延迟哺乳动物心血管疾病或障碍的方法,该方法包括为哺乳动物皮下缓释纽兰格林,剂量为 $0.3\mu\text{g}/\text{kg/day}$ 到 $3.0\mu\text{g}/\text{kg/day}$,其中是皮下缓释纽兰格林是通过使用一个泵来完成的。
2. 权利要求1所述的方法,其中心血管疾病或障碍为心力衰竭。
3. 权利要求1所述的方法,其中哺乳动物是人类。
4. 权利要求1所述的方法,其中为哺乳动物皮下缓释纽兰格林是通过使用一个注射泵来完成的。
5. 权利要求1所述的方法,其中纽兰格林作为诱导疗程施用于哺乳动物。
6. 权利要求5所述的方法,其中诱导疗程包括至少连续3,5,7或10天施用纽兰格林。
7. 权利要求5所述的方法,其中每天至少连续8小时施用纽兰格林。
8. 权利要求5所述的方法,其中诱导疗程之后纽兰格林作为维持疗程施用于病人。
9. 权利要求8所述的方法,其中维持疗程包含在诱导疗程之后至少连续3个月,6个月,12个月,5年或更长时间施用纽兰格林。
10. 一种预防、治疗或延迟哺乳动物心血管疾病或障碍的药盒,该药盒由纽兰格林组合物或制剂和泵组成。

缓释纽兰格林治疗心力衰竭

[0001] 本发明要求享有美国临时专利US61/826433(申请日2013.05.22)的优先权,该专利的所有内容通过引用合并于此。上述临时专利包含一个序列表,该序列表以ASCII格式经电子提交,并通过引用全部合并于此。

技术领域

[0002] 一般来说,本发明涉及通过缓释纽兰格林预防、治疗或延迟各种心血管疾病或失常尤其是心力衰竭的组份和方法。特别地,本发明涉及用一个泵对哺乳动物皮下输注纽兰格林。

[0003] 发明背景

[0004] 在美国,大约有5百万人患有心衰,并且每年新增病人在55万以上。目前治疗心衰的药物主要集中于血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂,这些血管舒张剂引起血管扩张、降低血压并减少心脏负荷。虽然使用ACE抑制剂后死亡率的百分数下降是具有统计学差异的,但实际的死亡率仅平均下降3%-4%,并且还有一些潜在的副作用。其他预防或治疗心衰的选择亦有相应的局限。比如,心脏移植显然比药物治疗更昂贵且更具侵入性,并且还进一步受有无供体心脏的限制。使用机械装置,比如双心室心脏起搏器,同样具有侵入性并且比较昂贵。因此,由于当前治疗手段的不足,人们需要有新的治疗方法。

[0005] 一种很有前途的新的治疗手段涉及给心衰患者或有心衰风险的患者施用纽兰格林(此后称为“NRG”)。NRGs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及其异构体。NRGs涉及一系列生物学反应:刺激乳腺癌细胞分化和分泌乳汁蛋白;诱导神经嵴细胞分化成Schwann细胞;刺激骨骼肌细胞合成乙酰胆碱受体;并且促进心肌细胞成活和DNA合成。用纽兰格林基因严重缺陷的纯合子小鼠胚胎做活体研究证明纽兰格林对于心脏和神经发育是必须的。

[0006] NRGs与EGFR受体家族的成员结合,该受体家族包括EGFR、ErbB2、ErbB3和ErbB4,其中每一个受体在多种细胞功能中都发挥重要的作用,包括细胞生长、分化和存活。它们都是蛋白酪氨酸激酶受体,由一个胞外配体结合域、跨膜激酶域和胞浆的酪氨酸激酶结构域组成。NRG结合至ErbB3或ErbB4的细胞外结构域后,能够诱导构象改变从而引起ErbB3、ErbB4和ErbB2之间形成异二聚体,或者ErbB4自身形成同源二聚体,这样就会导致受体细胞内C-末端结构域的磷酸化。然后磷酸化的胞内结构域与细胞内其他的信号蛋白结合,活化相应的下游AKT或ERK信号传导途径,并诱导一系列的细胞反应,比如刺激或抑制细胞增殖、细胞分化、细胞凋亡、细胞迁移或细胞粘附。在这些受体中,ErbB2和ErbB4主要在心脏表达。

[0007] 已有研究表明NRG-1的EGF类似区,约50至64个氨基酸,足以结合并活化这些受体。以前的研究表明纽兰格林-1 β (NRG-1 β)能以高亲和力直接结合ErbB3和ErbB4。孤儿受体ErbB2能与ErbB3或ErbB4形成异源二聚体并且其亲和力比ErbB3或ErbB4同源二聚体要高。神经发育的研究结果提示交感神经系统的形成需要完整的NRG-1 β 、ErbB2和ErbB3信号传导系统。靶向破坏NRG-1 β 、或ErbB2或ErbB4后由于心脏发育缺陷而导致胚胎致死。最近的研究也突显了NRG-1 β 、ErbB2和ErbB4在心血管发育以及维持成年正常心脏功能方面具有重要作用。

用。研究表明NRG-1 β 能增强成年心肌细胞的肌小节的组织结构。通过静脉输注缓释纽兰格林能显著改善或防止不同心衰动物模型和临床试验病人的心肌功能的恶化。这些效应使得NRG-1有望成为一种治疗心衰的先导化合物。然而使病人连续多天在医院静脉输注纽兰格林在某种程度上不方便并且花费昂贵。因此有必要发展一种有效便捷的使用纽兰格林的方法来预防、治疗或延迟心血管疾病，特别是心衰。

[0008] 发明概述

[0009] 发明人已发现，相比于经非缓释方法施用NRG，通过静脉输注缓释纽兰格林(NRG)能够显著提高NRG治疗心衰的效果，并且具有减少副作用的优点。本发明进一步提供了对哺乳动物尤其是人皮下输注缓释纽兰格林用于预防、治疗或延迟各种心血管疾病或失常尤其是心力衰竭的组份和方法。特别的，本发明涉及使用一个便携的微型泵皮下输注缓释NRG来预防、治疗或延迟各种心血管疾病或失常尤其是心力衰竭的组份和方法。

[0010] 申请人已发现NRG能够增强心肌细胞分化和肌原纤维节、细胞骨架的组织结构以及细胞粘附。申请人也发现，在不同的心衰动物模型和临床试验中通过静脉输注NRG能够显著提高或防御心肌功能退化。本发明的保护范围包括纽兰格林，纽兰格林多肽，纽兰格林衍生物，或具有纽兰格林类似活性的组合物。

[0011] 因此，本发明的一方面，提供了一种预防、治疗或延迟各种心血管疾病或失常尤其是心衰的方法，该方法包括为有需要的哺乳动物缓释纽兰格林。在一些实施例中，对哺乳动物缓释纽兰格林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，对哺乳动物缓释纽兰格林能够延长六分钟行走距离和提高生活质量。在另一实施例中，对哺乳动物缓释纽兰格林能够减少副作用。在一些实施例中，对哺乳动物缓释纽兰格林通过皮下输注给药。

[0012] 本发明的另一方面，提供了一种用于预防、治疗或延迟各种心血管疾病或失常尤其是心衰的NRG缓释组合物或剂型。在某一实施例中，使用该NRG缓释组合物或剂型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缓释组合物或剂型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，使用该NRG缓释组合物或剂型能够延长六分钟行走距离和提高生活质量。在另一实施例中，使用该NRG缓释组合物或剂型能够减少副作用。在一些实施例中，该NRG缓释组合物或剂型通过使用一个泵，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。

[0013] 本发明的另一方面，提供了缓释纽兰格林用于预防、治疗或延迟各种心血管疾病或失常尤其是心衰的有效剂量和/或有效剂量范围。在一些实施例中，纽兰格林通过皮下输注给药。在一些实施例中，有效剂量是0.3 μ g/kg。在一些实施例中，纽兰格林的有效剂量为1.2 μ g/kg。在一些实施例中，纽兰格林的有效剂量为2.0 μ g/kg。在一些实施例中，纽兰格林的有效剂量范围为0.3-3.0 μ g/kg。在一些实施例中，纽兰格林的有效剂量范围为1.2-2.0 μ g/kg。

[0014] 本发明的另一方面，提供了一个药盒，该药盒包含纽兰格林组合物或剂型和一个便携微型泵。在一些实施例中，药盒进一步包含一个说明书，用于说明如何使用药盒来预防、治疗或延迟哺乳动物心衰。在一些实施例中，便携微型泵是一个胰岛素泵。

[0015] 附图简述

- [0016] 图1:基线和第30天的LVEF%结果。
- [0017] 图2:与基线值相比第30天的LVEF%绝对值变化。
- [0018] 图3:基线和第30天的LVEDV结果。
- [0019] 图4:与基线值相比第30天的LVEDV绝对值变化。
- [0020] 图5:基线和第30天的LVESV结果。
- [0021] 图6:与基线值相比第30天的LVESV绝对值变化。
- [0022] 图7:与基线值相比第30天的增长的行走距离结果
- [0023] 图8:与基线值相比第30天的行走后呼吸困难结果
- [0024] 图9:与基线值相比第30天的行走后疲劳结果
- [0025] 图10:与基线值相比第30天的生活质量分数改变
- [0026] 图11:基线和第30天的NYHA分类百分比
- [0027] 发明详述
- [0028] A. 定义
- [0029] 为了充分公开而不是为了限定,本发明以下的详述部分分为若干部分。所有在此提到的公开出版物通过引用完整的整合在此,公开和描述该出版物中引用的方法和/或材料。
- [0030] 定义
- [0031] 除另有定义,此处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。此处提及的所有专利文献、专利申请文献、公开的专利文献和其它出版物均作为参考整合于此。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。
- [0032] 除非在上下文中明确表明,此处所用的单数形式“一个”、“一种”和“该”指“至少一个”或“一个或多余一个”。
- [0033] 术语“约”,特别是涉及一个给定的量,是指正负偏差在10%以内的量。
- [0034] 除非在上下文中明确表明,否则本说明书及其所附权利要求书中,所用的单数形式“一个”、“一种”和“该”包括相应的复数参考,并与“至少一个”或“一个或多余一个”可互换使用。
- [0035] 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,包括但不限于所有神经调节蛋白的异构体、神经调节蛋白的EGF类似区、包含神经调节蛋白EGF类似区的多肽、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(下文将具体描述)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。本发明所用神经调节蛋白可以激活上述ErbB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氨基酸置换的神经调节蛋白突变体。本技术领域中普通技术人员熟知,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)。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,该片段的氨基酸序列为:

[0036] SHLVKCAEKEKTFCVNGGEFCMVKDLSNPSRYLCKCPNEFTGDRCQNYVMASFYKAELYQ (SEQ ID NO:1)。这些包括NRG-1 β 2异构体177-237位氨基酸片段的多肽包含EGF类似区,该区已被证明足以结合并活化受体。

[0037] 此处所用“表皮生长因子样功能域”或“EGF样类似区”或“EGF样功能域”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:W0 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W0 97/09425。在某些实施方案中,EGF类似区结合并激活ErbB2/ErbB4或ErbB2/ErbB3异源二聚体。在某些实施方案中,EGF类似区包含NRG-1的受体结合区氨基酸。在某些实施方案中,EGF类似区是指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类似区包含NRG-2的受体结合区氨基酸。在某些实施方案中,EGF类似区包含NRG-3的受体结合区氨基酸。在某些实施方案中,EGF类似区包含NRG-4的受体结合区氨基酸。在某些实施方案中,EGF类似区包含美国专利5,834,229中描述的氨基酸序列:Ala Glu Lys Glu LysThr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro。

[0038] 纽兰格林蛋白,可被制成口服给药、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剂型。在所有给药方式中,最合适给药途径取决于治疗状况的性质和严重程度,以及所使用特殊纽兰格林蛋白的性质。纽兰格林蛋白可以单独给药。或者更适宜的,纽兰格林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,ed.,Mack Publishing Company,April 1997;和Remington's Pharmaceutical Sciences,18th ed.,Gennaro,ed.,Mack Publishing Co.(1990))。

[0039] 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。微型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,例如但不限于包含纽兰格林蛋白的流体介质。

[0040] 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MiniMed Paradigm 522胰岛素泵,MiniMed Paradigm 722胰岛素泵,MiniMed Paradigm 515胰岛素泵,MiniMed Paradigm 715胰岛素泵,MiniMed Paradigm 512R胰岛素泵,MiniMed Paradigm 712R胰岛素泵,MiniMed Paradigm 508胰岛素泵,MiniMed Paradigm 508R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。

[0041] 美国专利US11/211,095 (Infusion Device And Method With Disposable Portion,申请日2005.8.23,公布号US2006/0264894,授权号US7686787,) 和已公布的PCT申请W001/70307 (PCT/US01/09139, Exchangeable Electronic Cards For Infusion Devices) ,W004/030716 (PCT/US2003/028769, Components And Methods For Patient Infusion Device) ,WO 04/030717 (PCT/US2003/029019, Dispenser Components And Methods For Infusion Device) ,美国专利US2005/0065760 (Method For Advising Patients Concerning Doses Of Insulin) 和US 6,589,229 (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。

[0042] 本发明所采用的药物可接受组分和相应的给药方式包括但不限于美国专利5,736,154;6,197,801;5,741,511;5,886,039;5,941,868;6,258,374和5,686,102所公布的内容。

[0043] 需要注意的是,本领域的技术人员例如主治医生应该知道如何及何时根据毒性或不良反应去终止、中断或调整治疗剂量至低剂量。相反的,如果临床反应不足,医生也应该知道如何及何时去调整治疗至高水平(排除毒副反应)。

[0044] 在实际应用中,单独的纽兰格林蛋白作为活性物质或其与其他药物载体、赋形剂,如 β -环糊精,2-羟基-丙基- β -环糊精,按照常见的药物配制技术组合成混合物。根据给药途径不同,局部给药或非胃肠道用药,所需要的载体形式也不同。在制备非胃肠道给药剂型中,如静脉注射或灌注,可采用本领域技术人员所熟知的药物媒介,如水,乙二醇,油,缓冲液,糖,防腐剂,脂质体等。类似的非胃肠道组分包括,但不限于5%w/v葡萄糖,生理盐水或其他溶液。典型的溶剂包括但不限于醋酸盐,柠檬酸盐和磷酸盐。典型的稳定剂包括但不限于蛋白质如白蛋白,人血清白蛋白,明胶和类似物。典型的糖包括但不限于葡萄糖(右旋糖),蔗糖,果糖,甘露醇,山梨醇等。典型的盐包括但不限于碳酸钾,碳酸钠,氯化钾,氯化钠等等。典型的药物组成成分如Remington, supra, 1997, and Remington's, supra, 1990. 描述。单独的纽兰格林蛋白,或其与其他物质形成的组合物,被制成静脉注射液盛于药瓶中,容量范围从1ml到2000ml不等。

[0045] 在另一个实施例中,本发明的药盒进一步包括一个针头或注射器,其最好为无菌包装,用于注射,和/或有一个包装好的酒精棉块。说明书可视情况包括医生或病人使用该药物组份的方法。

[0046] 除上下文另有说明,此处所用“蛋白”与“多肽”、“肽段”含义一致。

[0047] 此处所用“活性单位”或“EU”或“U”是指能诱导50%最大活性反应的标准产品的用量。换句话说,为了测定某一活性制剂的活性单位,必须测定EC50。例如,如果某一产品的EC50是0.1 μ g,则这个量就是1个单位。进一步讲,如果使用了1 μ g该产品,就是使用了10EU (1/0.1)。可以用本领域已知的任何方法来测定EC50,包括下面的实施例中发明人所使用的方法。活性单位的测定对于基因工程产品和临床使用药物的质量控制是重要的,这样可以

使不同药品和/或不同批次的产品以同样的标准来定量。

[0048] 以下简要描述本发明中所采用的一种快速、敏感、高通量并定量的检测NRG-1生物活性的方法,其主要利用NRG可以结合并激活细胞表面的ErbB3和ErbB4受体,并间接导致ErbB2受体磷酸化的特性(参见Michael D.Sadick等,1996,Analytical Biochemistry,235:207-214以及W003/099300)。

[0049] 简而言之,该方法名为激酶受体活化酶联免疫吸附试验(kinase receptor activation enzyme-linked immunosorbant assay,KIRA-ELISA),其主要包括两块分开的微孔板。其中一块微孔板进行细胞培养、配体刺激、细胞裂解和受体溶解。而另一微孔板则进行受体捕获和磷酸化ELISA检测。该方法用于检测NRG蛋白诱导的贴壁的乳腺癌细胞系MCF-7的ErbB2受体活化水平。用Triton-X100裂解液来溶解膜蛋白,其中游离的ErbB2受体被包被在ELISA孔中的与ErbB3或ErbB4无交叉反应的ErbB2特异性抗体捕获,并通过抗磷酸酪氨酸ELISA检测所捕获的ErbB2受体的磷酸化水平。制出有重复性的标准曲线,heregulin β 1 (177-244) 的EC50值大约为360pM。当相同的样品分别用KIRA-ELISA法和定量的抗磷酸酪氨酸Western Blot法检测ErbB2受体的磷酸化水平时,可以发现这两种方法所测的结果具有非常紧密的关联性。此处所描述的分析方法可具体地量化ErbB2酪氨酸磷酸化水平,该磷酸化是HRG蛋白同ErbB3和/或ErbB4受体作用的结果。

[0050] 由于大多数基因工程药物是蛋白质或多肽类,它们的活性可通过其氨基酸序列或空间结构组成的活性中心所决定。蛋白质或多肽类的活性效价与它们的绝对量并不一致,所以不能像化学药物一样用重量单位来计量。然而,基因工程药物的生物活性一般同药效学和效价确定方法一致,该方法可以通过给定的生物活性确定其效价单位。因此,确定生物活性是定量活性物质过程的一部分,同时也是基因工程产物的质量控制的重要组成部分。生物活性标准的建立对于基因工程产物和临床用药的质量控制是相当重要的。

[0051] 能引起最大反应50%的标准品的用量被定义为1个活性单位(1EU)。因此,不同的药物或不同批次的产品能用统一的标准来定量。

[0052] 此处所用预防、治疗或延迟一种特殊疾病的活性制剂的“有效剂量”是指足够改善或在某种程度上减少与疾病相关症状的剂量。该剂量可能治疗疾病,但是典型地,是为了减轻疾病症状而施用。

[0053] 在特定的实施例中,纽兰格林的有效剂量至少为0.2 μ g/kg/day,0.3 μ g/kg/day,0.4 μ g/kg/day,0.5 μ g/kg/day,0.6 μ g/kg/day,0.7 μ g/kg/day,0.8 μ g/kg/day,0.9 μ g/kg/day,1.0 μ g/kg/day,1.1 μ g/kg/day,1.2 μ g/kg/day,1.3 μ g/kg/day,1.4 μ g/kg/day,1.5 μ g/kg/day,1.6 μ g/kg/day,1.7 μ g/kg/day,1.8 μ g/kg/day,1.9 μ g/kg/day,2.0 μ g/kg/day,2.1 μ g/kg/day,2.2 μ g/kg/day,2.3 μ g/kg/day,2.4 μ g/kg/day,2.5 μ g/kg/day,2.6 μ g/kg/day,2.7 μ g/kg/day,2.8 μ g/kg/day,2.9 μ g/kg/day,or 3.0 μ g/kg/day。在一个实施例中,纽兰格林的有效剂量为1.2 μ g/kg/day。在另一实施例中,纽兰格林的有效剂量为2.0 μ g/kg/day。在一个实施例中,纽兰格林的有效剂量为3.0 μ g/kg/day。在另一实施例中,纽兰格林的有效剂量为0.3-3.0 μ g/kg/day。在另一实施例中,纽兰格林的有效剂量为1.2-2.0 μ g/kg/day。

[0054] 此处所用“活性成分”指任何用于诊断,治愈,减轻,治疗或预防人类或其他动物疾病,或者改善身体和精神状况的物质。

[0055] 此处所述通过施用一种特定的活性成分产生的特定疾病症状的“减轻”,是指通过

施用药物永久或暂时,持久或短暂地减轻症状。

[0056] 此处所用的“治疗”或“处理”是指可以使不适、紊乱或疾病的症状改善或向好的方向改变的任何方式。其效果可以是预防性的,完全或部分防止某一疾病或其症状发生,也可以是治疗性的,部分或完全治愈某一疾病和/或该疾病引起的不利影响。治疗还包括此处所述组合物的任何药物用途。

[0057] 此处所用“心力衰竭”是指一种心脏功能的异常,在这种情况下,心脏不能按照组织代谢的需要进行供血。心力衰竭包括多种疾病状态比如充血性心力衰竭,心肌梗死,心律失常,家族性肥厚性心肌病,缺血性心脏病,特发性心肌病和心肌炎等之类的。心力衰竭可由多种因素导致,包括但不限于缺血性,先天性,风湿性,病毒性、毒性或特发性心力衰竭。慢性心脏肥大是一种显著的充血性心力衰竭前期的疾病状态,其可以引起心脏停搏。

[0058] 此处所用“射血分数”或“EF”是指每搏输出量占心室舒张末期容积量的百分比。它可能由以下公式所定义: $(LV\text{舒张容积} - LV\text{收缩容积}) / LV\text{舒张容积}$ 。

[0059] 本发明提供了缓释纽兰格林预防、治疗或延迟各种心血管疾病或失常尤其是心力衰竭的组份和方法。缓释纽兰格林能够简化用药方案,提高临床疗效,减少副作用等,这与血液中有较高的纽兰格林浓度有关。缓释纽兰格林一段时间能够诱导或维持某些心肌细胞生长和/或分化基因的表达,重塑肌细胞肌节和细胞骨架结构,或细胞粘附。

[0060] 缓释纽兰格林在一定时期内提供了一个持续的纽兰格林治疗水平。在一些实施例中,纽兰格林持续释放的时间为1小时,2小时,3小时,4小时,5小时,6小时,7小时,8小时,9小时,10小时,11小时,12小时,13小时,14小时,15小时,16小时,17小时,18小时,19小时,20小时,21小时,22小时,23小时,24小时或者更长时间。在一些实施例中,纽兰格林持续释放的时间为1天,2天,3天,4天,5天,6天,7天,8天,9天,10天,11天,12天,13天,14天,15天,16天,17天,18天,19天,20天,21天,22天,23天,24天,25天,26天,27天,28天,29天,30天,或者更长时间。在另一实施例中,纽兰格林持续释放的时间为1周,2周,3周,4周或者更长时间。如果需要,可视情况持续用药数小时,数天或数周。在另一实施例中,纽兰格林持续释放的时间为1个月,2个月,3个月,4个月,5个月,6个月,7个月,8个月,9个月,10个月,11个月,12个月或更长时间。在另一实施例中,纽兰格林持续释放的时间为1年,2年,3年,4年,5年或更长时间。在一些实施例中,纽兰格林持续释放的时间为1小时到2周,2小时到2周,4小时到24周,4天到10天。纽兰格林释放的时间取决于缓释工艺或使用的技术。

[0061] 纽兰格林也能够在一个用药计划或疗程中使用。下文详细的描述了在疗程中每天使用的剂量。一个疗程能够持续2天,5天,7天,10天,2周,1个月,3个月,6个月,1年或更长时间。一般来说,推荐的纽兰格林每公斤体重日剂量范围为0.001 μg 到1000mg每天。特别的,每公斤体重的总日剂量范围在0.001 μg 每天到15mg每天,0.005 μg 每天到10mg每天,0.01 μg 每天到5mg每天,0.1 μg 每天到1mg每天,0.5 μg 每天到100 μg 每天,1 μg 每天到10 μg 每天,1.2 μg 每天到2.4 μg 每天,1.2 μg 每天到2.2 μg 每天,1.2 μg 每天到2.0 μg 每天。在对病人的管理中,治疗首先从低剂量开始,可能约0.1 μg 到0.3 μg ,如果必要增加至1 μg 到1000 μg 每天,可根据病人的整体反应采用单次剂量或分剂量。在某些情况下使用的剂量超过本发明在此公布的剂量范围是有必要的,这对本领域技术人员来说是显而易见的。

[0062] 在某一实施例中,纽兰格林在疗程中每天都给药。在某一实施例中,纽兰格林连续给药3天,3天,5天,6天,7天,8天,9天,10天,2周,1个月,3个月,6个月,1年或更长时间。在某

一实施例中,纽兰格林作为导入疗法给药。在一些优选的实施例中,导入疗法包括连续给药纽兰格林至少3天,5天,7天,10天,15天。在一些优选的实施例中,导入疗法包括每天连续给药纽兰格林至少2,4,6,8,10,12,16,20,24小时。在一些优选的实施例中,纽兰格林在导入疗法之后做为维持疗法给药至少3个月,6个月,12个月,1年,5年,或更长的时间。本发明公布的其他时间周期能被用于导入疗法或维持疗法。

[0063] 在一个实施例中,本发明提供了预防、治疗或延迟哺乳动物心血管疾病或失常的方法,该方法包括对哺乳动物皮下缓释纽兰格林 $0.3\mu\text{g}/\text{kg/day}$ 到 $3.0\mu\text{g}/\text{kg/day}$,其中通过使用一个泵对哺乳动物皮下缓释纽兰格林。缓释纽兰格林通过一种缓释剂型来实现,比如一种适合使用泵来给药的剂型。在另一实施例中,本发明提供了预防、治疗或延迟哺乳动物心血管疾病或失常的方法,该方法包括通过皮下给药对哺乳动物缓释纽兰格林 $0.3\mu\text{g}/\text{kg/day}$ 到 $3.0\mu\text{g}/\text{kg/day}$,其中通过使用一个泵对哺乳动物皮下缓释纽兰格林。

[0064] 在本发明的特定实施例的方法中,纽兰格林治疗的疾病或失常是哺乳动物心力衰竭,比如,人类。在另一实施例中,通过使用一个注射泵对哺乳动物皮下缓释纽兰格林,该注射泵可以是一个微型泵,如胰岛素泵。

[0065] 在本发明另一实施例的方法中,纽兰格林的剂量为 $1.2\mu\text{g}/\text{kg/day}$ 到 $2.0\mu\text{g}/\text{kg/day}$,或者此处公开的其他剂量。在一个特定的实施例中,纽兰格林的剂量为 $1.2\mu\text{g}/\text{kg/day}$ 。在另一实施例中,纽兰格林的剂量为 $2.0\mu\text{g}/\text{kg/day}$ 。在另一特定实施例中,纽兰格林的剂量为 $6\text{EU}/\text{kg/day}$ 到 $60\text{EU}/\text{kg/day}$ 。在另一实施例中,纽兰格林的剂量为 $24\text{EU}/\text{kg/day}$ 到 $40\text{EU}/\text{kg/day}$ 。在另一实施例中,纽兰格林的剂量为 $40\text{EU}/\text{kg/day}$ 。

[0066] 在本发明另一实施例的方法中,纽兰格林作为导入疗法给药。在一个实施例中,导入疗法包括至少连续3,5,10,15天施用纽兰格林。当然如果需要,也可使用在此公开的其他给药天数。在另一实施例中,每天至少连续2,4,6,8,10,12,16,20,24小时施用纽兰格林。当然如果需要,也可使用在此公开的其他给药小时。

[0067] 在另一实施例中,在导入疗法后纽兰格林作为维持疗法给药。在一个实施例中,维持疗法包括在导入疗法之后施用纽兰格林至少3个月,6个月,12个月,5年或更长时间。在另一实施例中,维持疗法包括每3个月,6个月或12个月重复导入疗法。

[0068] 在另一实施例中,对哺乳动物缓释纽兰格林能够提高射血分数(EF)。射血分数指每搏输出量占心室舒张末期容积量的百分比。测量射血分数的方法为本领域技术人员所熟知。

[0069] 而在另一实施例中,对哺乳动物缓释纽兰格林能够减少左室舒张末期容积(LVEDV)。众所周知,舒张末容积(EDV)是指左心室或右心室舒张末期负荷或充满的血容量。在另一实施例中,对哺乳动物缓释纽兰格林能够减少左室收缩末期容积(LVESV)。众所周知,收缩末容积(ESV)是指心室收缩末期和舒张开端的血容量。测量LVEDV和/或LVESV的方法为本领域技术人员所熟知。

[0070] 在本发明另一实施例的方法中,对哺乳动物缓释纽兰格林能够延长6分钟行走距离(6MWD)。而在另一实施例中,对哺乳动物缓释纽兰格林能够提高生活质量。此处实施例中描述了纽兰格林改善心脏疾病测量值和/或提高病人预后的效果。

[0071] 本发明额外提供了预防、治疗或延迟哺乳动物心血管疾病或失常的药盒。该药盒由纽兰格林组合物或配方和一个泵组成。药盒能用于,比如治疗心衰病人或心脏失常患者。

患者是哺乳动物比如人。在一个药盒的实施例中，泵是注射泵。在一个特定的实施例中，泵是一个微型泵。在另一个特定的实施例中，泵是胰岛素泵。

[0072] 本领域技术人员熟知患有疾病或失常比如心脏疾病或心衰的病人的特点(例如, Cecil Textbook of Medicine, 20th ed., Bennett and Plum, eds., W.B.Saunders Company, Philadelphia (1996); Harrison's Principles of Internal Medicine, 14th ed., Fauci et al., eds., McGraw-Hill, San Francisco (1998))。

[0073] 本领域的技术人员熟知,可以根据症状的严重程度将心衰病人分级。使用最广泛的分级系统是纽约心脏协会(NYHA)心脏功能分级。它根据患者身体活动能力的限制程度将患者分为如下4类:I级,患心脏疾病但并未导致身体活动受限,一般的活动量不好导致过度疲劳,心悸,呼吸困难或心绞痛;II级,患心脏疾病并导致身体活动轻度受限,休息时是舒适的,一般的活动量导致疲劳,心悸,呼吸困难或心绞痛;III级,患心脏疾病并导致身体活动明显受限,休息时是舒适的,在少于一般的活动量的情况下也导致疲劳,心悸,呼吸困难或心绞痛。IV级,患心脏疾病并导致无法进行任何身体活动,即使在休息时也可能有心衰或心绞痛的症状。从事任何身体活动都会使不适感增加。在一些实施例中,所有的NYHA心功能分级病人(I级-IV级)都适合本发明的方法。在一些优选的实施例中,NYHA II级和/或III级病人适合本发明的方法。

[0074] 在某一实施例中,纽兰格林在疗程中的第一天施用,这个疗程包含一天或多天不施用纽兰格林。在某一实施例中,纽兰格林在一个疗程的间歇期后每天给药持续3,5,7,10或15天。

[0075] 对本发明各种实施例的活性无实质影响的修饰都在本发明保护的范围内。因此,以下的例子是为了说明而非限制本发明。

实施例

[0076] 实施例1:随机、双盲、多中心、安慰剂并行对照评价重组人纽兰格林-1对慢性心力衰竭患者疗效与安全性的研究

[0077] 1.引言:为了评价重组人纽兰格林-1皮下输注对慢性心力衰竭患者的疗效,在美国多个临床中心开展了随机、双盲、多中心、安慰剂并行对照的II期临床试验。共有67位NYHA心功能分级为II或III级的慢性心衰患者入组,在随机给药前患者在1到7天内接受复律器-除颤器(ICD)的询问。在筛选结束时根据心脏计算机断层显像(CT)的基线结果将患者随机分为3组。该研究由5个阶段组成:筛选和基线期(研究前21天到前3天),治疗期(研究第1天到第10天,每天输注的开始时间为8am±2小时),获准出院(第11天),随访期(第30天,90天和180±5天)和最终的随访期从第365天(±5天)持续大约12个月。在参与研究期间,所有的受试者都遵照指示坚持当前的心脏疗法。

[0078] 2.诊断和主要的入选标准

[0079] NYHA心功能分级为II或III级的慢性心衰患者,在接受研究治疗至少3个月前正在进行稳定的血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)/血管紧张素受体阻滞剂ARB、β受体阻断剂和/或利尿剂稳定疗法,在研究治疗期仍保持稳定疗法。在接受研究治疗至少3个月前患者需要植入ICD,并且经2-D超声心动图筛选左心室射血分数(LVEF)≤40%。

[0080] 3.产品,剂量,持续时间,给药方式,批号

[0081] 从第一天到第10天,患者接受以下其中之一药物皮下输注治疗:安慰剂(批号TC2952,250 μ g每支)或Neuregulin™(批号TC2965,250 μ g/5000EU每支)剂量为1.2 μ g/kg/day(2.4EU/kg/day)或2.0 μ g/kg/day(40EU/kg/day)。

[0082] 临床试用产品的特性:Neuregulin™(批号TC2965)和相匹配的安慰剂(批号TC2952)被装在一个干净的药瓶中,含250 μ g活性成分或安慰剂。活性成分和安慰剂是白色或米白色粉末。供试药品根据随机编码准备,使用患者的体重来准备日剂量1.2 μ g/kg,2.0 μ g/kg,安慰剂呈干净,无色溶液,无肉眼可见微粒。储存温度为2-8°C,避光保存,避免儿童接触。

[0083] 皮下输注泵:Medtronic Paradigm 722胰岛素泵。使用美力敦泵贮液器取1.6mL溶解药物到贮液器,泵的流速为0.2ml/h持续8小时。

[0084] 4. 标准和评价

[0085] 疗效:疗效评价包括治疗前和治疗30天的心脏CT;NYHA心功能分级,6分钟行走测试,生活质量调查问卷(堪萨斯城心肌病调查问卷),在筛选期和治疗30,90,180,365天的NT-proBNP水平,在筛选期和治疗30,90天的2-D超声心动图。

[0086] 安全性:安全性评价包含监测不良事件(AEs),不良反应(ADRs),严重不良事件(SAEs),重要病症,体格检查,脉搏血氧测量,心电图参数(如QTc,QRS,HR,PR,RR,T波水平/倒置,ST段抬高),抗Neuregulin™抗体水平,通过心脏CT测得的心包液(mL,轻微,中度,大量),ICD询问(不适当的剔除,是或不是),2-D超声心动图心包液(mL,轻微,中度,大量)和试验参数(化学,血液学,泌尿学)。在心脏病学中,QTc指QT间期,是Q波群起点至T波终点的时间,代表心室除极与复极的总时间。潜在的室性快速型心律失常如尖端扭转和猝死风险的标志是QT间期延迟。Q,R,S波快速连续地发生,都没有出现在所有的导联中,反映一个事件,因此通常被认为是在一起的。Q波在P波之后向下偏转。随后R波向上偏转,S波在R波之后向下偏转。T波伴随S波,在某些情况下,一个额外的U波伴随T波。心率(HR)是指心脏跳动的速度,特别是心脏在单位时间内跳动的次数。当Q波通过心电图测量时,RR间期也通常称为PQ间期。PR是指心电图中连续Rs的间隔。静息时RR间期的变化代表心脏自律输出时心脏搏动的变化。CT是指X射线计算机断层扫描。ICD是指埋藏式复律除颤器。

[0087] 5. 结果。结果详情如下。

[0088] 5.1 LVEF

[0089] 表1.治疗前基线值和第30天LVEF%结果及LVEF%绝对值变化

	安慰剂(N=19)	1.2 μ g/kg/day(N=22)	2.0 μ g/kg/day(N=19)
基线	30.29	32.46	28.54
第30天	29.47	34.99	31.74
第30天-基线	-0.82	2.53	3.20
第30天-安慰剂	-	3.35	4.02

[0091] 在安慰剂组中LVEF%值减小,而在纽兰格林组中该值增大(见图1和表1)。安慰剂组、1.2 μ g/kg/day组、2.0 μ g/kg/day组的平均绝对值变化分别为-0.82%,2.53%和3.20%(见图2和表1),表明通过皮下输注Neuregulin™能够提高心脏功能。

[0092] 5.2 LVEDV

[0093] 表2.治疗前基线值和第30天LVEF(ml)结果及LVEF(ml)绝对值变化

[0094]		安慰剂 (N=19)	1.2μg/kg/day(N=22)	2.0μg/kg/day(N=19)
[0095]	基线	287.49	289.43	274.50
	第 30 天	297.71	281.26	276.86
	第 30 天-基线	10.22	-8.16	2.36
	第 30 天-安慰剂	-	-18.38	-7.86

[0096] 在安慰剂组中LVEF值增大,而在2.0μg/kg/day组中,LVEDV值的增大并未像安慰剂组一样多,而1.2μg/kg/day组中,LVEDV值显著减少(见图3和表2)。安慰剂组、1.2μg/kg/day组、2.0μg/kg/day组的平均绝对值变化分别为10.22ml,-8.16ml,2.36ml。(见图4和表2)。关于LVEDV值,1.2μg/kg组好于2.0μg/kg组。

[0097] 5.3LVESV

[0098] 表3.治疗前基线值和第30天LVESV (ml) 结果及LVESV (ml) 绝对值变化

[0099]		安慰剂 (N=19)	1.2μg/kg/day (N=22)	2.0μg/kg/day (N=19)
	基线	206.79	202.29	205.24
	第30天	216.12	191.71	200.06
	第30天-基线	9.33	-10.58	-5.19
	第30天-安慰剂	-	-19.91	-14.52

[0100] 在安慰剂组中LVESV值增大,而在纽兰格林组中,LVESV值减少(见图5和表3)。安慰剂组、1.2μg/kg/day组、2.0μg/kg/day组的平均绝对值变化分别为9.33ml,-10.58ml,-5.19ml(见图6和表3)。关于LVESV值,1.2μg/kg组好于2.0μg/kg组。LVEDV和LVESV数据显示通过皮下灌注Neuregulin™能够有效的逆转心衰病人心室重构。

[0101] 5.4 6分钟行走测试

[0102] 表4.与基线相比在第30,90,180,365天增长的行走距离 (m) &行走后呼吸困难&行走后疲劳

	时间 (天)	安慰剂 (N=19)	1.2μg/kg/day (N=22)	2.0μg/kg/day (N=19)
[0103]	增加的行走距离 (m)	30	19.2	41.4
	90	21.6	52.2	-2.0
	180	30.5	47.7	11.7
	365	39.4	62.2	-24.4
	行走后呼吸困难 (评分)	30	-0.3	-0.8
	90	-0.1	-0.7	-0.7
	180	-0.8	-0.8	-0.3
	365	0.3	-0.8	-0.5

[0104]	行走后疲劳(评分)	30	0.1	-1.4	-1.0
		90	0.2	-1.1	-0.4
		180	-0.2	-1.3	0.2
		365	0.3	-1.3	0.2

[0105] 3组中1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 组的行走距离增加最长(第30天为41.4m,第90天为52.2m,第180天为47.7m,第365天为62.2m),安慰剂组增长的行走距离(第30天为19.2m,第90天为21.6m,第180天为30.5m,第365天为39.4m)大于1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 组增长的行走距离(第30天为1.7m,第90天为-2.0m,第180天为11.7m,第365天为-24.4m)。

[0106] 观测的1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 组的行走距离超过了先前研究中通过静脉给药纽兰格林的行走距离。关于在第30天和第90天行走后呼吸困难和疲劳的结果,两个纽兰格林组都好于安慰剂组(见图8,9和表4)。

[0107] 5.5第30,90,180和365天的生活质量

[0108] 表5.生活质量分析

[0109]	时间(天)	安慰剂(N=19)	1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ (N=22)	2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ (N=22)
	30	4.825	15.873	9.649
	90	2.778	15.079	9.649
	180	8.333	17.460	7.353
	365	10.000	16.228	7.870

[0110] 如图10所示,安慰剂组、1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 组、2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 组的生活质量得分分别增长了4.825,15.152和9.649(见表5)。高评分意味着生活质量高。如表5所示,3组中1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 组的生活质量得分最高。3组中的生活质量都评分都增高,而1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 组评分的增长远大于安慰剂组(见图10)。观测的1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 组的生活质量评分超过了先前研究中通过静脉给药纽兰格林的生活质量评分。

[0111] 5.6在基线第30天,90天,180天和365天NT-proBNP中位值的变化

[0112]	时间(天)	安慰剂(N=19)	1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ (N=22)	2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ (N=19)
	基线	799.00	472.00	678.50
	第30天	-14.00	-73.00	45
	第90天-基线	16.00	-55.00	-70.50
	第180天-基线	-24.00	-69.00	-50.50
[0113]	第365天-基线	68.00	-83.50	-20.00

[0114] 由于NT-proBNP水平在病情恶化的心衰病人体内典型升高,因此NT-proBNP被广泛用做心衰病人诊断或预后指标。如表6所示,3组中1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 组的NT-proBNP水平最低,且1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 组评分的降低远大于安慰剂组。

[0115] 5.7第30天的NYHA分级

[0116] 表7.在基线和第30天NYHA心功能分级百分比

[0117]		NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
--------	--	--------	---------	----------	---------

基线	安慰剂	0	84.2%	15.8%	0
	1.2μg/kg/day	0	81.8%	18.2%	0
	2.0μg/kg/day	0	73.7%	26.3%	0
第30天	安慰剂	5.3%	84.2%	10.5%	0
	1.2μg/kg/day	13.6%	72.7%	13.6%	0
	2.0μg/kg/day	15.8%	57.9%	26.3%	0

[0118] 表8.与基线相比NYHA心功能分级增长1级或更高的病人数及百分比变化值

[0119]

与基线相比的变化值	安慰剂	1.2μg/kg/day	2.0μg/kg/day
下降1级或更高	2 (9.5%)	5 (20.8%)	6 (27.3%)
无变化	19 (90.5%)	17 (70.8%)	13 (59.1%)
增长1级或更多	0	1 (4.2%)	3 (13.6%)

[0120] 如图11和表7,8所示,经Neuregulin™治疗后,更多的病人的NYHA分级降低了1级或更多级。观测的NYHA分级降低超过了先前研究中通过静脉给药纽兰格林的降低值。

[0121] 5.8安全性评价

[0122] 表9.不良事件(AE)整体总结

	1.2μg/kg/day (N=24)	2.0μg/kg/day (N=22)	安慰剂 (N=21)	总数 (N=67)
发生AEs的受试者数目(%)	21 (87.5)	21 (95.5)	15 (71.4)	57 (85.1)
研究药物与发生AEs的受试者数目(%) 的最大相关性				
不相关	6 (25.0)	5 (22.7)	9 (42.9)	20 (29.9)
相关	15 (62.5)	16 (72.7)	6 (28.6)	37 (55.2)
发生AEs的严重程度 的受试者数目(%)				
轻度	16 (66.7)	10 (45.5)	9 (42.9)	35 (52.2)
中度	4 (16.7)	6 (27.3)	3 (14.3)	13 (19.4)
严重	1 (4.2)	5 (22.7)	3 (14.3)	9 (13.4)
发生严重AEs的受试者数目(%)	1 (4.2)	6 (27.3)	4 (19.0)	11 (16.4)

[0125] 如表9所示,安全性数据显示施用Neuregulin™能够增加不良事件的发生,但大多数事件为轻度或中度事件,特别是1.2μg/kg/day组。在1.2μg/kg/day组中,严重不良事件的

发生率下降,表明NeuregulinTM治疗能够提高心衰病人的整体状况。

[0126] 在本发明中引用了各种出版物。这些出版物的公开通过引用合并于此,用来充分描述本发明所适用的目前工艺水平。虽然根据以上实施例描述了本发明,在不背离本发明的精神和范围的情况下,可以对本发明进行各种修改。

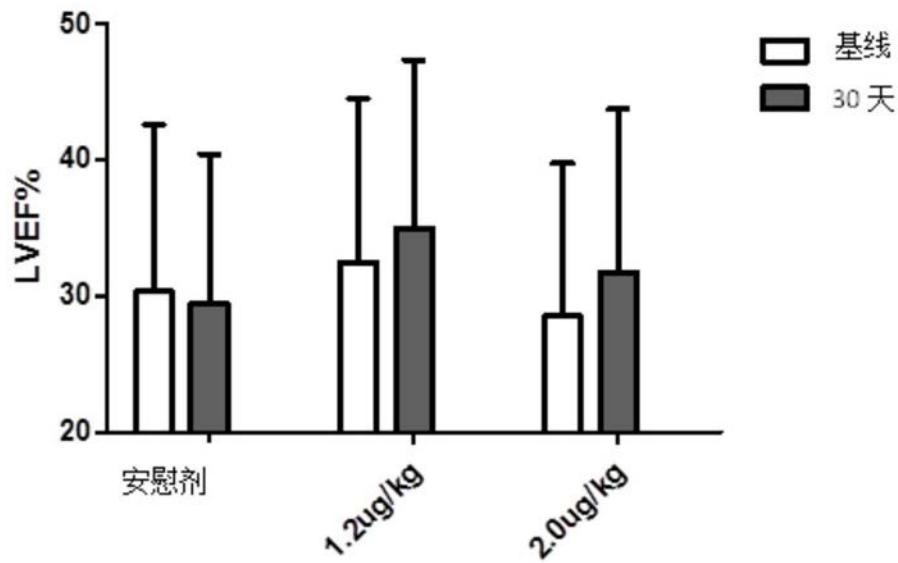


图1

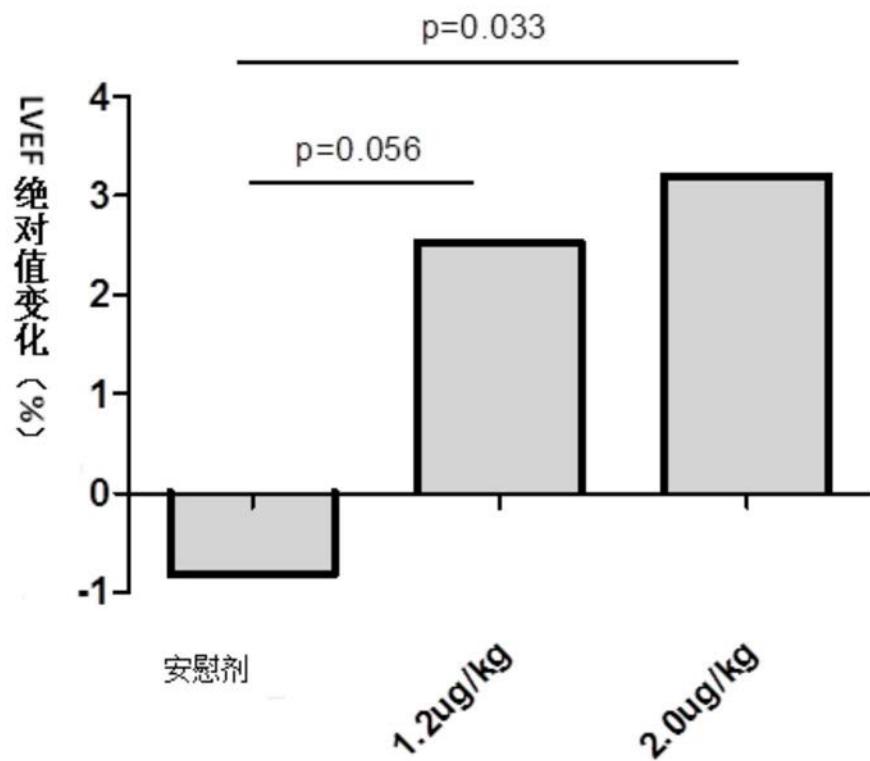


图2

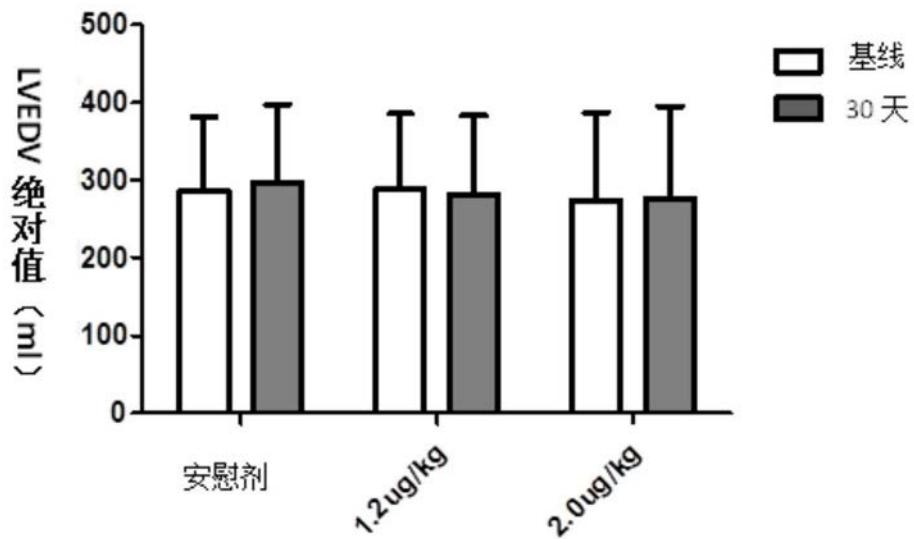


图3

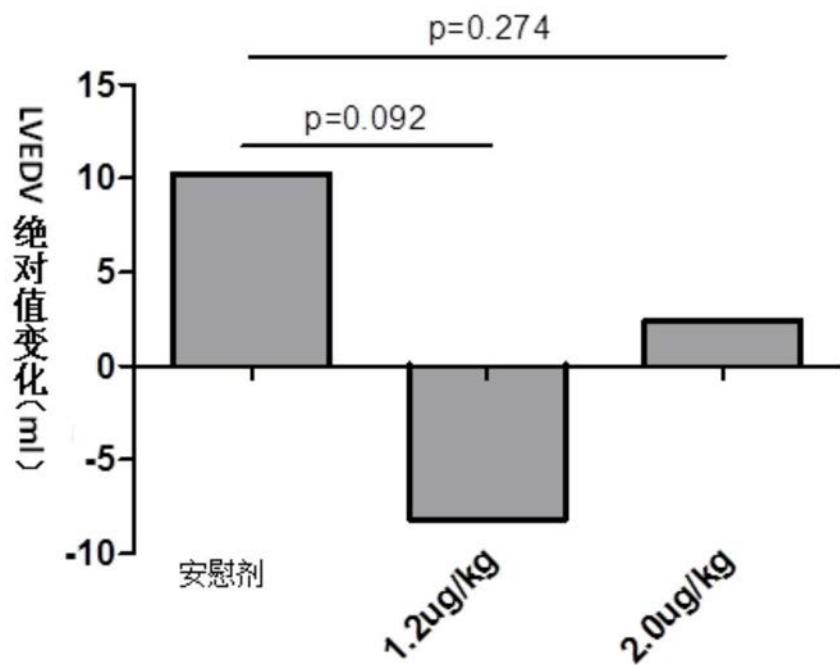


图4

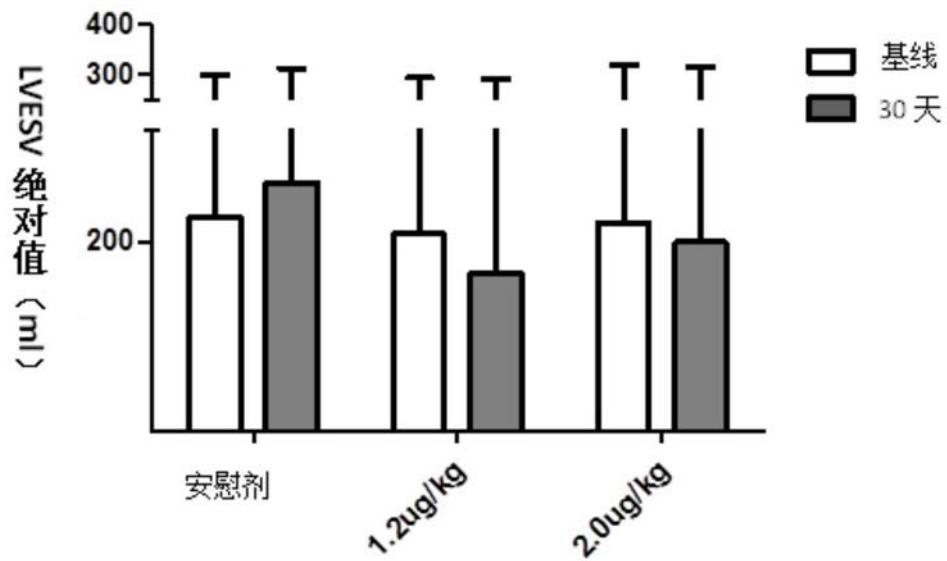


图5

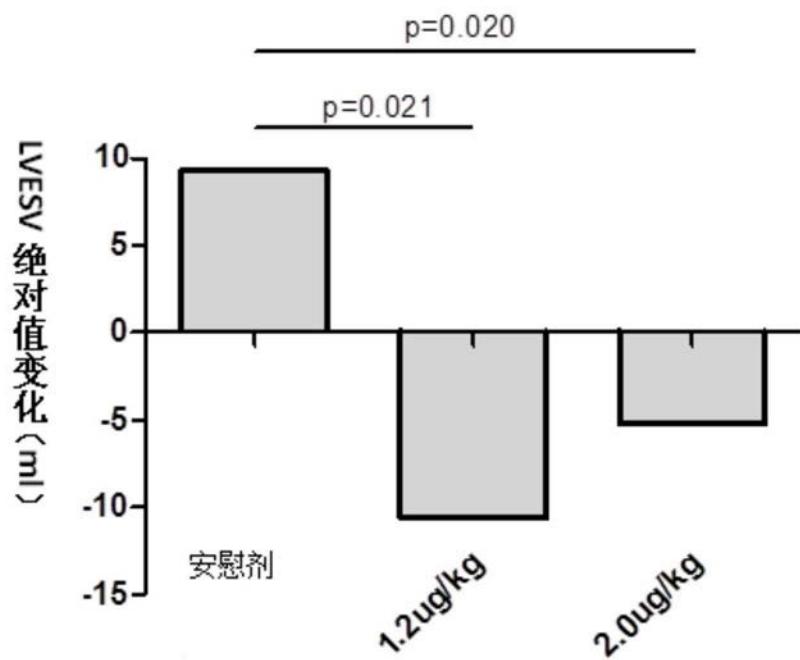


图6

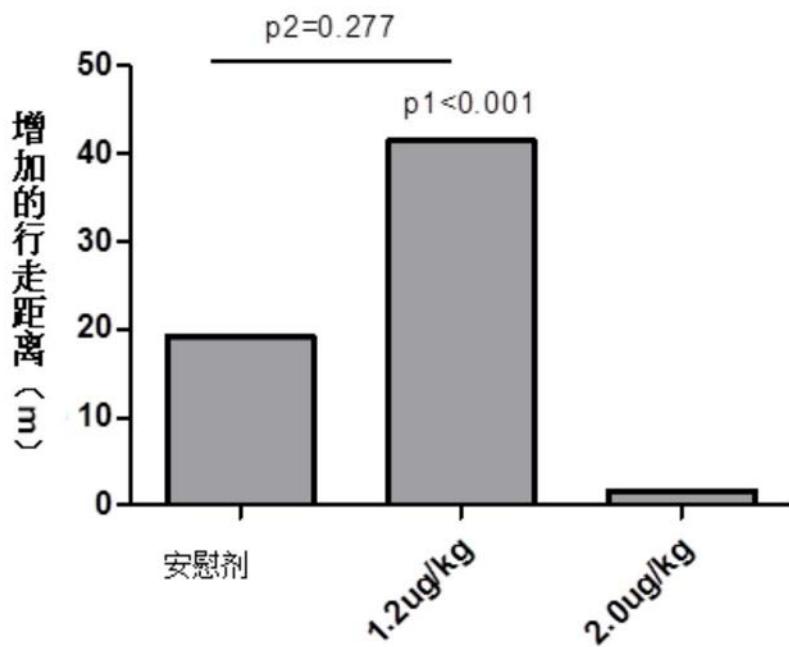


图7

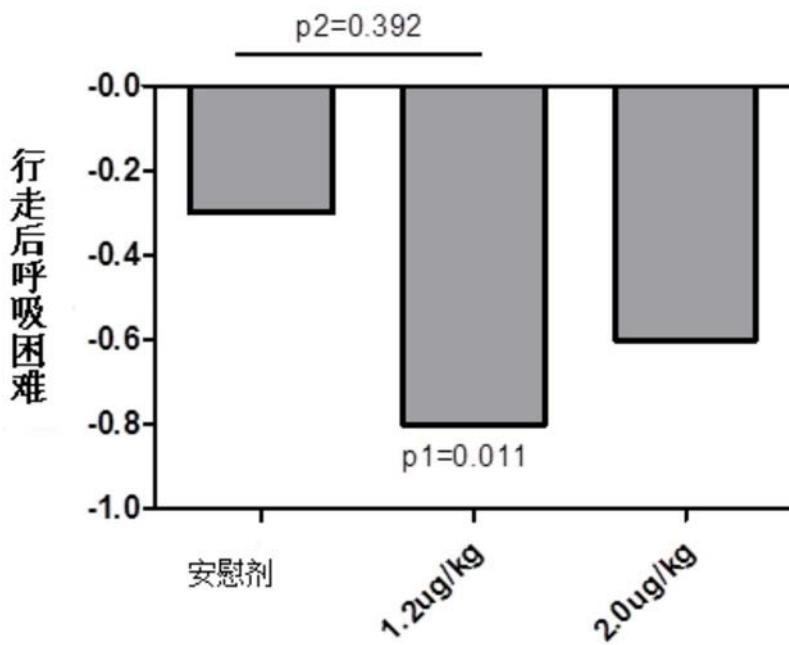


图8

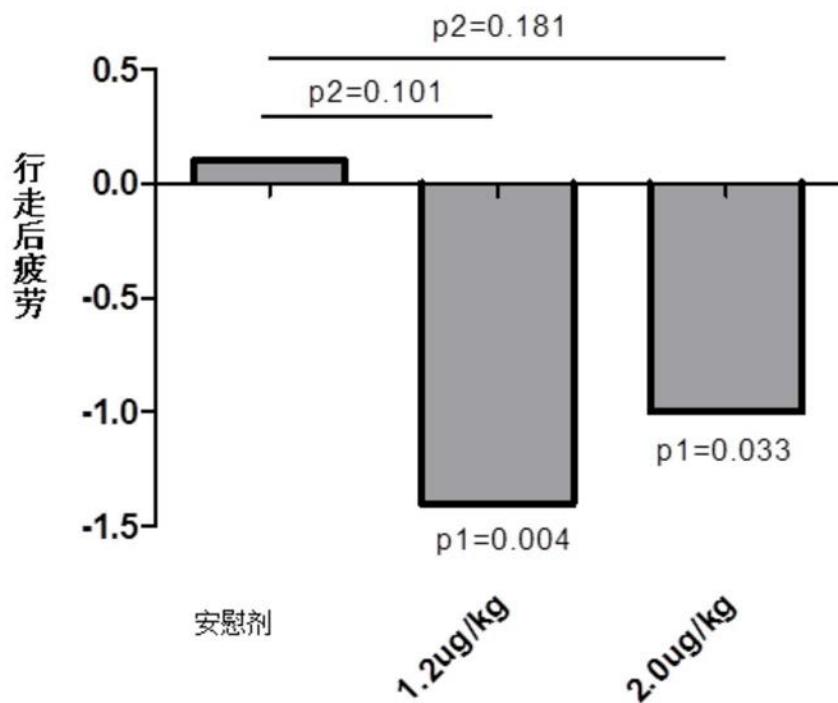


图9

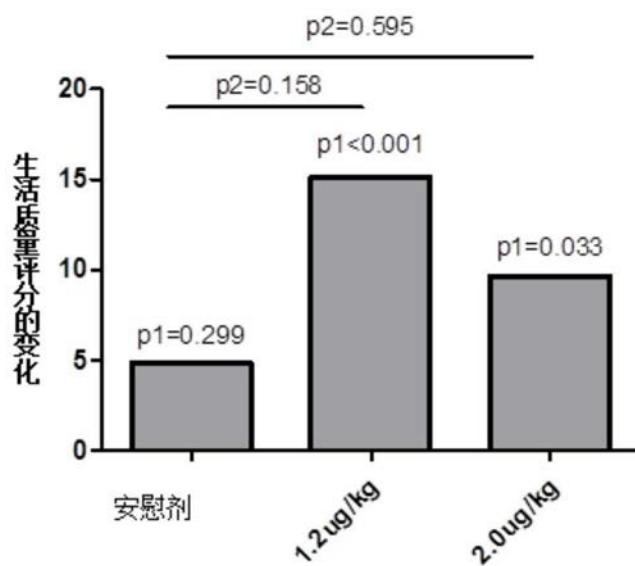


图10

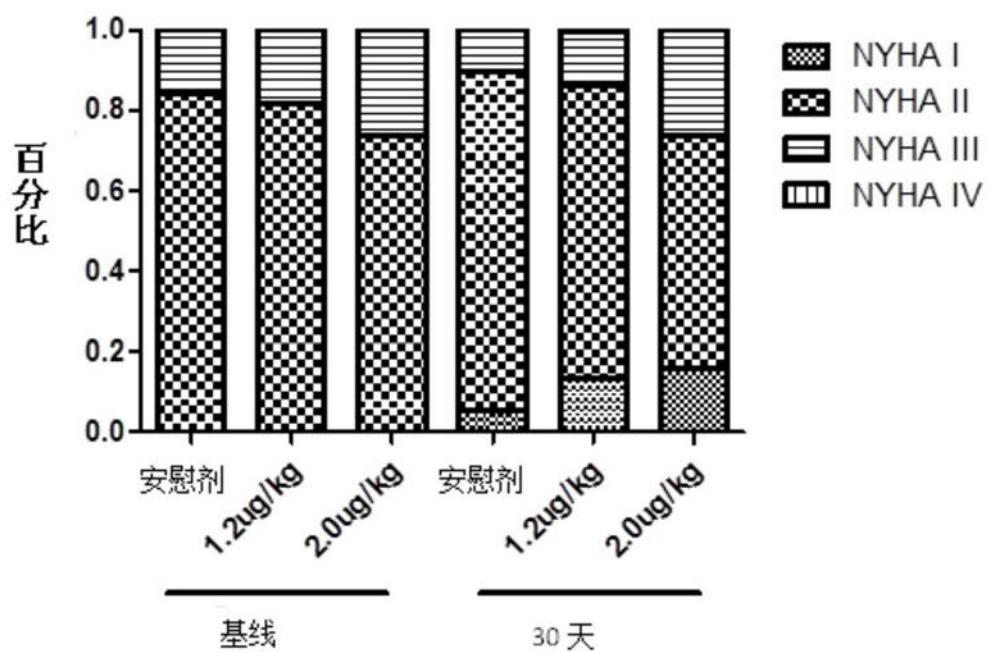


图11