



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101707877 B

(45) 授权公告日 2013. 01. 09

(21) 申请号 200880020124. 9

(22) 申请日 2008. 06. 13

(30) 优先权数据

60/934, 505 2007. 06. 13 US

61/063, 745 2008. 02. 06 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2009. 12. 14

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2008/007401 2008. 06. 13

(87) PCT申请的公布数据

W02008/156671 EN 2008. 12. 24

(73) 专利权人 杰伊·普拉夫达

地址 美国佛罗里达州

(72) 发明人 杰伊·普拉夫达

(74) 专利代理机构 北京市兰台律师事务所  
11354

代理人 张峰

(51) Int. Cl.

A61K 31/136 (2006. 01)

A61K 31/015 (2006. 01)

(56) 对比文件

WO 02089796 A2, 2002. 11. 14, 权利要求 12  
及说明书表 1, 表 3.

US 5082651 A, 1992. 01. 21, 说明书摘要及说明书实施例 1.

赵康涛等. “<sup>60</sup>Co- $\gamma$  射线照射大鼠损伤作用  
中硫辛酸对谷胱甘肽的调节与再生”. 《第四军医  
大学学报》. 2003, 第 24 卷 (第 11 期), 第 1007 —  
1009 页.

SENAGORE AJ et al.. “Short-Chain  
Fatty Acid Enemas: A Cost-Effective  
Alternative in the Treatment of Nonspecific  
Proctosigmoiditis”. 《Diseases of the Colon  
Rectum》. 1992, 第 35 卷 (第 10 期), 第 923 —  
927 页.

MULDER CJ et al.. “Beclomethasone  
dipropionate (3mg) versus 5-aminosalicylic  
acid (2g) versus the combination of both  
(3mg/2g) as retention enemas in active  
ulcerative proctitis”. 《European Journal of  
Gastroenterology & Hepatology》. 1996, 第 8 卷  
(第 6 期), 第 549 — 553 页.

审查员 王斯婷

权利要求书 2 页 说明书 46 页 附图 3 页

(54) 发明名称

诊断与治疗氧化过激类病症的材料和方法

(57) 摘要

本发明涉及疾病症状预防和治疗的物质和方法, 疾病症状与氧化应激或使免疫力下降的环境有关, 疾病包括肠道炎症疾病, 例如克罗恩病和溃疡性结肠炎。本发明的另一方面涉及给药组合物的制备, 如灌肠剂。在具体实例中, 适合灌肠给药的组合物包括有效剂量的 5-ASA 和类固醇, 例如, 布地奈德或氢化可的松。本发明还涉及口服给药的处方组合物。在具体实例中, 组合物包括  $\alpha$ -硫辛酸和 / 或 N-乙酰-L-半胱氨酸 (NAC) 和 / 或 L-谷氨酰胺。上述  $\alpha$ -硫辛酸可以是消旋  $\alpha$ -硫辛酸, R-硫辛酸, 或 R-二氢硫辛酸。发明方法包括复合物用药或者本发明中的组合物。在具体实

例中, 本发明的复合物或组合物均用于从患者肛门灌输。另一个实例中的复合物及组合物为口服用药。本发明还涉及评估与氧化应激 (如溃疡性结肠炎和其他肠道炎症疾病) 相关的患病与症状诊断风险的方法和审查。

1. 组合物在制备预防或治疗人或动物肠道炎症疾病的药物中的应用,所述组合物包括以下有效剂量的药物:

a) 用于人和动物直肠给药的组合物,该组合物包括氨基水杨酸,类固醇,肥大细胞稳定剂,和短链脂肪酸;和

b) 用于需给药的人或动物口服的组合物,该组合物包括  $\alpha$ -硫辛酸。

2. 如权利要求 1 所述的应用,其中所述肠道炎症疾病为溃疡性结肠炎、克罗恩病、肠易激症、或辐射致直肠炎。

3. 如权利要求 1 所述的应用,其中所述口服组合物需每日一或两次,或每两天服用一次或两次。

4. 如权利要求 1 所述的应用,其中所述直肠给药组合物需每日,每两日,每三日,每四日,每五日,每六日,每七日或间隔更长使用一次。

5. 如权利要求 1 所述的应用,其中所述口服组合物需每日用药,直肠给药组合物每日,每两日,每三日,每四日,每五日,每六日,每七日或间隔更长使用一次。

6. 如权利要求 1 所述的应用,其中所述氨基水杨酸是 5-ASA,或 4-ASA。

7. 如权利要求 1 所述的应用,其中所述肥大细胞稳定剂是色甘酸钠。

8. 如权利要求 1 所述的应用,其中直肠给药组合物包括 500 毫克至 5000 毫克的 5-氨基水杨酸。

9. 如权利要求 1 所述的应用,其中直肠给药组合物包括 750 毫克至 3000 毫克的 5-氨基水杨酸。

10. 如权利要求 1 所述的应用,其中直肠给药组合物包括 2000 毫克的 5-氨基水杨酸。

11. 如权利要求 1 所述的应用,其中所述类固醇选自氢化可的松,强的松,强的松龙,倍他米松,倍氯米松,疏氢,或布地奈德。

12. 如权利要求 1 所述的应用,其中所述脂肪酸是丁酸钠,丙酸盐或醋酸盐。

13. 如权利要求 1 所述的应用,其中直肠给药组合物包括 5 至 50 毫摩尔的丁酸钠。

14. 如权利要求 1 所述的应用,其中直肠给药组合物包括 15 毫摩尔的丁酸钠。

15. 如权利要求 1 所述的应用,其中直肠给药组合物包括 1 毫克至 10 毫克的布地奈德。

16. 如权利要求 1 所述的应用,其中直肠给药组合物包括 2.5 毫克至 7.5 毫克的布地奈德。

17. 如权利要求 1 所述的应用,其中直肠给药组合物包括 5 毫克的布地奈德。

18. 如权利要求 1 所述的应用,其中直肠给药组合物包括 10 至 1000 毫克的色甘酸钠。

19. 如权利要求 1 所述的应用,其中直肠给药组合物包括 100 毫克的色甘酸钠。

20. 如权利要求 1 所述的应用,其中直肠给药组合物包括 5-ASA 或,布地奈德,色甘酸钠和丁酸钠。

21. 如权利要求 1 所述的应用,其中所述  $\alpha$ -硫辛酸是消旋  $\alpha$ -硫辛酸, R-硫辛酸,或 R-二氢硫辛酸。

22. 如权利要求 1 所述的应用,其中口服给药组合物包括 100 毫克至 1000 毫克的 R-二氢硫辛酸。

23. 如权利要求 1 所述的应用,其中口服给药组合物包括 250 毫克至 750 毫克的 R-二氢硫辛酸。

24. 如权利要求 1 所述的应用,其中口服给药组合物包括 300 毫克的 R- 二氢硫辛酸。
25. 如权利要求 1 所述的应用,其中肠道炎症疾病是溃疡性结肠炎,其中直肠给药组合物包括 5-ASA,布地奈德,色甘酸钠和丁酸钠,其中口服给药组合物包括 R- 二氢硫辛酸。
26. 一套在一个或一个以上的容器中的用具包含下列成分:
- i) 氨基水杨酸;
  - ii) 类固醇;
  - iii) 肥大细胞稳定剂;
  - iv) 短链脂肪酸;和
  - v) 乳化剂。
27. 如权利要求 26 所述的用具,其中所述氨基水杨酸为 5-ASA,或 4-ASA。
28. 如权利要求 26 所述的用具,其中所述肥大细胞稳定剂是色甘酸钠或奈多罗米钠。
29. 如权利要求 26 所述的用具,其中所述类固醇为氢化可的松,强的松,强的松龙,倍他米松,倍氯米松,疏氢,或布地奈德。
30. 如权利要求 26 所述的用具,其中所述脂肪酸是丁酸钠,丙酸盐或醋酸盐。
31. 如权利要求 27-30 任一项所述用具,还包含影响灌肠剂或栓剂用药的物质或药品。
32. 如权利要求 26 所述的用具,进一步包括  $\alpha$ - 硫辛酸。

## 诊断与治疗氧化过激类病症的材料和方法

### [0001] 对相关申请的交叉引用

[0002] 本申请案要求享有 2007 年 6 月 13 日提交的第 60/934,505 号和 2008 年 2 月 6 日提交的第 61/063,745 号美国临时申请的权益。本申请案也是 2006 年 9 月 28 日提交的第 11/540,864 号美国专利申请案的部分延续申请案,第 11/540,864 号美国专利申请案是 2005 年 4 月 15 日提交的第 11/107,179 号美国专利申请案的部分延续申请案,第 11/107,179 号美国专利申请案是 2004 年 8 月 27 日提交的第 10/927,742 号美国专利申请案的部分延续申请案,即现在的第 7,312,243 号美国专利案,现在的第 7,312,243 号美国专利案正在要求享有 2003 年 2003 年 8 月 29 日提交的第 60/499,152 号美国临时专利申请案的权益,此两案的全文均以引用的方式并入本文,包括所有的图形、表格、核酸序列、氨基酸序列以及图纸。

### 背景技术

[0003] 溃疡性结肠炎是一种炎性肠道疾病,其特点表现为直肠出血和出血性腹泻反复发作。95%以上病例的初期炎症反应出现在肠道粘膜部位,并且这种炎症可能会向临近部位不断蔓延,最后引起整个结肠发炎 (Hendrickson(亨德里克森),2002)。

[0004] 从组织学角度看,溃疡性结肠炎很明显主要是由于中性粒细胞渗透进入结肠黏膜肠腺李氏隐窝,引起嗜中性隐窝炎并形成隐窝小脓肿,这两种病症并合就会形成肉眼可见的出血性黏膜溃疡。组织破坏性细胞因子的中性分泌作用和氧自由基引起慢性破坏性隐窝结肠炎,这种结肠炎能够扩散到整个结肠 (Carpenter(卡彭特),2000)。

[0005] 目前,几乎没有令人满意的溃疡性结肠炎的治疗模式,现有的治疗仍局限于使用氨基水杨酸的各类衍生物以及抗炎性皮质激素做初期的治疗,后续使用强力免疫抑制剂来对抗这一顽疾,最后,对药物治疗无效的病人,只好施行结肠切除术。大多数轻度至中度患者病程都无法预知。重度患者大约占患者总数的 20%。85%的重度患者或爆发性发病的患者在一年内必须施行全部结肠切除手术。25 年内患者需要接受结肠切除术的累积比率大概为 32% (National Guidelines Clearinghouse(美国临床指南交流中心):<http://www.ngc.gov> (“Management of Ulcerative Colitis”(“溃疡性结肠炎的治疗”))。

[0006] 溃疡性结肠炎药物治疗策略主要针对两点:要么中和浸润性中性粒细胞产生的一个或多个细胞因子,要么清除产生该细胞因子的根源,比如中性粒细胞本身。由于接受药物治疗的溃疡性结肠炎患者的病史具有终生反复发作的特点,看来目前还没有有效的药物治疗模式能够控制基本病症的发病,因此,目前的疗法还不能从根本上改变这种情况。

[0007] 在进化过程中出现的最伟大的生理奇迹也许就是这种高度进化后的免疫系统了,他仅仅用一层只有细胞厚度的组织隔离着外界,让机体在这个细菌高度汇集的地球上保持泰然自若。

[0008] 这种不太可能存在的细菌与免疫系统之间的“停战”状态恰恰描述了人类正常结肠的生存条件,在结肠内,潜在致病菌的内腔浓度估计为:每克结肠内容物含有  $10^{12}$  (一兆) 个菌落形成单元 (活菌细胞) (Farrell(法雷尔)和 Peppercorn(佩伯孔恩),2002)。胃

肠道内的原核菌细胞 ( $10^{14}$ ) (一百兆) 相当于人体内的细胞总数 (Blaut (布劳特), 2000; Guyton (盖顿) 和 Hall (霍尔), 1997)。接近一半重量的人体排泄粪便由病菌组成, 并且在人类正常的结肠内存在着超过 400 种的已知细菌, 其中, 很多细菌如果逃离肠道而进入到其他体腔, 都具有极强的毒性或化脓性。

[0009] 概念上, 可以将黏膜免疫系统分为一个正常的非反应性或耐受性表皮成分和一个潜在的反应性皮下实体。由分布于结肠上皮细胞内的 T- 细胞组成的表皮成分对结肠细菌具有耐受性。这种无反应性表皮 T 细胞先天具有对正常内腔细菌群的响应性。从目的论的角度看, 这些 T- 细胞可能是识别外来细菌的第一道防线, 这些外来细菌能够对黏膜本身形成感染。

[0010] 皮下免疫系统的反应性成份由巨噬细胞, B- 细胞, 以及另外的一些 T- 细胞组成。这些 T- 细胞存在于固有层的结肠上皮基膜下方的无菌环境内。这些免疫细胞被三个独立的人体保护屏障从内腔细菌抗原中隔离出来。从内腔侧面开始, 它们组成了一个黏液保护层, 一个完整的结肠膜内壁, 以及下邻的基膜。这种隔离度保持了上皮下一个无菌的环境, 并且保护固有层的免疫细胞和脉管系统免于遭遇结肠细菌产物, 否则就会引起一种免疫或趋化性反应。

[0011] 结肠上皮细胞和表皮基膜保护屏障的完整性极为重要, 它可以保持结肠组织内的免疫平稳, 并且, 当细菌抗原准备侵入正常的上皮下无菌环境时, 它可以阻止结肠免疫系统对细菌抗原的高浓度发动免疫响应。

[0012] 因此, 维护结肠表皮屏障功能整体性的细胞机制可能在溃疡性结肠炎发病初期就会遭到破坏。要求保持黏膜整体性的生命过程的机能障碍是最终引起上皮屏障功能衰退的一系列连续事件中一个早期而必要的部分, 因为连学黏膜免疫激活作用是阻止抗原体侵入固有层的第二道防线。

[0013] 换言之, 集中于共同的生化过程的异常细胞应激因子的累加效应同时起作用来扰乱细胞内的生化过程, 而这种生化过程提供了维护结肠表皮屏障整体性所必须的一种功能。

[0014] 溃疡性结肠炎的自发好转又复发的高发生率 (50% 以上) (Meyers (麦耶斯) 和 Janowitz (杰诺维茨), 1989) 说明其具有双向破坏作用并且可能存在自我补充缺乏综合症。这种自我补充缺乏综合症影响着黏膜整体性所必需的一个关键因子。

[0015] 通过向动物直肠内注入毒性化学药品来创造出人类溃疡性结肠炎的动物模型的所有实验尝试都受到实验本身的内在局限。这种内在局限就是: 实验准确复制疾病的能力。因为, 在人体条件下, 发病前存在着复杂的心理、生理、基因、环境以及免疫等相互作用, 并且这些相互作用有助于发病机理, 而实验室并不满足如此复杂的相互作用 (Farrell (法雷尔) 和 Peppercorn (佩伯孔恩), 2002)。目前, 不主张对任何临床情况的活体人类结肠使用毒性化学药品。但是, 情况也并非总是如此。

[0016] 在整个二十世纪的很多年里, 内科医生推荐并使用过氧化氢灌肠剂用于排除排便性嵌塞。最近的 1980 年, 一本重要的护理著作推荐使用过氧化氢治疗排便性嵌塞 (Brunner (布伦纳) 和 Suddarth (萨达斯), 1980)。但是, 二十世纪三十年代的一些报告已经开始提及在直肠出血和结肠炎之后使用过氧化氢灌肠剂 (Benson (班森) 和 Barger (巴根), 1939)。1948 年, 首次记录了一例使用过氧化氢灌肠剂后结肠炎致死的病

例 (Sheenan (希恩) 和 Brynjolfsson (布林约尔松), 1960)。在这一病例中, 作者记录了一名 41 岁的白人女性为减轻排便性嵌塞, 自行注入过氧化氢灌肠剂五天后死亡。尸解报告显示她患有活性溃疡性结肠炎, 这有助于人们了解过氧化氢灌肠剂的功能。从那时起, 一直有关于使用过氧化氢灌肠剂后出现继发性结肠炎并产生致命结果的报告。1951 年, 庞弗里报告称两名患者使用过氧化氢灌肠剂后出现严重的溃疡性直肠乙状结肠炎 (Pumphery (庞弗里), 1951)。1967 年, 肖恩报告了几例婴儿使用过氧化氢排除嵌塞的胎便后一段时间死亡的病例 (Shaw (肖恩) 等人, 1967)。1981 年, 迈耶等人报告了三例使用过氧化氢灌肠剂后出现活性溃疡性结肠炎的病例, 并陈述到: 使用过氧化氢灌肠剂后, 活性溃疡性结肠炎似乎已成为一个完全可预见的情况 (Meyer (迈耶) 等人, 1981)。1989 年, 比洛塔和韦恩记述了在他们研究院的消化道内窥镜检查单位中, 发现过氧化氢导致结肠炎的流行。这是因为患者接受结肠镜检查时, 无意间被滴注了过氧化氢。与过氧化氢和结肠黏膜接触的过程中, 他们见识了黏膜瞬间白化并产生泡沫状水泡, 他们将这一现象描述为“雪白”病症 (Bilotta (比洛塔) 和 Waye (韦恩), 1989)。1995 年, 在结肠镜检查过程中, 无意间滴注入患者体内的过氧化氢导致了同样的黏膜反应 (施瓦茨等, 1995)。2001 年, 再次记录了过氧化氢灌肠剂引发直肠出血并发症的病例 (Thibaud (提鲍德) 等人, 2001)。

[0017] 通过一流的实验, 希恩和拜恩约福森 (1960) 通过向小鼠直肠注入 3% 浓度的过氧化氢溶液, 成功的制造出急性和慢性溃疡性结肠炎。显微镜下检查死亡的小鼠, 发现了结肠黏膜溃疡以及中性粒细胞侵入物, “与相邻正常黏膜的对照清楚的显示了这些物质”。注入药剂 5 小时后黏膜炎症到达肛门以上 5 厘米处, 但是一周后扩大到接近 9 厘米的地方。此外, 作者还叙述到, 在活下来的小鼠当中, 除了一些小鼠, 大多数小鼠的结肠黏膜溃疡经过 10 周就可以治愈, 几乎所有未能治愈小鼠的溃疡都位于肛门以上几厘米的左结肠部位。

[0018] 过氧化氢是一种无色, 强氧化性重质液体, 是一种强力漂白剂, 在污水处理中被用作消毒剂, 也被用作火箭燃料的氧化剂。过氧化氢 ( $H_2O_2$ ) 也普遍存在于细胞内, 细胞液以及亚细胞细胞器, 包括过氧化物酶体、内质网、以及细胞核, 通过各种氧化酶和加氧酵素 (例如: 黄嘌呤氧化酶、p450 细胞色素加氧酶) 都可以持续生产出过氧化氢 (Chance (切斯) 等人, 1979)。然而, 在大多数细胞内, 大概 90% 的过氧化氢是线粒体电子传递链呼吸活动产生的有毒副产品 (Eaton (伊顿) 和 Qian (钱), 2002)。

[0019] 线粒体电子传递链 (ETC) 由五个不同的蛋白质成份组成。这五个成份嵌入正对着内部液体基质的线粒体内膜里。其中三个蛋白质成份是大型的, 具有固定膜的蛋白质复合体 (复合体 I、III 和 IV), 这些复合体是连接质子泵的跨膜氧化还原剂。质子泵的作用是透过内膜将质子转移进膜间间隙 (Schultz (舒尔茨) 和 Chan (陈), 2001)。这三个复合体与另外两个较小的活动载体 (复合体 II 和细胞色素 c) 相互作用, 从而使电子在复合体之间穿梭。复合体 II (琥珀酸脱氢酶, EC 1.3.5.1) 在复合体 I (NADH 脱氢酶 EC 1.6.5.3) 与复合体 III (泛醇细胞色素 c 还原酶, EC 1.10.2.2) 之间转移电子。而细胞色素 c (一种含有血红素的蛋白质) 将电子从复合体 III 转移到复合体 IV (细胞色素 c 氧化酶 EC 1.9.3.1)。这些氧化还原剂电子的转移导致了内部膜结合性蛋白质复合体 (I、II 和 III) 的构造发生改变, 从而驱使质子流从基质穿过内部膜进入膜间间隙。膜间间隙内质子的复合集聚产生了一个电化学梯度, 这个化学梯度通过一个跨膜酵素 (ATP 合酶, EC 3.6.1.34 或者复合体 V) 驱使这些质子流返回基质。正是这一逆向质子流产生的能量降低了它的电化学梯度, 而

电化学梯度提供了 ATP 合酶合成 ATP 的能量 (舒尔茨和陈, 2001)。传递链内, 电子的最终受体是双原子 (即: 分子) 氧, 这种双原子氧被细胞色素 c 氧化酶 (复合体 IV) 在一个反应中完全还原成水。在这个反应中, 分子氧 ( $O_2$ ) 结合 4 个电子 ( $e^-$ ) 和 4 个质子 ( $H^+$ ) 产生两个分子的水 ( $H_2O$ )。复合体 I 和 III 是细胞内最终产生过氧化氢的电子漏的来源 (Lemasters (勒马斯特斯) 和 Nieminen (涅米宁), 2001; St. -Pierre (圣·皮埃尔) 等人, 2002)。

[0020] 在线粒体嵴基质方向存在着大量的这种电子传递链蛋白复合体, 连续地还原氧气以便建立膜间间隙质子产生电化学梯度所必需的电化势, 从而合成三磷酸腺苷 (ATP)。

[0021] 然而, 并非所有的电子都通过电子传递链完成传递, 达到 5% 的电子在经过传递链时发生损耗, 并且不能和氧结合产生水 (Liu (刘), 1997; Turrens (图勒斯), 1997; Eberhardt (艾伯哈特), 2001)。通过电子传递链的电子传递依赖于必需的结构改变以及质子传递, 并且这些程序在电子转入传递链内下一个蛋白质之前必须完成。如果这些改变不能发生, 将导致电子传递的解耦, 这种情况被称为电子漏 (舒尔茨和陈, 2001)。从电子传递链内复合体 I 和复合体 III “泄漏的” 电子与邻近的分子氧直接结合, 从而取代链内下一个载体而形成超氧化物 ( $O_2^{\cdot -}$ ), 这就是分子氧的第一个 (单电子) 未完全还原产物 (Cadenas (卡德纳斯) 和 Davies (戴维斯), 2000)。其外部化合价轨道上的额外未配对电子使超氧化物成为一个自由基, 这一般被称为反应性氧代谢产物 (ROM) 或活性氧 (ROS)。大概有 2% 的有效氧被电子传递链的“泄漏” 转化为超氧化物 (Boveris (博威利斯) 和 Chance (切斯), 1973)。生理酸碱值过氧化物以一种阴离子自由基的方式存在, 并倾向于作为一种还原剂 (消耗一个电子) 而发生作用 (Eberhardt (艾伯哈特), 2001)。如果放任超氧化物聚集, 将对细胞产生严重损害。

[0022] 但是, 由于过氧化物具有负电荷, 所以无法穿过生物膜, 并被包含在线粒体内部。过氧化物可以自发歧化为过氧化氢, 或者, 在线粒体内生成过氧化物的地点, 通过过氧化物歧化酶 (SOD) 的酶歧化作用歧化为过氧化氢 ( $H_2O_2$ ) (EC1. 15. 1. 1) (切斯, 1979; 艾伯哈特, 2001)。在这个酶反应中, 两个过氧化物分子结合两个质子并转化为一个过氧化氢分子和一个双原子氧分子, ( $O_2^{\cdot -} + O_2^{\cdot -} \rightarrow SOD, 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ )。超氧化物被认为是一种线粒体过氧化氢的化学当量先质 (切斯等人, 1979; Han (韩) 等人, 2001), 这样, 实质上, 当通过超氧化物输送 2% 的线粒体氧耗量形成  $H_2O_2$  时, 线粒体内产生的所有超氧化自由基被转化为过氧化氢 (韩等人, 2001; 博威利斯等人, 1972)。

[0023] 过氧化物和超氧化氢被认为是主要的反应性氧代谢物。所有其他的自由基都是由这些最初形成的反应性氧代谢物的次生反应产生的 (艾伯哈特, 2001)。因此, 线粒体超氧化物是形成过氧化氢的中间物。

[0024] 在反应性氧代谢物里面, 过氧化氢是独一无二的。由于它没有不成对的电子, 所以它不是一个自由基。但是, 因为它是已知的最具破坏性的化学反应性自由基的直接先质, 所以它被认为是一种 ROM, 这种已知的反应性自由基就是氢氧根自由基 ( $\cdot OH$ )。过氧化氢可以通过单电子还原为氢氧根自由基。还原剂 (给电子物质) 可以是一种过度金属离子 (Fenton (芬顿) 反应), 也可以是超氧化自由基 (Haber-Weiss (哈伯-魏斯) 反应)。

[0025] 在芬顿反应 ( $Fe^{+2} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{+3} + HO^- + HO \cdot$ ) 或 ( $Cu^+ + H_2O_2 \rightarrow Fe^{+3} + HO^- + HO \cdot$ ) 中, 存在于组织内的铁离子和铜离子都可以被用作还原剂, 将过氧化氢均裂分解为氢氧根自由基和一个氢氧阴离子。

[0026] 上述典型的芬顿反应后,当铁离子存在于铁催化的哈伯-魏斯反应( $O_2^{\cdot-} + Fe^{+3} \rightarrow O_2 + Fe^{+2}$ )中时,可以在体内加速哈伯-魏斯反应( $O_2^{\cdot-} + H_2O_2 \rightarrow O_2 + HO^{\cdot} + HO^{\cdot}$ ) (艾伯哈特,2001)。除了细胞内生成的超氧化物,超氧化物也被从不同源头释放进细胞外空间,这些源头包括:纤维母细胞、内皮细胞、以及肠道细菌(O'Donnell(奥丹尼)等人,1996;Souhard(舒切德)等人,1998;Huycke(海克)等人,2002;Huycke(海克)和Moore(摩尔),2002;海克等,2001)。然而,在生物学体系中,铁催化的哈伯-魏斯反应被认为是产生高度反应性氢氧根自由基的主要机制(Kehrer(克雷尔),2000)。

[0027] 氢氧根自由基是一种非常强有力的氧化剂,它可以以有限的扩散率攻击其他分子,并随意摧毁它遇到的任何物质(艾伯哈特,2001;Fredovich(弗里多维奇),1998;Chen(陈)和Schopfer(施格弗尔),1999)。氢氧根自由基是细胞新陈代谢形成的最具化学性的反应性氧自由基,在动物体内,主要起氧的细胞毒素效应(陈和施格弗尔,1999)。尽管具有无限的破坏性生物效应,氢氧根自由基还是被连续地以相对轻松的方式生产出来(弗里多维奇,1998)。这无疑应归功于它的先质( $H_2O_2$ )的构造性质,生成氢氧根自由基所必需的过度金属催化剂(铁和铜)的随处分布,以及作为最初的给电子(还原)物质而大量存在的超氧化自由基。在可控扩散率下起反应意思是:氢氧根自由基每次遇到其他分子,与其他分子的每次碰撞后,它都会起反应。由于具有极强的反应能力,氢氧根自由基可以在一个点以特定的方式与大多数分子发生反应,因此,这种反应是通过增加或掠夺大多数氢氧根自由基清除剂分子来进行的(艾伯哈特,2001)。与氢氧根自由基相互反应的分子遭受了严重的破坏,破坏程度使氢氧根自由基能够撕裂多糖、核酸已经离氢氧根自由基产生点只有几原子直径(纳米)远的蛋白质(陈和施格弗尔,1999)。

[0028] 氢氧根自由基的有限扩散反应率使它在所有的反应性氧代谢物中具有最短的半衰期(十亿分之一秒)(克雷尔,2000)。这一及其短暂的反应时间使氢氧根自由基很难清除所有的特效抗氧化剂分子。因此,氢氧根自由基的直接先质——过氧化氢的解毒作用对于细胞的正常功能及其生存都具有决定性的作用。所以,在过氧化氢能够在细胞内部空间形成聚集之前,非常复杂的细胞内抗氧化酶机理就应在过氧化氢产生的地点就地中和过氧化氢。这些过氧化剂中和抗氧化酶是过氧化氢酶(1.11.1.6)和谷胱甘肽过氧化物酶(E.C.1.11.1.9)。存在两种过氧化氢中和酶系统的事实说明过氧化氢的清除对细胞的生存是必要的。

[0029] 过氧化氢酶主要存在于过氧化酶体中,而谷胱甘肽过氧化物酶在整个细胞质和线粒体内都可以找到(艾伯哈特,2001,第286页;戴维斯,2000;卡迪纳斯和戴维斯,2000)。过氧化氢酶的区室作用结合过氧化氢更低的 $K_m$ ,以及与过氧化氢浓度完全成比例的第一级催化反应说明:在移除过氧化氢方面,谷胱甘肽过氧化物酶比过氧化氢酶更重要(艾伯哈特,2001,第125页)。

[0030] 过氧化氢的降解轮廓已经在人体T细胞系建立起来。本研究证实:谷胱甘肽过氧化物酶的反应可以消耗91%的过氧化氢,而过氧化氢酶只消耗了较小的9%的过氧化氢(卡迪纳斯和戴维斯,2000)。这些酶的相对重要性已被它们各自的缺陷状态的后果证明。人体内缺过氧化氢酶血症是一种相对良性的病症,这种病症的大多数患者不会出现严重的病状。

[0031] 实验中,缺过氧化氢酶血症的小鼠同样没有自发性健康问题(伊顿和马,1995)。

相反,没有关于人体完全缺乏谷胱甘肽过氧化物酶的报告,大概是因为这种极为关键的酶的缺乏阻止了胚胎的产生。

[0032] 从种群的层次看,据报告谷胱甘肽过氧化物酶具有人种差异性,在犹太人或地中海血统民族的一些个体中呈现出谷胱甘肽过氧化物酶更低的活动性 (The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease(遗传性疾病的代谢和分子基础),2001年,第8版,第4650页)。同时,还报告了这些种群溃疡性结肠炎的发病和传播要比其他种群高两到四倍 (Roth(罗斯)等,1989)。

[0033] 从上述内容如我们可以看出:仍然需要探索治疗炎症性直肠类疾病的治疗模式,比如说,治疗溃疡性结肠炎。

## 发明内容

[0034] 本主题发明主要涉及到伴随有氧化过激或缺乏免疫力还原环境的病状的预防和治疗方法及其材料。一方面,本发明涉及到治疗炎症性肠道病症的方法和合成物,比如,克罗恩氏病和溃疡性结肠炎。在一个实施例中,本发明的一种治疗合成物构成了一种还原剂。这是一种可以在细胞内起作用的还原剂,或者,它也可以是一种细胞外活性剂,或两者皆备。在一个实施例中,该还原剂是5-氨基水杨酸(5-ASA),和/或硫代硫酸钠,和/或二氢硫辛酸,和/或 $\alpha$ 硫辛酸(ALA),和/或丙酮酸。具体指:本发明的治疗合成物包含硫代硫酸钠,碱式没食子酸铋,维生素E,以及色甘酸二钠。具体例证为:治疗合成物适用于保留灌肠的治疗。另外一个表现为:治疗合成物适用于口服。

[0035] 另一方面,本主题发明设计到合成物为治疗用灌肠制剂。本发明的一种灌肠剂包含5-ASA和一种类固醇化合物。本发明范围内预期的类固醇化合物包括皮质类固醇。具体指:适用作灌肠剂的化合物包含了有效数量的5-ASA和布地奈德。在另外一个实施例中,本发明的一种化合物包含了5-ASA和一种肾上腺皮质素,比如,CORTENEMA。其他可用于本发明的皮质类固醇包括但不限于:强的松和氢化泼尼松。

[0036] 本主题发明也涉及到治疗炎症性肠道病症的人或动物的治疗方法。在主题方法的一个实施例中,需要治疗的人或动物被施用了本发明的一种合成物,施用这种合成物的方式是在生物学上可兼容的方式或合成。在一个实施例中,将施用的合成物包含了一种还原剂,比如:5-ASA,硫代硫酸钠,二氢硫辛酸(R-二氢硫辛酸,或L-二氢硫辛酸,或两者)和/或 $\alpha$ 硫辛酸或ALA。本发明的一种灌肠剂包含了5-ASA和一种类固醇化合物。本发明范围内预期的类固醇化合物包括皮质类固醇。在一个实施例中,适用作灌肠剂的化合物包含了有效数量的5-ASA和布地奈德。在另外一个实施例中,本发明的一种合成物包含了5-ASA和一种肾上腺皮质素,比如,CORTENEMA。其他可用于本发明的皮质类固醇包括但不限于:强的松和氢化泼尼松。在一个实施例中,该治疗合成物被用于直肠给药。在另外一个实施例中,一种口服合成物包含了 $\alpha$ 硫辛酸,乙酰基半胱氨酸(N-A-C)和L-谷氨酰胺。

[0037] 本主题发明还涉及到口服合成物制剂。在一个实施例中,一种合成物包含了 $\alpha$ 硫辛酸,乙酰基半胱氨酸(N-A-C)和L-谷氨酰胺。 $\alpha$ 硫辛酸可以是外消旋 $\alpha$ 硫辛酸,R-硫辛酸,或R-二氢硫辛酸。本发明的合成物也可以包含抑制阻止坏死因子(TNF)的混合物。

[0038] 本主题发明还涉及到构成本发明的治疗合成物或混合物的用具和容器。可选择易于向人体或动物施用治疗合成物的容器。

[0039] 本主题发明还涉及到检测和诊断炎症性肠道病症的方法和用具,比如,溃疡性结肠炎。

#### 附图说明

[0040] 图 1A-1E 显示了乙状结肠镜检查结果:末端乙状结肠(图 1A);末端乙状结肠(图 1B);中间乙状结肠(图 1C);末端乙状结肠(图 1D);和直肠(图 1E)。

[0041] 图 2A-2C 显示了乙状结肠镜检查结果:末端乙状结肠(图 2A);直肠(图 2B),和直肠(图 2C)。

#### 具体实施方式

[0042] 本主题发明主要涉及到伴随有氧化过激或缺乏免疫力还原环境的病状的预防和治疗方法及其材料。本发明的一个方面涉及到治疗炎症性肠道病症的方法和合成物,比如,克罗恩氏病和溃疡性结肠炎以及应激性肠病症道。据发现,过氧化氢的产生及其过量产生并从胃肠道的细胞中逃逸是引起炎症性肠道病症的一个因果成份,比如,溃疡性结肠炎。作为新陈代谢的副产品,人体的细胞不断地产生氧自由基,包括过氧化氢。这些自由基必须在它们破坏细胞内部解构并导致细胞死亡之前在细胞内被中和。氧自由基和过氧化氢的不断产生是一种氧化应激,这种氧化应激被细胞的还原能力所中和。细胞内最重要的还原物质是谷胱甘肽。因此,细胞发挥其功能所要求的还原环境通过细胞的还原能力(主要是谷胱甘肽)与氧自由基(主要是过氧化氢)之间的一个脆弱平衡来维持。正常情况下,持续产生的谷胱甘肽可以中和(还原)过氧化氢,从而是细胞内部的过氧化氢浓度维持的做一个很低的水平。但是,如果产生的过氧化氢增加,或谷胱甘肽的生产减少,或两者同时发生,导致这种平衡被打破,那么,过氧化氢就会穿过细胞膜扩散到细胞外空间。如果这种情况在直肠组织内发生,防御内腔病菌的结肠屏障就会被破坏,抗原性物质就会通过组织渗透进入正常的无菌结肠固有层。并发的活性中性粒细胞的渗透导致大量的破坏性组织细胞因子以及额外的氧自由基,包括过氧化氢,被分泌出来。这样,一个恶性循环就此建立,借此,接近于暴露在粪便下的隐窝中性粒细胞受到刺激开始产生破坏性细胞因子和氧自由基并试图摆脱病菌的本地环境,这将进一步破坏结肠组织屏障,从而增加病菌渗透并扩大免疫响应,直至整个结肠陷入这种状况。渗透性中性粒细胞作用下,过氧化氢的产生能够扩散进入邻近的正常结肠组织,并征服它的还原能力并导致邻近结肠屏障功能和上皮细胞受到氧化损害。这就将引起渗透从直肠内的原始起点继续向结肠的剩余部分蔓延。已扩散或从细胞内逃逸的过氧化氢可被转化为氢氧根自由基,氢氧根自由基接着就可以破坏细胞结构,比如基膜和紧密接头。这将引起免疫响应,而这种免疫响应将导致溃疡性结肠炎相关的病理。

[0043] 溃疡性结肠炎可以分为两个阶段。第一个阶段称为诱导期,始于过氧化氢在细胞外向细胞外环境扩散。在这一阶段,上皮内层看上去整体完整并且组织正常。破坏被限制于结肠上皮紧密接头分子破裂和基膜分子破裂,这导致了结肠对肠道抗原体可透性瞬间增加。这一阶段没有肠道出血现象,整个过程可能持续数月至数年的时间,并引起偶发性肠道外症状表现,比如肌肉痛、关节痛以及肌膜炎,这些症状表现是由于短暂的结肠亚黏膜抗原渗透作用引起的偶发性免疫活化作用。由于,结肠上皮具有很高的更新率,大约三天就可以更新一次,所以如果初期破坏不是压倒性的,那么,结肠上皮可以修复损坏的组织并恢复结

肠屏障。但是,如果上皮屏障不能重新聚集,并且抗原体的入侵是持久性的,那么,将发生以嗜中性细胞渗透为表现形式的更进一步的免疫活化作用。

[0044] 溃疡性结肠炎的第二个阶段开始于中性粒细胞侵入结肠组织,第二阶段称为繁殖期。正是在这一阶段,嗜中性衍生细胞因子和氧自由基开始损伤组织,引起本疾病所具有的黏膜溃疡、直肠出血以及腹泻等特色症状。

[0045] 将溃疡性结肠炎的分为两个不同阶段的重要性在于:能够通过控制阳性危险因子(发炎性先驱物质,过氧化氢生产的增加)和阴性危险因子(抗炎性物质,过氧化氢生产的减少),从而在诱导期缓和发炎过程。繁殖期,如其名称蕴含之意,是一个自续的和自动刺激的极端,并且不受危险因子的影响。正是在繁殖期,由于结肠组织被破坏,患者表现出直肠出血,并且如果不借助外部调节来扭转这一进程,那么可能会发展到大量结肠渗透,并需进行结肠切除术治疗。结肠切除术可以清除诱导源和繁殖源,以及已经被破坏或具有可渗透性屏障的肠道部分。这也将消除抗原体系统性入侵的入口,并终止发炎过程。然而,如果危险因子促进过氧化氢生产这一现象能够被识别并被清除,那么,可以在诱导期的任何阶段终止结肠渗透作用。在繁殖期,通过适当的外部调节,并使用本发明的方法和合成物来治疗患者,可以达到终止繁殖的疗效。

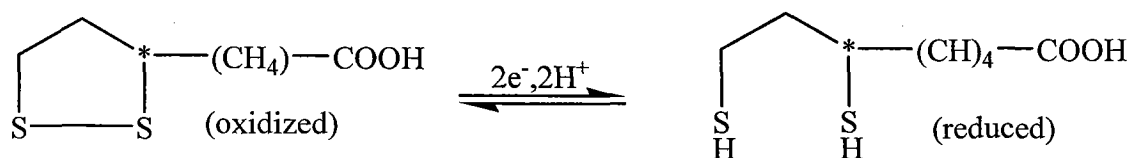
[0046] 能够用于中和过氧化氢及其分解产物(氢氧根自由基以及氢氧阴离子)的任何物质都在本发明预期的范围内。这些物质包括但不限于:氧化剂、还原剂、酶类,比如谷胱甘肽过氧化物酶和过氧化氢酶,催化剂(比如:锌粉、或其他金属粉末、或金属催化剂)、碳酸氢盐缓冲系中的锰、以及石棉纤维或其他能够分解过氧化氢的纤维。谷胱甘肽,或其先质—氨基酸(甘氨酸、半胱氨酸以及谷氨酸)也可用于本发明的方法或合成物。由于附有酯基的谷胱甘肽被吸收进细胞后比谷胱甘肽更稳定,所以,单酯或双酯的谷胱甘肽衍生物可以与本主题发明同时使用。

[0047] 在一个实施例中,本发明一种治疗性合成物至少由一种还原剂组成。这种还原剂可以是主要在细胞外起作用的还原剂,也可以是主要在细胞内起作用的还原剂,或同时在细胞内和细胞外起作用的还原剂。在一个实施例中,本发明一种治疗性合成物至少由一种细胞外还原剂组成,或至少有一种细胞内还原剂组成。

[0048] 在一个实证例中,还原剂是一种硫代硫酸盐离子,这种硫代硫酸盐离子可以一种盐的形式提供,比如,例如,硫代硫酸钠、硫代硫酸铵、硫代硫酸钙、硫代硫酸钾、硫代硫酸银、硫代硫酸胆碱、硫代硫酸钠金、硫代硫酸镁氨基己糖苷酶水合物、以及次硫代硫酸盐。本发明预期范围内的其他还原剂的示例包括但不限于:金属硼氢化物、二甲基硫脲、连二亚硫酸钠、重亚硫酸钠、二氧化硫脲、二乙基羟胺、锌粉、氰基硼氢化钠、氢化钠、硼酸三甲酯、三苯磷氯化苄、三苯磷溴丁烷、醋酸乙酯三苯磷酸盐、溴化乙酯三苯磷酸盐、碘化乙酯三苯磷酸盐、乙基三苯磷磷酸盐、以及丁基醋酸磷酸盐。另外一种可使用的还原剂是谷胱甘肽,或者一种单酯或双酯谷胱甘肽、或者二酯谷胱甘肽、或多酯谷胱甘肽衍生物。

[0049] 在一个实证例中,本发明的一种细胞内还原剂是 $\alpha$  硫辛酸(ALA)、或二氢硫辛酸、或丙酮酸盐。这些还原剂都可以进入细胞,并与过氧化氢发生反应。ALA是一种小分子(MW 206.3, CAS#1077-28-7)。它以依据它的氧化还原状态(氧化或还原)的多种名称以及大约为三个碳手性中心的对映体构造所闻名。基于D和L命名法的更老的相关物质(对比)已经被R和S指示性绝对立体化学构型所取代。

[0050]



[0051] (氧化)

(还原)

[0052] 硫辛酸的替换术语

二氢硫辛酸的替换术语

[0053] 硫辛酸

6,8 硫辛酸

[0054] 硫辛酸

DL-6 硫辛酸

[0055] 1,2-二硫戊环-3-戊酸

R-二氢-硫辛酸

[0056] 1,2-二硫戊环-3-戊酸

6,8 二氢硫辛酸

[0057] DL-1,2-二硫戊环-3-戊酸

RS-二氢-硫辛酸

[0058] ALA 是一种八碳环状二硫化物,包含着人体所有细胞线粒体中合成的极微量的脂肪酸。只有 R- 同分异构体被自然合成。在自然状态下,ALA 通过酰胺键内的末端羧基依共价键与赖氨酸残留物的微量氨基结合,从而形成部分多亚基酶复合物,这些复合物可以促进线粒体内新陈代谢反应的生命能量。细胞质内或环流中很少有自由的 ALA。

[0059] ALA 以酶的转译后修饰的形式完成它与同源蛋白质的结合。在它与酶已结合状态下,它是一种必需的酶辅因子,被称为硫辛酰胺。使用 ALA 的酶复合物是丙酮酸脱氢酶复合物,这种复合物可以催化丙酮酸盐转化为乙酰辅酶 A,乙酰辅酶 A 是通过克雷布斯(柠檬酸)循环产生能量的一种关键物质。可以催化另外一个重要的克雷布斯反应的  $\alpha$  酮戊二酸复合体,可以催化  $\alpha$ -酮酸脱氢酶复合体,而  $\alpha$ -酮酸脱氢酶复合体可以催化三个氨基酸分支链(缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸)的氧化脱羧基。从而产生乙酰辅酶 A 以进入克雷布斯循环并最终进入甘氨酸分裂系统复合物,甘氨酸分裂系统复合物复合物可以促进 5,10 亚甲基四氢叶酸盐的形成。而 5,10 亚甲基四氢叶酸盐核酸的合成中扮演着极其重要的角色。

[0060] ALA 的自然功能是:在每种酶复合物的所有亚基中与酰基结合,并将酰基团转移到连续性酶活性部位。在这一酰基转移的过程中,ALA 被还原为二氢辛硫酸,并且随后又被再氧化回 ALA。这一过程是通过它的附属同源酶实现的,这些附属同源酶使 ALA 预备好进入下一个酰基转移过程。口服后,ALA 具有高度的生物药效率,并且表现出脂可溶性和水可溶性。这使得它在细胞内空间和细胞外空间都可以分布。

[0061] 本发明的治疗性合成物可以选择如下的一种或几种:

[0062] 1) 抗菌性或可以防止或抑制病菌粘附到肠胃组织或细胞的一种化合物或合成物。在一个实施例中,这种化合物可以是一种铋盐。在一个实证例中,这种化合物可以是碱式没食子酸铋。可以包括用于对抗存在与胃肠道的病菌的活性抗菌素。在一个更好的实施例中,该化合物对拟杆菌属具有活性对抗性。

[0063] 2) 可以增加粘性(对于位阻现象来说),和/或抑制上脂质过氧化作用的化合物或合成物,比如,例如,d- $\alpha$  生育酚(维生素 E),羧甲基纤维素、或其他具有粘性的单糖或多糖化合物。

[0064] 3) 抑制肥大细胞和/或有助于封闭或恢复胃肠道内细胞间紧密接头的化合物或合成物。

[0065] 4) 清除氢氧自由基的化合物或合成物。在一个实施例中,这种化合物可以是二甲基亚砷(DMSO)、甘露醇、甲二磺醛、脱氧核糖或DMP0(5,5-二甲基吡咯烷酮-N-氧化物)。

[0066] 5) 抑制或封锁还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶的化合物或合成物,比如DMSO或香荚兰乙酮。

[0067] 6) 可以杀死或抑制结肠范围内中性粒细胞或预防和抑制中性粒细胞进入结肠或离开结肠脉管系统的化合物或合成物。在一个实施例中,可以使用脉管内皮中存在的脉管粘附分子(ICAMS)的抗体或阻滞剂,比如,选择蛋白、或抗体或对应于中性粒细胞的反配体的其他阻滞剂,比如,整合素。

[0068] 7) 制止或抑制中性粒细胞产生过氧化氢的化合物或合成物。比如:DSMO或己酮可可碱。

[0069] 8) 螯合或隔绝离子分子,这些离子分子是对于发生过氧化氢还原作用产生氢氧自由基是必需的。在一个实施例中,可以使用离子螯合剂——去铁胺。

[0070] 9) 可以包括5-氨基水杨酸(5-ASA)化合物或巴柳氮二钠。

[0071] 10) 中和或清除氢氧离子的化合物。在一个实施例中,本发明的一种合成物可以由弱酸或弱碱组成,比如,包含有碳酸氢钠的,pH值大概在6.8到7.4之间的缓冲性溶液。

[0072] 11) 任何抑制电子传递链及其成份的试剂或治疗合成物(比如,抑制细胞色素氧化酶的一种制剂或治疗合成物)。

[0073] 在一个实施例中,本发明的一种合成物包含了一种还原剂和一种NADPH-氧化酶抑制剂。更可取的是,这种还原剂是一种硫代硫酸盐,比如硫代硫酸钠,并且NADPH-氧化酶抑制剂是香荚兰乙酮。在更好的实施例中,该合成物为一种口服胶囊,当这种胶囊存在于结肠内时,它可以延迟溶解作用。

[0074] 本发明的各类合成物可以作为单一合成物,或他们可以同时或不同时,通过相同的或不同的途径(比如,口服,直肠等)使用于同一位病人。在一个实施例中,本发明的一种合成物以混合物或适合于直肠灌注的溶液的形式施用,并且这种化合物包含了硫代硫酸钠、碱式没食子酸铋、维生素E、以及色甘酸二钠。在一个实施例中,本发明的一种栓剂治疗性合成物包含了丁酸盐、和单酯谷胱甘肽或其他谷胱甘肽酯类衍生物。本栓剂可以选择包括或不包括硫代硫酸钠和/或维生素E。

[0075] 本主题发明涉及到预防和/或治疗由氧化过激引起的或恶化的疾病,或由细胞内或细胞外还原环境被破坏引起或恶化的疾病的方法。本主题发明的一个实施例涉及到预防和/或治疗患有炎症性肠道病症的人体或动物,比如,例如,溃疡性结肠炎。本主题发明还涉及到预防和/或治疗辐射诱导性直肠炎的方法,这种直肠炎可能起因于前列腺癌或其他病症的辐射治疗。可使用本发明的方法和合成物预防和/或治疗的其他病症包括但不限于:帕金森氏症、白内障、大脑麻痹症、以及各类胃肠道癌症,比如,胃癌和结肠癌。本发明的合成物还可被用于治疗或预防结肠切除术后结肠隐窝发炎。结肠隐窝炎是一种“J”隐窝炎症,这种炎症是结肠被切除后,由于外科手术而从小肠最后一英尺开始的炎症。小肠的最后六英寸是向上弯曲的,并且被缝合回小肠内部。在“J”隐窝的转弯处留一个孔与肛门连接。目的是为粪便留一个存储地,以避免外袋。

[0076] 对于内腔内容物来说,小肠更容易被渗透,并且小肠存储粪便,由于病菌含量的增加和氧化过激的增加,这种方式就能够导致发炎。灌肠剂以及口服治疗合成物可被用于治

疗或预防结肠隐窝炎。

[0077] 本主题发明还涉及到治疗痔疮的方法。在一个实施例中,本发明的一种液态灌肠剂制剂被直接用于治疗痔疮。在一个特定的实施例中,本发明的一种液态灌肠剂制剂被置于一种合适的材料上,比如纱布片或吸水垫,并且包含有该材料的灌肠剂与痔疮接触,一般大概两到四小时。这种施用每天一到两次。

[0078] 在一个实施例中,需要治疗的人或动物被施用了有发明的效数量的本一种合成物,施用这种合成物的方式是在生物学上可兼容的方式或合成。对于预防性治疗来说,在被治疗的病症发作之前,应对人体或动物施用本发明的有效数量的治疗合成物。例如,有效数量的本发明的一种合成物在进行前列腺癌的辐射治疗之前被施用,以防止辐射诱导性结肠隐窝炎。在一个实证例中,合成物的还原剂是ALA和/或二氢硫辛酸和/或丙酮酸盐和/或5-ASA和/或一种硫代硫酸盐,比如,例如,硫代硫酸钠。在一个实施例中,治疗合成物被用作直肠给药或延缓溶解性口服胶囊。延缓溶解性剂型包括pH依赖性胶囊和包衣,这些胶囊和包衣在与结肠环境相关联的pH值下溶解。pH依赖性材料包括但不限于:甲基丙烯酸甲酯、甲基丙烯酸和/或丙烯酸乙酯聚合物,包括,例如,异丁烯酸铵共聚物。将本发明的一种合成物传递到结肠的其他剂型包括,例如,时间依赖性传递系统、压力依赖性传递系统、细菌依赖性系统(Basit(巴斯特)等,2003)。同时,预期的剂型还有利用氧化电势依赖性系统。结肠内容物比小肠内容物具有更高的氧化电势,因为很多时候结肠内容纳了更多的细菌。氧化电势依赖性系统是一种传递系统,这种传递系统对氧化电势很敏感,并且释放它的内容物或当胶囊在结肠内面临更高水平的氧化作用时,这种传递系统就变得具有活性。这种系统可以以前体药物的方式施用,该前体药物发生氧化时被降解为一种活性药物以及胶囊,这种胶囊在结肠内面临高水平氧化作用时会溶解。在一个实施例中,对患者同时施用了一种直肠给药和口服合成物,特别是该患者具有直肠出血症状时。在控制住出血后,可以选择中断直肠给药治疗,如果需要,继续进行口服治疗。可选择硫代硫酸盐,比如硫代硫酸钠作为静脉注射溶液,例如,可以施用10%到25%(w/v)浓度的硫代硫酸钠溶液。正如本文所述,本发明的方法还考虑通过单一的或联合使用本发明治疗合成物设立患者生活方式改变机制的可能性。

[0079] 对单个患者施用各类化合物的剂量范围可大致有熟练的临床医生来确定。本文提供的剂量范围示例仅用于指导,不应理解为在施用剂量方面限制了本发明的范围。例如,剂量范围可以为:

- [0080] ● 硫代硫酸钠: 150-250mg/kg 体重
- [0081] ●  $\alpha$  硫辛酸 10-20mg/kg 体重
- [0082] ● 二氢硫辛酸 10-20mg/kg 体重
- [0083] ● 丙酮酸盐 50-100mg/kg 体重
- [0084] ● 碱式没食子酸铋: 2-4mg/kg 体重
- [0085] ● 维生素E 25-30IU/kg 体重
- [0086] ● 色甘酸钠: 1-3mg/kg 体重。

[0087] 在一个实施例中,硫代硫酸钠、碱式没食子酸铋、维生素E、以及色甘酸钠的组分可根据下述步骤,在消毒水中调制成一种保留灌肠剂:

[0088] 第一步:将硫代硫酸钠在水中溶解,轻轻摇动直到晶体全部溶解。

[0089] 第二步:加入色甘酸钠,直到完全溶解。

[0090] 第三步:加入碱式没食子酸铋,轻轻摇动,直到完全悬浮。

[0091] 第四步:加入维生素 E,并摇动,直到悬浮。

[0092] 本发明的方法也包括口服治疗药物,这种药物可以降低内生性儿茶酚胺,比如,可乐定,这种治疗应根据患者表现出的症状和危险因子来确定。能够抑制或预防线粒体 MAO 代谢出内生性儿茶酚胺的单胺氧化酶(MAO)抑制剂也可作为病人养生疗法治疗的一部分使用,并且也在本发明预期的范围内。更可取的是,MAO 抑制剂是可以不穿过血脑屏障的抑制剂。在本发明的一个实施例中,一种可乐定(或类似的药物)合成物和一种 MAO 抑制剂被施用于一位患者。

[0093] NADPH 氧化酶抑制剂的施用,比如,己酮可可碱和香荚兰乙酮,也在本发明预期的范围内。这些抑制剂可以作为一种在结肠内溶解的延缓溶解性口服胶囊,或直肠给药溶剂来施用。己酮可可碱具有抗炎功效,并且,通过渗透性中性粒细胞表面的腺苷酸受体,己酮可可碱可以像嘌呤能促效药一样发挥功效。这样就可以抑制 NADPH 氧化酶和细胞死亡。连同改变生活方式,这种口服治疗可以继续,作为一种维护性治疗,以防止再诱导和复发。

[0094] 在一个实施例中,本发明的一种合成物由一种还原剂和一种 NADPH-氧化酶抑制剂组成。在一个实施例中,这种还原剂是一种硫代硫酸盐,比如,硫代硫酸钠,和/或 5-ASA,和/或 ALA 和/或二氢硫辛酸、和/或丙酮酸盐,并且这种 NADPH-氧化酶抑制剂是一种香荚兰乙酮。在另一个实施例中,提供的合成物是一种在结肠内部延缓性溶解的口服胶囊。延缓性溶解剂型包括:pH 依赖性胶囊和包衣,这种胶囊和包衣只在与结肠环境相关联的 pH 值下溶解。pH 依赖性材料的实例包括但不限于:甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酸和/或丙烯酸乙酯聚合物,包括,例如,异丁烯酸铵共聚物。将本发明的一种合成物传递到结肠的其他剂型包括,例如,时间依赖性传递系统、压力依赖性传递系统、细菌依赖性系统(巴斯特等,2003)。同时,预期的剂型还有利用氧化电势依赖性系统。

[0095] 本主题发明的另一个方面涉及到灌肠剂。一种灌肠剂制剂包含一种还原剂(或其它任何具有相似作用模式的药剂)和一种类固醇。在一个实施例中,本发明的一种灌肠剂制剂包含了一种氨基水杨酸,比如:5-ASA(5-氨基水杨酸,即:美沙拉秦)或 4-ASA(4-氨基水杨酸),或任何类似物或水杨酸的衍生物,和一种类固醇化合物。在另一个实施例中,合成物包含柳氮磺胺吡啶作为还原剂。本发明预期范围内的类固醇化合物包括皮质类固醇。在一个实施例中,这种类固醇包含了布地缩松,或一种类似物或其衍生物。在一个具体实施例中,适用于灌肠剂治疗的一种合成物包含了有效数量的 5-ASA 和布地缩松。在另一个具体实施例中,本发明的一种合成物包含了 5-ASA 和一中氢化可的松化合物,比如, Cortenema。可用于本发明的其他皮质类固醇包括但不限于:强的松,泼尼松龙,倍他米松,倍氯米松,以及替可的松。灌肠剂制剂也可以选择包含聚山梨酸酯-80(或其他适用的乳化剂),和/或任何短链脂肪酸(例如:一种,5,4,3,或 2 脂肪酸)作为一种结肠上皮能量源,比如丁酸钠(4 碳),丙酸(3 碳),醋酸盐(2 碳)等,和/或任何肥大细胞稳定剂,比如色甘酸钠(Gastrocrom)或奈多罗米钠(ALOCRIL)。在更进一步治疗的实施例中,本发明的灌肠剂制剂可以包含 ALA。在一个实施例中,ALA 被配制为 ALA 的 R 和 L 同分异构体的消旋混合物。在另一个实施例中,ALA 被配制为 R- $\alpha$ -硫辛酸。在另一个实施例中,ALA 被配制为

R- $\alpha$ -硫辛酸。在一个实施例中,本发明的一种灌肠剂制剂包含了一种有效数量的 5-ASA,布地缩松,丁酸钠,四吡酸钠,以及可以选择的一种  $\alpha$ -硫辛酸,比如 R-二氢硫辛酸。

[0096] 在一个实施例中,合成物包含了大约 200mg 到 3000mg,或大约 500mg 到 1500mg 的 5-ASA,或大约 750mg 到 1250mg 的 5-ASA。在一个具体实施例中,该合成物包含了 1150mg 的 5-ASA。在另一个实施例中,该合成物包含了 2600mg 的 5-ASA。在一个实施例中,5-ASA 的应用为,按照体重 30-40mg/kg。合成物也可以包含大约 1mg 到 10mg 的布地缩松或氢化可的松或大约 8mg 的氢化可的松,或大约 2.5mg 到 7.5mg 的布地缩松或氢化可的松或大约 8mg 的氢化可的松。在具体实施例中,该化合物包含大约 5mg 布地缩松。在一个实施例中,布地缩松的使用量为:按照体重 0.05-0.15mg/kg。如果合成物含有色甘酸钠,其数量可以为大约 10mg 到 200mg,或大约 20mg-100mg,或 30mg 到 70mg。在一个具体实施例中,色甘酸钠的配制量为:40mg。在另外一个实施例中,色甘酸钠的配制量大约为 100mg。如果合成物包含了聚山梨酸酯-80,其配制浓度大约为 1% (v/v) 到 10% (v/v)。如果该合成物包含了丁酸钠,其配制量大约为 500mg 到 1500mg。在一个实施例中,该合成物中聚山梨酸酯-80 的配制浓度大约为 6% (v/v)。在一个实证例中,适用于灌肠治疗的灌肠剂制剂配制如下:17cc 的 5-ASA(大约 1,150mg 的 5-ASA),1cc 的布地缩松(每 cc 含量为 5mg),2cc 的色甘酸钠(每 cc 的含量为 20mg),和 6% (v/v) 的聚山梨酸酯-80。在另外一个具体实施例中,一种合成物包含了 10cc 的氢化可的松(共 16.6mg),30cc 的 5-ASA(共 2mg),以及可以选择的  $\alpha$ -硫辛酸和 / 或 L-谷氨酰胺和 / 或 N-乙酰半胱氨酸和 / 或 5cc 的色甘酸钠(100mg),和 / 或 12.5cc 的丁酸钠(1.1gm)。

[0097] 在一个具体实施例中,本发明的一种灌肠剂制剂包含了 5-ASA,布地缩松,色甘酸钠,以及丁酸钠。本制剂可包含,例如,大约 1 到 5 克的 5-ASA,大约 1 到 10mg 的布地缩松,大约 10 到 1000mg 的色甘酸钠,以及大约 5 到 50 毫摩尔的丁酸钠。在更特殊的制剂中,灌肠剂可以配制为,包含有大约 2.7 克的 5-ASA(60cc 的容器中装入 40cc 的 5-ASA,60cc 的 5-ASA 包含 4 克 5-ASA),大约 5mg 的布地缩松(1cc 的含量),大约 100mg 色甘酸钠(5cc 的含量),和大约 15 毫摩尔的丁酸钠(15cc 的 1 摩尔丁酸钠水溶液含量)。

[0098] 本发明的灌肠剂合成物施用于患者的剂量和施用时间有临床医生确定。在一个实施例中,本发明的一种灌肠剂被每天施用。也可选择每隔一天交替使用含有还原剂的灌肠剂,比如 5-ASA,也可选择使用色甘酸钠和 / 或聚山梨酸酯-80,但是不得使用类固醇。在一个实施例中,一位患者每天使用本发明的一种灌肠剂,大概持续了一个月。在治疗的第二个月,可选择逐步减少类固醇的数量,例如,类固醇可以经过四周的逐步减量,直到灌肠剂中不含类固醇为止(例如:治疗的第三个月开始的时候)。在治疗的第三个月,每天施用于患者的本发明的灌肠剂可以包含还原剂,(比如,5-ASA)和一种短链脂肪酸(例如:丁酸钠),但不包括类固醇。的治疗的第四个月,每天施用于患者的本发明的灌肠剂可以包含还原剂但不包括短链脂肪酸和类固醇。在治疗的第五个月,患者接受与第四个月相同的灌肠剂,但是应每隔一天施用,或根据实际需要进行选择。

[0099] 本主题发明还涉及到口服治疗的合成物制剂。这些口服合成物可以作为单独的治疗使用,也可以联合本发明的灌肠剂制剂使用。在一个实施例中,在灌肠剂治疗期间使用本发明的口服合成物,并且在灌肠剂治疗停止后继续口服治疗。在一个实施例中,一种合成物包含了口服还原剂,比如,  $\alpha$ -硫辛酸或任何其他口服药剂,这些口服药剂直接或间接地通

过中介机制而作为一种细胞内或细胞外还原剂而作用,并且,中和或预防细胞内或细胞外过氧化氢或氧自由基的形成。本发明预期范围内的其他口服还原剂包括但不限于:硫代硫酸钠,硫丙酰甘氨酸,N-乙酰半胱氨酸,谷胱甘肽,抗黑变激素,Q10辅酶,依布硒以及一种氨基水杨酸,比如5-氨基水杨酸(5-ASA)。除了适用于灌肠剂制剂,5-ASA同样适用于口服制剂(包括,例如,柳氮磺胺吡啶,美沙拉秦,奥柳氮钠,氨基水杨酸,巴柳氮,奥柳氮钠)并且能够中和细胞外过氧化氢和氧自由基。 $\alpha$ -硫辛酸可以是外消旋 $\alpha$ -硫辛酸,R-硫辛酸,R-二氢-硫辛酸,L-硫辛酸,和/或L-二氢-硫辛酸。在一个实施例中, $\alpha$ -硫辛酸的用量为5-10mg/kg。在具体实施例中,一名患者每天口服大概100-1000mg或更多量的 $\alpha$ -硫辛酸,更可取的是R-二氢-硫辛酸。在一个更具体实施例中,一名患者每天口服大概600mg的 $\alpha$ -硫辛酸,更可取的是R-二氢-硫辛酸。也可选择,患者接受大约300mg的 $\alpha$ -硫辛酸,每日两次,更可取的是R-二氢-硫辛酸。

[0100] 在一个实施例中,本发明的一种口服合成物包含了 $\alpha$ -硫辛酸,和/或N-乙基-L-半胱氨酸(N-A-C),和/或L-谷氨酰胺。本发明的合成物也可包含抑制组织坏死因子(TNF)的化合物。本发明预期范围内的TNF抑制剂化合物包括:白藜芦醇,荨麻叶提取物,以及黄连素。本发明的合成物也可选择包括直接中和过氧化氢的化合物(例如:丙酮酸钙),有助于保护蛋白质不受氧化或老化的化合物(例如:L-肌肽),和/或对核酸具有保护作用的化合物(比如:D-葡萄糖二酸钙)。该合成物也可选择包括以下物质的一种或多种:硒,维生素B-2(和磺酸),维生素B-12,叶酸,以及维生素H。在一个具体实施例中,本发明的一种合成物包含了300mg的R-二氢-硫辛酸,500mg的N-A-C,500mg的L-谷氨酰胺,200 $\mu$ g的硒,100mg的维生素B-2,500 $\mu$ g的维生素B-12,800 $\mu$ g的叶酸,2,000 $\mu$ g维生素H,1500mg的丙酮酸钙,120mg的白藜芦醇,275mg的荨麻叶提取物,以及200mg的未加工的荨麻叶粉末,150mg的金印草根混合物形式的黄连素和300mg的金印草粉末,1000mg的L-肌肽,和250mg的D-葡萄糖二酸钙。

[0101] 在一个实施例中,合成物以口服制剂的形式配制,比如胶囊,这种口服制剂在患者的胃里和/或小肠里溶解。在另一个实施例中,合成物以口服胶囊的形式配制,这种胶囊进入结肠后才会溶解。延缓性溶解剂型包括:pH依赖性胶囊和包衣,这种胶囊和包衣只在与结肠环境相关联的pH值下溶解。pH依赖性材料的实例包括但不限于:甲基丙稀酸甲酯,甲基丙烯酸和/或丙烯酸乙酯聚合物,包括,例如,异丁烯酸铵共聚物。将本发明的一种合成物传递到结肠的其他剂型包括,例如,时间依赖性传递系统、压力依赖性传递系统、细菌依赖性系统(巴斯特等,2003)。同时,预期的剂型还有利用氧化电势依赖性系统。

[0102] 可根据患者饮食的变化联合使用本发明的灌肠剂合成物和口服合成物。本发明预期范围内的饮食的变化包括:矿物油消耗量的增加,不可溶纤维,李子汁,以及VSL#3。接受治疗的患者应避免饮酒。

[0103] 本发明的方法和合成物可以用于人类和其他动物。本发明的合成物可以本文所述的方式用于需要接受治疗的动物,比如,口服,和/或灌肠剂,等。本发明预期范围内的其他动物包括:驯养家畜,农用牲畜,或动物园饲养的动物,或马戏团饲养的动物。驯养家畜包括,例如,狗、猫、兔子、雪貂、天竺鼠、仓鼠、小猪、猴子或其他灵长类动物和沙鼠。农用牲畜包括:例如,马、骡子、驴子、小驴、牛、奶牛、猪、羊和短吻鳄。动物园或马戏团饲养的动物包括,例如,狮子、老虎、熊、骆驼、长颈鹿、河马和犀牛。

[0104] 如上所述,本发明的口服或灌肠剂合成物可以单独或联合用于需要接受治疗的人体或动物。因此,在一个实施例中,对需要接受治疗的人体或动物,本发明的一种方法包含了单独使用有效数量的本发明的一种口服合成物,或单独使用本发明的有效数量的一种灌肠剂合成物,或有效数量的口服合成物和灌肠剂合成物联合使用。在一个实施例中,包含有ALA(例如:R-二氢-硫辛酸)有效数量的一种口服合成物,和包含有氨基氨基水杨酸(例如:5-ASA)的一种灌肠剂合成物,和/或任何使用的类固醇(比如:布地缩松),和/或任何肥大细胞稳定剂(比如:色甘酸钠),和/或任何短链脂肪酸(比如:丁酸钠),也可以选择一种乳化剂(聚山梨酸酯-80),被施用于人体或动物。口服或灌肠剂合成物可以每天使用,或每隔一天使用,或每隔两天使用,或每隔三天使用,或每周使用一次,或熟练医师确定的其他合适的服用时间表。口服合成物和灌肠剂合成物可以交替使用,例如:奇数日使用口服合成物,偶数日使用灌肠剂合成物。在一个实施例中,每天施用口服合成物,每隔一天,两天,三天,四天,五天,六天或一周施用一次灌肠剂合成物。口服合成物或灌肠剂合成物每天也可以单独的使用一次或多次(比如,两次,或三次等)。

[0105] 本主题发明的有用化合物可根据已知的方法配制有用的药物合成物。很多著名的资料都详细描绘了相关配方,这些配方对于熟练医师来说很容易使用。例如,《雷鸣登氏制药科学》E. W. 马丁著,描述了可以与本主题发明结合使用的配方。一般而言,本主题发明的合成物配制的原则是:有效数量的化合物结合一个合适的载体以便促进该合成物的有效施用。本发明各类方法使用的合成物也可以是各种形式。这些形式包括:固态,半固态,以及液态剂量形式,比如:片剂、药丸、粉末、液态溶液或悬浮液、栓剂、可注射的并不可溶解的溶液、以及喷雾剂。优先使用何种方式,取决于计划的给药模式以及治疗方法。更好的合成物包括:熟练医师所熟知的常规药物学可接受的载体和稀释剂。用于本发明化合物的载体和稀释剂的实例包括:乙醇、二甲亚砜、甘油、氧化铝、淀粉,以及等效的载体和稀释剂。为了提供治疗疗法使用的这些药剂的用法,本发明新的药剂合成物的重量大概占合成物与载体或稀释剂总重量的0.1%到45%,主要占大约1%到15%。

[0106] 本主题发明还涉及到本发明的化合物和合成物的剂量形式。在一个实施例中,提供的化合物和合成物是口服或直肠给药的剂量形式。包含一个在结肠内溶解的胶囊并含有有效数量的如下物质的口服剂量形式是本发明特别预期的:i)一种还原剂,例如,5-ASA和/或硫代硫酸钠,和/或APA,和/或二氢硫辛酸,和/或丙酮酸盐,和/或一种 $\alpha$ -硫辛酸,并可选择ii)一种NADPH-氧化酶抑制剂,例如,香荚兰乙酮。延缓性溶解剂型包括:pH依赖性胶囊和包衣,这种胶囊和包衣只在与结肠环境相关联的pH值下溶解。pH依赖性材料的实例包括但不限于:甲基丙稀酸甲酯,甲基丙烯酸和/或丙烯酸乙酯聚合物,包括,例如,异丁烯酸铵共聚物。将本发明的一种合成物传递到结肠的其他剂型包括,例如,时间依赖性传递系统、压力依赖性传递系统、细菌依赖性系统(巴斯特等,2003)。同时,预期的剂型还有利用氧化电势依赖性系统。

[0107] 本主题发明的化合物也可以使用微脂粒技术、缓释胶囊、植入泵、可生物降解性容器以及其他已知的科学方式进行施用。这些传递工具和方法可以更好地在延续期提供相同的剂量。

[0108] 本主题发明还涉及到本发明的包含一种治疗合成物的容器。容器的选择要易用存储和/或便于向人体或动物施用一种合成物,比如:一个容器可以是一种适合于向直肠施

用一种治疗合成物的容器。这些容器可以由任何合适的材料制成,包括:玻璃,塑料等,也可以是一次性的也可以是可回收利用的。本发明的治疗合成物应在一个无菌容器中配制成一种无菌合成物。本主题发明还涉及到用具,在一个或多个容器内,这些用具包含有本发明的一种治疗合成物或化合物的。在一个实施例中,在一个或多个容器内,本发明的一种用具包括一种还原剂,和/或一种氨基水杨酸,和/或一种类固醇,和/或一种短链脂肪酸,和/或一种乳化剂,和/或一种抗菌剂和/或抗粘剂,和/或一种粘性增强抑制剂和/或脂质过氧化抑制,和/或一种肥大细胞抑制剂和/或一种肥大细胞稳定剂,和/或修复、封闭或恢复细胞间紧密接头的一种药剂,比如,表皮生长因子(EGF)。在一个实施例中,这种用具含有硫代硫酸钠化合物,碱式没食子酸铋,维生素E,以及色甘酸钠。在另一个实施例中,一种用具包含5-ASA,布地缩松,色甘酸钠,以及丁酸钠。本发明的化合物可以以一种单独的混合前剂量形式提供到一种用具中,或者以单独剂量单元提供到用具中,这些单独的剂量单元在施用前进行混合在一起或被单独服用。在一个实施例中,本发明的一种用具包含了本发明的一种灌肠剂制剂化合物和增加这种灌肠剂施用效果的材料或传递工具。

[0109] 本主题发明还涉及到各类方法用于筛选与氧化过激相关的患病风险的评定结果和/或诊断条件,比如,溃疡性结肠炎和其他炎症性肠道病症,以及帕金森氏症。在一个实施例中,本发明的一个方法包含了筛选人体或动物基因内的SNP(单核苷酸多态现象)的存在性,这些基因为抗氧化酶网络内的酶编码,而抗氧化酶网络有助于维持细胞的细胞内氧化还原缓冲能力。基因中的SNP可以引起影响基因或基因产物准确表达的一种突变,或引起酶活力的衰退或丧失。筛选SNP的标准方法和材料已为人们所熟知。本发明范围内的酯类物质包括但不限于:谷胱甘肽-半胱氨酸连接酶,谷胱甘肽合成酶,二硫化谷胱甘肽还原酶,谷胱甘肽过氧化物酶,亚甲基四氢叶酸还原酶,苹果酸酶,6-磷酸葡萄糖脱氢酶,以及磷酸葡萄糖酸脱氢酶。在一个实施例中,本发明的一种方法包含了筛选或鉴定人体或动物体内任何为谷胱甘肽-半胱氨酸连接酶(EC 6.3.2.2)或谷胱甘肽合成酶(EC 6.3.2.3)编码的基因。这些基因含有SNP可以引起酶活性衰退从而导致谷胱甘肽合成的消弱。在一个实施例中,本发明的一种方法包含了筛选或鉴定人体或动物体内任何为二硫化谷胱甘肽还原酶(EC 1.8.1.7)编码的基因。这些基因含有SNP可以引起酶活性衰退从而导致NADPH合成的消弱。在一个实施例中,本发明的一种方法包含了筛选或鉴定人体或动物体内任何为谷胱甘肽过氧化物酶(EC 1.11.1.9)编码的基因。这些基因含有SNP可以引起酶活性衰退从而导致对过氧化氢中和的消弱。在一个实施例中,本发明的一种方法包含了筛选或鉴定人体或动物体内任何为亚甲基四氢叶酸还原酶(EC 1.5.1.20)编码的基因。这些基因可以引起对谷胱甘肽过氧化物酶(EC 1.11.1.9)的抑制。在一个实施例中,本发明的一种方法包含了筛选或鉴定人体或动物体内任何为苹果酸酶(EC 1.1.1.40),6-磷酸葡萄糖脱氢酶(EC 1.1.1.49),以及磷酸葡萄糖酸脱氢酶(EC 1.1.1.44)编码的基因。这些基因含有SNP可以引起酶活性衰退从而导致NADPH合成的消弱。可通过如下网站搜索并鉴定抑制的各类SNP <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?CMD=DisplayFiltered&DB=snp>。

[0110] 本主题发明还涉及到检测和诊断溃疡性结肠炎的方法及其诊断用具。与本文所述的溃疡性结肠炎的诱导期或繁殖期相关的生理指标的检测和衡量的任何方法都在本发明预期的范围内。在一个实施例中,筛选了直肠组织以确定是否存在不断提高的过氧化氢,不

断下降的谷胱甘肽,或两者兼具。用于检测和定量过氧化氢和谷胱甘肽的技术和材料已为人们所熟知。在另一个实施例中,筛选了结肠组织,以确定活性中性粒细胞的渗透和/或中性粒细胞衍生细胞因子或脂质过氧化产物的存在性。用于检测和定量活性中性粒细胞和中性粒细胞衍生细胞因子的技术和材料已为人们所熟知。本发明的化验可选择包括:对照物,阳性和阴性,和/或其他标准(例如:正常直肠组织或细胞,过氧化氢的标准或正常浓度,谷胱甘肽的标准或正常浓度,等)来评估被测样品的化验结果。筛选与溃疡性结肠炎相关的多种生理指标的化验包括在本发明的范围内。用于本发明化验的组织可以是局部组织(比如,直肠组织),也可以是全身组织(比如血液,淋巴液等)。本发明可以做发病性诊断化验或非发病性诊断化验。诊断性化验可以提供氧化过激(诱导期)和氧化损坏(繁殖期)的氧化风险(溃疡性结肠炎进入诱导期的风险)证据。

[0111] 本主题发明还涉及到评估患溃疡性结肠炎的个体风险或确定患者在该病的哪个阶段的方法。这种方法包含了过氧化氢,谷胱甘肽,以及暴露持续时间参数的化验,然后根据如下公式确定一个个体的氧化性风险( $R_{ox}$ ):

[0112]

$$R_{ox} = \frac{(\text{过氧化氢水平})(\text{组织暴露时间})}{(\text{谷胱甘肽水平})}$$

[0113] 其中:

[0114] 过氧化氢水平 - 是指可以直接或间接确定的结肠上皮的过氧化氢水平。

[0115] 组织暴露时间 - 由结肠上皮更新速度确定。这是指上皮细胞暴露在包括过氧化氢在内的有害氢氧自由基下的时间。

[0116] 谷胱甘肽水平 - 是指结肠上皮细胞可用于中和过氧化氢的保护细胞的细胞内谷胱甘肽的数量。

[0117]  $R_{ox}$  - 一个组织或机体氧化过激水平的总体衡量。 $R_{ox}$  的值越高,患治疗性氧化组织损伤疾病的可能性越大,比如,溃疡性结肠炎。

[0118] 本文描述了确定上式每一个参数的化验。 $R_{ox}$  值可以用于评估一个个体,不管该个体是否:1) 具有进入溃疡性结肠炎诱导期的风险,2) 已进入溃疡性结肠炎的诱导期,或3) 具有进入溃疡性结肠炎的繁殖期的风险。

[0119] 和过氧化氢水平相关的化验包括:

[0120] 1. 直接或间接地衡量结肠细胞内或细胞外过氧化氢,氢氧自由基或氢氧离子的各种测试。过氧化氢可以在排泄物,直肠活体组织,以及血液中化验。过氧化氢是形成所有氢氧根(和氢氧化物)的最终共用途径,这些氢氧根(和氢氧化物)是造成组织损伤的要素。过氧化氢水平是潜在的氧化性组织损伤的一个直接的指示器。因此,任何可以增加过氧化氢的条件都将增加  $R_{ox}$  值。

[0121] 2. 直接或间接地衡量结肠谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)活性的各种测试。GPx 是降解过氧化氢的主要酶,而过氧化氢的增加将减少 GPx 的活性。

[0122] 3. 直接或间接地衡量结肠上皮细胞脂膜过氧化反应的各种测试。溃疡性结肠炎的脂过氧化反应是由结肠上皮细胞上的氢氧自由基作用引起的。

[0123] 4. 直接或间接地衡量结肠上皮细胞增值的各种测试。过氧化氢诱导结肠上皮细胞增值。这表现为结肠黑变病的存在。结肠黑变病是一种在细胞内聚集并迅速分裂的黑色脂

质色素。看上去像结肠粘膜上的黑色斑点。因此,本发明预期包括了结肠黑变病的衡量。

[0124] 5. 直接或间接地衡量结肠上皮细胞原子核 DNA 氧化作用(比如:8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG))的各种测试。过氧化氢还能够扩散进入原子核并氧化 DNA。这些氧化产物可以被测量并提供对氧化过激的判断。

[0125] 6. 直接或间接地衡量结肠上皮细胞线粒体 DNA 损伤的各种测试。过氧化氢在线粒体内产生,在破坏其他结构之前先破坏线粒体 DNA。

[0126] 7. 直接或间接地衡量蛋白质羰基团的各类测试,这是因为过氧化氢也氧化蛋白质。同时,如果蛋白质被氧化并被破坏,可以在粪便内找到紧密接头蛋白质的残留物质。紧密接头和细胞内酶类由蛋白质构成。

[0127] 8. 直接或间接地衡量结肠上皮细胞的超氧化物水平。超氧化物是过氧化物的直接先质。如果超氧化物含量提高,那么过氧化氢的含量也将提高。

[0128] 9. 直接或间接地衡量结肠上皮细胞超氧化歧化酶活性的各种测试。超氧化歧化酶是一种将超氧化物转化为过氧化氢的酶。如果其活性增加,那么过氧化氢也将增加。

[0129] 10. 直接或间接地衡量电子传递活动的各种测试。电子传递活动负责过氧化氢的生产。如果可以测得电子传递活动就可以间接都反应出过氧化氢的生产情况。电子传递活动主要负责个体基本的代谢率(BMR)。如果新陈代谢增加,电子传递活动将增加,就会产生更多的过氧化氢。

[0130] 11. 直接或间接地衡量结肠上皮细胞凋亡的各种测试。过氧化氢引起的单个细胞死亡称为细胞凋亡。这些死亡的细胞脱落进入粪便。在一个实施例中,通过粪便样本或结肠活体组织检查测出了细胞凋亡。

[0131] 暴露时间的详细化验:

[0132] 1. 结肠上皮细胞的更新周期大概为 3 天。表皮生长因子可以加速这种更新。任何情况下,如果表皮生长因子或结肠上皮细胞上的表皮生长因子受体减少,那么,结肠表皮的曝光时间和  $R_{ox}$  值将增加。老年人的表皮生长因子及其受体都会减少。因此,60 岁及 60 岁以上的人群患溃疡性结肠炎的几率也会增加。因此,表皮生长因子及其受体水平的测量将是一个有用的  $R_{ox}$  值诊断指示器。

[0133] 与谷胱甘肽相关的化验:

[0134] 1. 直接或间接地衡量存在于血液,结肠组织或粪便内的谷胱甘肽(GSH)的还原形式的水平。如果 GSH 减少,过氧化氢将以未中和的方式存在并增加。只有谷胱甘肽的还原形式可以中和过氧化氢。

[0135] 2. 直接或间接地衡量存在于血液,结肠组织或粪便内的谷胱甘肽(GSH)的氧化形式的水平。被氧化的谷胱甘肽(GSSG)是在过氧化氢被中和后产生的。如果需要清除太多的过氧化氢,那么 GSSG 就会增加。

[0136] 3. 直接或间接地衡量谷胱甘肽还原酶水平的各种测试。谷胱甘肽还原酶是一种将被氧化的谷胱甘肽(GSSG)转化为还原形式的谷胱甘肽(GSH)所必需的酶。如果这种酶的活动减少,那么过氧化氢将增加并产生一个增加了的  $R_{ox}$  值。

[0137] 4. 直接或间接地衡量 NADPH 水平的各种测试。NADPH 是一种至关重要的还原剂,它可以将电子输送给被氧化的谷胱甘肽(GSSG),这样被氧化的谷胱甘肽就可以还原回 GSH(还原的谷胱甘肽)。如果, NADPH 减少,那么过氧化氢将增加。

[0138] 5. 直接或间接地衡量 G-6-PD(葡萄糖-6-磷酸脱氢酶), H-6-PD(己糖 6 磷酸脱氢酶) 和 / 或 6-PGD(6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶) 活动的各种测试。将被氧化的谷胱甘肽 (GSSG) 恢复到有用的还原形式 (GSH) 以便谷胱甘肽中和过氧化氢, 这一过程所需要的几乎所有的 NADPH 都通过一种生物化学途径产生。磷酸戊糖途径 (PPP) (正式名称是: 磷酸己糖支路)。在 PPP 内, 两个脱氢酶专门负责产生的所有 NADPH 的生产。它们是: G-6-PD(葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 EC1. 1. 1. 49) 和 6-PGD(6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶 EC 1. 1. 1. 44)。G-6-PD(‘G’形式) 的遗传缺陷已被描述并且将导致血红细胞的溶血现象。它缺少一种正常的发生辅助酶, 这种辅助酶就是存在于人体其他细胞的 H-6-PD(己糖 6 磷酸脱氢酶“H”形式)。G 和 H 形式酶的同时存在保证了 PPP 产生正常数量的 NADPH, 只要存在第二个 NADPH 生产酶的正常活动, 6-PGD。然而, 6-PGD(6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶) 的辅助并不有效, 并且即使 6-PGD 活动减少量达到 50%, 它仍可以以一种多晶型态存在。理论上, 这可以使结肠上皮 NADPH 的总量减少多达 25%。如果 NADPH 减少, 过氧化氢就会增加, 同时  $R_{ox}$  上升, 这就是结肠受到氧化性损伤的诱因。

[0139] 6. 直接或间接地衡量顶酸盐水平的各种测试。如果结肠上皮的顶酸盐水平很低, 那么, 谷胱甘肽就会减少。这将导致过氧化氢的增加。

[0140] 7. 直接或间接地衡量半胱氨酸, 巯基丙氨酸以及谷氨酸水平的各种测试。如果谷胱甘肽生产所必需的这三种氨基酸(半胱氨酸, 巯基丙氨酸以及谷氨酸)的任何一种减少, 那么, 产生的 GSH 就更少, 而过氧化氢就会增加。

[0141] 增加和减少罹患炎症性肠道疾病的危险的相关因子已被鉴定。可以增加炎症性肠道疾病发病风险的因子包括: 压力, 酒精, 饮食以及异物代谢。因此, 本主题方法也包括改变患者的生活习惯, 这种改变既可以单独进行, 也可以配合本发明的治疗性合成物进行。

[0142] 阳性危险因子:

[0143] 直肠: 发生溃疡性结肠炎最大的危险因子是直肠的存在。在结肠的这个区域内, 众多生理参数在此结合, 这些生理参数的集中增加了产生过氧化氢和氧化性组织损伤(诱导性)的可能性。研究发现: 与邻近的小肠相比, 老鼠肠子的还原能力(抗氧化剂容量)和 GSH 合成速度急剧下降, 达到了它的远端结肠的最低水平 (Blau(布劳), 1999)。人类胃肠道的还原能力同样从胃部到小肠逐渐下降 (Roediger(勒迪格) 和 Babige(巴比格), 1997)。与肝脏的主要抗氧化酶(过氧化氢酶, 超氧化物歧化酶以及谷胱甘肽过氧化物酶)水平相比, 人体结肠的还原能力明显偏低, 分别大概达到肝脏值的 4%, 8%, 和 40% (Grisham(格里斯汉姆) 等人, 1990)。然而, 直肠表皮细胞与肝脏具有相同的酶补充, 比如, 细胞色素氧化酶, 黄嘌呤氧化酶等用于代谢外部物质包括酒精和外源性物质 (勒迪格和巴比格, 1990)。这种代谢的副产品之一就是过氧化氢, 这种物质如果过量直肠上皮就会发病。未被中和的过量过氧化氢可以扩散到细胞外空间并导致结肠上皮屏障遭受氧化性损坏, 这样它就可以增加其对内腔病菌抗原体的渗透性。能够使直肠上皮细胞内的过氧化氢含量上升的新陈代谢留在体内的任何物质是诱导溃疡性结肠炎的一个阳性危险因子。

[0144] 结肠内的病菌浓度从  $10^3$ cfu/克(盲肠内排泄物质的重量)上升到直肠内的  $10^{13}$ cfu/克。倘若屏障断裂, 占主导地位的粘膜粘性厌氧病菌浓度的大幅增加将明显地增加抗原体暴露的可能性。任何使结肠排泄物传送减慢的条件都能使病菌有更多的增值时间。这种内部内腔病菌浓度的增加是诱导溃疡性结肠炎的一个阳性危险因子。病菌的高浓度也

增加了遗传物质水平传递的可能性,包括抗菌素抗性因子和病毒性因子。

[0145] 排泄物物质也产生了大量的氧自由基,除了排泄物基质以及其他内腔物质,包括生物异源物质,毒性物质以及胆汁酸,部分是由于病菌的高浓度产生的(Owen(欧文)等人,2000;Harris(哈里斯)等人,1992)。直肠(一个排泄物仓库)内存在的这些自由基浓度的增加,能导致结肠屏障分解以及上皮受到氧化性损坏。因此,任何使结肠病菌浓度或新陈代谢增加,都可以使内腔氧自由基增加,这也是诱导溃疡性结肠炎的一个阳性因子。

[0146] 如果发生组织缺氧或突然的再氧合,直肠上皮细胞也会形成一个电子传递链,这个电子传递链可能成为产生过量过氧化氢的一个根源(Li(李)和 Jackson(杰克逊),2002)。在直肠存储排泄物的这段时间内并且直到排泄物被排泄,直肠壁都面临这侧压力,这种侧压力能够压缩脆弱的亚粘膜血管。在这段时间内,直肠上皮细胞暴露与一个相对的组织缺氧环境下,紧随这种状态的是,排泄物物质被排除后的迅速再灌注。这一缺氧和再氧合的过程增加了电子传递链的活动,并导致过氧化氢生产的增加。可以诱导和增加便秘的任何条件放大了这种效果,这也是溃疡性结肠炎进入诱导期的一个危险因子。大约有 10% 到 16% 的溃疡性结肠炎患者有排便滞留症状。而且研究人员发现缓慢的结肠传递使我们易患溃疡性结肠炎(Allison(艾利森)和 Vallance(瓦兰斯),1991;Black(布莱克)等人,1987)。

[0147] 在组织缺氧和再氧合过程中,另外一个能促进过氧化氢生产的因子是黄嘌呤氧化酶的作用(Granger(格兰杰)和 Parks(帕克斯),1983;帕克斯等人,1984;帕克斯和格兰杰,1986)。黄嘌呤氧化酶对次黄嘌呤向尿酸的转化具有催化作用,并且在这一过程中,将分子氧还原为过氧化氢。在组织缺氧过程中,由于不能获得氧,黄嘌呤氧化酶的活动被明显的减低。这种氧是次黄嘌呤向尿酸酶转化(即:氧化)时,一个电子接受辅因子所必需的。当氧气被再次引入时,增加了的酶解物负荷引起次黄嘌呤新陈代谢和过氧化氢生产增加。大小便时,便秘和排尿费力增加了结肠管道内的压力,将增加组织缺氧或再氧合对黄嘌呤氧化酶系统的影响效果,因为这增加了它的活动,并排放出过氧化氢,过氧化氢又可以增加进入溃疡性结肠炎诱导期的风险。别嘌呤,一种黄嘌呤氧化酶的抑制剂,在这些条件下,通过结肠上皮细胞可以减少过氧化氢的生产。

[0148] 压力:压力对胃肠道有严重的影响。睡眠不足的压力增加了病菌穿过肠上皮发生易位(Everson(艾佛森)和 Toth(托斯),2000)。由于粘膜屏障功能的调整作用,压力也可以激活肠道肥大细胞而且并发性增加渗透性(Soderholm(苏德毫母)等人,2002)。据报道,生理和心理压力能够导致肠生理异常,杯状细胞功能障碍,增加粘膜病菌粘性以及增加肠的可渗透性和分泌作用(苏德毫母和 Perdue(普度),2001)。

[0149] 压力还可以增加生物胺(儿茶酚胺)的循环次数,比如羟色胺,肾上腺素,降肾上腺素和多巴胺(Lechin(赖琴)等人,1996)。单胺氧化酶(EC#1.4.3.4),一种存在于线粒体外表层的酶,催化了异生胺和上述的儿茶酚胺压力激素的氧化性脱氨作用,并且在这个过程中将分子氧还原为过氧化氢(Cadenas(卡迪纳斯)和 Davies(戴维斯),2000)。这种氧化反应为: $\text{RCH}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \rightarrow \text{RCHO} + \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ 。

[0150] 因此,任何情况下,持续性压力可以增加循环型内生儿茶酚胺的浓度并增加直肠上皮细胞的过氧化氢的生产。这是进入溃疡性结肠炎诱导期的一个阳性危险因子。同样,应采取措施减少循环型内生儿茶酚胺同时减少结肠上皮细胞产生的过氧化氢,并降低直肠

上皮屏障被破坏的风险。在这点上,可乐定,一种重要的  $\alpha_2$  促效剂已被成功应用。因此,本发明的方法也预期改变患者的生活习惯和 / 或生理习惯,以减少患者的压力和 / 或压力对患者的影响。

[0151] 生物异源物质:大多数的药物氧化反应以及其他生物异源物的氧化反应都由细胞色素酶完成。一项研究表明 300 种以上的被测药物中,有 56% 的药物被存在于内质网氧化酶的细胞色素 p450 (CYP) 族所代谢 (Bertz (伯特茨) 和 Granneman (格兰奈曼), 1997)。大多数的 CYP 存在于肝脏中,但是也存在于肠内。一种典型的 CYP 催化反应是:

[0152]  $\text{NADPH} + \text{H}^+ + \text{O}_2 + \text{RH} \rightarrow \text{NADP}^+ + \text{H}_2\text{O} + \text{R-OH}$

[0153] 这一反应消耗了 NADPH,而这种物质在还原的谷胱甘肽的再生中也要使用。谷胱甘肽是细胞内过氧化氢中和反应的主要抗氧化剂。由于在 CYP 酶系统中观察到的大量个体间多晶型态现象,某些个体可能比其他个体具有更高的活性,并且可以以更快的速度代谢生物异源物质,同时在这一过程中消耗更多的 NADPH。这些个体被称为快速代谢剂。快速代谢剂如果暴露在某些药物下,那么它具有更高的诱发溃疡性结肠炎的风险。

[0154] 酒精:人体摄取酒精后,酒精会在身体的所有细胞中分布包括直肠上皮细胞。酒精通过酒精脱氢酶被酶改性地转化为乙醛。乙醛通过乙醛脱氢酶转化为乙酸。这两种细胞溶质酶使用  $\text{NAD}^+$  来氧化它们各自的酶解物并生成 NADH,正常情况下, NADH 是电子传递链的电子供体。增加的可用 NADH 可以激活电子传递链并产生过量的过氧化氢 (Hoek (霍克) 等人, 2002; Bailey (贝利), 1999)。

[0155] 酒精也可以被细胞色素 p4502E1 在内质网内代谢,这中代谢减少了谷胱甘肽再生所需要的 NADPH。因此,酒精能够生成过氧化氢应减少中和过氧化氢所需要的谷胱甘肽的生产。高度的过氧化氢已经耗尽的谷胱甘肽,增加了诱发溃疡性结肠炎的风险。

[0156] 酒精抑制谷胱甘肽过氧化酶,这是一种可以中和过氧化氢的关键性酶,并损耗线粒体的谷胱甘肽 (霍克等, 2002)。谷胱甘肽并不在线粒体内合成,而必须穿过线粒体膜从细胞质传递进入线粒体。酒精干扰了谷胱甘肽向线粒体内的有效传播 (Maher (马希儿), 1997)。这将导致线粒体内谷胱甘肽枯竭同时过氧化氢聚积。枯竭的谷胱甘肽和增加的过氧化氢增加了诱发溃疡性结肠炎的风险。因此,本发明的方法预期改变患者对酒精及其酒精类饮品的摄取。

[0157] 便秘:

[0158] 根据对大便习惯的调查,高达 20% 的人群患有便秘 (Drossman (左斯曼) 等人, 1999; Everhart (埃弗哈特) 等人, 1987)。据报告,溃疡性结肠炎患者中,有 27% 的患者伴有便秘 (Rao (拉奥), 1988)。便秘是一种普遍现象也是一种被经常忽略的现象,但是便秘对几乎任何疾病尤其是溃疡性结肠炎有很严重的加剧影响。1988 年,在意大利罗马举行的第 13 届国际肠胃病学会议上,一组医师对几种不同的功能性肠道疾病做了更精确的诊断定义,其中就包括便秘。被称为“罗马标准”,这套指导性准则概述了便秘的症状,以及应用参数,比如,频率和持续时间,以便进行更准确和更标准的便秘诊断。1999 年,修订后的第二版指导准则出版,即:罗马标准 II, (左斯曼等, 2000)。罗马标准 II 对功能性便秘的定义包括下列参数:

[0159] 在之前的 12 个月,非连续性的出现以下两种或多种症状至少 12 周:

[0160] 1. 超过 25% 的大小便会小便费力;

- [0161] 2. 超过 25% 的大小便会出现大便块状或硬质大便；
- [0162] 3. 超过 25% 的大小便会感觉排便不完整；
- [0163] 4. 超过 25% 的大小便会感觉肛门直肠阻塞或阻滞；
- [0164] 5. 超过 25% 的大小便得手工辅助来完成排便（例：数字式排泄，骨盆底支撑）；和 / 或
- [0165] 6. 每周排便少于 3 次。

[0166] 无稀便，没有充分的证据表明是肠易激综合征。

[0167] 由上所述，便面是溃疡性结肠炎的一个重要的促恶性因子。百分之二十七的溃疡性结肠炎患者伴随有便秘。便秘可以通过几种方式进入溃疡性结肠炎的诱导期。增加结肠传递次数有利于细菌增生，细菌的增生将增加抗原性刺激物，这样结肠上皮屏障再次遭到破坏。便秘还可以延长排泄物产生的氧自由基与结肠粘膜之间的接触时间，这可以使上皮内层里已经很低的抗氧化剂存储量枯竭。

[0168] 未排泄的直肠粪便物质的大量聚积可以增加直肠粘膜的侧压并瓦解脆弱的毛细血管床。这是结肠上皮再次遭受“灌注 - 再灌注”氧化损害的治病诱因。由于邻近结肠的吸收作用和谷胱甘肽枯竭导致的更进一步的恶变性氧化损害，便秘可以显著的减少到达直肠上皮的丁酸盐的数量。因此，本发明的方法预期治疗和 / 改变患者的饮食以便减轻和 / 或使便秘减到最少，以创造一种有规律的肠运动。

[0169] 饮食：

[0170] 丁酸盐：饮食因子有助于溃疡性结肠炎的诱发。结肠上皮细胞更好的能量源是四链脂肪酸，称为：丁酸盐。丁酸盐来源于两种膳食源。大多数的丁酸盐来源于未消化的膳食纤维的结肠上皮发酵作用，并且是最大的膳食纤维代谢物。第二种重要的膳食纤维来源于黄油，黄油包含有 3% 的丁酸盐。丁酸盐是一种短链脂肪酸 (SCFA)，与其他两种短链脂肪酸（醋酸盐和丙酸盐）在膳食纤维的细菌发酵中一起生成 (Topping (托品) 和 Clifton (克里夫顿)，2001)。百分之九十五的 SCFAs 在结肠内生成并被吸收。邻近的大肠内存在严重的发酵作用和 SCFA 的生产。在粪便流通过的过程中，发酵衰退为可用酶解物枯竭的次要因子。当粪便大量到达直肠的时候，少于 5% 的病菌性 SCFA 适用于结肠细胞摄取。邻近的结肠吸收作用负责这一重要的衰退。

[0171] SCFAs 被结肠细胞快速代谢，而且是主要的呼吸性营养物，供应了 70% 结肠细胞的能量需求（托品和克里夫顿，2001）。当与酶解物共存时，结肠细胞更倾向于使用丁酸盐，比如，葡萄糖，谷胱甘肽，以及存在的其他 SCFAs。

[0172] 末端结肠和直肠属于大肠，丁酸盐对它们的供应最有限，并且对丁酸盐的吸收也是最低水平的，因此，这里是最主要的发病区，包括溃疡性结肠炎。当丁酸盐的数量不足以满足结肠上皮细胞的能量需求时，一种替换性能量源就被使用，并且结肠上皮细胞将转向葡萄糖和氨基酸谷氨酰胺。

[0173] 谷氨酰胺是由它的直接先质——谷氨酸合成的。谷氨酸也被用于合成中和过氧化氢所需的谷胱甘肽。如果太多的谷氨酸作为一种能量源而转入到谷氨酰胺的形成物中，那么，适用于结肠上皮谷胱甘肽合成的谷氨酸将更少。这将导致细胞内谷胱甘肽浓度的缩减，同时过氧化氢增加。因此，膳食纤维的缺乏是进入溃疡性结肠炎诱导期的一个阳性危险因子。

[0174] 在更广的层面上,90%的丁酸盐以及其他 SCFAs 通过结肠细胞线粒体(10%在过氧化物酶体内)内的  $\beta$  氧化被代谢。干扰  $\beta$  氧化的各种情况将强制细胞使用替代能量源比如,谷氨酰胺。如果直肠上皮细胞没有足够的可用酶解物(比如:丁酸盐)  $\beta$  氧化将减少。不充分的直肠内腔丁酸盐可以与可发酵的膳食纤维的不充分摄取或者缩短的结肠传递时间(即:便秘)同时发生。在超过 50 小时的整个肠道的运转时间中,从粪便并不能检测到丁酸盐(托品和克里夫顿,2001)。

[0175] 洛迪格和楠思报告称:向老鼠直肠灌注一种特殊的  $\beta$  氧化抑制剂后,可以诱发溃疡性结肠炎(Roedinger(洛迪格),1986)。作者总结道:“一种合适的  $\beta$  氧化抑制剂畅通无阻的进入到结肠上皮细胞的线粒体内”。过氧化氢对生物膜具有渗透性,包括细胞膜以及线粒体内膜和线粒体外膜。研究显示,过氧化氢可以抑制酶类的  $\beta$  氧化酶系统(Gulati(谷拉蒂)等,1993)。在活性溃疡性结肠炎过程中,作为结肠粘膜内中性粒细胞活化结果的过氧化氢被生产出来,因此,它能够扩散返回结肠上皮细胞,这将导致对细胞内蛋白质的氧化破坏,包括  $\beta$  氧化酶。这可以解释为什么在活性溃疡性结肠炎中,丁酸盐新陈代谢会出现异常,这种症状在病症缓解后会得到解决。因此,本发明的方法也预期改变患者的饮食,以便向结肠上皮细胞提供足够的谷胱甘肽,包括,例如,向接受治疗的患者或有患溃疡性肠道病症风险的人提供足量的膳食纤维。

[0176] 脂肪:对单一性或聚合性不饱和脂肪的高摄取可以增加溃疡性结肠炎发病的风险。在油类中制做的普通食物中含有脂类过氧化物的浓缩物,或脂肪(汉堡包,炸薯条),如果与肠粘膜接触就会引起粘膜氧化过激以及氧化还原失衡(Aw,1999)。与控制脂肪饮食的小鼠相比,用高脂肪喂养的小鼠肠道产生的超氧化物量比前者要高出几倍。肠道脂类氧化物以及氢氧自由基的含量增加了 3.5 倍。肠道粘膜 DNA 破裂增加了 2.4 倍(Bagchi(巴格齐)等人,1998)。DNA 的氧化损害说明存在严重的细胞质氧化环境。高脂肪量的摄取是进入溃疡性结肠炎诱导期的一个阳性危险因子。因此,本发明的方法也预期改变患者的饮食,以减少脂肪的摄取。

[0177] 调味料:据发现,作为一种高脂饮食,辛辣食品能够对肠道粘膜产生类似的氧化过激。研究发现:喂养辛辣食品的小鼠肠道粘膜氢氧自由基的产生量比正常的小鼠要高 4.8 倍,甚至比喂养高脂肪食品的小鼠都要高(巴格齐等,1998)。辛辣食品的摄取应被认为是进入溃疡性结肠炎诱导期的一个阳性危险因子。

[0178] 肉类:据报道,一种含有大量红肉(牛肉)的食品能够增加肠道类杆菌属的数量(Maier(梅尔)等人,1974)。在摄取大量牛肉饮食后,在正常的饮食方法下,这种影响将持续数周。类杆菌属类物质已被认为是一种对溃疡性结肠炎具有刺激性的抗原剂(见上文)。

[0179] 维生素和矿物质

[0180] 叶酸:

[0181] 亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)(EC 1.5.1.20)是主要的同行同型半胱氨酸代谢调解酶之一,并且,在叶酸的新陈代谢中扮演着一个重要角色(Friedman(弗里德曼)等人,1999;Goyetter(戈维特)等人,1998)。MTHFR 是一种细胞质酶,它是 NADPH 相关的亚甲基四氢叶酸还原为甲基四氢叶酸的催化剂。甲基四氢叶酸是同型半胱氨酸甲基化的甲基供体。已发现为 MTHFR 编码的基因的变异。这种基因变异引起胞嘧啶在基础位置 677 向胸腺嘧啶转移,这一过程可以将丙氨酸在氨基酸位置 222 转化为缬氨酸(A222V)。多晶型态型 MTHFR

酶 (C677T) 的活性明显的比正常 MTHFR 要少 (正常 MTHFR 的 35-50%), 这导致血清同型半胱氨酸的含量提高 (戈维特等, 1998)。

[0182] 马哈茂德等报告称: 与 7.3% 的对照物相对, 17.5% 的溃疡性结肠炎患者是 MTHFR 基因 C677T 变体的同型结合 (Mahmud (马哈茂德) 等人, 1999)。

[0183] 同型半胱氨酸的提高将通过几种机制增加过氧化氢的生产。过氧化物是在同型半胱氨酸氧化为高胱氨酸的过程中产生的 (弗里德曼等人 1999; Upchurch (厄普丘奇) 等人, 1997)。同型半胱氨酸也可以增加超氧化歧化酶 (SOD) 的含量水平 (Wilchen (威尔卡克) 等人, 2000)。SOD 催化超氧化阴离子转化为过氧化氢。这种酶活性的增加将导致产生更多的过氧化物。据报道: 同型半胱氨酸抑制谷胱甘肽氧化物酶 (GPx) 的活性 (厄普丘奇等, 1997), 使之活性降低 10 倍 (Outinen (奥汀宁) 等人, 1999)。GPx 是中和细胞内过氧化氢的必要的酶系统。GPx 失去活性将使过氧化氢含量水平增加。研究发现, 对 GPx 的抑制在自由同型半胱氨酸的生理 (9 毫克分子 /L) 浓缩物中存在 (陈, 2000)。

[0184] 从生物地理学角度看, C677T 多晶型态变体的全球分布表明, 在溃疡性结肠炎的发病过程中, 这种调节酶的有害影响。40% 频率的 T 对偶基因被发现于美国, 但是在非洲和亚洲, 频率却很低 (The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease, 2001, 8th ed., Chapter 155, Vol. 3, pp. 3897-3993 (《遗传病的代谢和分子基础》, 2001, 第 8 版, 第 155 章, 第 3 卷, 3897-3993 页))。这就平行比较说明: 溃疡性结肠炎的发病在北美洲更普遍, 亚洲和非洲具有比较低的普遍性 (Whelan (惠兰), 1990; Farrokhar (法洛卡) 等人, 2001)。

[0185] C677T 的种族分布也说明了他在溃疡性结肠炎中所扮演的角色。瑞迪等发现: 在中欧系犹太人的对偶基因中, C677T 的比率为 47.7%, 而非犹太人的比率为 28.7% (Rady (瑞迪) 等人, 1999)。据报道, 溃疡性结肠炎在犹太人中也更普遍 (Roth (罗斯) 等人, 1989; Karlinger (卡琳格), 2000)。

[0186] 换言之, 这一 MTHFR 变体酶可以通过增加 SOD 含量水平来增加结肠上皮细胞内的过氧化氢, 使谷胱甘肽氧化物酶失去活性, 抑制谷胱甘肽合成并增加同型半胱氨酸的生产, 而在同型半胱氨酸的氧化过程中可以产生过氧化氢。MTHFR 的 C677T 变体可以以额外过氧化氢的形式提供足够的氧化过激, 以颠覆细胞平衡, 进入溃疡性结肠炎诱导过程。

[0187] 显型氧化性连同 C677T 可以产生足够的渗透性, 从而破坏某些酰基团和某些地域的人群, 表现出更高的溃疡性结肠炎发病率。因此, 多晶型态 MTHFR 的存在应被认为是进入溃疡性结肠炎诱导期的一个阳性危险因子。

[0188] 此外, 正常的叶酸新陈代谢的缺乏可以减少必需的氨基酸蛋氨酸的新陈代谢。氨基酸蛋氨酸是氨基酸半胱氨酸的一种先质。半胱氨酸是合成谷胱甘肽必需的三种缩氨酸之一。另一种谷胱甘肽的氨基酸成份是甘氨酸, 它的合成也必需有叶酸。因此, 叶酸缺乏以及叶酸新陈代谢的抑制可能会直接干扰能否生产出足量的谷胱甘肽, 并且, 通过增加过氧化氢含量水平, 有助于增加细胞内氧化过激。

[0189] 据报道: 多种维生素血清含量低, 包括叶酸, 与溃疡性结肠炎有关 (Fernandez-Banares (费尔南德斯-伯纳瑞斯) 等人, 1989; Elsborg (艾斯伯格) 和 Larsen (拉森), 1979; Koutroubakis (寇切巴凯斯) 等人, 2000)。这应归咎于饮食摄取不足, 肠道营养不良以及药物诱导 (艾斯伯格和拉森, 1979)。如上所述, 与叶酸缺乏共存易于加剧多晶型态 MTHFR 的氧化作用。实验上, 用于猴子体内的诱导性叶酸缺乏导致了溃疡性

结肠炎 (Duncan (邓肯), 1964)。

[0190] 维生素 B-6

[0191] 据报道:吡哆醇(维生素 B-6)的高摄取量可以增加溃疡性结肠炎的患病风险(Geerling(吉尔林)等人,2000)。维生素 B-6 在人体内被吡哆醇 4-氧化酶氧化,反应式为:吡哆醇+O<sub>2</sub>→吡哆醛+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。这一反应主要在肝脏内发生,但是,也可以在其他地方发生,比如:胃肠道。这一反应的一种毒性副产物就是过氧化氢。因此,过量的吡哆醇是进入溃疡性结肠炎诱导期的一个阳性危险因子。

[0192] 铁和铜:

[0193] 单一的电子还原是仅有的可以引起氢氧自由基从过氧化氢中形成的反应。电子供应剂可以是一种电子供应基,比如超氧化物(O<sub>2</sub><sup>-</sup>•),或者一种重要的生物氧化还原过度金属,比如,铁和铜(Eberhardt(艾伯哈特),2001)。这些过氧化氢的一个电子还原反应以及其他过氧化物表明:这是在生物系统内形成反应的最重要的基团,并负责生成大多数的氢氧根。

[0194]  $\text{Fe}^{+2} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{+3} + \text{HO}^- + \text{HO} \cdot$  芬顿反应

[0195]  $\text{O}_2^- \cdot + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + \text{HO}^- + \text{HO} \cdot$  哈伯-魏斯反应

[0196] 铁可以作为一种中间物质其作用并促进单一电子从超氧化物向过氧化氢的转化。铁通过催化哈伯-魏斯反应加快从过氧化氢生成氢氧根自由基(艾伯哈特,2001;Graf(格拉夫)等人,1984)。

[0197]  $\text{O}_2^- \cdot + \text{Fe}^{+3} \rightarrow \text{O}_2 + \text{Fe}^{+2}$  三价铁(Fe<sup>+3</sup>)催化

[0198]  $\text{Fe}^{+2} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{+3} + \text{HO}^- + \text{HO} \cdot$  哈伯-魏斯反应

[0199] 在细胞内,铁与生物高分子配对,比如蛋白质和 DNA。因此,氢氧根自由基的形成将与这些分子紧密接触。由于氢氧根自由基具有很强的反应性,因此,这种强力氧化剂在其生成的地点就会造成破坏(艾伯哈特,2001)。这种迅速的特定地点目标氧化将阻止自由基清除剂对这种反应的干扰,并极大地放大 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/HO• 系统的破坏作用。即使存在稳定的可用于反应的表面铁原子,过氧化物也能诱导铁从存储的蛋白质中释放出来,比如:铁蛋白和酶类。然后,这一被释放的铁通过与过氧化氢发生反应就可以产生氢氧根(Keyer(凯耶)和 Imlay(伊母利),1996;莱沃切乌和弗里德利奇,1999)。因此,在生物系统内,过氧化物能够提供稳定的供它自己使用的铁催化剂,这种铁催化剂是维持从过氧化氢中生成氢氧根所必需的。相反地,尽管过氧化物浓度最低时,过量的铁能够对组织造成伤害说明除了 O<sub>2</sub><sup>-</sup>•,当自由铁与过氧化氢开始氧化还原循环时,其他的还原剂也可以向自由铁供应电子(凯耶和伊母利,1996)。

[0200] 根据这些观察,据报道:铁增补通过氢氧根自由基的形成破坏胃肠道,并且,在实验上,将使试验动物体内的试验诱导性结肠炎恶化(Srigiridhar(斯利格里拉)等人,2001;Reifen(瑞芬)等人,2000)。据报道,人体口服硫酸亚铁用于治疗贫血,也会导致溃疡性结肠炎(Kawai(卡瓦伊)等人,1992)。相反,据报道,铁螯合用于溃疡性结肠炎患者可以减少反应性氧族物质的产生(Millar(米勒)等人,2000)。

[0201] 因此,以补品或红肉方式过量摄取的铁,可以增加(GI屏障)破坏性氢氧根自由基的产生,并促使溃疡性结肠炎从诱导期向繁殖期过度。因此,过量的铁是溃疡性结肠炎进入繁殖期的一个危险因子。

[0202] 据报道,活性溃疡性结肠炎和静态溃疡性结肠炎的患者体内铜含量比正常人的含量高(Dalekos(达勒克斯)等人,1998;Ringstad(瑞恩斯塔德)等人,1993),并且有可能成为一种有益于氢氧根自由基形成的因子。据报道,人体溃疡性结肠炎与威尔逊病有关,而且是威尔逊病的并发症,在威尔逊病中,人体组织内含有异常高的铜(Torisu(特里苏),2002)。和铁一样,过量的铜也可以加速过氧化氢的还原,并增加氢氧根自由基的形成。因此,过量的铜也应本认为是溃疡性结肠炎进入繁殖期的一个危险因子。

[0203] 维生素 C:

[0204] 维生素 C(抗坏血酸)是一种与氧基发生反应的抗氧化剂。然而,抗坏血酸基的连续反应能够产生过氧化氢,过氧化氢在存在铁和铜的情况下,能够产生氢氧根自由基(艾伯哈特,2001)。化合抗坏血酸和矿物质补足品是溃疡性结肠炎进入诱导期的一个阳性危险因子。抗坏血酸盐也能够被 L-抗坏血酸氧化酶氧化,并产生副产物过氧化氢。维生素 C 的过量摄取本身就是一个有助于诱发溃疡性结肠炎的危险因子。

[0205] 维生素 B-1:

[0206] 硫胺素(维生素 B-1)可以被硫胺素氧化酶代谢,并产生过氧化氢。过量的硫胺素是有助于进入溃疡性结肠炎诱导期的一个危险因子。

[0207] 人造甜味剂:

[0208] 人造甜味剂,比如山梨糖和木糖醇,被木糖醇氧化酶氧化,并产生过氧化氢。如果大量食用,也是诱发溃疡性结肠炎的一个危险因子。

[0209] 阿斯巴甜是一种被广泛用于许多产品的人工甜味剂,比如软饮料和烘烤产品。通常情况下,在很多餐馆我们可以看打它被装入一个蓝色小袋内与糖和糖精一起使用。阿斯巴甜是一种缩二氨酸,由两个氨基酸组成:L-苯基丙氨酸,即:甲酯(Phe)和 L-天冬氨酸(Asp)。大约百分之十的阿斯巴甜以甲醇的形式被释放。甲醇可以被甲醇氧化酶代谢为甲醛和过氧化氢。天冬氨酸被天冬氨酸氧化酶代谢并释放出过氧化氢。苯基丙氨酸被氨基酸氧化酶代谢同时释放出过氧化氢。阿斯巴甜引起的氧化过激的数量取决于摄取的阿斯巴甜的数量。由于这种产品普遍存在,所以他产生结肠上皮过氧化氢的能力可能超过了一般的蛋白质氨基酸。易患病人群摄取阿斯巴甜可能成为一个诱发病症的危险因子。

[0210] 味精:

[0211] 谷氨酸一钠(MSG)是氨基酸谷氨酸钠盐。作为一种调味品,它被广泛使用。谷氨酸被谷氨酸氧化酶代谢并释放出这一反应的副产品——过氧化氢。MSG 的氧化负荷取决于谷氨酸一钠的摄取数量。易患病人群如果摄入大量的 MSG 是进入溃疡性结肠炎诱导期的一个危险因子。

[0212] 因此,本发明的方法也预期改变患者对维生素,人造甜味剂,以及食品添加剂的摄取量水平。

[0213] 阴性危险因子(降低病症诱发危险):

[0214] 已经发现某些因子可以减少溃疡性结肠炎发病的风险。它们中,主要是吸烟,可以减低溃疡性结肠炎的发病(Abraham(亚伯拉罕)等人,2003;Odessa(澳德斯),2001)。有些研究人员已给溃疡性结肠炎贴上了不吸烟者专属疾病的标签(Madretsma(马德莱斯玛),1996)。溃疡性结肠炎最近在停止吸烟的人群中爆发(Farrell(法雷尔)和Peppercorn(皮颇科恩),2002)。

[0215] 研究表明:烟草烟雾中的焦油物质可以抑制电子传递链。烟草焦油对线粒体电子传递链的定量研究报告称,烟草焦油对整个链的呼吸作用具有 82% 的抑制率 (Pryor (普里亚) 等人,1992)。在这项研究中,尼古丁对电子传递活动没有影响。ETC 抑制作用将减少线粒体过氧化氢的产生。另据报告:吸烟者体内的单胺氧化酶减少 (Fowler (富勒) 等人,2003)。位于线粒体外膜的 MAO 是负责代谢内生性儿茶酚胺的主要酶。对这种酶的抑制,减少了几茶酚胺的酶性氧化,并且产生了这个反应的一种副产物——过氧化氢。据报道,烟草焦油提取物可以抑制大量的 P450 酶系统 (Van Vleet (范维莱特) 等人,2001)。过氧化氢是 P450 新陈代谢的一种副产物,并且抑制这些酶可以减少过氧化氢的产生。

[0216] 另据报道,香烟烟雾提取物可以抑制细胞因子的产生,包括 TNF- $\alpha$ , 抑制率达到 90% 以上 (Ouyang (欧阳) 等人,2000)。在溃疡性结肠炎中,细胞因子是炎症响应的组成部分。细胞因子的减少可对患者起到保护作用。

[0217] 因此,吸烟可以通过抑制过氧化氢的产生而形成保护,并预防进入溃疡性结肠炎的诱导期。然而,通过吸烟,在 ETC 被抑制的这段时间内,用于产生过氧化氢的酶解物一直在人体所有细胞的线粒体内聚积,包括,结肠上皮细胞。对电子传递链的抑制也导致了 ETC 的增量调节,并伴随着酶对屏障的攻击。在 ETC 被抑制的这段时间内,由于,当过氧化氢的产生很低时,细胞没有大量消耗抗氧化剂,所以,谷胱甘肽的生产也被减量调节。

[0218] 如果一个人突然停止吸烟,这种抑制也被突然移除,从而引起更剧烈的 ETC 活动,这种活动是通过增加酶解物和酶活性激活的。这也导致了额外的过氧化氢被生产出来,在易患病的人群中,这可以克服结肠上皮细胞内的可用谷胱甘肽,并增加诱发病症的危险。

[0219] 根据 ETC 抑制作用,预计主动吸烟者具有最低的诱发风险溃疡性结肠炎的。最近停止吸烟的人具有最高的诱发风险,因为它们产生了最多数量的过氧化氢。不吸烟的人具有最低的诱发风险。这在统计上反映出吸烟与溃疡性结肠炎相关的风险。

[0220] 在活性溃疡性结肠炎发病期间停止吸烟预计会加重病状。据报道,患者在活性溃疡性结肠炎期间停止吸烟,病情加重 (Beaugerie 等人,2001)。

[0221] 尼古丁是一种拟副交感神经剂并且它对胃肠道的影晌主要是通过刺激副交感神经的神经节进行的。它的影响一般是增加色调和收缩性 (National Academy of Sciences (美国国家科学院),2001)。香烟烟雾中的尼古丁可以增加肠道蠕动活动,这将引起粪便流的增加并预防粪便郁积,而粪便郁积可以增加肠道病菌和上皮氧化过激负荷。突然停滞这一结肠蠕动活动辅助剂将有利于结肠内容物的郁积并引起便秘。而便秘是溃疡性结肠炎发病的一个危险因子 (见上文“便秘”部分)。因此,本发明的方法预期通过调节,逐步停止患者吸烟。

[0222] 共病情况:

[0223] 溃疡性结肠炎可与甲状腺机能亢进并发。在一个病例报告中,两位溃疡性结肠炎患者随后出现了甲状腺机能亢进症 (Modebe (莫德波),1986)。其中的一位患者是溃疡性结肠炎的第二次恶化,在发现她患有甲状腺毒症前,她的溃疡性结肠炎一直不能得到控制。只有在控制甲状腺机能亢进症之后,对溃疡性结肠炎的治疗才有效。

[0224] 另外一项研究对 300 名记录患有溃疡性结肠炎的患者与 600 名年龄和性别匹配的正常人对照物,就甲状腺疾病发病频率进行了比较 (Jarnerot 等人,1975)。结果,3.7% 的溃疡性结肠炎患者具有甲状腺毒症的病史,而这一比例在正常人一组中只占 0.8%。百分之

七十的溃疡性结肠炎患者在患溃疡性结肠炎之前患了甲状腺机能亢进。尽管溃疡性结肠炎患者可并发甲状腺机能亢进,但是,在患者寻求溃疡性结肠炎的治疗前,不可能未发现临床症状不明显的甲状腺机能亢进症。因此,先患有甲状腺机能亢进症的溃疡性结肠炎患者的数量可能被低估了。

[0225] 结肠和甲状腺具有不同的胚胎基源,这就反驳了两种疾病具有共同病因的观点:它们具有诱发一种自动免疫性发病的共同的交叉反应性抗原刺激源。

[0226] 甲状腺激素被认为能提高新陈代谢率。它通过增加线粒体电子传递链的活动来完成这一过程(Venditti(文迪蒂)等人,2003;Goglia(戈里亚)等,2002;文迪蒂等,1997)。在超量甲状腺激素的影响下,产生了更大数量的过氧化氢,并被加速的线粒体ETC活动释放出来(文迪蒂等,2003)。

[0227] 因此,增加了的ETC活动导致人体所有细胞的细胞内产生更多的过氧化氢,包括:结肠组织。在合适的条件下,如果过量未中和的过氧化氢扩散,逃出结肠上皮细胞,这可以导致结肠上皮进入溃疡性结肠炎的诱导期。

[0228] 相反,患有实验诱导性结肠炎的动物模型被化学诱导患甲状腺机能亢进症后出现了明显的衰弱症状(Isman(伊斯曼)等人,2003;Oren(奥伦)等人,1997)。这说明:在甲状腺功能正常的情况下,产生的结构性过氧化氢是细胞主要的氧化剂负荷,并导致大量的细胞内谷胱甘肽被损耗。

[0229] 因此,本发明的方法预期使用合成物和治疗方法来控制患者体内的甲状腺激素水平。

[0230] 遗传因子:

[0231] 溃疡性结肠炎在同卵双胞胎之间的共病率为10%(Farrell和Peppercorn,2002)。这说明了环境因素的多样性及其对疾病发展的重要影响。可识别基因型的缺乏说明遗传因素是多方面的(非单一的),而且外显率不足,不足以自行引发疾病。

[0232] 换句话说,单个协同因子都不足以引发可识别致病反应,协同因子的环境暴露可能与外显率较弱的部分遗传因子共同作用,遗传因子只在10%的同卵双胞胎中重叠,导致溃疡性结肠炎的发生。

[0233] Cho等人在遗传研究中在人体1号染色体短臂发现了病理生理学上关键的传染性法氏囊病易感基因(1p36)(Cho等人,2000;Cho等人,1998)此基因点编码代表了能够对细胞内氧化还原反应产生根本性的影响的两种酶基因。

[0234] 第一种酶基因,亚甲基四氢叶酸还原酶基因(MITHER,EC1.5.1.20),有若干多态性变异表型,这些表型会干扰正常的叶酸代谢(上述)。位于1p36.3。目前大约有20%的人患有溃疡性结肠炎。这种多态酶会引起血清同型半胱氨酸升高,减少蛋氨酸和甘氨酸。这种上位性效应会抑制谷胱甘肽过氧化物酶的功能,并干扰谷胱甘肽的合成,而这两个过程对于过氧化氢的解毒作用都非常关键。这就造成正常细胞内过氧化氢升高,增加溃疡性结肠炎诱导风险。

[0235] 第二种位于1p36.3的酶基因是6-磷酸葡萄糖脱氢酶(PGD)(EC1.1.144)。PGD是磷酸戊糖途径(磷酸己糖旁路)的第二种脱氢酶,磷酸戊糖途径负责还原性辅酶II的生成。PGD催化磷酸葡萄糖酸转化为核酮糖5-磷酸,生成两个NADPH分子。为中和细胞内过氧化氢的连续生成,NADPH对于将谷胱甘肽(GSSG)还原为还原型谷胱甘肽(GSH)非常重

要。磷酸戊糖途径是减少使过氧化氢生成系统作用的 (NADPH) 等价物的主源, 比如 ATP 生成电子传递链和大部分氧化酶。没有 NADPH 再生还原型谷胱甘肽, 细胞内酶将遭受因过氧化氢过量带来的无法弥补的氧化损伤, 而且由于细胞凋亡被触发后细胞功能会在几分钟内停止。

[0236] PGD 以若干种多态形式存在, 活性下降范围在正常活性的 22% - 79%。(Davidson, 1967 ;Parr, 1967 ;Dern 等人, 1966 ;Nelson, 1982)。报告称谷胱甘肽水平的降低是由 PGD 多态酶造成的 (Capari, 2001)。这说明这两种磷酸戊糖途径中的 NADPH 生成酶的正常活性状态对正常的谷胱甘肽水平非常重要。外部因素比如抗生素, 膳食脂肪和老龄化进程也能够降低 PGD 的活性 (Ciftci, 2002 ;Tomlinson, 1998 ;Cordillo, 1991)。

[0237] PGD 多态变量能够减少生成的 NADPH 数量。在适当的条件下, 带有这种遗传多态性的个体细胞内过氧化氢的累积风险会加大, 溃疡性结肠炎诱导的风险会变高。因此, 缺乏免疫力的 PGD 活性会促进敏感个体的溃疡性结肠炎的诱导过程。

[0238] 细胞色素 P450 氧化酶是约包含 50 个具有基因差异并能代谢异源物的酶系统家族的一部分。为代谢进入体内的药物和毒素, 这种酶将把 NADPH 作为电子供体。如上所述, 再生还原型谷胱甘肽也需要 NADPH。因此, 在药物接触中, 任何具体药物的快速代谢都会消耗更多的 NADPH。NADPH 从谷胱甘肽再生转化为药物解毒作用, 能够增加细胞内过氧化氢的浓度和溃疡性结肠炎发病的风险。在外源物代谢过程中, P450 酶也会生成过氧化氢, 进一步增加氧化负荷。

[0239] 对看似正常的结肠黏膜进行研究发现谷胱甘肽合成和代谢中出现了显著的个体间酶变异 (Batist 等人, 1988)。谷胱甘肽-S- 转移酶出现 8 倍变异, 谷胱甘肽过氧化物水平 10 倍变异, 谷胱甘肽水平 16 倍变异,  $\gamma$ -谷氨酰转肽 14 倍变异,  $\gamma$ -谷氨酰半胱氨酸合成酶 5 倍变异。大量的酶变异直接或间接地影响细胞内谷胱甘肽的浓度, 而研究发现个体间细胞内谷胱甘肽浓度发生了 16 倍变异。

[0240] 报告还发现了磷酸葡萄糖脱氢酶 (EC :1. 1. 1. 44), 谷胱甘肽过氧化物酶 (EC1. 11. 119), 谷胱甘肽还原酶 (EC 1. 6. 4. 2),  $\gamma$ -谷氨酰半胱氨酸合成酶 (EC 6. 3. 2. 2), 谷胱甘肽合成酶 (EC 6. 3. 2. 3) 的种族变异和酶病。(Scriver 等人, 2001 ;Larsson 和 Anderson, 2001 ;Buetler 和 Matsumoto, 1975)。

[0241] 影响结肠谷胱甘肽浓度的遗传因子数量庞大。影响谷胱甘肽的合成、还原再生或第二阶段生物偶联能够增加细胞中的过氧化氢。没有单个因子能够改变氧化还原平衡使细胞内的过氧化物实现过量积累。但是, 在这些遗传因子的细胞迁移和适当的环境条件下, 结肠上皮细胞对细胞内生成过氧化氢的中和能力可能会被损坏, 细胞组织会进入溃疡性结肠炎的诱导阶段。

[0242] 因此, 在需要时, 发明方法还要考虑个体及变体的遗传审查, 生活方式和 / 或基于筛查结果的治疗方案的制定。

[0243] 本文提及和引用的所有专利、专利申请、临时申请和出版物, 包括所有数据及表格全部作为参考材料, 与本说明中的明确示教不具抵触性。

[0244] 下面是说明本发明实践步骤的具体实例。不应受这些实例所限。如未特别说明, 所有重量以百分比计, 所有溶剂混合比例以体积计。

[0245] 例 1- 诱导期内患者的治疗

[0246] 现已发现,如能在诱导期确认疾病,溃疡性结肠炎与许多其它疾病一样是可以预防的。由于只是很少或根本没有症状或体征表明结肠是问题的根源,而且从组织结构上及目视上结肠都处于正常状态,所以要确认诱导过程有些困难。本阶段确认病情需要高怀疑指数、肠外表现、异生物质关联、家族遗传史、溃疡性结肠炎流行病学数据和生活方式史。

[0247] 如果结肠上皮屏障具有足够穿透性使肠内免疫系统和细菌抗原长期接触,则 p-anca 抗体可能呈阳性。现已证明 p-anca 抗体主要针对普通类杆菌的表面抗原,它指示了带有后续免疫活性的结肠屏障缺口。因过氧化氢能够诱导上皮细胞增殖,故能在粪便样本中找到结肠上皮细胞周转量增加的证据。如进行结肠镜检查,还会发现上皮细胞增殖的其它证据,比如结肠黑变病 (Parli 等人,1998)。肠道活检的免疫染色法可以显示改变后的紧密联系蛋白,比如钙粘蛋白和基底膜异常。可能的话,体内传导研究将显示出正常目视结肠组织中通透性的增强。

[0248] 对于在诱导期确诊的患者,为减少结肠的氧化应激压力,可以采取改变生活方式。应停止服用所有的外源物和酒精。应逐渐停止吸烟,不可突然完全停止,即,患者在戒烟过程中应避免突然完全停止吸烟。应对便秘进行治疗。不食用快餐,采取抗氧化剂含量高(蔬菜和水果),高纤维及优质蛋白质的膳食。必要时通过心理辅导减压。

#### [0249] 例 2- 传播期内患者的治疗

[0250] 目前,几乎没有患者能在诱导期被确认患病,只有在进入传播期直肠开始出血才寻求医疗帮助。肠粘膜内的结肠中性粒细胞炎症反应无法通过诱导期使用的方法进行逆转,但为防止炎症反应完成逆转后出现再次诱导,采用这些措施是比较审慎的。

[0251] 传播期结肠炎的治疗方案可以为下列之一或一个以上:

[0252] 1. 结肠过氧化氢的中和作用。

[0253] 2. 通过结肠细菌降低中性刺激。

[0254] 3. 结肠上皮细胞脂质过氧化反应的终止。

[0255] 4. 结肠黏膜通透性的降低。

[0256] 过氧化氢的中和作用对于终止组织的持续损伤非常关键。如通过直肠灌注硫代硫酸钠可以将过氧化氢中和于水及非活性硫酸盐产品。

[0257] 结肠细菌,主要是厌氧杆菌,对中性粒细胞的刺激作用可以通过碱式没食子酸铋进行缓和,碱式没食子酸铋能够防止细菌附着于直肠上皮,有杀菌作用。

[0258] 结肠上皮细胞脂质过氧化反应的终止可以通过将 d- $\alpha$  生育酚(维生素 E)作为醋酸或琥珀酸实现。这也增加了溶液的粘性,溶液产生位阻以防止细胞因子和自由基与其靶组织的相互作用。

[0259] 最后一种方法,色甘酸钠可以阻止结肠肥大细胞,减少结肠对腔抗原的渗透性。

[0260] 这种疗法可以作为保留灌肠法每日一次。

[0261] 可以采用通过口服可乐定疗法减少仅次于压力的内源性儿茶酚胺的氧化作用。己酮可可碱具有抗炎活性,通过可以抑制 NADPH 氧化酶与细胞凋亡的中性粒细胞浸润表面的腺苷受体,己酮可可碱可以用作嘌呤能激动剂。随着生活方式的调整,这种口服治疗可以作为维持治疗继续进行,防止再次复发。

#### [0262] 例 3

[0263] 患者为 44 岁女性,自 1994 年以来患溃疡性结肠炎。初期症状出现流血。她每半年

都会出现一次流血和抽筋的症状。在没有治疗的情况下,每次病发后症状会自动减退。从2003年症状开始加剧。

[0264] 2003年10月,患者第一次接受结肠镜检查,正式确诊为溃疡性结肠炎。患者开始使用ASACOL(Medeva Pharma Schweiz AG,Switzerland)进行治疗但病情仍出现复发;复发时间更短。每三-五个月复发一次。有时非常严重,对氢化可的松灌肠治疗没有反应。随后,出现严重发病,使用ASACOL和灌肠治疗都没有效果。患者使用可的松进行治疗,几个内后有所改善,但随后又复发,症状比之前更严重。

[0265] 乙状结肠镜检查显示中度活性疾病已达到20厘米处(见图1A-1E)。此外粘膜正常,排便正常。患者接受了活组织检查和拍照。活检标本显示带有隐窝畸变,固有层单个核细胞扩增,基底浆细胞增多症和粘膜溃疡的弥漫性结肠炎,符合慢性溃疡性结肠炎状态,具有高度活跃性,发育障碍中上皮病变为阴性,并未发现巨细胞病毒。

[0266] 接受乙状结肠镜检查后,该患者开始了一日一次的灌肠治疗,本发明的灌肠治疗方案由以下几部分组成:1)40cc Rowasa(2.6gms)(美沙拉嗪)直肠悬吊术;2)5cc 钠色甘酸钠(100mg/5cc 口服浓度);3)1 摩尔酸钠 15cc(15 毫摩尔或 1.5 克);和 4)1cc 钠布地奈德(5mg/cc)。患者还开始口服 R- 二氢硫辛酸,每天两次,每次 300mg。

[0267] 在完成七天疗程后,患者表示状况改善了85%,明显改善从第四天开始。未出现痉挛、粘液,无流血现象。大便成形。病人将继续进行一周的治疗,然后进行乙状结肠镜检查。

[0268] 乙状结肠镜检查结果显示粘膜外观完全正常(见图2A-2C)。患者还接受了活检。活检标本显示了隐窝畸变,固有层单核细胞扩增,符合静态慢性溃疡性结肠炎状态。未出现活跃性炎症。发育障碍中上皮病变为阴性。

[0269] 应了解本文描述的实例及具体表现仅供解释说明之用,各修改或变更应由专业人士在此应用精神和权限以及所附声明的范围内进行。此外,文中公开的任何发明或具体实例的要素或限制条件都能与文中公开的任一和/或全部其它要素或限制条件或其它发明或具体实例相结合,所有这些结合都应考虑到但不限于此发明的范围。

#### [0270] 参考文献

[0271] Abraham, N. et al. (2003) "Is Smoking an Indirect Risk Factor for the Development of Ulcerative Colitis? An age-and Sex-Matched case-Control Study" Eur J. Gastroenterol Hepatol. 18(2):139-146.

[0272] (Abraham, N. 等. (2003) "吸烟是否是溃疡性结肠炎发病的直接危害因素? 年龄和性别匹配病例对照研究"《欧洲胃肠病与肝病杂志》18(2):139-146 页。)

[0273] Allison, M. C., Vallance, R. (1991) "Prevalence of Proximal Fecal Stasis in Active Ulcerative Colitis" Gut. 32(2):179-182.

[0274] (Allison, M. C., Vallance, R. (1991) "活动性溃疡性结肠炎近端宿便的流行"《肠道》32(2):179-182 页。)

[0275] Aw, T. (1999) "Molecular and Cellular Responses to Oxidative Stress and Changes in Oxidation-Reduction Imbalance in the Intestine" American Journal of Clinical Nutrition 70:557-565.

[0276] (Aw, T. (1999) "氧化应激的分子及细胞反应和肠道氧化还原失衡的变化"《美国临床营养学杂志》70:557-565 页。)

- [0277] Bagchi, D. et al. (1998) "Stress, Diet and Alcohol-induced Oxidative Gastrointestinal Mucosal Injury in Rats and Protection by Bismuth Subsalicylate" *J Appl Toxicol.* 18(1) :3-13.
- [0278] (Bagchi, D. 等. (1998) "压力, 饮食和酒精诱导氧化损伤鼠类胃肠黏膜恶及通过碱式水杨酸铋进行保护" 《应用毒理学杂志》18(1) :3-13 页。)
- [0279] Bailey, S. (1999) "Ethanol Stimulates The Production Of Reactive Oxygen Species At Mitochondrial Complexes I and III" *Free Radical Biology & Medicine* 27(7-8) :891-900.
- [0280] (Bailey, S. (1999) "乙醇刺激线粒体复合物 I 和 III 活性氧簇的生成" 《自由基生物学和医学》27(7-8) :891-900 页。)
- [0281] Basit, A., Bloor, J. (2003) "Perspective on Colonic Drug Delivery" *Pharmatech*, pp. 185-190, ed. Business Briefings Ltd., London.
- [0282] (Basit, A., Bloor, J. (2003) "关于结肠给药" 《制药技术杂志》*Pharmatech*, 185-190 页, ed. 商务简报有限公司, 伦敦。)
- [0283] Batist, G. et al. (1988) "Interindividual Variation in Phase II Detoxification Enzymes in Normal Colon Mucosa" *Biochemical Pharmacology* 37(21) :4241-4243.
- [0284] (Batist, G. 等. (1988) "正常结肠黏膜第二相解毒酶的个体间变异" 《生化制药技术杂志》*Biochemical Pharmacology* 37(21) :4241-4243。)
- [0285] Beaugerie, L. et al. (2001) "Impact of Cessation of Smoking on the Course of Ulcerative Colitis" *Am J Gastroenterol.* 96(7) :2113-2116.
- [0286] (Beaugerie, L. 等. (2001) "溃疡性结肠炎患病期戒烟产生的影响" 《美国肠病学杂志》96(7) :2113-2116。)
- [0287] Benson, K. W., Barger, J. (1939) "Fecal Impaction" *Am. J. M. Sc.* 198 :541-545.
- [0288] (Benson, K. W., Barger, J. (1939) "粪便嵌塞" 美国乔治亚医学院 *Am. J. M. Sc.* 198 :541-545 页。)
- [0289] Bertz, J., Granneman, G. R. (1997) "Use of In-Vitro and In-Vivo data to estimate the likelihood of Metabolic Pharmacokinetic Interactions" *Clinical Pharmacokinetics* 32(3) :210-258.
- [0290] (Bertz, J., Granneman, G. R. (1997) "体内体外数据在预测代谢动力交互可能性中的应用" 《临床药物代谢动力学》32(3) :210-258 页。)
- [0291] Bilotta, J. J., Waye, J. D. (1989) "Hydrogen peroxide enteritis: the "snow white" sign" *Gastrointest Endosc Sep-Oct*, 35(5) :428-430.
- [0292] (Bilotta, J. J., Waye, J. D. (1989) "过氧化氢肠炎: "白雪公主" 征兆" 《胃肠内镜杂志》九月 - 十月, 35(5) :428-430 页。)
- [0293] Black, D. A. et al. (1987) "Transit Time in Ulcerative colitis" *Scand J. Gastroenterol.* 22 :872-876.
- [0294] (Black, D. A. 等. (1987) "溃疡性结肠炎的渡越时间" 《斯堪的纳维亚胃肠病学杂志》22 :872-876 页。)

- [0295] Blau, S. (1999) "Differences in the Reducing power along the rat GI tract : Lower antioxidant capacity of the colon" *Molecular and Cellular Biochemistry* 194 :185-191.
- [0296] (Blau, S. (1999) "大鼠肠道能力降低的差异 : 结肠抗氧化能力的降低" 《分子和细胞生物化学杂志》194 :185-191 页。)
- [0297] Blaut, M. (2000) "Assessment of bacteria in the gut microbial ecosystem" In : *Intestinal flora. European Concerted Action* ;Chapter 2, pp. 1-3.
- [0298] (Blaut, M. (2000) "肠道微生物生态系统中的细菌评估": 肠道菌群。欧洲协动计划 ;第二章, 1-3 页。)
- [0299] Boveris, A., Cadenas, E. (2000) "Mitochondrial Production of Hydrogen Peroxide Regulation by Nitric Oxide and the Role of Ubisemiquinone" *Life* 50 : 245-250.
- [0300] (Boveris, A., Cadenas, E. (2000) "通过一氧化氮和泛半醌的作用实现过氧化氢管理中线粒体的生成" 《生活杂志》*Life* 50 :245-250 页。)
- [0301] Boveris, A., Oshino, N., Chance, B. (1972) "The cellular production of hydrogen peroxide" *Biochem J.* 128 :617-630.
- [0302] (Boveris, A., Oshino, N., Chance, B. (1972) "过氧化氢的细胞生成" 《生物化学杂志》128 :617-630。)
- [0303] Boveris, A., Chance, B. (1973) "The mitochondrial generation of hydrogen peroxide" *Biochem. J.* 134 :707-716.
- [0304] (Boveris, A., Chance, B. (1973) "过氧化氢的线粒体生成" 《生物化学杂志》134 : 707-716。)
- [0305] Brunner, L. S., Suddarth, D. S. (1980) "Perioperative Management of the Surgical Patient" In *Textbook of Medical Surgical Nursing*, 4<sup>th</sup> ed., Lippincott, Philadelphia, p. 358.
- [0306] (Brunner, L. S., Suddarth, D. S. (1980) 《医学外科护理教科书》 第四版, Lippincott, 费城, 358 页。)
- [0307] Buetler, E., Matsumoto, F. (1975) "Ethnic Variation in Red Cell Glutathione Peroxidase activity" *Blood* 46(1) :103-110.
- [0308] (Buetler, E., Matsumoto, F. (1975) "红细胞谷胱甘肽过氧化物酶活性的种族变异" 《血液杂志》46(1) :103-110。)
- [0309] Cadenas, E., Davies, J. A. Kelvin (2000) "Mitochondrial Free Radical Generation, Oxidative Stress, and Aging" *Free Radica Biology & Medicine* 29(3-4) : 222-230.
- [0310] (Cadenas, E., Davies, J. A. Kelvin (2000) "线粒体自由基生成、氧化应激和老化" 《自由基生物学和医学》29(3-4) :222-230。)
- [0311] Capari, P. et al. (2001) "6-Phosphogluconate Dehydrogenase deficiency in an Italian Family" *Ann Hematol* 80 :41-44.
- [0312] (Capari, P. 等. (2001) "意大利家庭案例的 6- 磷酸葡萄糖脱氢酶缺乏症", 德国

Ann Hemato 杂志 80 :41-44。)

[0313] Carpenter,H. A. (2000)“The importance of Clinicopathological Correlation in theDiagnosis of Inflammatory Conditions of the Colon :Histological Patterns WithClinical Implications”American Journal of Gastroenterology 95(4) :878-896.

[0314] (Carpenter,H. A. (2000)“临床病理相关性在结肠炎症诊断中重性 :临床组织学模式”《美国胃肠病学杂志》95(4) :878-896。)

[0315] Chance, B. , Sies, H. , Boveris, A. (1979) “Hydroperoxide Metabolism in MammalianOrgans”Physiological Reviews 59(3) :527-605.

[0316] (Chance, B. , Sies, H. , Boveris, A. (1979) “哺乳动物器官的过氧化氢代谢”《生理学评论》59(3) :527-605。)

[0317] Chen,S. ,Schopfer,P. (1999)“Hydroxyl radical production in physiological reactions”Eur. J. Biochem 260 :726-735.

[0318] (Chen, S. , Schopfer, P. (1999) “生理反应中羟自由基的生成”《欧洲生物化学杂志》260 :726-735。)

[0319] Chen, N. (2000) “Physiologic Concentrations of Homocysteine Inhibit the Human plasmaGSH peroxidase that Reduces Organic Hydroperoxides”J. Lab. Clin. Med. 136(1) :58-65.

[0320] (Chen,N. (2000) “型半胱氨酸的生理浓度抑制减少有机过氧化氢的人体血浆谷胱甘肽过氧化酶”《实验室临床医学杂志》136(1) :58-65。)

[0321] Ciftci, M. et al. (2002) “Effects of Some Drugs on Rat Erythrocyte 6-PhosphogluconateDehydrogenase :An In Vitro and In Vivo Study”Polish J. Pharmacol. 54(3) :275-280.

[0322] (Ciftci, M. 等. (2002) “部分药物对大鼠红细胞 6- 磷酸葡萄糖脱氢酶 :体内体外研究”《波兰药理学杂志》54(3) :275-280。)

[0323] Cho et al. (1988) “Identification of Novel Susceptibility Loci For Inflammatory BowelDisease on Chromosomes 1p,3q and 4q:Evidence for epistasis between 1p andIBD1”Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95 :7502-7507.

[0324] (Cho 等. (1988) “炎症性肠病在染色体 1p,3q 和 4q 上新异感位点的识别”《美国国家科学院院刊》95 :7502-7507。)

[0325] Cho et al. (2000) “Linkage and Linkage Disequilibrium in Chromosome band 1p36 inAmerican Chaldeans With Inflammatory Bowel Disease”Human MolecularGenetics 9(9) :1425-1432.

[0326] (Cho 等. (2000) “美国迦勒炎症性肠病染色体带 1p36 部分的连锁和连锁不平衡”《人类分子遗传学》9(9) :1425-1432。)

[0327] Dalekos, G. N. et al. (1998) “Zinc, Copper and Immunological Markers in the Circulationof Well Nourished Patients With Ulcerative Colitis”Eur J. GastroenterolHepatol. 10(4) :331-337.

[0328] (Dalekos,G. N. 等. (1998) “营养充分的溃疡性结肠炎患者体内流通的锌、铜及免疫标记”《欧洲胃肠病与肝病学杂志》10(4) :331-337。)

- [0329] Davidson, R. (1967) "Electrophoretic Variants of Human 6-phosphogluconatedehydrogenase:Population and Family Studies and Description of a New Variant" *Ann. Hum. Genet.* 30 :355-361.
- [0330] (Davidson, R. (1967) "人类 6-磷酸葡萄糖脱氢酶的电泳变量:人口和家庭研究及新变异介绍"《人类遗传学杂志》30 :355-361。)
- [0331] Davies, J. A. Kelvin. (2000) "Oxidative Stress, Antioxidant Defenses, and DamageRemoval, Repair, and Replacement Systems" *Life* 50 :279-289.
- [0332] (Davies, J. A. Kelvin. (2000) "氧化应激、抗氧化防御和损害清除、修复、替换系统"《生活杂志》*Life* 50 :279-289。)
- [0333] Dern, J. et al. (1966) "Hereditary Variation of Erythrocytic 6-phosphogl uconatedehydrogenase" *J. Lab & Clin Med.* 67(2) :255-264.
- [0334] (Dern, J. 等. (1966) "红细胞 6-磷酸葡萄糖脱氢酶的遗传变异"实验室及临床和医学杂志 67(2) :255-264。)
- [0335] Drossman, D. et al. (1999) "U. S. Householder Survey of Functional Gastroi ntestinalDisorders" *Digestive Diseases and Sciences* 38(9) :1569-1580.
- [0336] (Drossman, D. 等. (1999) "美国家庭功能性胃肠疾病调查"《消化系统疾病与科学》38(9) :1569-1580。)
- [0337] Drossman, D. et al. (2000) "Rome II. The Functional Gastrointestinal Disorders :diagnosis,pathophysiology,and treatment :amultinational consensus" In TheFunctional Gastrointestinal Disorders, 2nd ed., McLean VA. Degnan Associates.
- [0338] (Drossman, D. 等. (2000) "罗马 II :功能性胃肠疾病 :诊断、病理、治疗 :多国共识"《功能性胃肠疾病》, 第二版., McLean VA. Degnan 协会。)
- [0339] Duncan, G. (1964) "Folic Acid (Folacin)" In Diseases of Metabolism-Detailed Methodsof Diagnosis and Treatment, 5th ed., pp 614-618, W. B. Saunders Company, Philadelphia and London.
- [0340] (Duncan, G. (1964) "叶酸"《代谢疾病——诊断和治疗的具体方法》, 第五版, 614-618 页, W. B. Saunders 公司, 费城, 伦敦。)
- [0341] Eaton, J. W., Ma, M. (1995) "Acatlasemia" In The Metabolic and Molecular Basis ofInherited Disease, 7th ed., Chapter 74, eds. Scriver et al., pp. 2371-2379, McGraw-Hill Medical Publishing Division.
- [0342] (Eaton, J. W., Ma, M. (1995) "血过氧化氢酶缺乏症"《遗传性疾病的代谢和分子基础中》第七版., 第 74 单元, Scriver 等编辑., 2371-2379 页, McGraw-Hill 医疗出版公司。)
- [0343] Eaton, J. W., Qian, M. (2002) "Molecular Bases of Cellular Iron Toxicity" *Free RadicalBiology & Medicine* 32(2) :833-840.
- [0344] (Eaton, J. W., Qian, M. (2002) "细胞的铁毒性的分子基础"《自由基生物学和医学杂志》32(2) :833-840。)
- [0345] Eberhardt, M. K. et al. In Reactive Oxygen Metabolites-Chemistry and MedicalConsequences, 2001, pp. 23, 51, 63, 64, 81, 118, 125, 262, CRC Press.

- [0346] (Eberhardt, M. K. 等. 活性氧代谢产物的化学和医疗结果, 2001, 23, 51, 63, 64, 81, 118, 125, 262 页 CRC 出版社。)
- [0347] Elsborg, L., Larsen, L. (1979) "Folate Deficiency in Chronic Inflammatory Bowel Disease" *Scand J. Gastroenterology* 14(8) :1019-1024.
- [0348] (Elsborg, L., Larsen, L. (1979) "慢性炎症性肠病的叶酸缺乏症"《斯堪的纳维亚胃肠病学杂志》14(8) :1019-1024。)
- [0349] Everhart, J., et al. (1987) "A Longitudinal Survey of Self-Reported Bowel Habits in the United States" *Digestive Diseases and Sciences* 34(8) :1153-1162.
- [0350] (Everhart, J., 等. (1987) "美国自我报告排便习惯纵向调查"《消化系统疾病与科学》34(8) :1153-1162。)
- [0351] Everson, C., Toth, L. (2000) "Systemic bacterial invasion induced by sleep deprivation" *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp Physiol.* 278 :R905-R916.
- [0352] (Everson, C., Toth, L. (2000) "睡眠不足引发的系统性细菌入侵"《美国生理学杂志》*Am. J. Physiol.*) 《美国生理学杂志 : 调节、整合与比较生理学》278 :R905-R916。)
- [0353] Farrell, J. F., Peppercorn, M. (2002) "Ulcerative colitis" *The Lancet* 359 : 331-340. (Farrell, J. F., Peppercorn, M. (2002) "溃疡性结肠炎"《柳叶刀杂志》359 : 331-340。)
- [0354] Farrokhar, F. et al. (2001) "A Critical Review of Epidemiological Studies in Inflammatory Bowel Disease" *Scand J. Gastroenterology* 36(1) :2-15.
- [0355] (Farrokhar, F. 等. (2001) "炎症肠道疾病流行病学研究的重要述评"《斯堪的纳维亚胃肠病学杂志》36(1) :2-15。)
- [0356] Fernandez-Banares, F. et al. (1989) "Vitamin Status in Patients with Inflammatory Bowel Disease" *Am. J. Gastroenterol.* 84(7) :744 :748.
- [0357] (Fernandez-Banares, F. 等. (1989) "炎症肠道疾病患者的维他命状态"《美国胃肠病学杂志》84(7) :744 :748。)
- [0358] Fowler, J. S. et al. (2003) "Monoamine Oxidase and Cigarette Smoking" *NeuroToxicology* 24(1) :75-82.
- [0359] (Fowler, J. S. 等. (2003) "单胺氧化酶与吸烟"《神经毒理学杂志》24(1) :75-82。)
- [0360] Fridovich, I. (1998) "Oxygen Toxicity : A Radical Explanation" *J. of Experimental Biology* 201 :1203-1209.
- [0361] (Fridovich, I. (1998) "氧中毒 : 基本说明"《实验生物学杂志》201 :1203-1209。)
- [0362] Friedman, F. et al. (1999) "A Common Mutation A1298C in Human Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene : Association with Plasma Gene : Association with Plasma Total Homocysteine and Folate Concentrations" *J. Nutr.* 129 :1656-1661.
- [0363] (Friedman, F. 等. (1999) "人类亚甲基四氢叶酸还原酶基因中的常见突变 A1298C : 与离子基因相关 : 与血浆总同型半胱氨酸和叶酸浓度的相关性"《营养学杂志》129 : 1656-1661。)
- [0364] Geerling, B. J. et al. (2000) "Diet as a Risk factor For the Development

of UlcerativeColitis”Am J Gastroenetrology 95(4) :1008-1013.

[0365] (Geerling, B. J. 等. (2000) “溃疡性结肠炎发展中的膳食危险因素”《美国胃肠病学杂志》95(4) :1008-1013。)

[0366] Goglia, F. et al. (2002) “Thyroid Hormones and Mitochondria”Bioscience Reports22(1) :17-29.

[0367] (Goglia, F. 等. (2002) “甲状腺激素和线粒体”《生物科学报告》22(1) :17-29。)

[0368] Gordillo, E. et al. (1991) “Implication of Lysine Residues in the Loss of 6-Phosphogluconate Dehydrogenase Activity in Aging Human Erythrocytes”Mechanisms of Ageing and Development 59(3) :291-297.

[0369] (Gordillo, E. 等. (1991) “人体红细胞老化中 6-磷酸葡萄糖脱氢酶活性缺乏中赖氨酸残留物的影响”《老龄化机制与发展》59(3) :291-297。)

[0370] Goyette, P. et al. (1998) “Gene Structure of Human and MouseMethylenetetrahydrofolate Reductase(MTHFR)”Mamalian Genome 9 :652-656.

[0371] (Goyette, P. 等. (1998) “人类及鼠类亚甲基四氢叶酸还原酶基因 (MTHFR) 的基因结构”《哺乳动物基因组》9 :652-656。)

[0372] Graf, E. et al. (1984) “Iron-Catalyzed Hydroxyl Radical Formation”The Journal ofBiological Chemistry 259(6) :3620-3624.

[0373] (Graf, E. 等. (1984) “铁催化羟自由基的形成”《生物化学杂志》259(6) :3620-3624。)

[0374] Granger, D, Parks, D. (1983) “Role of Oxygen Radicals in the Pathogenesis of IntestinalIschemia”The Physiologist 26(3) :159-164.

[0375] (Granger, D, Parks, D. (1983) “氧自由基在肠缺血发病机制中的作用”《生理学家杂志》26(3) :159-164。)

[0376] Grisham, B. et al. (1990) “Oxidant Defense Mechanisms in the Human Colon”Inflammation 14(6) :669-680.

[0377] (Grisham, B. 等. (1990) “人体结肠的氧化防御机制”《炎症》14(6) :669-680。)

[0378] Gulati, S., et al. (1993) “Alterations of peroxisomal function in ischemia-reperfusioninjury of rat kidney”Biochimica et Biophysica Acta 1182(3) :291-298.

[0379] (Gulati, S., 等. (1993) “大鼠肾脏缺血再灌注损伤中过氧化物酶体功能的改变”《生物化学与生物物理学学报》1182(3) :291-298。)

[0380] Guyton, A., Hall, J. (1997) “Functional Organization of the Human Body and Control ofthe ‘Internal Environment’”In Human Physiology and Mechanisms of Disea, 6th edition, Chapter 1, page 3, W. B Saunders Company.

[0381] (Guyton, A., Hall, J. (1997) “人体机能组织和‘内部环境’控制”《人体生理学和疾病机理》第六版, 第一章, 第 3 页, W. B Saunders 公司。)

[0382] Han, D., Williams, E., Cadenas, E. (2001) “Mitochondrial respiratory chain-dependentgeneration of superoxide anion and its release into the intermembrane space”Biochem. J. 353 :411-416.

- [0383] (Han, D., Williams, E., Cadenas, E. (2001) “超氧阴离子的线粒体呼吸链依赖生成及其在线粒体膜间隙的释放”《生物化学杂志》353 :411-416。)
- [0384] Harris, M. et al. (1992) “Free Radicals and Other Reactive Oxygen Metabolites in Inflammatory Bowel Disease :Cause, Consequence or Epiphenomenon ? ”Pharmac Ther 53 :375-408.
- [0385] (Harris, M. 等. (1992) “炎症肠道疾病的自由基和其它活性氧代谢产物 :结果及伴随现象。”《制药理论》53 :375-408。)
- [0386] Hendrickson, B. A. (2002) “Clinical Aspects and Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease”Clinical Microbiology Reviews 15(1) :79-94.
- [0387] (Hendrickson, B. A. (2002) “炎症肠道疾病的临床方面和病理生理学”《临床微生物学评论》15(1) :79-94。)
- [0388] Hoek J. et al. (2002) “Alcohol and mitochondria :A Dysfunctional Relationship”Gastroenterology 122 :2049-2063.
- [0389] (Hoek J. 等. (2002) “酒精和线粒体 :功能失调的关系”《肠胃病学》122 :2049-2063。)
- [0390] Huycke, M. M. et al. (2002) “Enterococcus Faecalis Produces Extracellular Superoxide and Hydrogen Peroxide That Damages Colonic Epithelial Cell DNA”Carcinogenesis 23(3) :529-536.
- [0391] (Huycke, M. M. 等. (2002) “损坏结肠上皮细胞的 DNA 的粪肠球菌生成细胞外超氧化物歧化和过氧化氢”《癌变》23(3) :529-536。)
- [0392] Huycke, M. M., Moore, D. R. (2002) “In Vivo Production of Hydroxyl Radical by Enterococcus Faecalis Colonizing the Intestinal Tract Using Aromatic Hydroxylation”Free Radical & Medicine 33(6) :818-826.
- [0393] (Huycke, M. M., Moore, D. R. (2002) “利用芳香羟化使粪肠球菌殖于肠道实现体内羟自由基的生成”《自由基与医学》33(6) :818-826。)
- [0394] Huycke, M. M. et al. (2001) “Extracellular Superoxide Production by Enterococcus Faecalis Requires Demethylmenaquinone and is Attenuated by Functional Terminal Quinol Oxidases”Molecular Microbiology 42(3) :729-740.
- [0395] (Huycke, M. M. 等. (2001) “通过粪肠球菌实现的细胞外超氧化物歧化生成需要去甲基甲基萘醌且通过功能终端苯二酚氧化酶减弱”《分子微生物学》42(3) :729-740。)
- [0396] Isman et al. (2003) “Methimazole-Induced Hypothyroidism in Rats Ameliorates Oxidative Injury in Experimental Colitis”Journal of Endocrinology 177 :471-476.
- [0397] (Isman 等. (2003) “甲巯咪唑所致大鼠甲状腺功能减退症改善实验性结肠炎的氧化损伤”《内分泌学杂志》177 :471-476。)
- [0398] Jarnerot, G. et al. (1975) “The Thyroid In Ulcerative Colitis and Crohn's Disease”Acta Med. Scand. 197 :83-87.
- [0399] (Jarnerot, G. 等. (1975) “溃疡性结肠炎和克罗恩病的甲状腺状况”《期堪地那维亚医学期刊》197 :83-87。)

- [0400] Karlinger, K. (2000) "The Epidemiology and the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease" *Eur. J Radiol.* 35(3) :154-167.
- [0401] (Karlinger, K. (2000) "炎性肠道疾病的流行病学及发病机制"《欧洲放射学杂志》35(3) :154-167。)
- [0402] Kawai, M. et al. (1992) "A Case of Ulcerative Colitis Induced By Oral Ferrous Sulfate" *Acta Paediatr Jpn.* 34(4) :476-478.
- [0403] (Kawai, M. 等. (1992) "由口服硫酸亚铁诱导的溃疡性结肠炎案例"《日本儿科学杂志》. 34(4) :476-478。)
- [0404] Kehrer, James P. (2000) "The Haber-Weiss Reaction and Mechanisms of Toxicity" *Toxicology* 149 :43-50.
- [0405] (Kehrer, James P. (2000) "哈伯魏斯反应和毒性机制"《毒理学》149 :43-50。)
- [0406] Keyer, K., Imlay J. (1996) "Superoxide accelerates DNA damage by elevating free iron levels" *Proc. Nat' l Acad. Sci. USA* 93 :13635-13640.
- [0407] (Keyer, K., Imlay J. (1996) "过氧化物加速由游离铁升高水平造成的 DNA 损伤"《美国国家科学院院刊》93 :13635-13640。)
- [0408] Koutroubakis, I. E. (2000) "Hyperhomocysteinemia in Greek Patients with Inflammatory Bowel Disease" *Digestive Diseases and Sciences* 45(12) :2347-2351.
- [0409] (Koutroubakis, I. E. (2000) "希腊炎性肠道疾病患者的同型半胱氨酸血症"《消化系统疾病与科学》45(12) :2347-2351。)
- [0410] Larsson, A., Anderson, M. (2001) "Glutathione Synthetase Deficiency and Other Disorders of the  $\gamma$ -Glutamyl Cycle" In The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, 8th edition, Chapter 96, ed. Scriver et al. pp. 2205-2215, McGraw-Hill Medical Publishing Division.
- [0411] (Larsson, A., Anderson, M. (2001) "谷胱甘肽合成酶缺乏症和  $\gamma$ -谷氨酰循环的其它疾病"《遗传疾病的代谢和分子基础》第 8 版, 第 96 章, Scriver 等编辑。2205-2215 页, McGraw-Hill 医学出版公司。)
- [0412] Lechin, F. et al. (1996) "Stress vs. Depression" *Prog. Neuro-Psychopharmacol. & Biol. Psychiat.* 20 :899-950.
- [0413] (Lechin, F. 等. (1996) "压力和抑郁症"《神经-精神药理学 & 生物精神病学刊》20 :899-950。)
- [0414] Li, C., L., Jackson, R. (2002) "Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury" *Am. J Physiol Cell Physiol.* 282 ;C227-C241.
- [0415] (Li, C., L., Jackson, R. (2002) "细胞缺氧-复氧损伤的活性物种机制"《美国细胞生理学杂志》282 ;C227-C241。)
- [0416] Liochev S., Fridovich I. (1999) "Superoxide and Iron: Partners in Crime" *Life* 48 :157-161.
- [0417] (Liochev S., Fridovich I. (1999) "过氧化物和铁: 犯罪伙伴"《生活杂志》48 : 157-161。)
- [0418] Liu, S. S. (1997) "Generating, partitioning, targeting and functioning of

superoxide in mitochondria” Biosci. Rep. 17 :259-272.

[0419] (Liu, S. S. (1997) “线粒体中过氧化物的生成、分区、目标和功能”《生物科学报告》17 :259-272。)

[0420] Madretsma, S. (1996) “In-vivo Effect of Nicotine on Cytokine Production by Human Non-adherent Mononuclear Cells” Eur J. Gastroenterol Hepatol. 8(10) : 1017-1020.

[0421] (Madretsma, S. (1996) “尼古丁对人体非贴壁层单个核细胞因子生成的体内影响”《欧洲胃肠病与肝病杂志》8(10) :1017-1020。)

[0422] Mahmud, N. et al. (1999) “Increased Prevalence of Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T Variant in Patients with Inflammatory Bowel Disease and its Clinical Implications” Gut 45(3) :389-394.

[0423] (Mahmud, N. 等. (1999) “炎性肠道疾病患者体内增加的亚甲基四氢叶酸还原酶 C677T 变异及其临床影响”《肠道》Gut 45(3) :389-394。)

[0424] Maier, et al. (1974) “Effects of a High Beef Diet in Bowel Flora : A preliminary Report” The Am. J. Of Clin. Nutrition 27 :1470-1474.

[0425] (Maier, 等. (1974) “大量食用看法用对肠道菌群的影响 : 初步报告”《美国临床营养学杂志》27 :1470-1474。)

[0426] “Management of Ulcerative Colitis” National Guidelines Clearinghouse <http://www.ngc.gov> (comprehensive database of evidence-based clinical practice guidelines).

[0427] (“溃疡性结肠炎的管理”国家临床指南交换中心 : <http://www.ngc.gov> (循证临床实践指南的综合数据库)。)

[0428] Meyer, C. T. et al. (1981) “Hydrogen peroxide colitis : A report of three patients” J Clin Gastroenterol 3(1) :31-35.

[0429] (Meyer, C. T. 等. (1981) “过氧化氢结肠炎 : 三位患者的报告”《临床肠胃病学杂志》3(1) :31-35。)

[0430] Meyers, S., Janowitz, H. D. (1989) “The “Natural History of Ulcerative Colitis : An Analysis of the Placebo Response” J. Clin. Gastroenterol 11(1) :33-37.

[0431] (Meyers, S., Janowitz, H. D. (1989) “溃疡性结肠炎的自然史 : 安慰剂反应分析”《临床肠胃病学杂志》11(1) :33-37。)

[0432] Millar, A. D. et al. (2000) “Effects of Iron and Iron Chelation In Intro on Mucosal Oxidant Activity in Ulcerative Colitis” Aliment Pharmacol Ther. 14(9) : 1163-1168.

[0433] (Millar, A. D. 等. (2000) “铁和铁螯合剂对溃疡性结肠炎粘膜氧化活性的影响”《食物药理学理论》14(9) :1163-1168。)

[0434] Mitochondria in Pathogenesis. Kluwer Academic/Plenum Publishers. Lemasters J., Nieminen A. 2001, pp. 281-284, 286.

[0435] (线粒体的发病机制 Kluwer 学术出版社 / Plenum 出版公司. Lemasters J., Nieminen A. 2001, 281-284, 286 页。)

- [0436] The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. (2001) 8<sup>th</sup> ed., p. 4650. (《遗传疾病的代谢及分子基础》(2001) 第 8 版., 4650 页。)
- [0437] The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, Chapter 155, 8<sup>th</sup> ed., Vol. 3, pp. 3897-3993.
- [0438] (《遗传疾病的代谢及分子基础》第 155 章, 第 8 版, 第 3 卷, 3897-3993 页。) Modebe, O. (1986) “Autoimmune Thyroid Disease With Ulcerative Colitis” *Postgraduate Medical Journal* 62 :475-476.
- [0439] (Modebe, O. (1986) “溃疡性结肠炎引起的自身免疫性甲状腺疾病”《研究生医学杂志》62 :475-476。)
- [0440] Nelson, M. S. (1982) “Biochemical and Genetic Characterization of the Lowell Variant. A New Phenotype of 6-phosphogluconate Dehydrogenase” *Human Genetics* 62 :333-336.
- [0441] (Nelson, M. S. (1982) “Lowell 变异的生物和遗传特征。6-磷酸葡萄糖脱氢酶的表现型”《人类遗传学》62 :333-336。)
- [0442] “Nicotine Pharmacology” In Clearing the Smoke: Assessing the Science Base for Tobacco Harm Reduction, 2001, The National Academy of Sciences, Chap. 9 pp. 243 and 267, <http://www.nap.edu/openbook/0309072824/html/index.html>.
- [0443] (“尼古丁药理学”《禁烟:减少烟草危害的科学基础评估》2001, 国家科学院第 9 章, 243 和 267 页, <http://www.nap.edu/openbook/0309072824/html/index.html>。)
- [0444] Odes, H. S. et al. (2001) “Effects of Current Cigarette Smoking on Clinical Course of Crohn’s Disease and Ulcerative Colitis” *Digestive Diseases and Sciences* 46(8) :1717-1721.
- [0445] (Odes, H. S. 等. (2001) “目前吸烟对克罗恩病和溃疡性结肠炎临床过程的影响”《消化系统疾病和科学》46(8) :1717-1721。)
- [0446] O’Donnell, V., Azzi, A. (1996) “High Rates of Extracellular Superoxide Generation by Cultured Human Fibroblasts: Involvement of A Lipid-Metabolizing Enzyme” *Biochem Journal* 318 :805-812.
- [0447] (O’Donnell, V., Azzi, A. (1996) “由人工培养的人类纤维细胞实现的细胞外超氧化物的高生成率: 甲脂代谢酶的参与”《生化杂志》318 :805-812。)
- [0448] Oren, R. et al. (1997) “Anti-thyroid Drugs Decrease Mucosal Damage in a Rat Model of Experimental Colitis” *Aliment Pharmacol. Ther.* 11(2) :341-345.
- [0449] (Oren, R. 等. (1997) “抗甲状腺药物降低大鼠案例中实验性结肠炎的粘膜损伤”《食物药理学理论》11(2) :341-345。)
- [0450] Owen, RW. et al. (2000) “Generation of Reactive Oxygen Species by the Faecal Matrix” *Gut*. 46(2) :225-232.
- [0451] (Owen, RW. 等. (2000) “通过粪便基质实现活性氧簇的生成”《肠道》46(2) :225-232。)
- [0452] Outinen, P. et al. (1999) “Homocysteine-Induced Endoplasmic Reticulum Stress and Growth Arrest Leads to Specific Changes in Gene Expression in Human

VascularEndothelial Cells”Blood 94(3) :959-967.

[0453] (Outinen, P. 等.(1999) “同型半胱氨酸诱导的内质网应激及生长抑制造成人体血管内皮细胞的基因表达发生改变”《血液杂志》94(3) :959-967。)

[0454] Ouyang, Y. et al. (2000) “Suppression of Human IL-1beta, IL-2, IFN gamma, and TNF-alpha Production by Cigarette Smoke and Extracts”J Allergy Clin Immunology106(2) :280-287.

[0455] (Ouyang, Y. 等.(2000) “香烟及提取物抑制人体中 IL-1 $\beta$ , 白细胞介素-2, 干扰素 $\gamma$ , 和 TNF- $\alpha$  生成”《过敏反应及临床免疫学杂志》106(2) :280-287。)

[0456] Parks, D. et al. (1984) “Oxygen Radicals :Effects On Intestinal Vascular Permeability”Gastrointest. Liver Physiol. 10 :G167-G170.

[0457] (Parks, D. 等.(1984) “氧自由基 :对肠血管通透性的影响”《胃肠与肝脏生理学》10 :G167-G170。)

[0458] Parks, D, Granger, D. (1986) “Contributions of Ischemia and Reperfusion to Mucosal Lesion Formation”Gastrointest. Liver Physiol. 13 :G749-G753.

[0459] (Parks, D, Granger, D. (1986) “缺血和再灌注对胃粘膜损伤形成的作用”《胃肠与肝脏生理学》13 :G749-G753。)

[0460] Parr, C. W. (1966) “Erythrocyte Phosphogluconate Dehydrogenase Polymorphism”Nature 210 :487-489.

[0461] (Parr, C. W. (1966) “红细胞磷酸葡萄糖脱氢酶基因多态性”《自然》210 :487-489。)

[0462] Parr, C. W. et al. (1967) “Inherited Quantitative Variations of Human Phosphogluconate Dehydrogenase”Ann. Hum. Genet. 30 :339-352.

[0463] (Parr, C. W. 等.(1967) “Inherited Quantitative Variations of Human Phosphogluconate Dehydrogenase” “人体磷酸葡萄糖脱氢酶的遗传定量变异”《人类遗传学》Ann. Hum. Genet. 30 :339-352。)

[0464] Pryor, W. et al. (1992) “The Inhibitory Effect of Extracts of Cigarette Tar On Electron Transport Of Mitochondria And Submitochondrial Particles”Free Radicals in Biology and Medicine 12 :365-372.

[0465] (Pryor, W. 等.(1992) “卷烟焦油提取物对线粒体和亚线粒体颗粒的电子运输的抑制影响”《生物学和医学自由基》12 :365-372。)

[0466] Pumphery R. E. (1951) “Hydrogen Peroxide Proctitis”, American Journal of Surgery 81 :60-62.

[0467] (Pumphery R. E. (1951) “过氧化氢直肠炎”《美国外科杂志》81 :60-62。)

[0468] Rady, P. L. et al. (1999) “Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) :The Incidence of Mutations C677T and A1298C in the Ashkenazi Jewish Population”Am. J. Med Genet. 86(4) :380-384.

[0469] (Rady, P. L. 等.(1999) “亚甲基四氢叶酸还原酶 (MTHFR) :德系犹太人人口的突变基因 C677T 和 A1298C 的发率”《美国医学遗传学杂志》86(4) :380-384。)

[0470] Rao, S. et al. (1988) “Symptoms and Stool Patterns in Patients with Ulcerative Colitis”Gut 29 :342-345.

- [0471] (Rao, S. 等. (1988) “溃疡性结肠炎患者的症状和粪便状况”《肠道》29 :342-345。)
- [0472] Reifen, R. et al. (2000) “Iron Supplementation May Aggravate Inflammatory Status of Colitis in Rat Model” *Digestive Diseases and Sciences* 45(2) :394-397.
- [0473] (Reifen, R 等. (2000) “大鼠案例中补铁可能会加重结肠炎炎症”《消化系统疾病与科学》45(2) :394-397。)
- [0474] Ringstad, J. et al. (1993) “Serum Selenim, Copper and Zinc Concentrations in Crohn’s Disease and Ulcerative Colitis” *Scand. J. Gastroenterol.* 28(7) :605-608.
- [0475] (Ringstad, J. et al. (1993) “克罗恩病和溃疡性结肠炎中的血清硒, 铜, 锌含量”《斯堪的纳维亚胃肠病学杂志》28(7) :605-608。)
- [0476] Roediger, W., Babige, W. (1997) “Human Colonocyte Detoxification” *Gut.* 41(6) :731-734.
- [0477] (Roediger, W., Babige, W. (1997) “人体结肠解毒”《肠道》*Gut.* 41(6) :731-734。)
- Roediger W. (1986) “Metabolic Induction of Experimental Ulcerative Colitis by Inhibition of Fatty Acid Oxidation” *Br. Journal of Experimental Pathology* 67 : 773-782.
- [0478] (Roediger W. (1986) “通过抑制脂肪酸的氧化实现实验性溃疡性结肠炎的代谢海诱导”《英国实验病理学杂志》67 :773-782。)
- [0479] Roth, M. P. et al. (1989) “Geographic Origins of Jewish Patients With Inflammatory Bowel Disease” *Gastroenterology* 97(4) :900-904.
- [0480] (Roth, M. P. 等. (1989) “犹太炎性肠道疾病患者的地理起源”《肠胃病学》97(4) : 900-904。)
- [0481] Schultz, B. E., Chan, S. I. (2001) “Structures and Proton-Pumping Strategies of Mitochondrial Respiratory Enzymes” *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 30 :23-65.
- [0482] (Schultz, B. E., Chan, S. I. (2001) “线粒体呼吸酶的结构及质子泵策略”《生物物理学生物分子结构年度评估》30 :23-65。)
- [0483] Schwartz, E. et al. (1995) “Letter to the editor” *Digestive Diseases and Sciences* 40(6) :1290-1291.
- [0484] (Schwartz, E. 等. (1995) “给编辑的信”《消化系统疾病与科学》40(6) : 1290-1291。)
- [0485] Scriver C. R. et al. Editors. The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease. 8<sup>th</sup> edition 2001, pp. 4650-4651.
- [0486] (Scriver C. R. 等. 编辑. 遗传疾病的代谢和分子基础第8版 2001, 4650-4651 页。)
- [0487] Shaw, A. et al (1967) “Gas Embolism Produced By Hydrogen Peroxide” *The New England Journal of Medicine* 277(5) :238-241.
- [0488] (Shaw, A. 等 (1967) “过氧化氢造成的气体栓塞”《新英格兰医药杂志》277(5) : 238-241。)
- [0489] Sheenan, J. F., Brynjolfsson, G. (1960) “Ulcerative Colitis Following Hydrogen Peroxide Enema : Case Report and Experimental Production with Transiet

- Emphysema of Colonic Wall and Gas Embolism”Laboratory Investigation 9:150-168.
- [0490] (Sheenan, J. F., Brynjolfsson, G. (1960) “过氧化氢灌肠后的溃疡性结肠炎:结肠壁及气体栓塞的暂现肺气肿的案例报告和实验性生成”《实验室调查》9:150-168。)
- [0491] Soderholm, J., Perdue, M. (2001) “Stress and the Gastrointestinal Tract II. Stress and Intestinal Barrier Function”Am J Gastrointest Liver Physiology 280:G7-G13.
- [0492] (Soderholm, J., Perdue, M. (2001) “应激与胃肠道”《美国肠胃与肝脏生理学杂志》280:G7-G13。)
- [0493] Soderholm, J. et al. (2002) “Chronic Stress Induces Mast Cell-Dependent Adherence and Initiates Mucosal Inflammation in Rat Intestine”Gastroenterology 123:1099-1108.
- [0494] (Soderholm, J. 等. (2002) “慢性应激诱导肥大细胞依赖性粘附并引发大鼠小肠粘膜炎症”《肠胃学杂志》123:1099-1108。)
- [0495] Souchard, J. P. et al. (1998) “Electron Spin Resonance Detection of Extracellular Superoxide Anion Releases by Cultured Endothelial Cells”Free Radical Research 29(5):441-449.
- [0496] (Souchard, J. P. 等. (1998) “通过人工培养内皮细胞实现细胞超氧阴离子发布的电子自旋共振检测”《自由基研究》29(5):441-449。)
- [0497] Srigiridhar, K. et al. (2001) “Oral Repletion of Iron Induces Free Radical Mediated Alterations in the Gastrointestinal Tract of Rat”Mol Cell Biochem. 219(1-2):91-98.
- [0498] (Srigiridhar, K. 等. (2001) “口服铁诱导大鼠肠道自由基介导变化”《分子细胞生物化学》219(1-2):91-98。)
- [0499] St.-Pierre, J. et al. (2002) “Topology of Superoxide Production from Different Sites in the Mitochondrial Electron Transport Chain”The Journal of Biological Chemistry 277(47):44784-44790.
- [0500] (St.-Pierre, J. 等. (2002) “线粒体电子传递链不同部位的过氧化物生成布局”《生物化学杂志》277(47):44784-44790。)
- [0501] Thibaud, D. et al. (2001) “Rectal bleeding: complication of hydrogen peroxide enemas”Arch Pediatr. 8(11):1267-1268.
- [0502] (Thibaud, D. 等. (2001) “直肠出血:过氧化氢并发症灌肠”《儿科学》8(11):1267-1268。)
- [0503] Tomlinson, J. E. (1998) “Repression of Pentose Phosphate Pathway Dehydrogenase Synthesis and mRNA by Dietary Fat in Rats”American Institute of Nutrition 118(3):408-415.
- [0504] (Tomlinson, J. E. (1998) “膳食脂肪对大鼠体内戊糖磷酸脱氢酶的合成途径和信使 RNA 的抑制”《美国营养学会》118(3):408-415。)
- [0505] Topping L. and Clifton P. (2001) “Short Chain Fatty Acids and Human Colonic Function: Roles of Resistant Starch and Nonstarch

Polysaccharides”Physiological Reviews82(3):1031-1064.

[0506] (Topping L. 和 Clifton P. (2001) “短链脂肪酸和人体结肠功能:抗性淀粉和非淀粉多糖的作用”《生理学评述》82(3):1031-1064。)

[0507] Torisu, T. et al. (2002) “A Rare Case of Ulcerative Colitis Complication Wilsons’ sDisease”J Clin Gastroenetro. 35(1):43-45.

[0508] (Torisu, T. 等. (2002) “溃疡性结肠炎并发症威尔森氏病罕见病例”《临床肠胃学杂志》35(1):43-45。)

[0509] Turrens, J. F. (1997) “Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain”Biosci. Rep. 17:3-8.

[0510] (Turrens, J. F. (1997) “通过线粒体呼吸链实现过氧化物的生成”《生物科学报告》17:3-8。)

[0511] Upchurch, et al. (1997) “Homocyst(e)ine Decreases Bioavailable Nitric Oxide by aMechanism Involving Glutathione Peroxidase”The Journal of BiologicalChemistry 272(27):17012-17017.

[0512] (Upchurch, 等. (1997) “同型半胱氨酸通过谷胱甘肽过氧化物酶机制减少生物可利用一氧化氮”《生物化学杂志》y 272(27):17012-17017。)

[0513] Van Vleet, T. R. et al. (2001) “Inhibition of Human Cytochrome P450 2E1 by Nicotine, Cotinine and Aqueous Cigarette Tar Extract In Vitro”Toxicol Sci. 64(2):185-191.

[0514] (Van Vleet, T. R. 等. (2001) “体外尼古丁,可铁宁和水卷烟焦油提取物抑制人类细胞色素 P450 2E1”《毒理科学》64(2):185-191。)

[0515] Venditti, P. et al. (1997) “Effect of Thyroid State on Lipid Peroxidation, Antioxidant defences, and Susceptibility to Oxidative Stress in Rat Tissues”Journal ofEndocrinology 155:151-157.

[0516] (Venditti, P. 等. (1997) “甲状腺状态对大鼠组织的脂质过氧化,抗氧化防御及氧化应激易感性的影响”《内分泌学杂志》155:151-157。)

[0517] Venditti, P. et al. (2003) “Effects of Thyroid State on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Production by Rat HeartMitochondria: Sites of Production with Complex I-and Complex II-LinkedSubstrates”Hormone Metabolic Research 35:55-61.

[0518] (Venditti, P. 等. (2003) “甲状腺状态通过大鼠心肌线粒体过氧化氢生成的影响”《激素代谢研究》35:55-61。)

[0519] Whelan, G. (1990) “Epidemiology of Inflammatory Bowel Disease”Medical Clinics ofNorth Am. 74(1):1-12.

[0520] (Whelan, G. (1990) “炎性肠道疾病的流行病学”《北美临床医学杂志》74(1):1-12。)

[0521] Wilcken, D. et al. (2000) “Relationship Between Homocysteine and SuperoxideDismutase in Homocystinuria-Possible Relevance to Cardiovascular Risk”Atheroscler Thromb Vasc Biol. 20:1199-1202.

[0522] (Wilcken, D. 等. (2000) “高胱氨酸尿症中同型半胱氨酸和超氧化物歧化酶的关系

系——可能与心血管危险相关”《动脉硬化血栓血管生物学》20 :1199-1202。)



图 1A

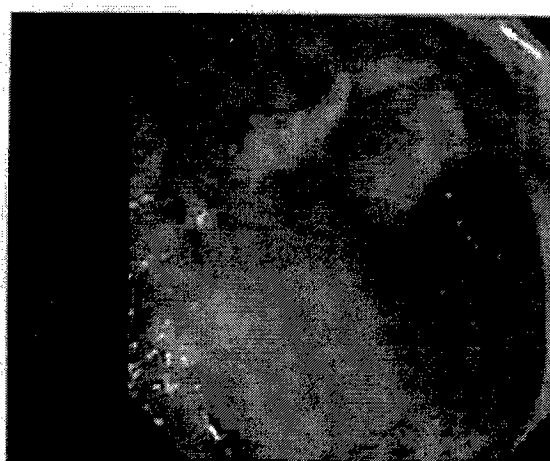


图 1B



图 1C



图 1D

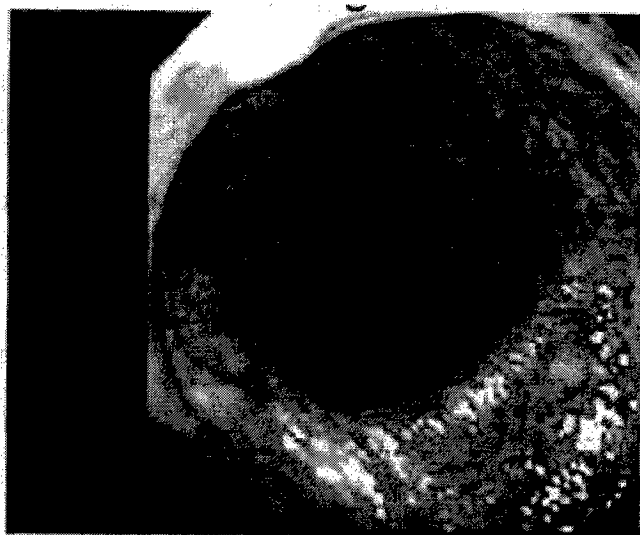


图 1E



图 2A

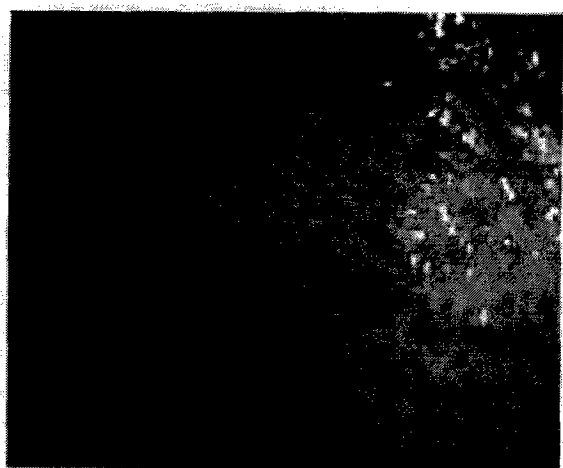


图 2B



图 2C