

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl<sup>6</sup>

A23L 1/305

A61K 31/195 A23K 1/16

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 97198602.9

[43]公开日 1999 年 12 月 8 日

[11]公开号 CN 1237881A

[22]申请日 97.8.12 [21]申请号 97198602.9  
[30]优先权  
[32]96.8.12 [33]GB [31]9616910.7  
[32]96.10.21 [33]GB [31]9621914.2  
[86]国际申请 PCT/IB97/01117 97.8.12  
[87]国际公布 WO98/06278 英 98.2.19  
[85]进入国家阶段日期 99.4.7  
[71]申请人 罗杰·哈里斯  
地址 英国萨福克郡  
共同申请人 马克·邓尼特  
[72]发明人 马克·邓尼特

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司  
代理人 杨九昌

权利要求书 3 页 说明书 19 页 附图页数 13 页

[54]发明名称 增加组织内厌氧工作能力的方法和组合物  
[57]摘要

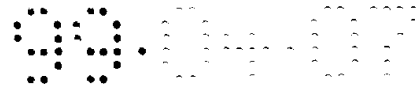
描述了一种方法,用于在人类和动物的机体组织中增加  $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽的合成和积累,而同时增加肌酸的积累。通过摄食或注入包含  $\beta$ -丙氨酸; $\beta$ -丙氨酸和肌酸;或  $\beta$ -丙氨酸、L-组氨酸和肌酸;或它们的活性衍生物的组合物,增加血浆  $\beta$ -丙氨酸和肌酸的浓度,或增加血浆  $\beta$ -丙氨酸、L-组氨酸和肌酸的浓度,来完成该方法。

ISSN 1008-4274



## 权 利 要 求 书

1. 在组织中调节水合氢离子浓度的方法，所述方法包括：  
向血液或血浆提供适量的 $\beta$ -丙氨酸，以有效增加组织中 $\beta$ -丙氨  
5 酰组氨酸二肽的合成；和  
于所述血液或血浆中暴露所述组织，借此增加所述组织中 $\beta$ -丙  
氨酰组氨酸的浓度。
2. 权利要求1的方法，还包括向所述血液或血浆提供适量的L-  
组氨酸，以有效增加组织中 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽的合成。
- 10 3. 权利要求1的方法，还包括增加所述组织中肌酸浓度。
4. 权利要求3的方法，还包括向所述血液或血浆提供适量的L-  
组氨酸，以有效增加组织中 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽的合成。
5. 权利要求3的方法，其中增加所述组织中肌酸的量包括向所  
述血液或血浆提供适量的肌酸，以有效增加所述组织中肌酸浓度。
- 15 6. 权利要求5的方法，还包括向所述血液或血浆提供适量的L-  
组氨酸，以有效增加组织中 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽的合成。
7. 权利要求1的方法，其中所述提供步骤包括摄食包含一定量  
 $\beta$ -丙氨酸的组合物。
8. 权利要求1的方法，其中所述提供步骤包括注入包含一定量  
20  $\beta$ -丙氨酸的组合物。
9. 权利要求1的方法，还包括增加所述血液或血浆中胰岛素的  
浓度。
10. 权利要求9的方法，还包括向所述血液或血浆提供适量的L-  
组氨酸，以有效增加组织中 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽的合成。
- 25 11. 权利要求1的方法，其中所述组织是骨骼肌。
12. 权利要求1的方法，其中所述组织是人组织。
13. 权利要求1的方法，其中所述组织是动物组织。
14. 增加组织厌氧工作能力的方法，所述方法包括：



向血液或血浆提供适量的 $\beta$ -丙氨酸，以有效增加组织中 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽的合成；

向所述血液或血浆提供适量的L-组氨酸，以有效增加 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽的合成；和

5 于所述血液或血浆中暴露所述组织，借此增加所述组织中 $\beta$ -丙氨酰组氨酸的浓度。

15. 权利要求14的方法，还包括增加所述组织中肌酸的浓度。

16. 权利要求14的方法，其中所述提供步骤包括摄食包含一定量 $\beta$ -丙氨酸和一定量L-组氨酸的组合物。

10 17. 权利要求14的方法，其中所述提供步骤包括注入包含一定量 $\beta$ -丙氨酸和一定量L-组氨酸的组合物。

18. 权利要求14的方法，还包括增加所述血液或血浆中胰岛素的浓度。

19. 权利要求14的方法，其中所述组织是骨骼肌。

15 20. 权利要求14的方法，其中所述组织是人组织。

21. 权利要求14的方法，其中所述组织是动物组织。

22. 一种组合物，主要包括：

包括 $\beta$ -丙氨酸的肽源；

大约39%-99%(重量)的糖类；和

20 最高大约60%(重量)的水，

其中所述组合物包括大约1%-20%(重量)的所述 $\beta$ -丙氨酸。

23. 权利要求22的组合物，其中所述肽源包括L-组氨酸，而所述组合物包括大约1%-20%(重量)的L-组氨酸。

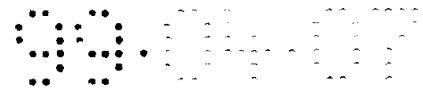
24. 一种组合物主要包括：

25 包括 $\beta$ -丙氨酸的肽源；

大约1%-大约98%(重量)的肌酸源；和

最高大约97%(重量)的水，

其中所述组合物包括大约1%-大约98%(重量)的所述 $\beta$ -丙氨酸。



25. 权利要求24的组合物,其中所述肽源包括L-组氨酸和所述组合物包括大约1%-大约98%(重量)的L-组氨酸。



## 说明书

### 增加组织内厌氧工作能力的方法和组合物

#### 发明背景

5

本发明涉及增加肌肉和其它组织厌氧工作能力的方法和组合物。

10

通常设计天然食物补充剂以补偿现代人类和动物饮食中营养水平的降低。特别是在消耗时，有效的补充剂增加了组织的功能。特殊类型动物的饮食补充可能尤其重要，所述动物的正常饮食可能缺乏只可从肉类和动物制品获得的营养（例如，素食者和其它动物吃草类食物）。

15

例如，在运动和竞技领域(sporting and athletic community)，明确提高运动能力的天然食物补充越来越重要，诸如为休闲或工作目以提高或增加体能(physical prowess)的补充剂。在另一实施例中，厌养（例如产乳酸的）压力能够引起衰老可能经历的疲劳和不舒服发作。当通过增加肌内压力使局部循环部分或全部闭合时，延长次最大等长收缩锻炼也可以产生厌氧压力（例如在攀岩、自由潜水或花样游泳期间）。产生过量乳酸可以导致细胞内环境酸化。

20

在骨骼肌和其它以高且可变的能量需求能力为特征的“可兴奋”组织中，发现大量肌酸（即N-（氨基三甲基）-N-甘氨酸、N-脒基肌氨酸、N-甲基-N-脒基甘氨酸或甲基胍基乙醇）。肌酸在细胞内的能量产生生物化学途径中转化为磷酸肌酸。在哺乳动物骨骼肌中，每公斤新鲜肌肉中肌酸的典型复合含量（即肌酸和磷酸肌酸）可以在小于25 mmol至大约50 mmol之间变化（即每公斤新鲜肌肉3.2至6.5克肌酸）。

25

在肝中形成生成的肌酸，并利用一主动运输系统摄入诸如肌肉的组织。通过摄食存在于肉类中的肌酸也可以增加机体内的肌酸合成（例如食肉者平均每天每公斤体重摄食的肌酸为5~10毫克，而素食者饮食

中肌酸接近于零)。

在持续的强化训练(intensive exercise)或持续在局部缺氧条件下持续训练期间,糖酵解过程中形成的水合氢离子的累积和乳酸的累积(厌氧代谢)能够显著降低细胞内pH值。降低的pH值可能损害肌酸-磷酸肌酸系统的功能。细胞内pH值的下降可能影响细胞中的其它功能,诸如肌纤维中收缩蛋白质的功能。

$\beta$ -丙氨酸和组氨酸的二肽以及它们的甲基化类似物包括肌肽( $\beta$ -丙氨酰-L-组氨酸)、鹅肌肽( $\beta$ -丙氨酰-L-1-甲基组氨酸)或balenine( $\beta$ -丙氨酰-L-3-甲基组氨酸)。所述二肽存在于人类和其它脊椎动物的肌肉中。在例如人和马的肌肉中发现一定量的肌肽。在例如犬、camelids和许多鸟类物种的肌肉中发现了鹅肌肽和肌肽。在许多鱼类中,鹅肌肽是主要的 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽。在某些种类的水生哺乳动物和爬行动物中,balenine是主要的 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽。在人类、马和camelids的快收缩糖酵解肌纤维(II A类和II B类)中发现最高浓度的所述 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽,所述快收缩糖酵解肌纤维在强化训练中大量使用。在氧化慢收缩肌纤维(I类)中发现较低浓度的所述 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽。参见例如Dunnett, M. & Harris, R. C. Equine Vet. J., Suppl. 18, 214-217(1995)。已估价了在不同的肌纤维类型中肌肽对水合氢离子缓冲能力的影响;在马的II类肌纤维中最高达总量的50%。

### 发明概述

概括而言,本发明描述了增加肌肉和其它组织厌氧工作能力的方法和组合物的特征。所述方法包括在机体组织内同时积累肌酸和 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽、或者 $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸类似物。所述方法包括将组合物摄入或注入机体内。所述组合物是下述化合物的混合物,它们能够增加人和动物肌肉中肌酸及其前体的利用与吸收,以合成与积累 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽。当将所述组合物导入到人或动物体内时,所述组合物在人或动物体内诱导所述 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽合成与积

累。

所述组合物包括以下混合物：肌酸和 $\beta$ -丙氨酸；肌酸、 $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸；或者肌酸和 $\beta$ -丙氨酸或L-组氨酸的活性衍生物的混合物。每一个所述 $\beta$ -丙氨酸或L-组氨酸可以是单个氨基酸，或者为二肽、寡肽或者多肽的组分。所述 $\beta$ -丙氨酸或L-组氨酸可以是活性衍生物。活性衍生物是衍生自该物质的化合物或其前体，所述活性衍生物是作为所述物质在体内以相同或相似的方式发挥功能，或被加工成所述物质并置入体内。例子包括例如酯和酰胺。

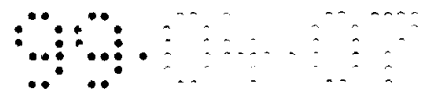
在一方面，本发明描述了调节组织中水合氢离子浓度的方法的特征。所述方法包括以下步骤：向血液或血浆提供适量 $\beta$ -丙氨酸，以有效增加组织中 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽合成，并使所述组织处于所述血液或血浆作用下，借此使所述组织中 $\beta$ -丙氨酰组氨酸的浓度增加。所述方法可以包括向所述血液或血浆提供适量L-组氨酸，以有效增加 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽合成的步骤。

在另一方面，本发明描述了增加组织厌氧工作能力的方法的特征。所述方法包括以下步骤：向血液或血浆提供适量 $\beta$ -丙氨酸，以有效增加组织中 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽合成，向所述血液或血浆提供适量的L-组氨酸，以有效增加组织中 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽合成，并使所述组织处于所述血液或血浆作用之下。所述组织中的所述 $\beta$ -丙氨酰组氨酸浓度增加。

在实施方案中，所述方法可以包括增加所述组织中肌酸浓度的步骤。所述增加步骤可以包括向血液或血浆提供适量的肌酸，以有效提高所述组织中肌酸的浓度（例如通过向所述血液或血浆提供一定量的肌酸）。

所述方法的提供步骤可以包括摄食或注入（例如注射）包含一定量 $\beta$ -丙氨酸或一定量 $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸的组合物，或者包括摄食或注入的组合。

所述方法可以包括增加所述血液或血浆中胰岛素的浓度。例如可



以通过注射胰岛素增加胰岛素的浓度。

所述组织可以是骨骼肌。

在另一方面，本发明描述了基本由肽源组成的组合物的特征，所述组合物包括 $\beta$ -丙氨酸、大约39%-99%(重量)的糖类和最高为大约60%(重量)的水。所述组合物包括大约1%-20%(重量)的所述 $\beta$ -丙氨酸。所述肽源可以包括L-组氨酸。所述组合物可以包括大约1%-20%(重量)的L-组氨酸。

所述糖类可以是单糖（例如葡萄糖）。在另一方面，本发明描述了基本由肽源组成的组合物的特征，所述肽源包括 $\beta$ -丙氨酸、大约1%-98%(重量)的肌酸源和最高为大约97%(重量)的水。所述组合物包括大约1%-98%(重量)的所述 $\beta$ -丙氨酸。所述肽源可以包括L-组氨酸，而所述组合物包括大约1%-98%(重量)的L-组氨酸。

所述肽源可以是氨基酸、二肽、寡肽、多肽或其活性衍生物的混合物。

所述组合物可以是饮食补充剂。所述肌酸源可以是肌酸一水合物。

可以通过注入（即注射）或摄食一种合用的药物增加血液或血浆中组分的浓度，来引起所述血浆浓度的增加。所述组合物可以以每天大约10克和大约800克之间的剂量摄食。所述剂量可以每天一次或多次给予。

增加肌肉中肌酸和 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽的含量可以增加细胞的耐受性，以增加厌氧工作时水合氢离子的产生，并导致疲劳产生前运动持续时间的增加。所述组合物和方法可以有助于补偿蒸煮或加工过程中由于 $\beta$ -丙氨酸、L-组氨酸或肌酸降解或沥滤而引起的这些组分的损失。所述组合物和方法也可以影响对素食中这些组分缺乏的补偿。

可以用所述方法和组合物增加例如运动员、田径运动员、健身者（body-builder）、花样游泳运动员、士兵、年龄较大者、赛马、工作和赛跑的狗和赛鸟的 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽，以避免或延迟肌肉疲劳发



作。

从详细描述及权利要求书中可明显看出本发明其它的特点和优点。

5

#### 附图简述

图1是一幅曲线图，描绘了在30天时期内，在进服 $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸（分别为每公斤体重100 mg和每公斤体重12.5 mg，每天三次）之前和之后每隔2小时，五匹马血浆中 $\beta$ -丙氨酸浓度的变化。

10

图2是一幅曲线图，描绘了在30天时期内，在进服 $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸（分别为每公斤体重100 mg和每公斤体重12.5 mg，每天三次）之前和之后每隔2小时，五匹马血浆中L-组氨酸浓度的变化。

15

图3a和3b是曲线图，描绘了在30天饮食补充期的最初一天和最后一天，在进服 $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸（分别为每公斤体重100 mg和每公斤体重12.5 mg，每天三次）之前和之后每隔1小时，六匹马血浆中 $\beta$ -丙氨酸浓度的变化的对比。

20

图4a和4b是曲线图，描绘了在30天饮食补充期的最初一天和最后一天，在进服 $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸（分别为每公斤体重100 mg和每公斤体重12.5 mg，每天三次）之前和之后每隔1小时，六匹马血浆中L-组氨酸浓度的变化的对比。

图5是一幅曲线图，描绘了在30天饮食补充期的最初一天和最后一天，预在进服 $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸（分别为每公斤体重100 mg和每公斤体重12.5 mg，每天三次）之前和之后每隔1小时，马血浆（n=6）中 $\beta$ -丙氨酸平均浓度变化的对比。

25

图6是一幅曲线图，描绘了在30天饮食补充期的最初一天和最后一天，在进服 $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸（分别为每公斤体重100 mg和每公斤体重12.5 mg，每天三次）之前和之后每隔1小时，马血浆（n=6）中L-组氨酸平均浓度变化的对比。

图7是一幅曲线图，描绘了六匹良种马II类骨骼肌纤维（IIA类和

II B类纤维总数的平均值) 中所述肌肽浓度的增加与补充第1天和第30天之间每天前12个小时内 ( $AUC_{(0\sim 12\text{小时})}$ ) 血浆  $\beta$ -丙氨酸浓度-时间曲线下方面积的增加二者之间的对应关系。

5 图8是一幅曲线图, 描绘了对实验对象给服  $\beta$ -丙氨酸、肉汤或肌肽的平均结果。

图9是一幅曲线图, 描绘了9小时处理内血浆  $\beta$ -丙氨酸的平均变化。

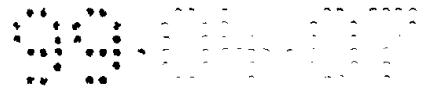
图10是一幅曲线图, 描绘了在口服摄食每公斤体重10 mg  $\beta$ -丙氨酸后9小时内血浆  $\beta$ -丙氨酸的平均变化。

10 图11是一幅曲线图, 描绘了所述处理过程的第1天和第30天的24小时内血浆  $\beta$ -丙氨酸平均 ( $n=6$ ) 浓度。

### 优选实施例的描述

15 诸如肌肽、鹅肌肽和balenine的  $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽的pKa值约在6.8和7.1之间, 并且所述二肽参与疲劳时肌肉收缩与发生疲劳期间细胞内pH稳态的调节。涉及水合氢离子缓冲的其它物质, 诸如蛋白质中的氨基酸残基、无机或有机磷酸盐和磷酸氢盐, 由于它们涉及其它细胞功能而限制了它们的含量。所述  $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽可以提供一种有效的在细胞内积累对pH敏感的组氨酸残基的途径。肌肉中  $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽浓度的变化影响了单个田径运动员的厌氧工作能力。

20 在机体内, 由  $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸合成所述  $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽。这些前体可以在体内产生, 或通过饮食获得, 包括从摄食的  $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽的分解获得。将体内的  $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽运输到诸如肌肉的组织中。在标准的进食状态下,  $\beta$ -丙氨酸的浓度同人和马血浆中的L-组氨酸浓度相比是低的。应当检测同所述肌肽合成酶的亲和力有关的这些浓度, 因为该酶的底物由Michaelis-Menton常数 ( $K_m$ ) 限定。组氨酸的  $K_m$  大约为16.8  $\mu\text{M}$ 。所述  $\beta$ -丙氨酸的  $K_m$  在大约1000至2300  $\mu\text{M}$  之间。肌肽合成酶对  $\beta$ -丙氨酸的亲和力低和肌肉中  $\beta$ -丙氨酸



的浓度低，证明了肌肉中 $\beta$ -丙氨酸的浓度限制所述 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽的合成。

5 提高肌肉中 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽的量，有效地影响了肌肉性能和所述肌肉能够完成的工作量。因此提高了人或动物机体组织中 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽的合成与累积。

10 随着体内肌酸含量的增加，可以通过增加血液或血浆 $\beta$ -丙氨酸的浓度、增加血液或血浆 $\beta$ -丙氨酸和肌酸的浓度、或增加血液或血浆 $\beta$ -丙氨酸、L-组氨酸和肌酸的浓度，来增加人或动物体内 $\beta$ -丙氨酰组氨酸二肽的合成与积累。所述二肽的增加和 $\beta$ -丙氨酸浓度的增加可以是同步的。

可以通过摄食或注入 $\beta$ -丙氨酸、L-组氨酸和肌酸或其活性衍生物，增加血浆 $\beta$ -丙氨酸、L-组氨酸和肌酸的浓度。所述组合物可以口服、肠内或胃肠外给予。最好是口服摄食所述 $\beta$ -丙氨酸和肌酸或 $\beta$ -丙氨酸、L-组氨酸和肌酸。

15 所述组合物可以包括糖类（例如单糖）、胰岛素或刺激胰岛素产生的药物。

20 所述组合物可以作为饮食补充剂摄食。最好是，所述组合物可以以每天一次或多次剂量给服。所述 $\beta$ -丙氨酸的剂量可以在每公斤体重大约5mg和大约200mg之间。所述肌酸（例如肌酸一水合物）剂量可以在每公斤体重大约5mg至200mg之间。所述L-组氨酸剂量可以在每公斤体重大约1mg至100mg之间。所述单糖（例如葡萄糖）剂量可以在每公斤体重大约0.5和2.0克之间。

25 对于一个80公斤的人，每天合适的剂量可以是：0.4克-16.0克的 $\beta$ -丙氨酸、0.4克-16.0克的肌酸一水合物、0.08克-8.0克的L-组氨酸或者40克-160克的葡萄糖或其它单糖。所述组合物可以以固态或液态或悬浮液形态摄食，或者以液态形式或悬浮液注入体内。人每天的所述组合物的摄食量在2克和1000克之间（例如在10克和800克之间），所述组合物的量全天可以分一次或几次摄入。动物每天的摄取量根据体

重调节。

对于人和动物，所述组合物可以是：

- (a) 1% 至99%(重量)的 $\beta$ -丙氨酸;  
1% 至99%(重量)的肌酸一水合物; 和  
0% 至98%(重量)的水;
- (b) 1% 至98%(重量)的 $\beta$ -丙氨酸;  
1% 至98%(重量)的L-组氨酸;  
1% 至98%(重量)的肌酸一水合物; 和  
0% 至97%(重量)的水;
- (c) 1% 至20%(重量)的 $\beta$ -丙氨酸;  
39% 至99%(重量)的葡萄糖或其它单糖; 和  
0% 至60%(重量)的水; 或
- (d) 1% 至20%(重量)的 $\beta$ -丙氨酸;  
1% 至20%(重量)的L-组氨酸;  
39% 至99%(重量)的葡萄糖或其它单糖; 和  
0% 至60%(重量)的水。

下述是增加肌肉和其它组织厌氧工作能力的方法和组合物的具体实施例。

## 20 实施例1

估价用多个日剂量的 $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸补充正常饮食对良种马的I类、IIA类和IIB类骨骼肌纤维中肌肽浓度的影响。六匹实验良种马（三匹小雌马和三匹阉马）健康正常，年龄在4至9岁，在所述补充期开始之前进行一个月（30天）的饮食调理（补充阶段前）。在所述饮食调理阶段，每匹马一餐进食包括1公斤颗粒饲料（spillers racehorse cubes）和1公斤浸湿的甜菜废粕，作为复合物和单糖源，每天三餐（分别在08:30、12:30和16:30）。每天也提供两次（在09:00和17:00）浸湿干草（干重3公斤）。水随意供应。

在所述补充期中执行相同的进食制度。不过用 $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸（游离碱）补充每份硬饲料粉(hard feed meal)。直接将 $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸混合到正常饲料中。按照体重计算 $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸的单独剂量。 $\beta$ -丙氨酸按每公斤体重100 mg给予，而L-组氨酸按每公斤体重12.5 mg给予。在所述方案的第一天开始膳食补充，并在第30天结束时停止。在第1、6、18、24和30天收集肝素化血样（5 ml）。在第1天和第30天，在每天首次进食之前和总共12小时内每隔一小时收集血样。在中间第3个取样日，在首次进食之前和随后每次进食之后2小时收集血液。补充开始前一天（第0天），在用Bergstrom-Stille经皮肤活检针对每匹马的右上臀肌(middle gluteal muscle) (m. 臀肌)的皮肤进行局部麻醉后，对肌肉进行活检。所述补充期结束（第31天）之后，立即尽可能地接近原始取样部位收集随后的肌肉活组织。每天对所述马进行临床监测。这包括目视检查与测量体重，每天两次检查直肠温度和每周抽血液样品进行临床生物化学和血液学检查。在所述研究过程中，尽管允许所述马每天自由活动1小时，但它们不接受正式的训练和练习。

通过Kaiser和Brook Arch. Neurol. 23:369-379(1970)所述方法的修改方法，在pH 4.50预温育后在pH 9.6对肌球蛋白腺苷三磷酸酶活性进行组织化学染色，将由冻干肌肉活检组织解剖而来的单独的肌纤维碎片鉴定为或者I类、IIA类或者IIB类肌纤维。

提取肝素化血浆样品，并通过高效液相层析（HPLC）分析其 $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸浓度。提取单独称重过的肌纤维，并按照Dunnett和Harris“高效液相层析测定肌肉和各个肌纤维中咪唑二肽、组氨酸、1-甲基组氨酸和3-甲基组氨酸”J. Chromatogr. B. Biomed. Appl., 688:47-55(1997)所述方法通过HPLC做肌肽分析。

用单向方差分析（ANOVA），在马中确定补充前后纤维类型中肌肽浓度的差异。在检测出差异的情况下，用多重比较检定测定显著性（Fisher的PLSD）。

向饲料中加入 $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸没有遇到可口性问题。在三十天的补充过程中，没有在任何所述马中发现补充饮食对生理或行为不利的影响。没有记录到显著的体重变化，且直肠温度保持在正常范围内。在临床生物化学和血液学上均没有发现急性或慢性的变化。在补充开始之前，在任何所述马的血浆中没有检测到 $\beta$ -丙氨酸。检测所用的血浆 $\beta$ -丙氨酸定量的下限是3微摩尔浓度( $\mu\text{M}$ )。在补充开始之前，所述六匹马的血浆L-组氨酸浓度在36.6和54.4 $\mu\text{M}$ 之间。

在图1和图2中分别显示了在所有取样日之内，所述六匹马中的五匹血浆 $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸浓度的个体变化。随着补充时间的增加，喂食前血浆 $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸的浓度趋向于增加。此外，在30天的补充期之内，对补充反应的所述血浆浓度也增加。对 $\beta$ -丙氨酸的所述反应较大。

图3a和3b以及图4a和4b分别显示了所述六匹个体马在所述补充期的最初和最后一天之间当天首次进食之前、以及此后的每小时血浆 $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸浓度变化的对比。在图5中对比了所述补充期的最初(第1天)和最后(第30天)一天的24小时时间之内、血浆 $\beta$ -丙氨酸浓度的平均( $\pm\text{SD}$ )变化( $n=6$ )。在所述补充第30天24小时内( $\text{AUC}_{(0\sim 24\text{小时})}$ )血浆 $\beta$ -丙氨酸平均浓度与时间关系曲线下方的面积较大。

在图6中对比了所述补充期的最初(第1天)和最后(第30天)一天的24小时时间之内血浆L-组氨酸浓度的平均( $\pm\text{SD}$ )变化( $n=6$ )。在所述补充第30天24小时内( $\text{AUC}_{(0\sim 24\text{小时})}$ )血浆 $\beta$ -丙氨酸平均浓度与时间关系曲线下方的面积较大。补充最后一日(第30天)相比于补充最初一日(第1天)血浆 $\beta$ -丙氨酸的AUC较大表明，随着逐渐进行补充，从所述马的胃肠道吸收的 $\beta$ -丙氨酸增加。在补充期中，发现血浆L-组氨酸浓度的变化有相似的效果。在每种情况下，血浆 $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸浓度峰值在进食后大约1至2小时出现。

解剖所述六匹马的总共397条独立的骨骼肌纤维(192条补充前；

205条补充后)，并对其做肌肽分析。在表1中给出了在补充前和后，所述六匹马的Ⅰ类、ⅡA类和ⅡB类骨骼肌纤维的平均（±SD）肌肽浓度，以每公斤干重毫摩尔（mmol kg<sup>-1</sup> dw）表示，其中n是分析的独立肌纤维的数目。在补充β-丙氨酸和L-组氨酸30天后，在所有六匹马的ⅡA和ⅡB类纤维中所述肌肽平均浓度增加。在七个样品(instance)中这些增加具有统计显著性。在六匹马当中的五匹中，ⅡB类骨骼肌纤维平均肌肽浓度的增加具有统计显著性。六匹马当中的两匹，ⅡA类骨骼肌纤维平均肌肽浓度的增加具有统计显著性。

表1

| 马  | 天  | Ⅰ类            | N  | ⅡA类              | n   | ⅡB类                  | n   |
|----|----|---------------|----|------------------|-----|----------------------|-----|
| 6  | 0  | 32.3          | 3  | 72.1             | 11  | 111.8                | 14  |
|    | 31 | (14.5)        |    | (47.7)           | 17  | (22.8)               | 12  |
|    |    | -             |    | 16.2<br>(20.9)   |     | 117.7<br>(38.7)      |     |
| 5  | 0  | 59.5          | 2  | 102.6            | 12  | 131.2                | 26  |
|    | 31 | (3.9)         | 1  | (12.7)           | 18  | (26.6)               | 22  |
|    |    | 55.5          |    | 112.2<br>17.1    |     | 153.3<br>(28.0)* *   |     |
| 4  | 0  | 44.8          | 4  | 59.9             | 13  | 108.6                | 19  |
|    | 31 | (6.6)         | 2  | (19.5)           | 17  | (41.5)               | 19  |
|    |    | 37.0<br>(9.3) |    | 88.0<br>(34.2)*  |     | 152.4<br>(65.0)*     |     |
| 1  | 0  | 56.7          | 2  | 88.5             | 15  | 101.3                | 13  |
|    | 31 | (5.3)         | 1  | (20.9)           | 19  | (15.2)               | 11  |
|    |    | 57.8          |    | 96.1<br>(17.3)   |     | 14.3<br>(13.3)*      |     |
| 2  | 0  | -             | 4  | 89.6             | 13  | 104.2                | 14  |
|    | 31 | 65.9          |    | (16.2)           | 18  | (22.2)               | 12  |
|    |    | (13.2)        |    | 102.2<br>(22.1)  |     | 142.0<br>(35.4)* * * |     |
| 3  | 0  | 30.9          | 2  | 85.1             | 6   | 113.5                | 23  |
|    | 31 | (4.0)         |    | (20.3)           | 23  | (20.4)               | 9   |
|    |    | -             |    | 105.0<br>(17.6)* |     | 135.4<br>(24.9)*     |     |
| 平均 | 0  | 44.8          | 13 | 83.0             | 70  | 111.8                | 109 |
|    | 31 | 54.1          | 8  | 96.6 *           | 112 | 135.9 * *            | 85  |

\* 同补充前显著不同，p < 0.05

\*\* 同补充前显著不同,  $p < 0.01$   
 \*\*\* 同补充前显著不同,  $p < 0.005$

5 表2中列出了所述六匹马的ⅡA和ⅡB类骨骼肌纤维中平均肌肽浓度增加的绝对值 (例如 $\text{mmol kg}^{-1} \text{ dw}$ ) 和百分率。

表2

| 马  | ⅡA类  | ⅡA类  | ⅡB类  | ⅡB类  |
|----|------|------|------|------|
|    | 绝对增加 | 增加%  | 绝对增加 | 增加%  |
| 6  | 4.1  | 5.7  | 5.6  | 5.3  |
| 5  | 9.6  | 9.4  | 22.1 | 16.8 |
| 4  | 28.1 | 46.9 | 43.8 | 40.3 |
| 1  | 7.6  | 8.6  | 13.0 | 12.8 |
| 2  | 12.6 | 14.1 | 37.8 | 36.3 |
| 3  | 19.9 | 23.4 | 21.9 | 19.3 |
| 平均 | 13.6 | 18.0 | 24.1 | 21.8 |

10 发现在30天补充后在肌肉肌肽浓度上表现出增加较大的个体马, 也证明在补充期的第1天和第30天之间血浆 $\beta$ -丙氨酸AUC增加较大。参见图7, 发现所述六匹马中的五匹, 平均肌肽浓度的增加和补充的第1天和第30天之间前12个小时中血浆 $\beta$ -丙氨酸AUC ( $\text{AUC}_{(0\sim12\text{小时})}$ ) 的增加有明显的对应关系 ( $r = 0.986$ ,  $p < 0.005$ ), 所述平均肌肽浓度为ⅡA和ⅡB类骨骼肌纤维肌肽浓度的平均值。只用五匹马计算回归线。第6匹马 (实心圆) 血浆 $\beta$ -丙氨酸浓度的增加同补充的第1天至最后一天观察到的血浆 $\beta$ -丙氨酸浓度的增加相比, 没有明显表现出较大。这不象所述其它五匹马随着每个取样日表现出渐进的增加。由于这个原因, 第六匹马不在回归方程计算之内。

15 在补充 $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸30天后, 肌肉肌肽浓度的增加将引起总的肌肉缓冲能力直接的增加。可以用Henderson-Hasselbach公式  
 20 计算这种增加。在表3中显示了所述6匹良种马ⅡA和ⅡB类骨骼肌纤维

表3

| 马  | 天  | II A类<br>$\beta$ m肌肽 | II A类<br>$\beta$ m总 | II A类<br>$\Delta\beta$ m总 (%) | II B类<br>$\beta$ m肌肽 | II B类<br>$\beta$ m总 | II B类<br>$\Delta\beta$ m总 (%) |
|----|----|----------------------|---------------------|-------------------------------|----------------------|---------------------|-------------------------------|
| 6  | 0  | 23.9                 | 93.9                |                               | 37.1                 | 107.1               |                               |
|    | 31 | 25.3                 | 95.3                | +1.5                          | 39.0                 | 109.0               | +1.8                          |
| 5  | 0  | 34.0                 | 104.0               |                               | 43.5                 | 113.5               |                               |
|    | 31 | 37.2                 | 107.2               | +3.1                          | 50.8                 | 120.8               | +6.4                          |
| 4  | 0  | 19.9                 | 89.9                |                               | 36.0                 | 106.0               |                               |
|    | 31 | 29.2                 | 99.2                | +10.3                         | 50.5                 | 120.5               | +13.7                         |
| 1  | 0  | 29.3                 | 99.3                |                               | 33.6                 | 103.6               |                               |
|    | 31 | 31.9                 | 101.9               | +2.6                          | 37.9                 | 107.9               | +4.2                          |
| 2  | 0  | 29.7                 | 99.7                |                               | 34.5                 | 104.5               | +12.1                         |
|    | 31 | 33.9                 | 103.9               | +4.2                          | 47.1                 | 117.1               |                               |
| 3  | 0  | 28.2                 | 98.2                |                               | 37.6                 | 107.6               |                               |
|    | 31 | 34.8                 | 104.8               | +6.7                          | 44.9                 | 114.9               | +6.8                          |
| 平均 | 0  | 27.5                 | 97.5                |                               | 37.1                 | 107.1               |                               |
|    | 31 | 32.1                 | 102.1               | +4.7                          | 45.0                 | 115.0               | +7.5                          |

5

## 实施例2

估价所以多个日剂量的 $\beta$ -丙氨酸和L-组氨酸补充正常饮食对人 I、II A和 II B类骨骼肌纤维肌肽含量的影响。在消耗了提供每公斤体重大约40mg $\beta$ -丙氨酸的肉汤后，监测六个正常被试者的血浆 $\beta$ -丙氨酸浓度。也给予每公斤体重10和20 mg $\beta$ -丙氨酸的剂量。

10

如下制备所述肉汤。细致地将新鲜鸡胸（带皮和带骨）剁碎并用水（每1.5公斤鸡肉1升水）煮沸15分钟。通过过滤过程除去鸡肉残渣。通过加入胡萝卜、洋葱、芹菜、盐、胡椒、罗勒、欧芹和西红柿泥对过滤液调味，并再煮沸15分钟，然后冷却，接着通过细密的平纹布于4℃做最后过滤。1.5公斤鸡肉和1升水的产量是870 ml肉汤。对一份原液做 $\beta$ -丙氨酸-二肽总含量（例如肌肽和鹅肌肽）和 $\beta$ -丙氨酸检验。典型分析是：

15

总  $\beta$ -丙氨酰-二肽 74.5 mM

游离  $\beta$ -丙氨酸 5.7 mM

5 如表4所示，所述六个男性试验对象健康正常，年龄在25~53岁之间。在整夜禁食（例如在摄食最后一餐含肉饮食之后最少12小时）后开始所述研究。在开始所述研究之前，给予被试者饮用少量热水的选择。在08:30开始插入导管，并在09:00开始所述研究。

每公斤体重摄食8毫升水（例如75公斤重的被试者摄食600毫升水）作为对照。

10 在一段时间，每公斤体重摄食8毫升含有每公斤体重大约40 mg的  $\beta$ -丙氨酸（例如以鹅肌肽和肌肽的形式）的肉汤。对于一个75公斤重的被试者，摄食总计达600毫升的包含3克  $\beta$ -丙氨酸的肉汤。在另一段时间，每公斤体重摄食3毫升包含测试量的  $\beta$ -丙氨酸的液体和另外每公斤体重5毫升水。在所有时间，被试者在摄食后1至2小时期间又另外饮用每公斤体重8毫升水（以50毫升一份）。6小时后供应素食比萨。8  
15 小时后开始普通饮食。

通过一个留置的导管在前90分钟以10分钟的间隔，然后在120、180、240和360分钟后抽出2.5毫升静脉血样。将所述血样分配到含有锂-肝素作为抗凝血剂的试管中。通过用盐水流洗维持所述导管。按照Jones和Gilligan (1983) J. Chromatoqr. 266:471-482 (1983) 所述方法  
20 利用HPLC分析血浆样品。

表4概括了在所述  $\beta$ -丙氨酸吸收研究中处理的分配。在表3中显示了估计相同剂量的  $\beta$ -丙氨酸。

表4

| 被试者 | 年龄<br>岁 | 体重<br>kg | 肉汤<br>40<br>mg/kg<br>bwt | $\beta$ -ala<br>0<br>mg/kg<br>bwt | $\beta$ -ala<br>10<br>mg/kg<br>bwt | $\beta$ -ala<br>20<br>mg/kg<br>bwt | $\beta$ -ala<br>40<br>mg/kg<br>bwt | 肌肽<br>0<br>mg/kg<br>bwt |
|-----|---------|----------|--------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------|
| 1   | 53      | 76       | ✓                        |                                   |                                    | ✓                                  | ✓                                  | ✓                       |
| 2   | 33      | 60       | ✓                        |                                   |                                    | ✓                                  | ✓                                  |                         |
| 3   | 29      | 105      | ✓                        | ✓                                 | ✓                                  | ✓                                  |                                    |                         |
| 4   | 31      | 81       | ✓                        | ✓                                 | ✓                                  |                                    | ✓                                  |                         |
| 5   | 30      | 94       | ✓                        | ✓                                 | ✓                                  |                                    | ✓                                  |                         |
| 6   | 25      | 65       | ✓                        | ✓                                 | ✓                                  | ✓                                  |                                    |                         |

在图8中用图解法描述了每次处理后的血浆浓度曲线。在表4中列出了按照所述处理计划表进服 $\beta$ -丙氨酸、肉汤和肌肽的平均结果。在所有对照处理的被试者中血浆 $\beta$ -丙氨酸是在检测范围以下。在摄食所述鸡汤或任何其它疗法之后，在血浆中既没有检测出肌肽，也没有检测出鹅肌肽。摄食所述肉汤引起的血浆峰值浓度是427.9 (SD为161.8)  $\mu$ M。给一个试验对象服用相当于每公斤体重20mg  $\beta$ -丙氨酸的肌肽，导致血浆 $\beta$ -丙氨酸浓度相同的增加。

除了对照，所有处理的给予均导致血浆牛磺酸浓度的增加。牛磺酸浓度的变化密切反映出 $\beta$ -丙氨酸浓度的变化。服用天然食物肉汤引起血浆牛磺酸相同的增加，表明在摄食大部分饮食之后产生这样的反应是正常的。

### 15      实施例3

七天中每天服用三剂每公斤体重10 mg  $\beta$ -丙氨酸（即早晨、中午和晚上给予），研究其对血浆 $\beta$ -丙氨酸和牛磺酸浓度分布型的影响。在七天周期的开始和结束时，研究三个被试者在服用每公斤体重10mg  $\beta$ -丙氨酸后血浆浓度的分布型，所述七天周期中三个被试者每天服用三剂所述 $\beta$ -丙氨酸。

三个男性研究对象健康正常，年龄在33至53岁之间。试验对象八天中每天接受三剂每公斤体重10mg  $\beta$ -丙氨酸。在两个被试者中，接

5 着再进行七天（第9-15天）的每天给服三剂每公斤体重20mg  $\beta$ -丙氨酸。被试者在第1天（给予任何处理之前）、第8天和第15天整夜禁食后，于上午8点向血液收集实验室报到。在所述研究之前的12小时过程中，要求被试者不能食用任何含肉饮食。在这三个测试日的每一天，给被试者插入导管并在或接近上午9点、中午12点和下午3点服用所述  $\beta$ -丙氨酸时抽取最初的血样。在30、60、120和180分钟后抽出血样，并分析血浆  $\beta$ -丙氨酸和牛磺酸浓度的改变。在所述研究的每一天内收集24小时尿样，并通过HPLC分析测定  $\beta$ -丙氨酸和牛磺酸的排泄。在表5中概括了所述处理。

10

表5

| 处理天数<br>$\beta$ -丙氨酸 | 第1天<br>10 mg/kg bwt | 第8天<br>10 mg/kg bwt | 第15天<br>20 mg/kg bwt |
|----------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| 1                    | ✓                   | ✓                   | ✓                    |
| 2                    | ✓                   | ✓                   | ✓                    |
| 3                    | ✓                   | ✓                   |                      |

15

在图9中概括了所述血浆  $\beta$ -丙氨酸浓度。摄食每剂  $\beta$ -丙氨酸后1.5小时或1小时出现  $\beta$ -丙氨酸浓度峰值，接着恰好在服用下一剂量之前、3小时时下降至0~10微摩尔浓度基础水平。如血浆浓度曲线下方面积所表明，在所述处理的第8天，该反应倾向于少于第1天。

#### 实施例4

20

两周中每天进服三剂每公斤体重40mg  $\beta$ -丙氨酸（即在早晨、中午和晚上给予）对肌肉肌肽含量和在66%最大有意(voluntary)收缩力时的等长收缩耐力的影响。

将六个年龄为25至32岁的正常男性被试者吸收到研究中，所述被试者没有代谢或肌肉疾病的证据。询问被试者有关他们最近饮食和补充的习惯。目前没有一个被试者接受含有肌酸的补充剂，或按最近的试验补充程序中没有接受含有肌酸的补充剂。在表6中概括了所述试验

对象的身体特点。

表6

| 被试者 | 年龄 (岁) | 重量 (公斤) |
|-----|--------|---------|
| 1   | 29     | 78      |
| 2   | 31     | 94      |
| 3   | 29     | 105     |
| 4   | 25     | 65      |
| 5   | 31     | 81      |
| 6   | 25     | 75      |
| 7   | 53     | 76      |

5 处理前两天，对处于坐姿的所述被试者的膝伸肌最大有意（等长）收缩力（MVC）进行初步测定。通过瞬间可见展示的力输出激发被试者，并使用Macflex系统检测MVC。对于每个被试者，进行两个实验以检测在66% MVC时持续的耐力，直至不管怎样进行口头鼓励，都不再能维持所述目标力。在此首次收缩之后接着一个60秒的休息时间，在此期间所述被试者保持在该等长椅上。所述休息时间之后，持续第二次收缩直至疲劳。在60秒的第二次休息后，进行第三次收缩直至疲劳。

10 处理前一天，所述被试者在上午8点和10点之间到等长收缩检测实验室报到。检测MVC和如上所述检测在66% MVC时带有60秒休息间隔的三次收缩中的耐力。用所述测试者的主力(dominant)腿检测大小。用所述主力腿再进行一次股外侧肌外侧部分的活检。

15 在所述处理研究的第1天，所述被试者在整夜禁食和从最后一餐含肉饮食起最少12小时后，于上午8点到血样实验室报到。在插入导管和取一个基础血样之后，每个被试者按照实施例3所述的补充和抽取血样方案进行。在0时间（上午9点）、3小时和6小时给服一剂每公斤体重10mg的 $\beta$ -丙氨酸。

20 在第2-15天，被试者继续服用三剂每公斤体重10mg的 $\beta$ -丙氨酸。

在第14天的早晨，对所述主力腿进行处理后等长收缩练习测试，

以检测MVC和相对于处理前一天检测的66% MVC，在66% MVC时的耐力。在下午，在接近于处理前一天进行活检的部位进行骨外侧肌肌肉活检。

5 在第15天，重复进行第1天的所述步骤，以检测经过15天的补充血浆 $\beta$ -丙氨酸和牛磺酸浓度分布的任何总体变化。在图10中显示了当第1天和第15天每天以 $3 \times 10\text{mg}$   $\beta$ -丙氨酸/公斤体重的剂量口服摄食时，在0、3和6小时口服摄食每公斤体重 $10\text{mg}$   $\beta$ -丙氨酸后9小时中，血浆 $\beta$ -丙氨酸的平均变化。

10 另外一个试验对象（7号）进行以下研究：七天中每天服用三剂每公斤体重 $10\text{mg}$   $\beta$ -丙氨酸，接着七天中每天服用三剂每公斤体重 $20\text{mg}$   $\beta$ -丙氨酸。没有对这个试验对象进行活检。

在所述6个进行活检的被试者肌肉中，肌肉肌肽含量没有明显的变化。如实施例2所指出的，在所述六个被试者中血浆牛磺酸浓度的变化反映出 $\beta$ -丙氨酸浓度的变化。

15 在表7中列出了所述MVC值和在处理前一天和用三剂每公斤体重 $10\text{mg}$   $\beta$ -丙氨酸处理后14天后测量的66% MVC时的耐力值。所述6个被试者中的5个在66% MVC时的平均耐力时间增加。也观察到进服更高剂量的7号被试者的耐力时间也增加。

表7

| 被试者  | MVC<br>第1次尝试<br><br>N | MVC<br>第2次尝试<br><br>N | 时间 @<br>66% MVC<br>第1次<br>秒 | 时间 @<br>66% MVC<br>第2次<br>秒 | 时间 @<br>66% MVC<br>第3次<br>秒 | 总<br>收缩<br>时间<br>秒 |
|------|-----------------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------|
| 之前   |                       |                       |                             |                             |                             |                    |
| 1    | 784.5                 | 821.9                 | 48.53                       | 29.03                       | 23.78                       | 100.83             |
| 2    | 814.4                 | 886.2                 | 48.40                       | 26.03                       | 16.90                       | 91.33              |
| 3    | 984.9                 | 970.4                 | 38.15                       | 26.03                       | 16.78                       | 80.95              |
| 4    | 714.6                 | 740.4                 | 89.03                       | 56.15                       | 45.65                       | 190.83             |
| 5    | 1204.8                | 1217.2                | 37.65                       | 27.64                       | 21.53                       | 86.83              |
| 6    | 722.4                 | 716.8                 | 46.78                       | 29.40                       | 21.90                       | 98.08              |
|      |                       |                       |                             |                             |                             |                    |
| 之前平均 | 870.9                 | 892.1                 | 51.4                        | 32.4                        | 24.3                        | 108.1              |
| 之前SD | 190.6                 | 184.6                 | 19.1                        | 11.7                        | 10.8                        | 41.2               |
|      |                       |                       |                             |                             |                             |                    |
| 之后   |                       |                       |                             |                             |                             |                    |
| 1    | 895.6                 | 908.0                 | 47.08                       | 30.38                       | 24.03                       | 101.48             |
| 2    | 832.2                 | 908.0                 | 46.65                       | 31.28                       | 18.40                       | 96.33              |
| 3    | 973.7                 | 952.2                 | 42.65                       | 25.03                       | 16.03                       | 83.70              |
| 4    | 814.1                 | 863.9                 | 114.40                      | 64.28                       | 48.53                       | 227.20             |
| 5    | 1246.6                | 1233.0                | 42.03                       | 22.78                       | 19.40                       | 84.20              |
| 6    | 760.8                 | 773.3                 | 52.28                       | 31.53                       | 25.95                       | 109.73             |
|      |                       |                       |                             |                             |                             |                    |
| 之后平均 | 920.5                 | 939.7                 | 57.5                        | 34.2                        | 25.4                        | 117.1              |
| 之后SD | 175.7                 | 156.0                 | 28.1                        | 15.2                        | 11.9                        | 54.9               |
|      |                       |                       |                             |                             |                             |                    |
| 被试者7 |                       |                       |                             |                             |                             |                    |
| 之前   | 858.18                | 861.54                | 54.0                        |                             |                             |                    |
| 之后   | 792.54                | 851.41                | 62.0                        |                             |                             |                    |

其它实施例在权利要求书中。

# 说明书附图

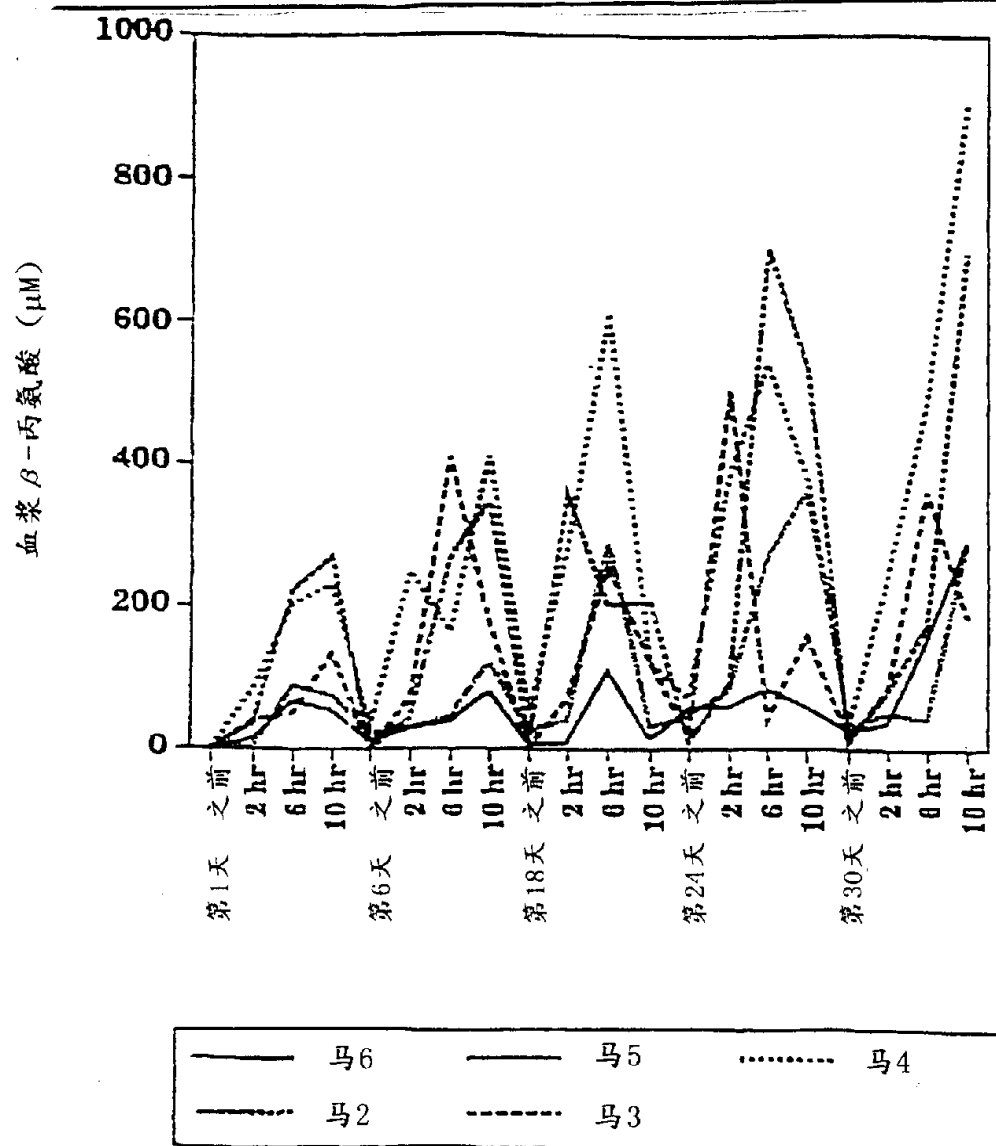


图1

图2

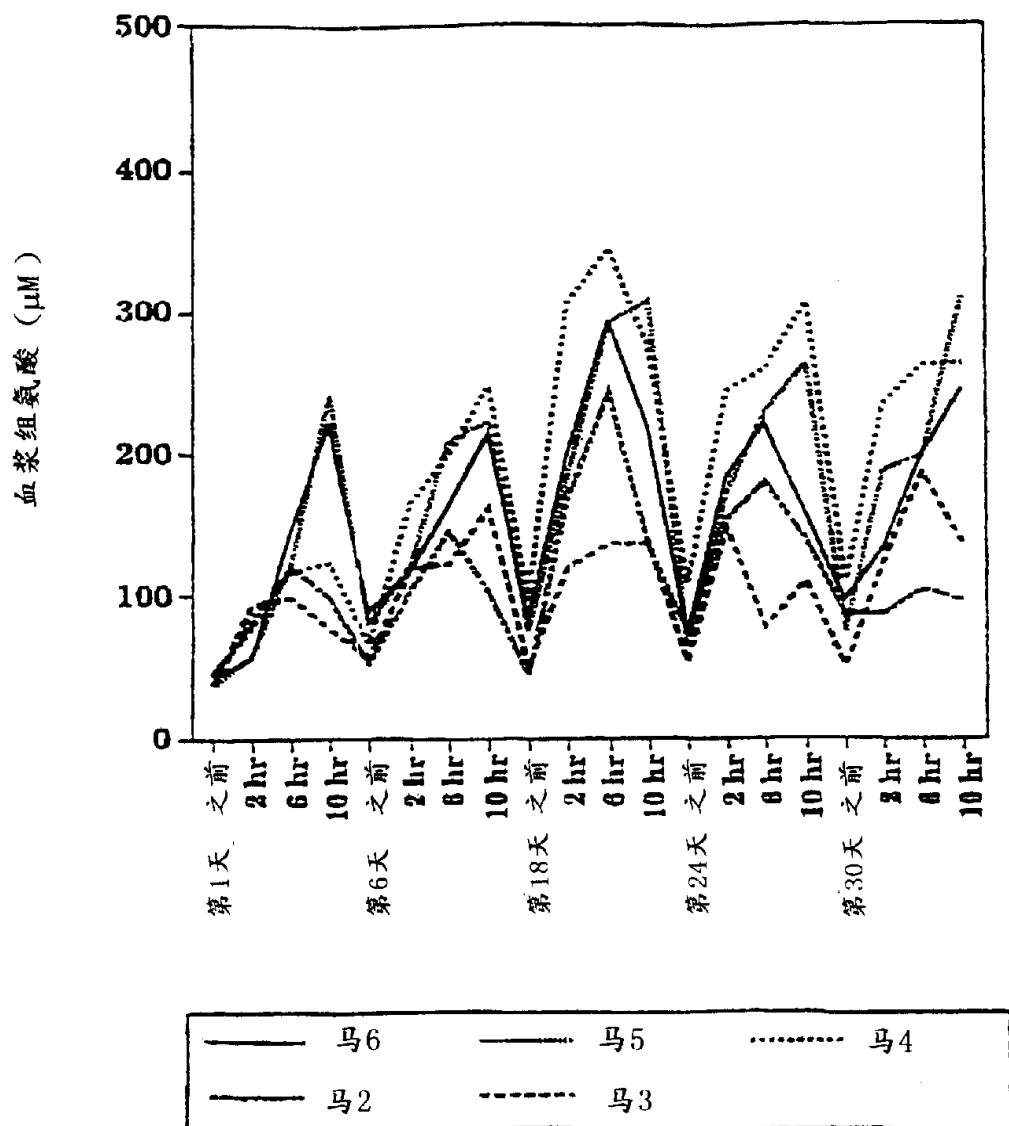


图3a (马1-3)

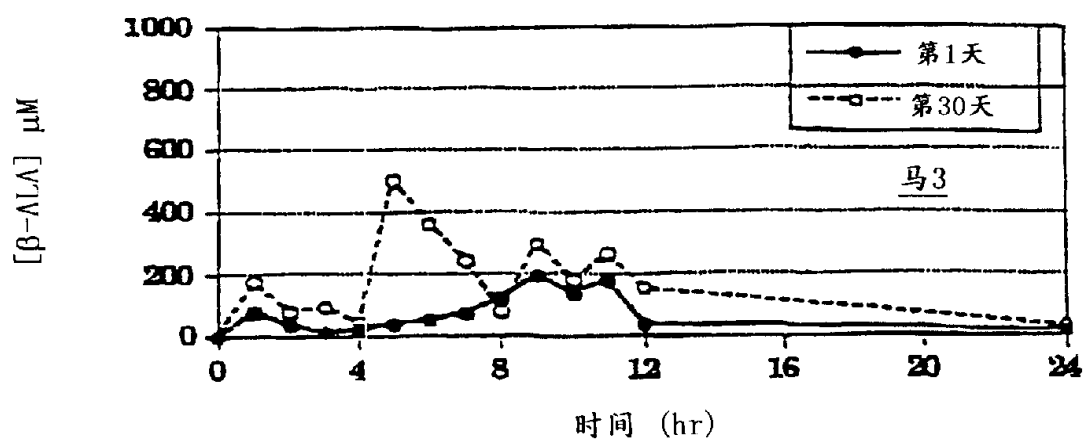
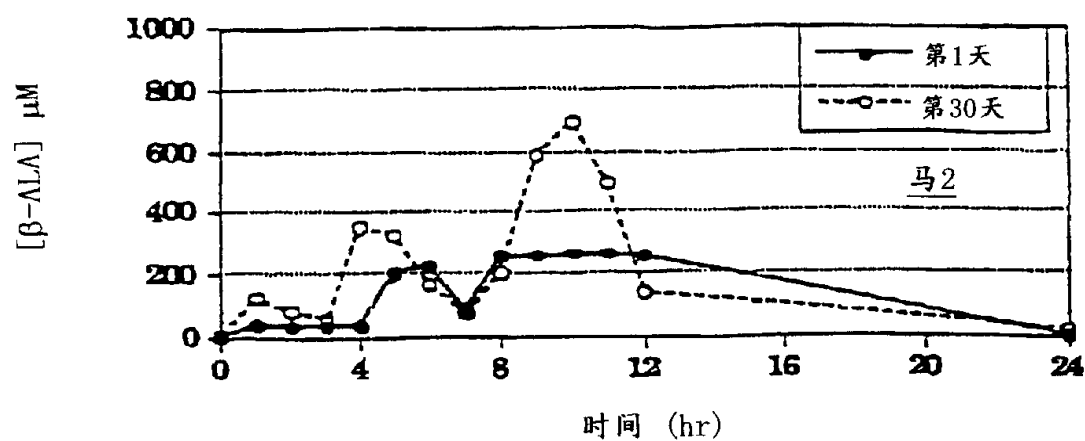
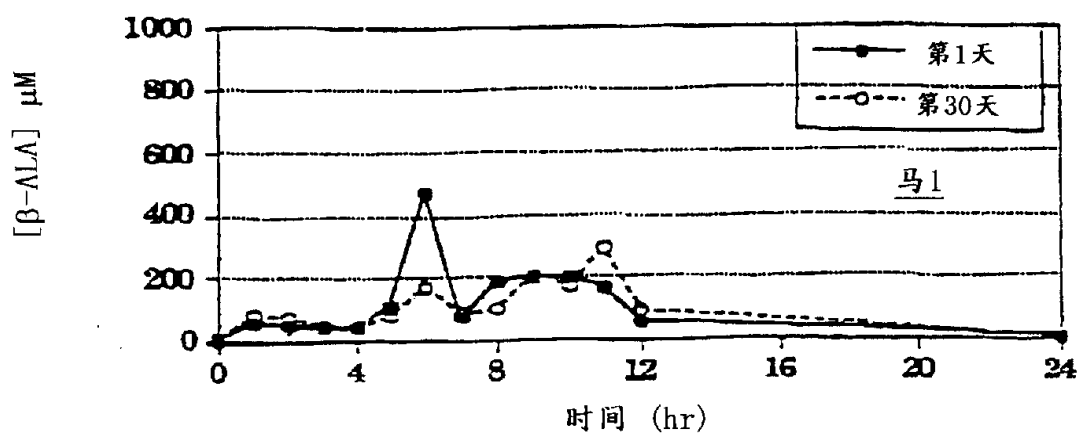


图3b (马4-6)

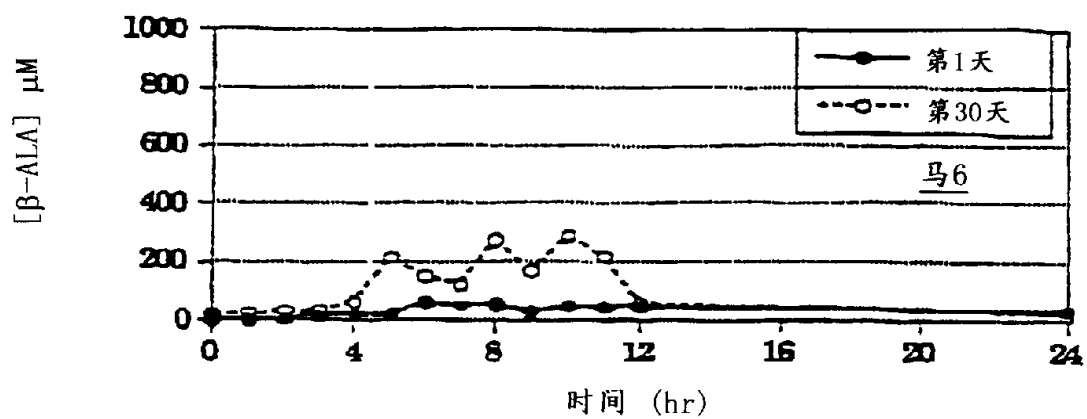
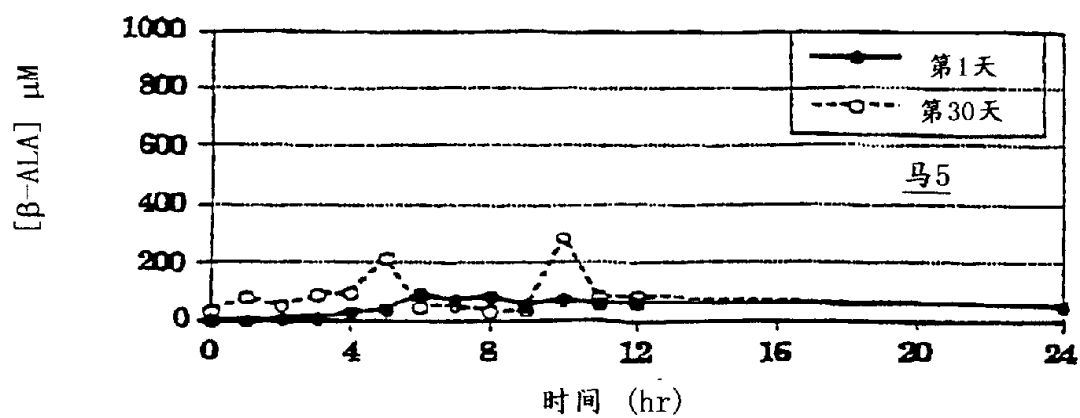
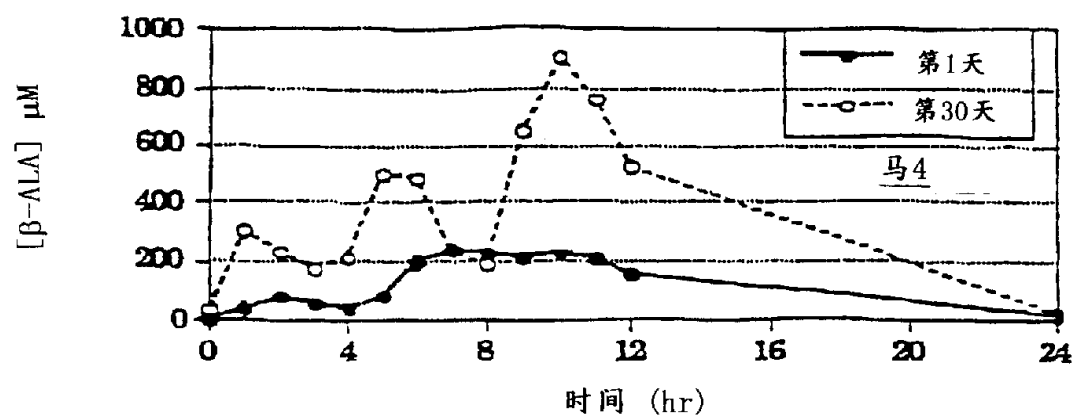


图4a (马1-3)

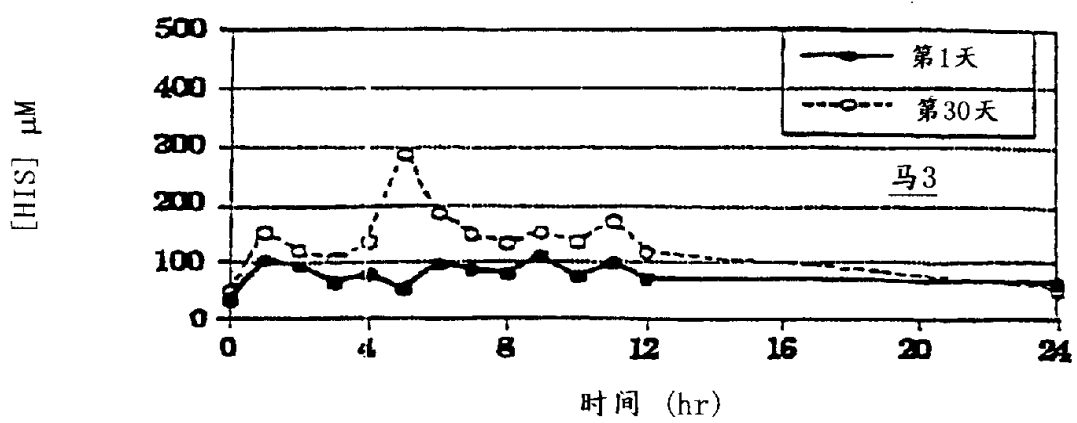
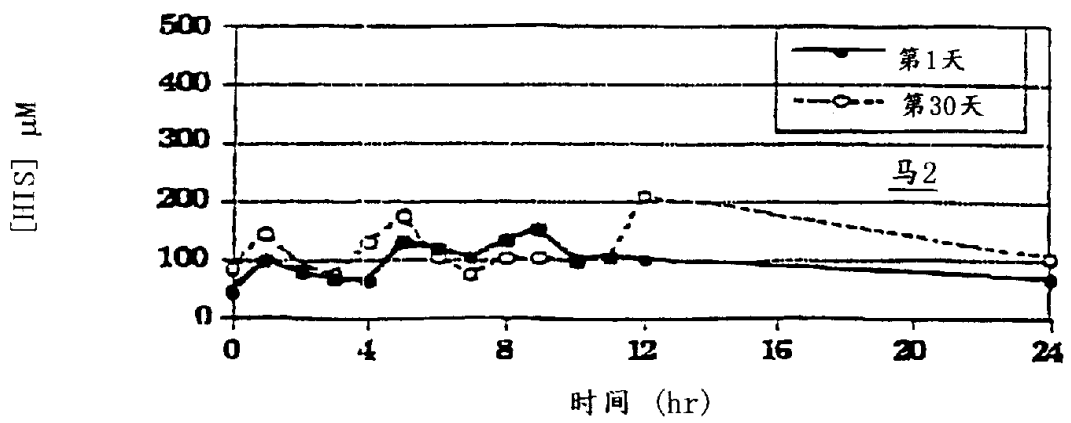
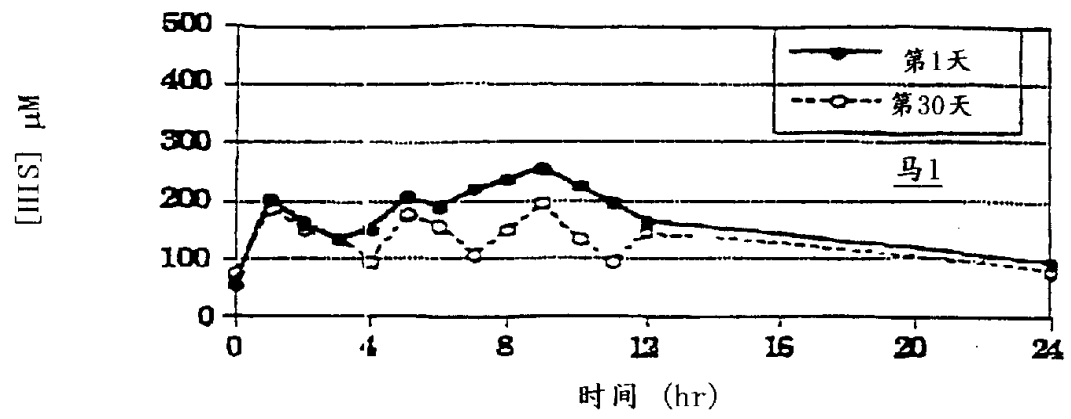


图4b (马4-6)

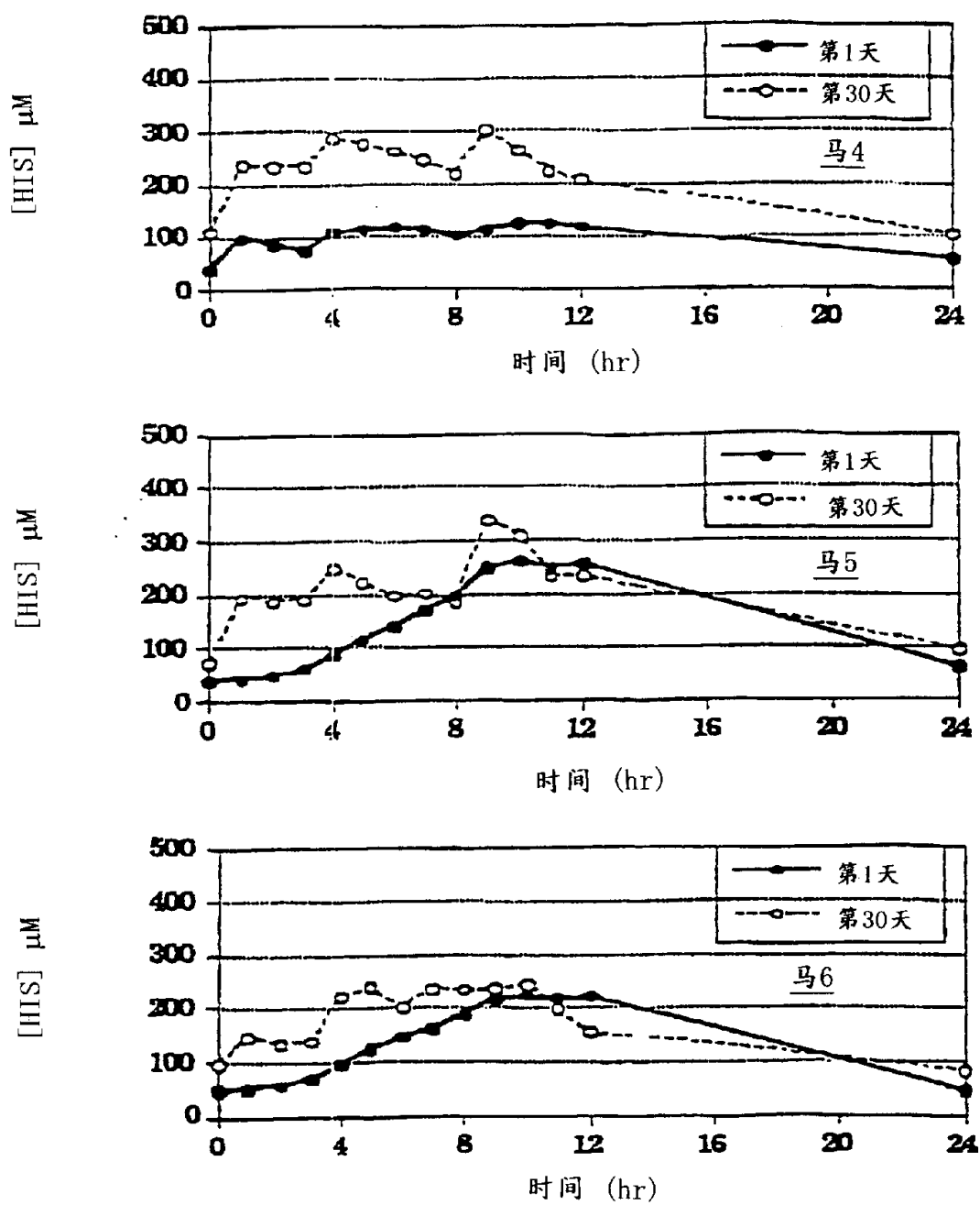


图5

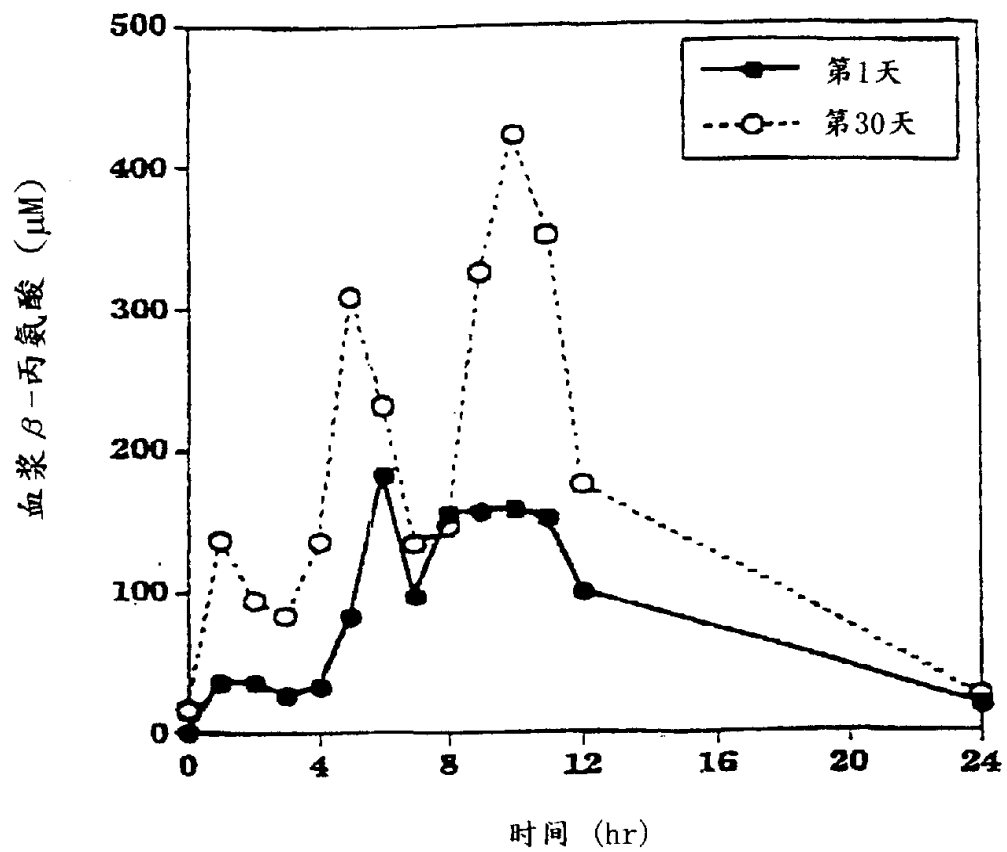


图6

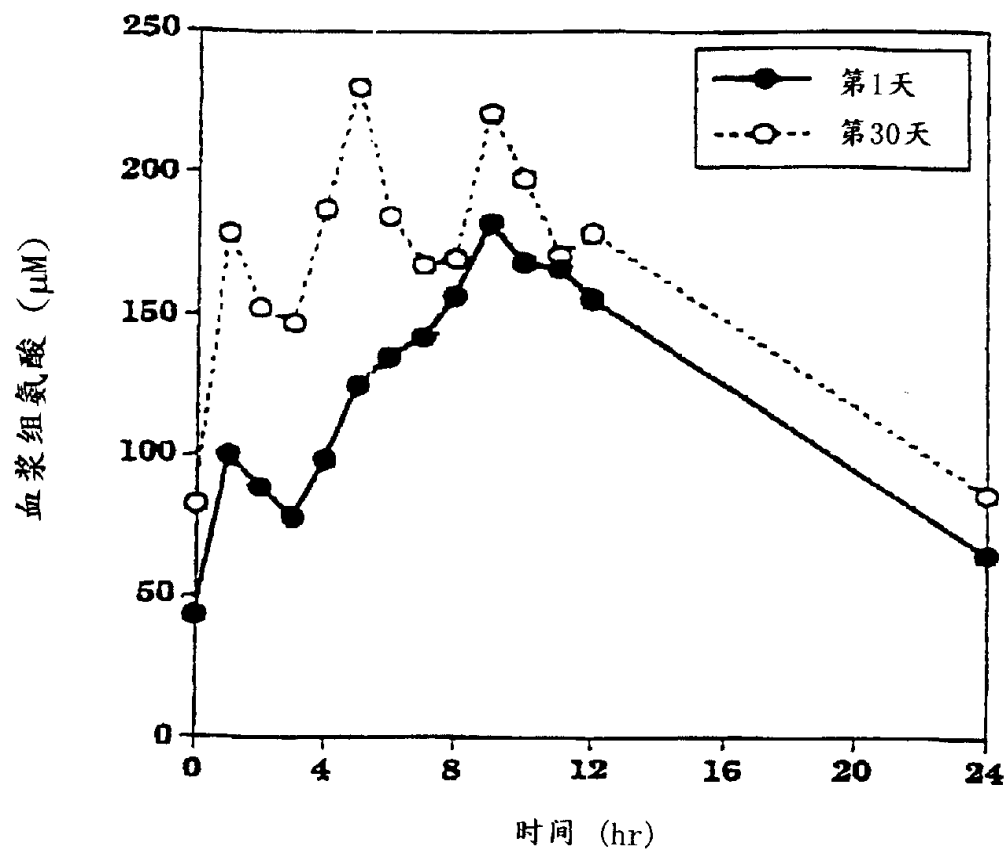
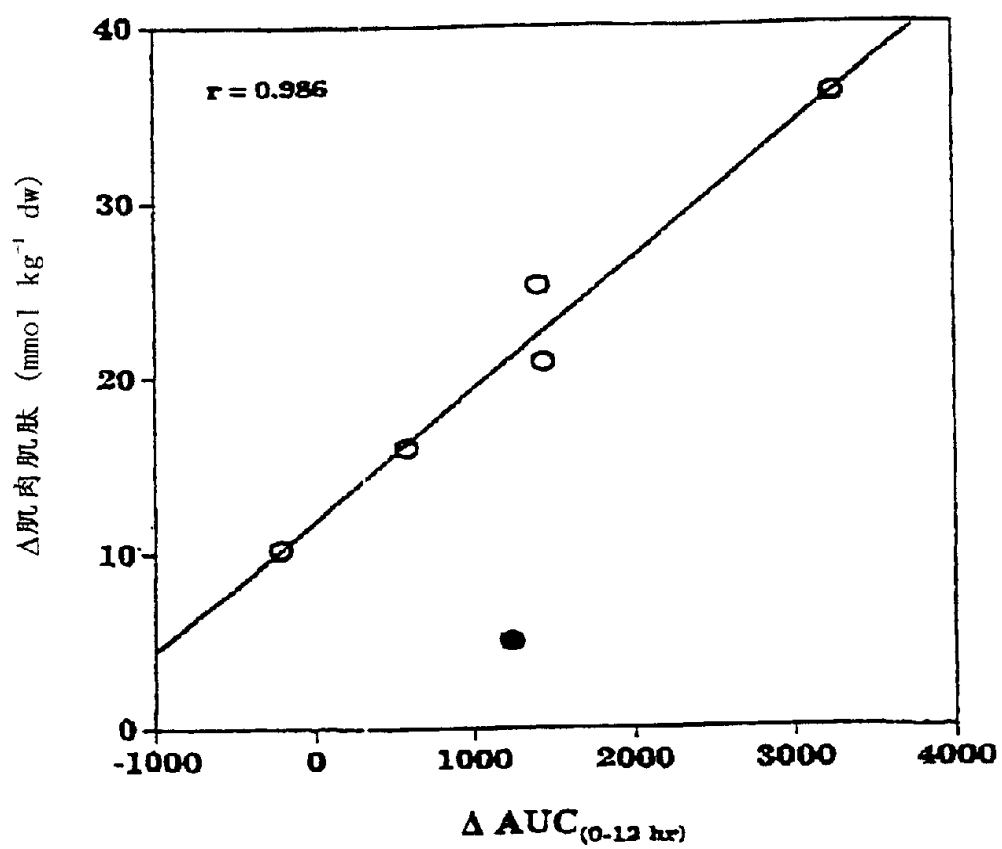


图7



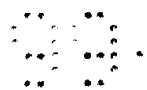
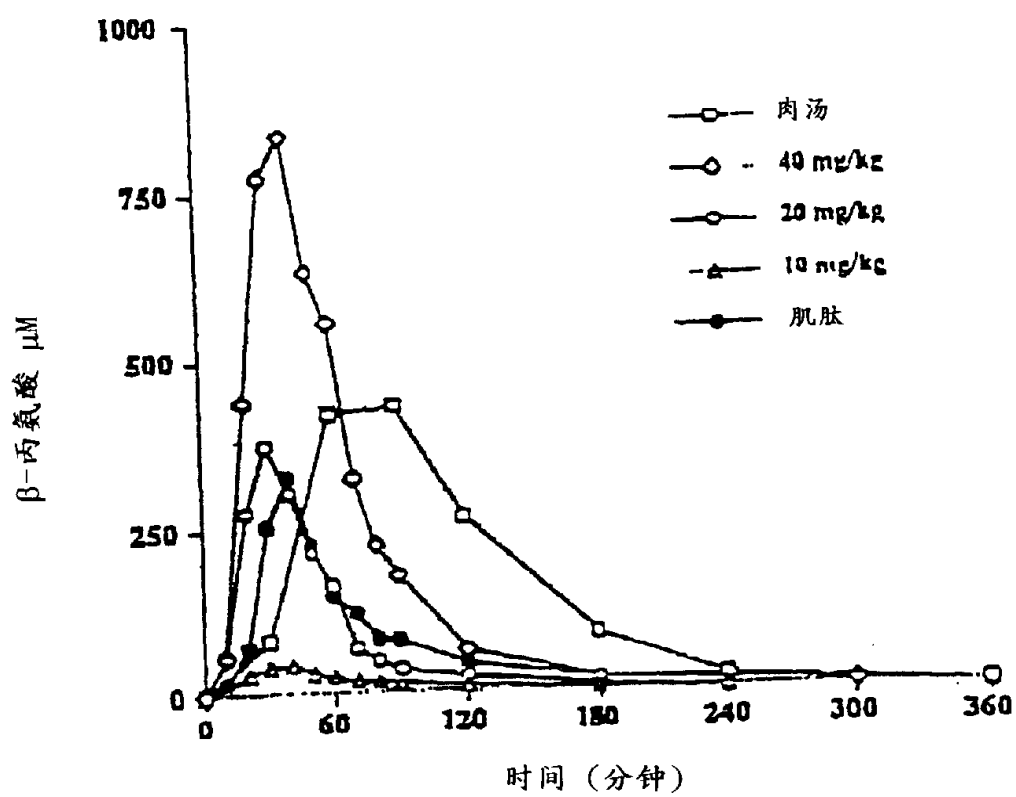


图8



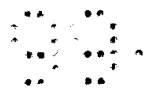
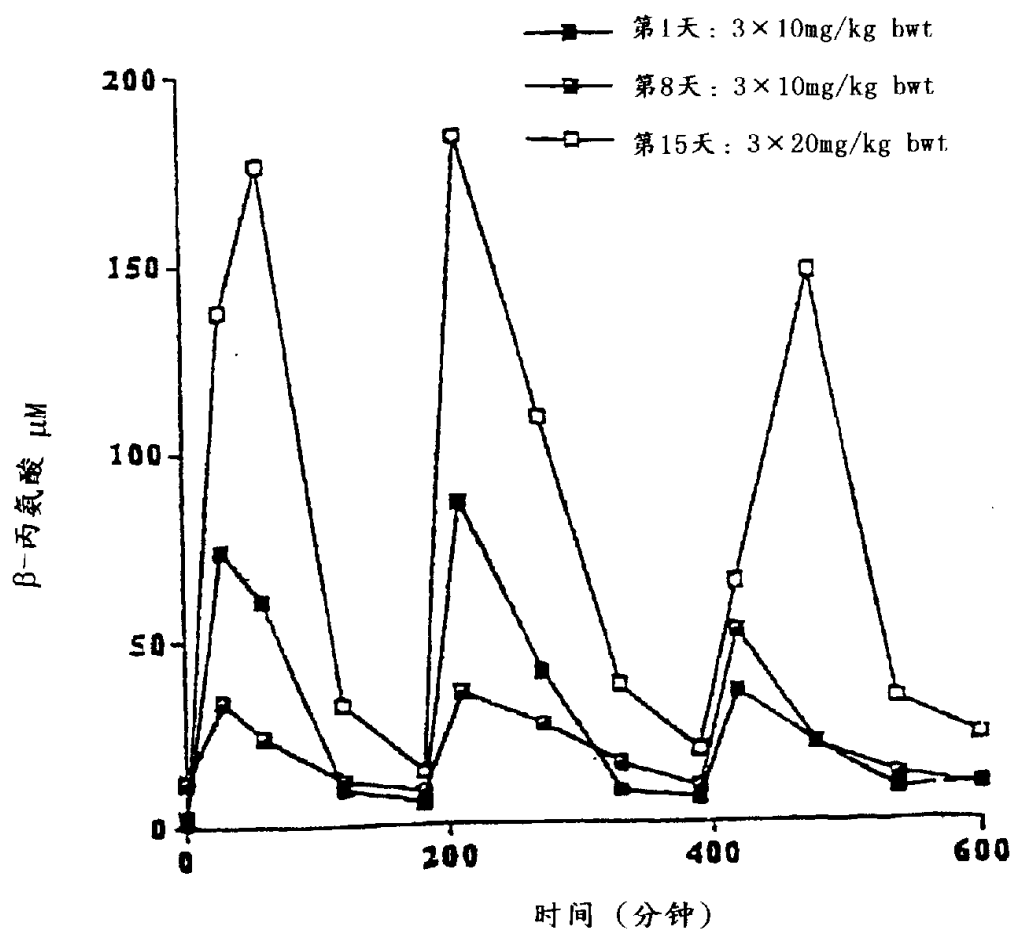


图9



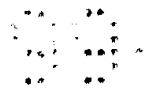


图10

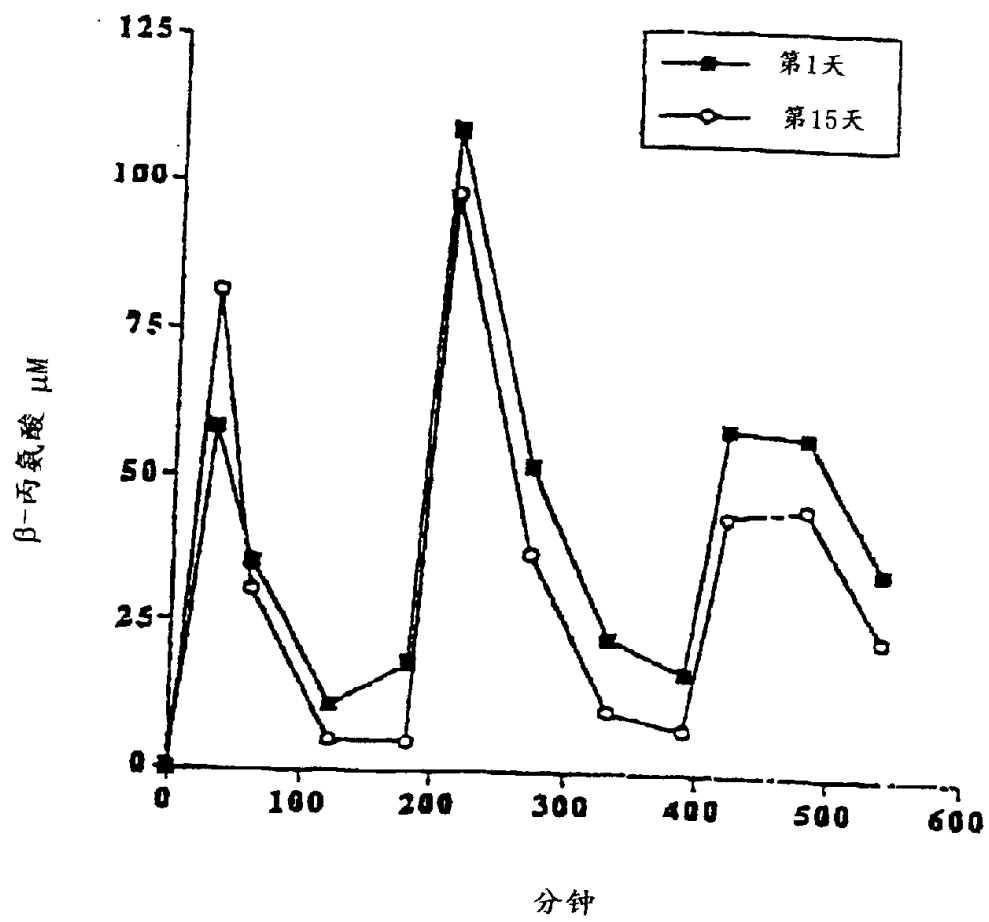


图11

