

①9



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
EIDGENÖSSISCHES INSTITUT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

①1 CH 692 477 A5

⑤1 Int. Cl.⁷: A 61 K 031/197
A 61 P 031/04
A 61 P 043/00

①2 PATENTSCHRIFT A5

②1 Gesuchsnummer:	00366/00	⑦3 Inhaber:	Clinic of the Institute of Bioregulation and Gerontology, Ltd., 3 Dynamo Prospect, 197110 St. Petersburg (RU)
②2 Anmeldungsdatum:	27.05.1999	⑦2 Erfinder:	Vladimir Khatskelevich Khavinson, ul. Savushkina, 26-2-7, 197374 St. Petersburg (RU) Vyacheslav Grigorievich Morozov, ul. Vasiloozerskaya, 8/6-184, Vsevolozhsk, Leningradskaya obl. 188710 (RU) Vladimir Viktorovich Malinin, Serebristy bulvar, 16-16-92, 197227 St. Petersburg (RU) Sergei Vladimirovich Sery, ul. Molodtseva, 14-20, pos. Sertolovo, Vsevolozhsky r-on, 188650 Leningradskaya (RU)
③0 Priorität:	23.06.1998 RU 98111342	⑦4 Vertreter:	A. Braun, Braun, Héritier, Eschmann AG, Patentanwälte, Holbeinstrasse 36-38, 4051 Basel (CH)
②4 Patent erteilt:	15.07.2002	⑧6 Internationale Anmeldung:	PCT/RU 19/99000 (En)
④5 Patentschrift veröffentlicht:	15.07.2002	⑧7 Internationale Veröffentlichung:	WO 19/99066 (En) 29.12.1999

⑤4 Zusammensetzung zur Stimulation von Wiederherstellungsvorgängen, enthaltend L-Lysin-L-Glutaminsäure.

⑤7 Das Dipeptid L-Lys-L-Glu wird zur Verwendung in der Medizin zur Herstellung von Arzneien vorgeschlagen, die zur Stimulierung von Vorgängen befähigt ist. Erfindungsgemäss besteht die pharmazeutische Peptidzubereitung, die zur Stimulierung der Regeneration befähigt ist, aus einem pharmazeutisch verträglichen Träger und einer wirksamen Menge des Dipeptides als aktiven Bestandteil, das eine Kombination von L-Lysin-L-Glutamin oder seinen Salzen ist. Die pharmazeutische Peptidzusammensetzung wird zur parenteralen, intranasalen, oralen und lokalen Anwendung vorgeschlagen. Das Verfahren zur Stimulierung der Regeneration besteht darin, dass prophylaktisch und/oder behandelnd Injektionen der Arznei in einer Dosis von 0,01–100 µg pro 1 kg Gewicht, mindestens einmal täglich während einer genügend langen Zeit, um einen therapeutischen Effekt zu erzielen, verabreicht werden.



BeschreibungGebiet der Erfindung

Die Erfindung bezieht sich auf die Pharmakologie, d.h. Pharmazeutika, die Peptide enthalten, sowie ihre Zusammensetzungen, die in der Medizin prophylaktische und/oder therapeutische Verwendung als Stimulatoren der Geweberegeneration im Falle von pyoinflammatorischen Krankheiten und postoperativen Komplikationen, trophischen Krankheiten, Krankheiten und Verletzungen der Haut und der Schleimhäute, bei Folgen von Strahlung, thermischen und chemischen Faktoren finden, die mit Störungen der Wiederherstellungsvorgänge einhergehen.

Die Erfindung betrifft die Verwendung des Dipeptides L-Lysil-L-Glutaminsäure (L-Lys-L-Glu) zur Herstellung einer Peptidzusammensetzung, die die Wiederherstellungsvorgänge bei Personen, die dies benötigen, stimuliert.

Hintergrund der Erfindung

Unter denjenigen Arzneien, die hinsichtlich ihrer Anwendung der erfindungsgemässen am nächsten sind, ist eine Gruppe von Zubereitungen, die metabolische Vorgänge stimulieren: Derivate des Pyrimidins (Methyluracil, Pentoxyl) und biogene Zubereitungen (Actovegin, Solcoseryl) (1).

Die Nachteile des Methyluracils bestehen in allergischen Reaktionen der Haut (Ausbruch von urticaria) und in einigen Fällen Kopfschmerzen und Schwindel. Orale Anwendung von Pentoxyl kann auf Grund der irritierenden Wirkung der Arznei Dyspepsie hervorrufen. Die Schädlichkeit von Actovegin und Solcoseryl besteht in den geringen Mengen an aktiver Substanz in den Arzneien, der langwierigen Behandlung und der hinsichtlich des Stadiums der Wunde eingeschränkten Anwendung, sowie in einer niedrigen Wirksamkeit bei der Behandlung eiternder Wunden. Diese Arzneien bewirken im Wesentlichen einen stimulierenden Effekt auf die Leukopoese.

Das Dipeptid L-Lys-L-Glu ist als Baustein in der Peptidsynthese bekannt (2).

Es ist vorbekannt, dass das Dipeptid L-Lys-L-Glu immunomodulierende Aktivität zeigt (3). Diese Aktivität des Dipeptides charakterisiert jedoch nur die Richtung seiner immunobiologischen Wirkung, was nicht eine nahe liegende und damit zusammenhängende Offenbarung der Fähigkeit des Dipeptides, Wiederherstellungsvorgänge zu stimulieren, ist, sie offenbart auch keine Indikationen für seine klinische Anwendung. Die unten angegebenen Beispiele für die stimulierende Wirkung des Dipeptides L-Lys-L-Glu auf die Wiederherstellungsvorgänge bestätigen objektiv das Fehlen einer Korrelation zwischen der bekannten Eigenschaft und der beanspruchten.

Beschreibung der Erfindung

Gegenstand der Erfindung ist eine pharmazeutische Zusammensetzung, die eine peptidartige Substanz mit der Aminosäuresequenz L-Lys-L-Glu enthält und die zur Stimulierung von Wiederherstellungsvorgängen befähigt ist.

Gegenstand der Erfindung ist auch die Verwendung des Dipeptides mit der folgenden Aminosäuresequenz L-Lys-L-Glu zur Herstellung einer Peptidzusammensetzung, die die Eigenschaft der Stimulierung von Wiederherstellungsvorgängen zeigt.

Fig. 1a zeigt PCNA-positive Kerne proliferierender Zellen in der generativen Drüsenzzone des Zwölffingerdarms. Verfahren mit Avidin-Biotin-Peroxidase $\times 100$. Bestrahlte Tiere.

Fig. 1b zeigt PCNA-positive Kerne proliferierender Zellen in der generativen Drüsenzzone des Zwölffingerdarms. Verfahren mit Avidin-Biotin-Peroxidase $\times 100$. Bestrahlte Tiere + Dipeptid L-Lys-L-Glu.

Fig. 2a zeigt Serotonin-immunopositive Zellen in der Schleimhaut des Zwölffingerdarms. Verfahren mit Streptavidin-Biotin-Peroxidase $\times 100$. Bestrahlte Tiere.

Fig. 2b zeigt Serotonin-immunopositive Zellen in der Schleimhaut des Zwölffingerdarms. Verfahren mit Streptavidin-Biotin-Peroxidase $\times 100$. Bestrahlte Tiere + Dipeptid L-Lys-L-Glu.

Fig. 3a zeigt Metallothionein-immunopositive Zellen in der Schleimhaut des Zwölffingerdarms (histologische Lokalisierung von MTL-positiven Zellen). Verfahren mit Streptavidin-Biotin-Peroxidase $\times 100$. Bestrahlte Tiere.

Fig. 3b zeigt Metallothionein-immunopositive Zellen in der Schleimhaut des Zwölffingerdarms (histologische Lokalisierung von MTL-positiven Zellen). Verfahren mit Streptavidin-Biotin-Peroxidase $\times 400$. Bestrahlte Tiere + Dipeptid L-Lys-L-Glu.

Fig. 4a zeigt Mastzellen in der Schleimhaut des Zwölffingerdarms. Selektive Färbung mit Toluidinblau, pH 0,5 $\times 100$. Bestrahlte Tiere.

Fig. 4b zeigt Mastzellen in der Schleimhaut des Zwölffingerdarms. Selektive Färbung mit Toluidinblau, pH 0,5 $\times 100$. Bestrahlte Tiere + Dipeptid L-Lys-L-Glu.

Das Dipeptid wird nach bekannten Verfahren der Peptidsynthese in Lösung erhalten (4).

Die vorher unbekannte Eigenschaft des Dipeptides L-Lys-L-Glu, die Wiederherstellungsvorgänge zu stimulieren, wurde in dieser experimentellen Studie gefunden.

Erfindungsgemäss wird eine pharmazeutische Peptidzusammensetzung vorgeschlagen, die zur Stimulierung der Regeneration befähigt ist, und die einen pharmazeutisch verträglichen Träger und eine wirksame Menge des Dipeptides, das die Verbindung L-Lysil-L-Glutaminsäure (L-Lys-L-Glu) oder eine chemische Modifikation davon in Form eines Salzes ist, als aktive Basis enthält.

Erfindungsgemässe pharmazeutische Peptidzusammensetzungen, die die Wiederherstellungsvorgänge stimulieren, können Salze der Aminogruppe (das Acetat, das Hydrochlorid oder das Oxalat), oder das Salz der Carboxylatgruppe (Metallsalze wie das Natriumsalz, das Kaliumsalz, das Lithiumsalz, das Zinksalz, das Magnesiumsalz) oder Salze mit organischen oder anorganischen Kationen, beispielsweise Ammonium oder Triethylammonium, enthalten.

Der Begriff «pharmazeutische Peptidzusammensetzung», wie er in dieser Anmeldung verwendet wird, bedeutet die Verwendung jeder Arzneiform, enthaltend verschiedene pharmazeutische Derivate des Dipeptides, die einen therapeutischen Effekt in der Behandlung von Krankheiten zeigt, die die Stimulierung der Geweberegeneration erfordern.

Der Begriff «wirksame Menge», der in dieser Anmeldung verwendet wird, bedeutet die Verwendung einer Menge an aktiver Base dergestalt, dass sie, unter Berücksichtigung ihrer quantitativen Aktivitäts- und Toxizitätsindizes sowie des verfügbaren Wissens, in dieser Arzneiform wirksam sein muss. Um erfindungsgemässe pharmazeutische Zusammensetzungen zu erhalten, wird das vorgeschlagene Dipeptid oder seine pharmazeutisch annehmbaren Derivate als aktive Zutat sowie ein pharmazeutischer Träger in Übereinstimmung mit akzeptierten pharmakologischen Methoden des Zubereitens gemischt.

Der Träger kann verschiedene Formen aufweisen, die von der gewünschten Form der Verabreichung der Arzneiform abhängen, also z.B. parenteral, oral, intranasal oder lokal (z.B. als Anwendung von Salben).

Alle bekannten pharmazeutischen Zutaten können bei der Herstellung der Zusammensetzungen in bevorzugten Mengen für die orale oder lokale Anwendung verwendet werden.

Für die parenterale (intranasale) Verabreichung schliesst der Träger in der Regel steriles Wasser ein, aber es könnten auch andere Zutaten, die wichtig für die Stabilität oder den Erhalt der Sterilität wichtig sind, verwendet werden.

Das Dipeptid ist aktiv bei der Verabreichung in Dosen von 0,01–100 µg/kg Körpergewicht, obwohl je nach der Schwere und Art der Krankheit niedrigere (höhere) Dosen verwendet werden könnten.

Die beanspruchte pharmazeutische Peptidzubereitung wird zur parenteralen, intranasalen, oralen und lokalen Anwendung vorgeschlagen.

Beschrieben werden sowohl die Verfahren zur Stimulierung der Regenerierungsvorgänge bei Menschen und Tieren, die eine solche Stimulierung benötigen, wie auch die erfindungsgemässen pharmazeutischen Zusammensetzungen zur Implementierung dieser Verfahren.

Das Verfahren zur Stimulierung der Vorgänge der Regenerierung mittels Verabreichung der Arznei, die als aktive Base das Dipeptid L-Lysil-L-Glutaminsäure (L-Lys-L-Glu) oder seine chemischen Modifikationen in Form der Salze oder anderer Derivate enthält, zeigt sich in der Aktivierung des Zellmetabolismus und der regulierenden Wirkung auf die Vorgänge der Proliferation und Differenzierung der Zellen verschiedener Gewebe. Das Verfahren schliesst die mindestens einmal tägliche prophylaktische oder therapeutische Behandlung eines Patienten, der dies benötigt, mit der Arznei in Dosen von 0,01–100 µg/kg Körpergewicht während eines Zeitraums ein, der notwendig ist, um einen therapeutischen Effekt zu erzielen – 10 bis 40 Tage mit Berücksichtigung der Art und der Schwere der Krankheit.

Das Verfahren ist die Prophylaxe und die Behandlung der Krankheiten, die die Stimulation der Geweberegeneration erfordern: Pyoinflammatorische Vorgänge und postoperative Komplikationen, trophische Störungen, Krankheiten und Läsionen der Haut und der Schleimhäute, Nachwirkungen von Strahlung, thermische und chemische Faktoren, die mit Veränderungen von Wiederherstellungsvorgängen einhergehen.

Industrielle Anwendung

Die Erfindung wird durch die Beispiele der Synthese des Dipeptides mit der Formel L-Lysil-L-Glutaminsäure (L-Lys-L-Glu) (Beispiel 1), diejenigen des Tests auf die Toxizität und die biologische Aktivität des Dipeptides (Beispiele 2, 3, 4 und 5) und die Beispiele der Ergebnisse der klinischen Anwendung des Dipeptides, die seine pharmakologischen Eigenschaften zeigen und die Möglichkeit der Erzielung eines therapeutischen Effektes bestätigen (Beispiele 6, 7, 8).

Beispiel 1. Synthese des Dipeptides L-Lys-L-Glu

1. N α ,N ϵ -Dibenzoyloxycarbonyl-Lysil- γ -benzylglutaminsäure [I]

0,154 g (0,65 mmol) γ -Benzylglutaminsäure wurden in 3 ml Dimethylformamid suspendiert und 0,091 ml (0,65 mmol) Triethylamin wurden unter Mischen zugegeben, dann 0,300 g (0,59 mmol) N-Oxy-succinimidether des N α ,N ϵ -Dibenzoyloxycarbonyllysils. Die Reaktionsmischung wurde 12 Stunden bei

Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel unter Vakuum bei 40°C abgedampft und zum Rückstand wurden 10 ml 1N H₂SO₄ zugegeben. Das Produkt wurde zweimal mit Ethylacetat extrahiert (30 × 2). Die organische Phase wurde mit 1N H₂SO₄ und Wasser bis zur neutralen Reaktion gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Die Abdestillation des Lösungsmittels wurde unter Vakuum bei 40°C durchgeführt und der Rückstand in 1 bis 2 ml Ethylacetat gelöst. Das Produkt wurde mit Hexan ausgefällt und im System Ethylacetat/Hexan umkristallisiert. Das Produkt wurde filtriert und unter Vakuum über P₂O₅ getrocknet. Die Ausbeute betrug 0,0330 g (88%). Der R_f-Wert betrug 0,81 (Benzol:Aceton 1:1, Silufol).

2. L-Lysil-L-Glutaminsäure

Das geschützte Dipeptid [I] (0,330 g) wurde in 10 ml Methanol gelöst, 3 ml Wasser wurden zugegeben und es wurde über Palladium auf Kohle hydriert. Die Kontrolle wurde mittels Dünnschichtchromatografie durchgeführt. Nach Vervollständigung der Hydrierung wurde der Katalysator abfiltriert und der Rückstand in einer möglichst geringen Menge Wasser gelöst und mit Methanol gefällt. Das Produkt wurde filtriert, mit Ethanol gewaschen und unter Vakuum über P₂O₅ getrocknet. Die Ausbeute betrug 0,110 g (85%). Der Schmelzpunkt betrug 194–196°C [α] $\gamma^{20} = + 20,0^\circ$ (c = 3,0; H₂O). R_f = 0,54 (Aceton:Wasser, «Merk»). Elektrophorese: E_{gly} = 1,96; E_{his} = 0,98 (1400 Volt, 45 min, 2% Essigsäure, «Watmann 3MM»).

Zum Erhalt der entsprechenden Salze der Carboxylatgruppe wurde das freie Dipeptid mit der berechneten Menge wässriger Lösung des Hydroxides des entsprechenden Metalles (NaOH, KOH, Zn(OH)₂, LiOH, Ca(OH)₂, Mg(OH)₂, NH₄OH) versetzt. Um das Triethylammoniumsalz zu erhalten, wurde dasselbe Verfahren unter Verwendung von Triethylamin als Base durchgeführt.

Beispiel 2. Untersuchung der Toxizität des Dipeptides L-Lys-L-Glu

Die Untersuchung der allgemeinen toxischen Aktivität des Dipeptides wurde in Übereinstimmung mit «The rules of preclinical estimation of safety of pharmacological substances (GLP)» durchgeführt.

Der Zweck der Untersuchung bestand in der Identifikation der tolerierbaren toxischen Dosen der Arznei, der Abschätzung des Ausmasses und der Art der pathologischen Veränderungen in verschiedenen Organen und Systemen des Organismus und der Bestimmung der Korrelation zwischen toxischem Effekt sowie Dosis und Dauer der Anwendung der Arznei.

Die Abschätzung der akuten Toxizität des Dipeptides L-Lys-L-Glu wurde nach Kerber durchgeführt. Die Untersuchung wurde an 66 weissen ausgewachsenen männlichen Mäusen mit einem Körpergewicht von 20 bis 23 g, die unter einer üblichen Diät gehalten wurden und im Vivarium mit üblichem Futter gefüttert wurden, durchgeführt. Die Tiere wurden nach dem Zufallsprinzip in 6 Gruppen zu je 11 Mäusen unterteilt. Den Tieren wurde 0,25 ml der Arznei einmal intramuskulär verabreicht, in Dosen von 1 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg, 4 mg/kg, 5 mg/kg, was mehrere tausend Mal über der für klinische Versuche empfohlenen therapeutischen Dosis lag. Den Kontrolltieren wurde Natriumchloridlösung in derselben Menge verabreicht.

Innert 72 Stunden und später nach 14 Tagen starb keines der Tiere in irgendeiner der Gruppen. Es wurden keine Veränderungen im Allgemeinzustand, Verhalten, der motorischen Aktivität, der Umhüllung von Haar und Haut oder den physiologischen Ausscheidungen festgestellt.

Das Dipeptid L-Lys-L-Glu induziert also in Dosen, die die therapeutische Dosis um das mehrere Tausendfache übersteigen, keine toxischen Wirkungen, was die breite therapeutische Anwendbarkeit der Arznei unterstreicht.

Die Untersuchung der subakuten Toxizität des Dipeptides L-Lys-L-Glu wurde an 60 weissen ausgewachsenen Mäusen mit einem Körpergewicht von 150–250 mg durchgeführt. Den Tieren der Versuchsgruppen wurde während 90 Tagen täglich einmal intramuskulär die Arznei in Dosen von 1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 5 mg/kg in 0,5 ml Natriumchloridlösung verabreicht. Den Tieren der Kontrollgruppen wurde Natriumchloridlösung in derselben Menge verabreicht.

Während der ganzen Untersuchung wurden die Tiere täglich untersucht. Es wurde das Verhalten der Tiere sowie der Verbrauch an Futter und Wasser, der Zustand des Fells und der Schleimhäute überwacht. Die Tiere wurden wöchentlich gewogen. Die morphologische Zusammensetzung und die Eigenschaften des peripheren Blutes wurden vorgängig sowie am 30., 60. und 90. Tag der Verabreichung der Arznei untersucht. Die biochemischen Indices und die Indices der Gerinnung des Blutes wurden nach der Vervollständigung des Versuchs untersucht.

Die chronische Toxizität des Dipeptides L-Lys-L-Glu, das durch das beanspruchte Verfahren erhalten wurde, wurde während einer längeren Verabreichung an Ratten mit einem Körpergewicht von 150–250 mg untersucht. Den Tieren der Versuchsgruppen wurde einmal täglich während 6 Monaten die Substanz intramuskulär in Dosen von 1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 3 mg/kg in 0,5 ml Kochsalzlösung verabreicht. Es wurde das Verhalten der Tiere sowie der Verbrauch an Futter und Wasser, der Zustand des Fells und der Schleimhäute untersucht. Die Tiere wurden während der ersten 3 Monate des Versuchs täglich gewogen und dann einmal pro Monat. Es wurden 3 Monate nach Beginn der Verabreichung sowie nach der Beendigung der Verabreichung hämatologische und biochemische Untersuchungen durch-

geführt. Die Funktionen des kardiovaskulären Systems, der Leber, des Pankreas, der Nieren und der Nebennieren wurden bestimmt. Nach Beendigung der Verabreichung der Arznei wurden einige Tiere einer pathomorphologischen Untersuchung unterzogen mit dem Zweck, den Zustand der verschiedenen Bereiche des Hirns und des Rückenmarks, des Herzens, der Aorta, der Lungen, der Leber sowie der Organe des Endokrin- und Immunsystems zu untersuchen.

Die Einschätzung des Allgemeinzustandes der Tiere, die morphologischen und biochemischen Indices des peripheren Blutes, der morphologische Zustand der inneren Organe, des kardiovaskulären Systems sowie des Atmungssystems, der Funktionen der Leber und der Nieren zeigten keine pathologischen Veränderungen im Organismus.

Die Untersuchung der subakuten und chronischen Toxizität des Dipeptides L-Lys-L-Glu zeigen das Fehlen von Nebenwirkungen während der Langzeitverabreichung der Arznei in Dosen, die die therapeutische Dosis um das 100- bis 1000fache übersteigen.

Beispiel 3. Einfluss des Dipeptides L-Lys-L-Glu

auf die Heilung von eiternden eingeschnittenen und gequetschten Wunden des weichen Gewebes

Die Wirksamkeit des Dipeptides L-Lys-L-Glu wurde mittels des Modells der eiternden eingeschnittenen gequetschten Wunden des femuralen Weichgewebes bei «Shinshilla»-Kaninchen beider Geschlechter mit einem Körpergewicht von 2 bis 3 kg eingeschätzt. Hierzu wurden die Kaninchen im Bereich der femuralen Weichgewebe rasiert und es wurde ein anschließender Einschnitt von 5 cm Länge und 2 cm Tiefe vorgenommen. Die Weichgewebe (Muskeln, subkutanen Fett) wurden mit einer Zange nach Kocher gequetscht und mit der pathogenen Mischung infiziert: Staphylococcus aureus, Stamm 186. Danach wurde die Wunde genäht. Nach 72 Stunden wurde die Naht entfernt und die Wunde mit 3%iger Lösung von Wasserstoffperoxid behandelt.

Den Tieren der Versuchsgruppe wurde täglich während 5 Tagen intramuskulär das Dipeptid L-Lys-L-Glu in einer einzigen Dosis zu 1 µg pro Injektion injiziert. Den Kontroll-Kaninchen wurde nach dem gleichen Schema Kochsalzlösung injiziert. Während des Behandlungsverfahrens wurden die Wunden mit antiseptischen Mitteln zur externen Anwendung behandelt.

Die Abschätzung der Wirksamkeit des Dipeptides L-Lys-L-Glu in der Dynamik der Regression des entzündlichen Vorganges wurde mittels der Abstossung des Schorfs, des Freiwerdens der Wunde von der pyonekrotischen Masse, dem Erscheinen granularen Gewebes in der Wunde und des Beginns der Epithelisierung der Ränder vorgenommen. Im Hinblick auf das Identifizieren objektiver Kriterien für den Verlauf des Wundprozesses wurden Indices, die semiquantitative Charakteristiken der einzelnen zellulären Elemente und der Strukturen des granularen Gewebes wiedergeben, an den Tagen 6, 14, 21, 28 und 40 analysiert. Die Aktivität der Gewebsenzyme wurde ebenfalls abgeschätzt (5, 6, 7).

Als Ergebnis der Untersuchung wurde festgestellt, dass die Tiere aller Gruppen im ersten Stadium der Entzündung am 6. Tag Nekrosen in den Geweben zeigten, die von einem dünnen Rand des granularen Gewebes mit diffundierten frischen Fibroblasten und einzelnen Histiocyten umgeben waren. In der Phase der Proliferation wurden kleine Herde der Nekrose mit einer breiten Schicht des granularen Gewebes mit einer Vielzahl von Gefässen und Lymphzellen eingekreist. Die Menge der Histiocyten nahm zu und die Makrophagen bildeten in den nekrotischen Zonen Anhäufungen. Die Fibroblasten waren gestreckt und wiesen dünne Kerne auf. Besonders ausgeprägt waren die Vorgänge der Aktivierung der zellulären Elemente bei den Tieren der Versuchsgruppe (Tabelle 1). In der Phase der Vernarbung zeigten diese Tiere Nekroseherde, die von einer Lage des granularen Gewebes mit reifen Fibroblasten eingekreist waren. Zwischen den Fibroblasten wurde eine Lage kollagener Fasern festgestellt. Die interstitielle Substanz nahe der nekrotischen Zonen enthielt prokollagene Fasern, Fibroblasten und Histiocyten, was auf die Resorption des nekrotischen Gewebes und dessen Ersatz durch frisches granulares Gewebe hinwies.

Eine herausragende Eigenheit der Antwort des Gewebes auf die Anwendung des Dipeptides L-Lys-L-Glu bestand in der hohen Aktivität der sauren Phosphatase in den Histiocyten in der Phase der Proliferation (Tage 14–28). In einigen Orten der leukocytorischen Infiltration sowie im vaskulären Endothelium wurde eine hohe Aktivität der alkalischen Phosphatase festgestellt. In der Phase der Vernarbung stellte sich ein hoher Gehalt an saurer Phosphatase in den Histiocyten und an alkalischer Phosphatase in den Leukocyten und den Gefässen ein (Tabelle 2).

Die beobachteten Änderungen zeigten die Verstärkung des Zellmetabolismus in den Geweben, was die schnelle Befreiung der Wundoberfläche von nekrotischem Gewebe mit anschliessender Wundepithelisierung fördert (Tabelle 3).

Beispiel 4. Einfluss des Dipeptides L-Lys-L-Glu
auf die kompensatorische Regenerierung der Leber nach ihrer partiellen Hepatektomie

Tabelle 1

Einfluss des Dipeptides L-Lys-L-Glu auf die Dynamik der zellulären Elemente und Strukturen bei Kaninchen mit eiternden eingeschnittenen gequetschten Wunden des Weichgewebes

Gruppe Tiere	Dauer der Beobachtung (Tage)	Zelluläre Elemente und Strukturen (herkömmliche Punkte)				
		Fibroblasten	Histiocyten	Leukocyten	Makrophagen	Nekrose
Kontrolle	6	2	3	5	2	5
	14	3	3	5	2	4
	21	4	4	4	3	4
	28	4	4	2	3	2
Dipeptid L-Lys-L-Glu	40	4	4	2	5	2
	6	4*	4	5	3	3*
	14	5*	5*	5	3	2*
	21	5	5	4	2	2*
25	28	5	4	4*	2	1
	40	6*	6*	2	2*	1

*P < 0,05 im Vergleich zu den Indices der Tiere der Kontrollgruppe.

Notizen: 1 Punkt – Fehlt; 2 Punkte – einzeln (Spuren); 3 Punkte – wenige; 4 Punkte – diffus (moderat); 5 Punkte – viele; 6 Punkte – sehr viele.

Tabelle 2

Einfluss des Dipeptides L-Lys-L-Glu auf die Aktivität der Gewebsenzyme bei Kaninchen mit eiternden eingeschnittenen gequetschten Wunden des Weichgewebes

Tiergruppe	Beobachtungsdauer (Tage)	Saure Phosphatase in Histiocyten (herkömml. Punkte)	Alkalische Phosphatase in Leukocyten (herkömml. Punkte)	Alkalische Phosphatase in Gefäßen (herkömml. Punkte)
Kontrolle	6	3	3	2
	14	4	4	4
	21	4	4	3
	28	3	5	3
Dipeptid L-Lys-L-Glu	40	3	5	2
	6	5*	6*	6*
	14	6*	6*	5
	21	5	5	5*
50	28	5*	6	4
	40	5*	5	4*

*P < 0,05 im Vergleich zu den Indices der Tiere der Kontrollgruppe.

Notizen: 1 Punkt – Fehlt; 2 Punkte – einzeln (Spuren); 3 Punkte – wenige; 4 Punkte – diffus (moderat); 5 Punkte – viele; 6 Punkte – sehr viele.

Tabelle 3

Einfluss des Dipeptides L-Lys-L-Glu auf die Dauer des Wundfortschritts bei Kaninchen mit eiternden eingeschnittenen gequetschten Wunden des Weichgewebes

Gruppe Tiere	Dauer des Beginns der Abstossung von nekrotischem Gewebe von der Wundoberfläche (Tage)	Dauer der vollständigen Befreiung der Wundoberfläche von nekrotischem Gewebe (Tage)	Dauer der Wund-Epithelisation (Tage)
Kontrolle	12,9 ± 1,2	21,1 ± 3,2	31,8 ± 1,7
Dipeptid L-Lys-L-Glu	8,3 ± 1,1*	14,2 ± 1,3*	24,9 ± 1,9*

*P < 0,05 im Vergleich zu den Indices der Kontroll-Tiere

Die Untersuchung wurde an 26 weissen ausgewachsenen männlichen Ratten von 150–200 Gramm Gewicht durchgeführt.

Die Tiere wurden in die folgenden Gruppen aufgeteilt:

1. Gruppe – gesunde Tiere;
2. Gruppe – Kontrolle (Ratten, die einer teilweisen Hepatektomie unterzogen wurden, wobei 2/3 ihrer Leber ektomisiert wurde);
3. Gruppe – Ratten, die der Operation unterzogen worden waren und denen anschliessend (2 und 24 Stunden nach der Operation) zwei subkutane Injektionen des Dipeptides L-Lys-L-Glu (0,1 µg pro Ratte) verabreicht wurden.

Gleichzeitig wurden den Tieren der ersten und zweiten Gruppe Injektionen desselben Volumens Natriumhydrochlorid verabreicht. Die extrahierte Leber wurde in Formalin fixiert.

Die Ratten, die operiert worden waren, wurden mit Ether 32 und 96 Stunden nach der Operation getötet. Die Ratten aus der Kontrollgruppe wurden ebenfalls gleichzeitig getötet. Ihre Lebern wurden in Formalin fixiert. Nach dem Anfärben der Präparate mit Hämatoxylin-Eosin wurde der mitotische Index in den Leberzellen sowie die Menge der polyploiden Zellen im S-Phase des Zellzyklus (die Menge der sich teilenden Zellen) bestimmt.

Die Untersuchung der mitotischen Aktivität der sich regenerierenden Leberzellen 32 Stunden nach einer partiellen Hepatektomie zeigte, dass die Zahl der Mitosen und Zellen in der S-Phase des Zellzyklus zweimal grösser wird als in der Leber von gesunden Tieren. Diese Unterschiede sind im Falle der Injektion von Natriumhydrochlorid nicht verlässlich, während nach den Injektionen des Dipeptides L-Lys-L-Glu die zunehmende Zahl der Mitosen, der DNA-synthetisierenden Zellen und der gesamten Menge der sich teilenden Zellen verlässlich wird.

Die Untersuchung der Leberpräparate 96 Stunden nach der Hepatektomie zeigte dass sowohl die Ratten, die Natriumhydrochlorid erhielten, wie auch jene, die Injektionen des Dipeptides L-Lys-L-Glu erhielten, eine beträchtliche Verstärkung der mitotischen Aktivität der Hepatocyten zeigten. Der Vergleich der Daten der dritten und zweiten Gruppe zeigte, dass die Ratten, denen Dipeptid L-Lys-L-Glu injiziert wurde, eine gegenüber den Ratten, denen Natriumhydrochlorid injiziert wurde, zweimal so grosse Anzahl von Mitosen aufwiesen. Die Zahl der Zellen in der S-Phase ihres mitotischen Zyklus bei der dritten Gruppe von Ratten unterschied sich nicht verlässlich von der Zahl der Hepatocyten in der S-Phase der zweiten Gruppe, obwohl in der sich regenerierenden Leber derjenigen Ratten, denen Dipeptid L-Lys-L-Glu injiziert wurde, insgesamt die Zahl der sich teilenden Zellen 96 Stunden nach der Hepatektomie 75% höher war als bei den Ratten, denen Natriumhydrochlorid injiziert wurde (Tabelle 4).

Es wurde also so gezeigt, dass diejenigen Ratten, denen das Dipeptid L-Lys-L-Glu 96 Stunden nach der Hepatektomie injiziert wurde, eine Verstärkung der mitotischen Aktivität der Hepatocyten zeigten, was die Beschleunigung der Wiederherstellungsvorgänge in der Leber beweist.

Tabelle 4
Einfluss des Dipeptides L-Lys-L-Glu auf die Anzahl der sich teilenden Zellen in der sich regenerierenden Leber der Ratten 32 und 96 Stunden nach der teilweisen Hepatektomie (% der Gesamtzahl der Leberzellen)

	Gruppe der Tiere	Untersuchungsdauer		Mitotischer Index	% der Zellen in der Phase der DNA-Synthese	Gesamtzahl der sich teilenden Zellen
10	Gesunde Tiere + Natriumhydrochlorid	—		0,682 ± 0,013	1,752 ± 0,463	3,403 ± 0,498
15	Kontrolle (teilw. Hepatektomie + Natriumhydrochlorid)	32 Stunden	vorher	0,431 ± 0,019	1,043 ± 0,127	1,474 ± 0,143
			danach	1,364 ± 0,595	2,063 ± 0,474	3,427 ± 1,066
		96 Stunden	vorher	0,417 ± 0,053	0,924 ± 0,091	1,342 ± 0,060
			danach	2,012 ± 0,146*	3,417 ± 0,295*	5,429 ± 0,388*
20	Teilw. Hepatektomie + Dipeptid L-Lys-L-Glu	32 Stunden	vorher	0,450 ± 0,067	0,870 ± 0,100	1,320 ± 0,159
			danach	2,314 ± 0,461**	3,882 ± 0,839**	6,196 ± 1,279**
		96 Stunden	vorher	0,294 ± 0,084	0,982 ± 0,141	1,276 ± 0,128
			danach	4,846 ± 0,334*&	4,664 ± 1,315**	9,510 ± 1,609*#
25	* — P < 0,001 im Vergleich zu den präoperativen Indices					
	** — P < 0,05 im Vergleich zu den präoperativen Indices					
	& — P < 0,001 im Vergleich zu den Indices der Tiere der Kontrollgruppe					
	# — P < 0,05 im Vergleich zu den Indices der Tiere der Kontrollgruppe					

Beispiel 5. Einfluss des Dipeptides L-Lys-L-Glu auf die Regeneration der Schleimhaut des Darmes nach Verletzung durch Bestrahlung

Die Arbeit wurde an 24 weissen, zwei Monate alten männlichen Ratten der Wistar-Linie, die 90–100 g wogen, durchgeführt. Es wurden die folgenden drei Gruppen von Tieren untersucht:

1. Gruppe – gesunde Tiere;
2. Gruppe – Kontrolle (bestrahlte Tiere);
3. Gruppe – bestrahlte Tiere, denen Dipeptid L-Lys-L-Glu injiziert wurde.

Es wurde eine generelle einzelne γ -Bestrahlung von 6 Gy mittels des Kobaltgerätes GUB 20 000 mit einer Dosisleistung von 200 rad/min durchgeführt, wodurch das «Syndrom des intestinalen Todes» induziert wurde.

Das Dipeptid L-Lys-L-Glu wurde 24 Stunden nach der Bestrahlung – 0,5 μ g in 0,5 ml Natriumhydrochlorid – intraperitoneal während 5 Tagen injiziert. Die Tiere aus der ersten und zweiten Gruppe erhielten Natriumhydrochlorid nach demselben Schema.

Die Untersuchung der Wirkung des Dipeptides L-Lys-L-Glu wurde an dem proximalen Teil des Zwölffingerdarms der bestrahlten Tiere durchgeführt.

Die Tiere wurden am 8. Tag nach der Bestrahlung (Beginn der Periode der Wiederherstellungsregeneration) unter Nembutal-Narkose getötet. Teile des Zwölffingerdarms wurden während 24 Stunden nach Karnovsky für die Elektronenmikroskopie fixiert.

Die ultrastrukturelle Untersuchung wurde unter dem JEM-100S-Mikroskop (JEOL, Japan) an den ultradünnen Mikroskopieschnitten durchgeführt, die mit dem LKB-7A Ultra-Mikrotom (LKB, Schweden) hergestellt und mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert worden waren.

Die Mastzellen wurden selektiv mit 1%iger Lösung von Toluidinblau (Fluka) in 0,5 M HCl von pH 0,5 gefärbt (8, 9).

Um die proliferative Aktivität der Zellen zu untersuchen, wurden monoklonale Antikörper der Maus gegen das nukleare Antigen proliferativer Zellen – PCNA –, 1:50 verdünnt (Klon PC 10, Calbiochem, USA), und zum Nachweis der Immunoglobuline der Maus wurde das Avidin-Biotin-Peroxidase-Set (Vectastain, USA) verwendet.

Die serotoninpositiven Zellen wurden mithilfe polyklonaler Antikörper des Kaninchens gegen Serotonin (gebrauchsfertig) und dem Streptavidin-Biotin-Peroxidase-Set (BioGenex, USA) nachgewiesen. Um MTL-positive Zellen festzustellen, wurden Antikörper des Kaninchens gegen Metallothioneine (1:2000) eingesetzt.

Die immunohistochemische Identifizierung der Antigene in den histologischen Schnitten wurde nach den hauptsächlichen Anforderungen des Immuno-Peroxidase-Verfahrens durchgeführt (10, 11).

Die quantitative Analyse wurde mithilfe des Systems der Computeranalyse von mikroskopischen Bil-

5 dem – IMSTAR (Imstar, Frankreich) durchgeführt und es wurden in Übereinstimmung mit den allgemeinen Prinzipien der Stereologie in der Morphometrie (12, 13) die Programme Morphostar-2 und Colquant-2, für die eine Lizenz beantragt ist, angewendet. Für jedes Tier wurde die Berechnung der zugehörigen Strukturen an drei Schnitten des untersuchten Organs mit zehn visuellen Augenscheinen gemacht. Der mitotische Index (I_{mit}) und der Index der proliferativen Fähigkeit (I_{pcna}) der Zwölffingerdarmzellen wurden in 10–15 Standardschnitten der Drüsen mit einem Gesamtgehalt von nicht weniger als 1000 Enterocytenkernen bestimmt. Die Testfläche zum Auffinden von serotoninpositiven Zellen und Mastzellen betrug nicht weniger als 3 mm². MTL-positive Zellen wurden in 100 Zwölffingerdarmdrüsen gezählt.

10 Gegen den Untergrund an ionisierender Strahlung wurde am achten Tag eine teilweise – in manchen Fällen eine nahezu völlige – Wiederherstellung der Ultrastruktur der Enterocyten beobachtet, es kamen jedoch immer noch hyperplastische («geschwollene») Mitochondrien, Ödeme des endoplasmatischen Reticulums, fokale Vakuolisierungen des Cytoplasmas und zu dem Zeitpunkt praktisch unverändert aussehende endokrine Zellen vor.

15 Die quantitativen Änderungen im Zwölffingerdarm der Überlebenden am achten Tag nach der allgemeinen instantanen γ -Bestrahlung von 6 Gy wiesen die folgenden spezifischen Eigenschaften auf: Der I_{pcna} in den intestinalen Drüsen steigt auf bis zu 46,5%, während der mitotische Index auf bis zu 4,2% steigt (Tabelle 5).

20 Tabelle 5

Einfluss des Dipeptides L-Lys-L-Glu auf die quantitativen Charakteristiken der Hauptparameter der Regeneration im Zwölffingerdarm von Ratten, fussend auf den Daten der Computeranalyse von morphologischen Bildern

25 Tiergruppe	I_{mit} , %	I_{PCNA} , %	p_{ser} , %	NMC/1 mm ²	NMT/100 Drüsen
Gesunde Tiere	2,9 ± 0,1	44,8 ± 0,2	0,64 ± 0,02	169 ± 23	132 ± 8
Kontrolle (bestrahlte Tiere + physiologische Lösung)	4,2 ± 0,4*	46,5 ± 0,7*	0,43 ± 0,08*	18 ± 2*	75 ± 8*
30 Bestrahlte Tiere + Dipeptid L-Lys-L-Glu	4,7 ± 0,1*	49,8 ± 0,7**	0,71 ± 0,09	24 ± 3*	102 ± 9*

* – P < 0,05 im Vergleich zu den Indices der gesunden Tiere;

** – P < 0,05 im Vergleich zu den Indices der Kontrollgruppe;

35 Notizen:

I_{mit} ist der mitotische Index der gesunden Tiere;

I_{pcna} ist der Index der proliferativen Fähigkeit der Zellen – PCNA (%) = $N_{pcna} / N_{total} \pm 100$;

p_{ser} ist die Volumendichte der serotonin-immunopositiven Zellen (ein Integralindex des Gehaltes an serotonin-immunopositiven Zellen im Gewebevolumen (%);

40 NMC / 1 mm² ist die Menge der Mastzellen / 1 mm²;

NMT / 100 Drüsen ist die Menge der L-positiven Zellen in 100 Darmdrüsen

45 Diese Daten beweisen die Tatsache, dass die Wiederherstellung des Epitheliums der Schleimhaut sehr schnell vonstatten geht, während der Anteil an Stammzellen des intestinalen Epitheliums sich in dieser Periode im Stadium der Hyperregeneration befindet (Fig. 1a).

Die histologische Untersuchung an mit Hämatoxylin und Eosin gefärbten Präparaten beweist auch den Start der Normalisierungsvorgänge der epithelialen Architektur. Die Ergebnisse der Computeranalyse zeigen jedoch, dass die numerische Dichte enterochromaffiner Zellen (Fig. 2a) und MTL-positiver Zellen (Fig. 3a) noch nicht die Indexwerte von gesunden Tieren erreicht.

50 Der den bestrahlten Tieren eigene Gehalt an Mastzellen in der Schleimhautschicht ist zehnmal tiefer (Fig. 4a), was die äusserste Strahlungsempfindlichkeit der schleimhauttypischen Mastzellen gegen ionisierende Strahlung sowie die sehr langsame Wiederherstellung ihrer Anzahl selbst bei Beeinflussung mit sublethalen Dosen beweist.

55 Es ist bemerkenswert, dass die Injektion des Dipeptides L-Lys-L-Glu die Strukturen des cytoplasmatischen Reticulums und diejenige des Plattenkomplexes in den endokrinen Zellen des Zwölffingerdarms aktiver macht, was seine stimulierende Wirkung auf die Synthesevorgänge und die Hormonsekretion beweist.

60 Gemäss den Ergebnissen der morphometrischen Analyse findet in den Drüsen des Darms der bestrahlten Tiere nach der Injektion des Dipeptides L-Lys-L-Glu eine beträchtliche Beschleunigung der Wiederherstellungsvorgänge statt (Fig. 1b). Der Index PCNA erreicht 49,8%, während der mitotische Index auf bis zu 4,7% steigt (Tabelle 5). Die quantitative Dichte enterochromaffiner Zellen erreicht praktisch die Werte gesunder Tiere. Es ist eine Tendenz zur Verstärkung der Anzahl und Intensität der Immunfärbung der MTL-positiven Zellen in der Basis der Drüsen vorhanden (Fig. 3b).

65 Die Anwendung des Dipeptides L-Lys-L-Glu verstärkt das proliferative Potenzial von Stammzellen des

Darms und verstärkt die morphofunktionale Regenerierung der intestinalen Schleimhaut nach der allgemeinen instantanen γ -Bestrahlung mit einer Dosis von 6 Gy.

So bewies die experimentelle Studie, dass das Dipeptid L-Lys-L-Glu nichttoxisch ist, dass es die metabolischen Vorgänge und proliferative Zellaktivität jedes Gewebes aktiviert und so dessen Regeneration verstärkt.

Die Eigenheiten des Dipeptides L-Lys-L-Glu, die sich während der experimentellen präklinischen Studie zeigten, erlauben es, es für prophylaktische und/oder behandelnde Verwendung als Stimulator der Geweberegeneration für pyoinflammatorische Krankheiten, postoperative Komplikationen, trophische Störungen, Verletzungen und Krankheiten der Haut und der Schleimhäute, Nachwirkungen von Bestrahlung und thermalen und chemischen Nachwirkungen zu verschreiben, die mit Störungen von Wiederherstellungsvorgängen einhergehen.

Die Beispiele für die klinischen Studien des beanspruchten Dipeptides, die unten aufgeführt sind, zeigen seine pharmakologischen Charakteristiken und bestätigen seine Patentierbarkeit.

Beispiel 6. Wirksamkeit der Verwendung des Dipeptides L-Lys-L-Glu als Behandlung von Entzündungen der Speicheldrüsen und von Sialolithiasis

Es wurden 45 Patienten beobachtet. Von diesen wiesen 27 Personen Entzündungen der Speicheldrüsen auf, von denen hatten 4 Parotitis. 18 Personen litten an Sialolithiasis der submandibularen Drüse. Das mittlere Alter der Patienten war 35–40. Allen Patienten mit Sialolithiasis wurden die Steine entfernt. 30 Patienten (15 von diesen wiesen eine Entzündung der Speicheldrüse auf und die anderen 15 hatten Sialolithiasis) erhielten tägliche intramuskuläre Injektionen von 1 μ g des Dipeptides L-Lys-L-Glu während 5 Tagen.

Die Patienten der Kontrollgruppe erhielten eine übliche Behandlung: antibakterielles Agens, Desensibilisierungstherapie, Verbände mit Jod-Dimexid, physikalische Therapie (Ultraschall, Elektrotherapie mit 5–10% Kaliumjodid auf der Fläche der Drüse), lokale Behandlung (Waschen der Drüsen mit Lösung von Antiseptika und Antibiotika).

Bei den Patienten, die Sialolithiasis hatten und mit Dipeptid L-Lys-L-Glu behandelt wurden, hörte die Absonderung von Eiter aus den Drüsengängen auf, die Wunde in der Mundhöhle wurde in der postoperativen Periode auf Anhieb und ohne Nachwirkungen geheilt. Die Schwellung und Infiltrierung des Weichgewebes und der Schleimhaut wurde am dritten bis vierten Tag nach der Operation behoben. Die Drüse nahm beträchtlich an Grösse ab und der Schmerz hörte auf.

Bei den Patienten, die Entzündung der Speicheldrüse hatten und mit Dipeptid L-Lys-L-Glu behandelt wurden, hörte am vierten Tag nach der Behandlung der Schmerz in der Drüse und die Absonderung von Eiter aus den Drüsengängen auf, ihre Speichelbildung nahm zu, die Schwellung und Infiltrierung des Weichgewebes wurde behoben; beim Abklopfen nahm die Drüse beträchtlich an Grösse ab und wurde schmerzlos. Der Allgemeinzustand der Patienten verbesserte sich. Ihre Laboratoriumstests normalisierten sich ebenfalls.

Die Verwendung des Dipeptides L-Lys-L-Glu half also, die Zahl der Entzündungen zu senken und die Regeneration von Wunden zu erleichtern und verkürzte die Behandlungsdauer.

Beispiel 7. Wirksamkeit der Verwendung des Dipeptides L-Lys-L-Glu als Behandlung für pyoinflammatorische Krankheiten an verschiedenen Orten

Das Dipeptid L-Lys-L-Glu wurde in der kombinierten Behandlung von 15 Patienten, die langsam granulierende Fleischwunden an den unteren und oberen Extremitäten aufwiesen, und von 19 Patienten, die Phlegmone der maxillofacialen Zone aufwiesen, verwendet. 1 μ g der Zubereitung wurde täglich während zehn Tagen intramuskulär injiziert. Die Wirksamkeit der Behandlung wurde in der Dynamik gemäss den Änderungen in der Aktivität der Wundenzyme und der Heilungszeit bestimmt.

Es wurde gefunden, dass das Dipeptid L-Lys-L-Glu am wirksamsten bei Patienten mit niedriger Aktivität der proteoklastischen Enzyme der Wunde im ersten und zweiten Stadium des Wundfortschrittes und mit Cytochromen des nekrotischen Typs und langsamer Heilung war. Das Dipeptid L-Lys-L-Glu erhöhte die Aktivität der Wundfermente in der ersten Phase des Wundfortschrittes, wodurch adaptive Restrukturierung in der Wunde erzeugt wurde, und wodurch die Synthese der sauren Phosphatase in den Histiozyten und der alkalischen Phosphatase in den Leukocyten und des Cytochroms C in den Makrophagen angeregt wurde, was die Wiederherstellungsvorgänge verstärkte. Die Injektion des Dipeptides half bei der Befreiung der Wunden von nekrotischen Geweben und bei der Heilung der Wunden auf Grund der Aktivierung der Makrophagen, Fibroblasten und Leukocyten im Entzündungsherd.

Die Behandlung mit dem Dipeptid L-Lys-L-Glu ergab eine schnellere Behebung eines lokalen entzündlichen Vorgangs, eine Verbesserung des Allgemeinzustandes der Patienten und eine Verringerung der Behandlungsdauer.

Beispiel 8. Wirksamkeit der Verwendung des Dipeptides L-Lys-L-Glu als Behandlung für Krebspatienten mit postoperativen Komplikationen

Das Dipeptid L-Lys-L-Glu wurde in der komplexen Behandlung von 9 Patienten verwendet, die langsam granulierende Wunden nach der chirurgischen Behandlung von Lungenkrebs des 2. und 3. Stadiums und des Magenkrebses des 2. und 3. Stadiums aufwiesen.

In der präoperativen Periode erhielten die Patienten eine radikale Strahlentherapie, wobei auf dem Elektronen-Linearbeschleuniger starke Felder von komplexer Konfiguration (seine Stärke beträgt 4,3 MeV) und das Gerät für die Gamma-Therapie «Rokus-M» im Bremsmodus eingesetzt wurden. In besonderen Fällen war eine der Komponenten der kombinierten Behandlung eine Chemotherapie.

Ab dem dritten Tag nach der Operation wurde täglich 1 µg des Dipeptides L-Lys-L-Glu intramuskulär während 10 Tagen injiziert.

Es wurde gefunden, dass die Verwendung der Zubereitung bei der Verringerung des Ödems und des Schmerzes im Wundgebiet und der Beschleunigung sowohl der Befreiung der Wunden von nekrotischem Gewebe als auch der Bildung der postoperativen Narbe half. Während der Dauer der Injektionen wurden die folgenden Faktoren beobachtet: Normalisierung der Temperatur, Verbesserung des Appetites und eine schnellere Gewichtszunahme.

Die Verwendung des Dipeptides L-Lys-L-Glu als Teil einer kombinierten Behandlung von Krebspatienten regt die Wiederherstellungsvorgänge in den Geweben an, fördert die Verbesserung des Allgemeinzustandes der Patienten und verringert deren Behandlungszeit.

Die klinische Anwendung der L-Lysil-L-Glutaminsäure (L-Lys-L-Glu) bestätigte die aus der experimentellen Studie erhaltenen Daten, dass die Zubereitung ein wirksames Medikament gegen die Störung von Wiederherstellungsvorgängen ist.

25 REFERENZEN

1. M. Mashkovsky. «Medicinal Substances. In Two Parts». Moskau: Medicine. 1993. – Teil 2. – Seiten 161–191.
2. SERVA-Katalog. Heidelberg, 1987/88 – PE 1 – PE 40.
- 30 3. Patent der Russischen Föderation Nr. 2080120 «Medicinal Substance Possessing Immunomodulating Activity». BI N 15.27.05.97.
4. H.-D. Yakubke, X. Eshkait. «Aminoacids, Peptides, Proteins. Transl. from German». Moskau, Mir, 1985. – 456 Seiten.
5. V. Balin, D. Madai, D. Tsvigailo. «Local Treatment of Purulent Surgical Skin and Subcutaneous Fat Diseases in the Conditions of Regulated Activity of Wound Enzymes». St. Petersburg, 1996. – 37 Seiten.
- 35 6. V. Kolodkin, O. Kuznetsov. «Quantitative cytochemical Revealing of Enzymes in the Cell Culture After the Rowse Virus Infecting». Vopr. Oncol. («Problems in Oncology») 1975, Bd. 21, Nr. 9, Seiten 65–71.
- 40 7. M. Berston, «Histochemistry of Enzymes». – Moscow, Mir, 1965. – 464 Seiten.
8. Enerback L., Miller H. R. P., Mayrhofer G. «Methods for the Identification and Characterization of Mast Cells by Light Microscopy // Mast Cell Differentiation and Heterogeneity» Hg. A. D. Belfus et al., Raven Press, New York, 1986. – Seiten 405–416.
9. Stead R. H., Dixon M. F., Bramwell N. H., «Mast Cells are Closely Apposed to Nerves in the Human Gastrointestinal Mucosa» / Gastroenterology. – 1987, Bd. 87. Seiten 575–585.
- 45 10. Polack G., van Norden S. «Introduction Into Immunocytochemistry: Modern Methods and Problems. Transl. from English». Moskau, Mir, 1987. – 74 Seiten.
11. Kvetnoy I., Yuzhakov V. «Staining Endocrine Tissue and Elements of APUD-System // Microscopic Technique: Manual» Hg. D. Sarkisov, Y. Perov. – Moskau, Medicine, 1966. – Seiten 375–418.
- 50 12. G. Avtandilov. «Medical Morphometry. Manual» Moskau, 1990. – 384 Seiten.
13. Weibel E. R., Kistler G. S., Scherle W. F. «Practical Stereological Methods for Morphometric Cytology». J. Cell Biol. 1966., Bd. 30. Seiten 23–38.

Patentansprüche

- 55 1. Verwendung des Dipeptides L-Lysil-L-Glutaminsäure (L-Lys-L-Glu) oder seiner Salze zur Herstellung einer Peptidzusammensetzung zur Stimulierung der Vorgänge der Geweberegeneration.
2. Verwendung des Dipeptides L-Lysil-L-Glutaminsäure (L-Lys-L-Glu) oder seiner Salze zur Herstellung einer Peptidzusammensetzung zur Prophylaxe und/oder Behandlung einer Krankheit, die die Stimulierung der Vorgänge der Geweberegeneration erfordert, und die aus den pyoinflammatorischen Krankheiten, der postoperativen Komplikationen, der trophischen Störungen, der Krankheiten und Verletzungen der Haut und der Schleimhäute, der Nachwirkungen von Strahlung oder der chemischen und thermischen Faktoren ausgewählt ist.
- 60 3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Zusammensetzung als
- 65 Medikament zur Injektion oder zur intranasalen, oralen oder lokalen Verabreichung vorliegt.

4. Pharmazeutische Peptidzusammensetzung zur Injektion, umfassend das Dipeptid L-Lys-L-Glu wie in Anspruch 1 definiert oder eines seiner Salze in einer Menge, die zur Prophylaxe und/oder Behandlung einer Krankheit, die die Stimulierung der Vorgänge der Geweberegeneration erfordert, wirksam ist, und die bis zu 1 µg/ml beträgt, und einen pharmazeutisch verträglichen Träger.

5. Zusammensetzung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass sie das Dipeptid in Form eines Salzes der Aminogruppe, beispielsweise in Form deren Acetates, deren Hydrochlorides oder deren Oxalates, umfasst.

6. Zusammensetzung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass sie das Dipeptid in Form eines Salzes der Carboxylatgruppe, beispielsweise in Form deren Natriumsalzes, deren Kaliumsalzes, deren Lithiumsalzes, deren Zinksalzes, deren Magnesiumsalzes, oder deren Salzes mit organischen oder anorganischen Kationen, beispielsweise Ammonium oder Triethylammonium, umfasst.

7. Pharmazeutische Peptidzusammensetzung zur intranasalen Verabreichung, umfassend das Dipeptid L-Lys-L-Glu wie in Anspruch 1 definiert oder eines seiner Salze in einer Menge, die zur Prophylaxe und/oder Behandlung einer Krankheit, die die Stimulierung der Vorgänge der Geweberegeneration erfordert, wirksam ist, und einen pharmazeutisch verträglichen Träger.

8. Pharmazeutische Peptidzusammensetzung zur oralen Verabreichung, umfassend das Dipeptid L-Lys-L-Glu wie in Anspruch 1 definiert oder eines seiner Salze in einer Menge, die zur Prophylaxe und/oder Behandlung einer Krankheit, die die Stimulierung der Vorgänge der Geweberegeneration erfordert, wirksam ist, und einen pharmazeutisch verträglichen Träger.

9. Pharmazeutische Peptidzusammensetzung zur lokalen Verabreichung, umfassend das Dipeptid L-Lys-L-Glu wie in Anspruch 1 definiert oder eines seiner Salze in einer Menge, die zur Prophylaxe und/oder Behandlung einer Krankheit, die die Stimulierung der Vorgänge der Geweberegeneration erfordert, wirksam ist, und einen pharmazeutisch verträglichen Träger.

Fig. 1a



Fig. 1b

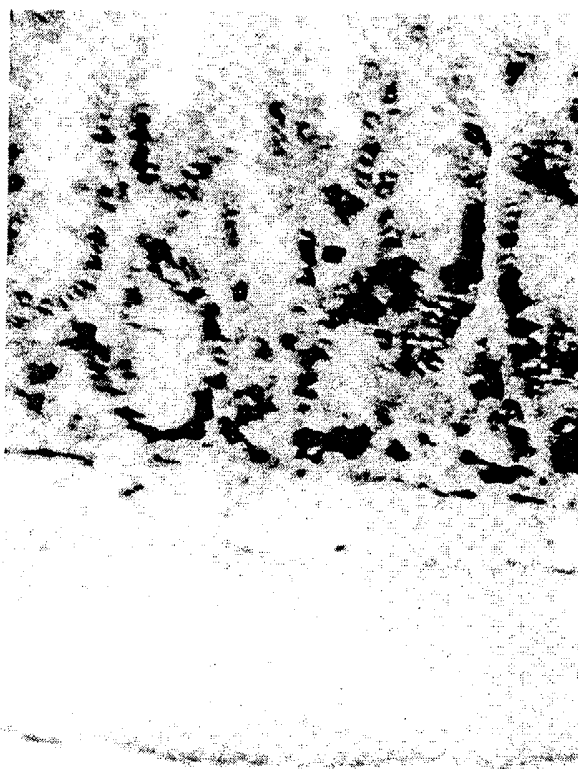


Fig. 2a



Fig. 2b



Fig. 3a

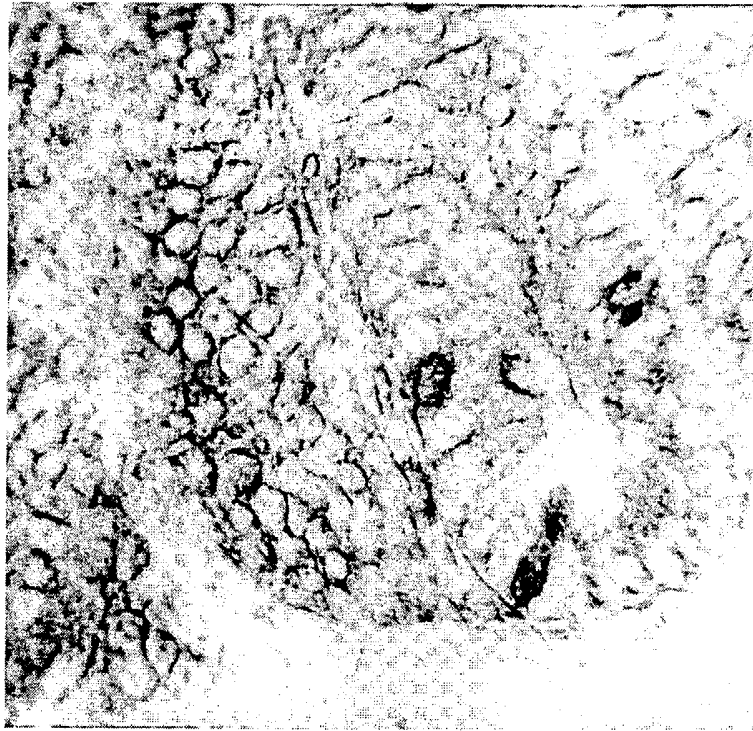


Fig. 3b



Fig. 4a

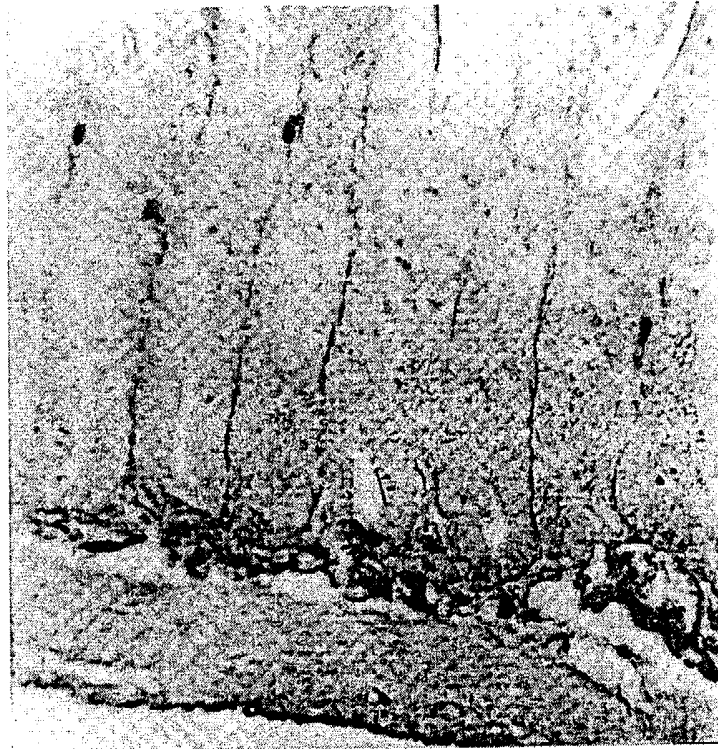


Fig. 4b

