



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I874298 B

(45)公告日：中華民國 114 (2025) 年 03 月 01 日

(21)申請案號：107123334

(22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 07 月 05 日

(51)Int. Cl.：

*A61K31/519 (2006.01)**A61K9/10 (2006.01)**A61K38/16 (2006.01)**A61P29/00 (2006.01)*

(30)優先權：2017/07/05

世界智慧財產權組織

PCT/CN2017/091819

2018/05/16

世界智慧財產權組織

PCT/CN2018/087058

(71)申請人：大陸商江陰優培爾康藥業有限公司 (中國大陸) JIANGYIN MUCOCARE
PHARMACEUTICAL CO., LTD. (CN)

中國大陸

(72)發明人：山謬森 班傑特 I SAMUELSSON, BENGT I. (SE)

(74)代理人：閻啓泰；林景郁

審查人員：簡正芳

申請專利範圍項數：34 項 圖式數：16 共 71 頁

(54)名稱

包含孟魯司特的局部調配物及與貽貝黏著蛋白的組合

(57)摘要

本申請提供了包含孟魯司特或其醫藥上可接受的鹽或溶劑化物的局部醫藥調配物，以及包含(a)至少一種貽貝黏著蛋白或其衍生物和(b)孟魯司特或其醫藥上可接受的鹽或溶劑化物的組合產品。所述調配物和組合產品可特別用於直接局部投予，以治療炎症、炎症性病症和/或特徵在於炎症的病況，包括傷口、燒傷、牛皮癬、痤瘡和異位性皮膚炎。

There is provided topical pharmaceutical formulations comprising montelukast, or a pharmaceutically acceptable salt of solvate thereof, as well as combination products comprising (a) at least one mussel adhesive protein or a derivative thereof; and (b) montelukast, or a pharmaceutically-acceptable salt or solvate thereof. The formulations and combination products find particular utility in direct topical administration for the treatment of inflammation, of inflammatory disorders and/or of condition characterized by inflammation, including wounds, burns, psoriasis, acne and atopic dermatitis.

指定代表圖：

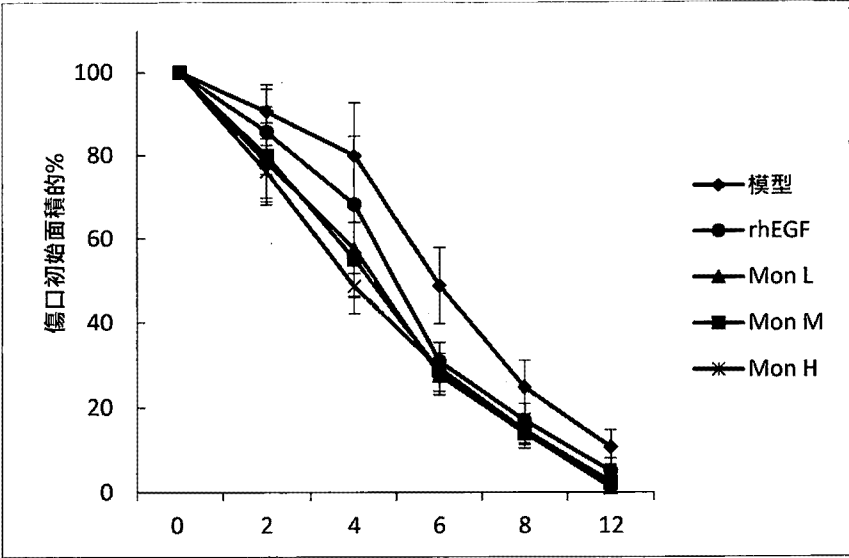


圖6

I874298

【發明摘要】

【中文發明名稱】 包含孟魯司特的局部調配物及與貽貝黏著蛋白的組合

【英文發明名稱】 TOPICAL FORMULATIONS COMPRISING
MONTELUKAST AND COMBINATIONS WITH
MUSSEL ADHESIVE PROTEINS

【中文】

本申請提供了包含孟魯司特或其醫藥上可接受的鹽或溶劑化物的局部醫藥調配物，以及包含(a)至少一種貽貝黏著蛋白或其衍生物和(b)孟魯司特或其醫藥上可接受的鹽或溶劑化物的組合產品。所述調配物和組合產品可特別用於直接局部投予，以治療炎症、炎症性病症和/或特徵在於炎症的病況，包括傷口、燒傷、牛皮癬、痤瘡和異位性皮膚炎。

【英文】

There is provided topical pharmaceutical formulations comprising montelukast, or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, as well as combination products comprising (a) at least one mussel adhesive protein or a derivative thereof; and (b) montelukast, or a pharmaceutically-acceptable salt or solvate thereof. The formulations and combination products find particular utility in direct topical administration for the treatment of inflammation, of inflammatory disorders and/or of condition characterized by inflammation, including wounds, burns, psoriasis, acne and atopic dermatitis.

【指定代表圖】 圖6

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 包含孟魯司特的局部調配物及與貽貝黏著蛋白的組合

【英文發明名稱】 TOPICAL FORMULATIONS COMPRISING
MONTELUKAST AND COMBINATIONS WITH
MUSSEL ADHESIVE PROTEINS

【發明領域】

【0001】 本發明涉及新型醫藥組合，和涉及新型醫藥用途和組成物。

【背景與先前技術】

【0002】 炎症的特徵通常在於對例如微生物、某些抗原、受損細胞或物理和/或化學因子的入侵的局部組織應答。炎症性反應一般來說是一種保護性機制，其用於消滅、稀釋或隔離傷害因子和損傷組織兩者、以及用於引發組織癒合。

【0003】 炎症可能源自物理性創傷、感染、某些慢性病(例如牛皮癬和自體免疫疾病，諸如類風濕性關節炎)和/或對外部刺激的化學和/或生理反應(例如作為變態反應的部分)。可能牽涉一系列複雜事件，其中炎症介質增加血流量和使局部血管擴張，此導致發紅和發熱，使得分泌液體，此往往導致局部腫脹，使得白血球遷移進發炎區，和引起疼痛。

【0004】 很多病況/病症的特徵在於非正常的組織損傷性炎症、和/或由非正常的組織損傷性炎症引起。如此病況的特徵通常在於啟動免疫防禦機制，對宿主所產生的有害影響大於對宿主的益處，且通常與以下有關：各種程度的組織發紅或充血、腫脹、發熱、疼痛、發癢、細胞死亡、組織破壞、細胞增殖和/或喪失功能。實例包括炎症性腸病、類風濕性關節炎、多發性硬化症、牛皮

癰、腎小球性腎炎和移植排斥。

【0005】 通常，一系列複雜事件產生炎症性變化，諸如通過局部血管擴張增加血流量，此導致發紅和發熱，白血球和血漿外滲，此通常導致局部腫脹，啟動感覺神經(導致一些組織中存在疼痛)，和喪失功能。此等炎症性變化由一連串的細胞和生物化學事件觸發，涉及細胞如嗜中性粒細胞、單核細胞、巨噬細胞和淋巴細胞連同炎症介質，諸如血管活性胺、細胞介素、補體因子和活性氧簇。

【0006】 炎症(除其他事物外)在傷口癒合過程中起關鍵作用。傷口和燒傷因此可分類為與炎症相關的病況。本領域中的傳統想法是不應該將抗發炎藥直接施用於開放性傷口，因為此將有害於傷口癒合的進行。

【0007】 貽貝黏著蛋白(MAP)也稱為貽貝足絲蛋白(*Mytilus edulis* foot protein, mefp)，其為由海洋貝類物種分泌的蛋白質，所述物種諸如為食用貽貝(*Mytilus edulis*)、厚殼貽貝(*Mytilus coruscus*)和翡翠貽貝(*Perna viridis*)。黏著蛋白由貽貝從足絲腺分泌，其中所述黏著蛋白在足絲腺中產生和儲存。當在固體(諸如岩石以及其它固體物件，諸如金屬、木材、玻璃等)的表面上分泌時，形成防水黏結(water-proof bond)，其將貽貝固定於固體物件。貽貝通常以群的形式貼附於海岸礁或貼附於船的底部。該黏結極為強力，具有抵抗沿海水域中的波浪衝擊的能力。

【0008】 對食用貽貝、地中海貽貝(*Mytilus galloprovincialis*)、加州貽貝(*Mytilus californias*)和翡翠貽貝(*Perna viridis*)的研究迄今已經識別出11種源自貽貝的單獨的黏著蛋白亞型：mfp-1 (有時稱為「mefp-1」，下文可互換使用)、mfp-2/mefp-2、mfp-3/mefp-3、mfp-4/mefp-4、mfp-5/mefp-5、mfp-6/mefp-6；膠原蛋白pre-COL-P、pre-COL-D和pre-COL-NG；以及貽貝足絲基質蛋白PTMP(近端絲基質蛋白(proximal thread matrix protein))和DTMP(遠側近端絲基質蛋

白 (distal proximal thread matrix protein))。參見，例如，Zhu等人，*Advances in Marine Science*，**32**，560 (2014)和Gao等人，*Journal of Anhui Agr. Sci.*，**39**，19860 (2011))。

【0009】 所有貽貝黏著蛋白(包括其亞型)具有兩種結構特徵，在於其等包括：(1)賴氨酸，使得所述蛋白質攜載高正電荷荷電(由於NH₂末端)；(2) 3,4-二羥基苯基丙氨酸(DOPA，多巴胺)，其鄰苯二酚部分負責形成強的共價鍵，由此賦予使貽貝黏著蛋白結合於固體表面的能力。

【0010】 基於貽貝黏著蛋白產物的產品目前用於數量有限的領域(包括作為組織黏合劑用於微孔黏結，和治療傷口和燒傷)。商業產品或直接作為貽貝黏著蛋白的溶液使用或作為凍乾粉儲存以在使用前溶解。

【0011】 孟魯司特(Montelukast)是口服活性的非類固醇免疫調節化合物，其經口投予至胃腸道，以維持季節性過敏反應的治療和預防(參見例如Hon等人，*Drug Design, Development and Therapy*，**8**，839 (2014))。其通過阻斷主要是白三烯D₄ (以及白三烯C₄和E₄)在呼吸道中對半胱氨醯白三烯受體CysLT₁的作用來起作用。

【0012】 雖然孟魯司特在治療各種其它炎症性病症中的潛在用途已經描述於文獻中，但是據申請人所知，孟魯司特從未局部投予至例如皮膚以治療炎症。

【0013】 此外，據申請人所知，先前技術並未具體揭露使用包含尤其是貽貝黏著蛋白及孟魯司特的組合產品以治療例如炎症。

【發明揭露內容】

【0014】 根據本發明的第一方面，提供了組合產品，其包含：
(a)至少一種貽貝黏著蛋白或其衍生物，諸如醫藥上可接受的衍生物；和

(b)孟魯司特，或其醫藥上可接受的鹽或溶劑化物，
所述組合產品在下文稱為「根據本發明的組合產品」。

【0015】 在本發明的上下文中，術語「貽貝黏著蛋白」包括可以源自貽貝物種的任何黏著蛋白，包括本申請提及者和優選為食用貽貝(藍貽貝)。

【0016】 該術語因此包括全長蛋白，包括所有亞型，其源自或可以源自貽貝，諸如膠原蛋白pre-COL-P、pre-COL-D和pre-COL-NG、貽貝足絲基質蛋白PTMP和DTMP，和更優選為mfp或mefp，諸如mefp-2、mefp-3、mefp-4、mefp-5、mefp-6，和尤其是mefp-1，並且包括任何此等蛋白質的混合物或組合，諸如mefps。雖然根據本發明，上述MAP亞型的混合物/組合可以作為MAP「組分」提供，但是優選的是主要的MAP亞型(例如mefp-1)的純度為任何如此混合物的總量的至少25重量%。

【0017】 作為本發明組合產品的必要要素的至少一種貽貝黏著蛋白在下文稱為至少一種「MAP」。貽貝黏著蛋白在下文共同或個別地稱為「MAP」。

【0018】 可以使用提取、製備、分離和純化天然存在的MAP的已知方法，例如混合吸附色譜(參見中國專利號ZL200710179491.0)、羧基甲基離子交換色譜(參見中國專利號ZL200710179492.5)和/或鹽析和透析(中國專利號ZL200910087567.6)。MAP的商業來源包括USUN Bio Co.(中國；作為MAP Medical Device®出售)、BD Biosciences (美國)、Kollodis (韓國)和Biopolymer (瑞典)。MAP或者可以使用已知的重組DNA方法製備。

【0019】 MAP的衍生物包括分離的醫藥上可接受的衍生物，諸如較低分子量產物(例如分子量範圍為約500 Da至約2,000(例如約1,200，諸如約800) Da，其可允許較易滲透通過生物膜，諸如皮膚屏障或黏膜表面。如此衍生物也可以包括含有與已經在天然存在的MAP中確定的序列相同或者是其(例如次要)變體的氨基酸序列的其它化合物，並且所述化合物可以通過化學和/或生物方法(例

如天然存在的MAP的化學修飾，或直接合成)合成。吾人用「天然存在的MAP中確定的氨基酸序列的(例如次要)變體」表示於該等序列中不會負面地影響相關天然存在的MAP的必要性質達可測量的程度的變化。

【0020】 MAP的衍生物包括「MAP肽」及其鹽(例如陽離子鹽)，其為具有以下序列的十肽：Ala-Lys-Pro-Ser-Tyr-Hyp-Hyp-Thr-DOPA-Lys(參見Waite，*Int. J. Adhesion and Adhesives*，7，9 (1987))。MAP肽可以作為天然存在的MAP的低分子量衍生物衍生和/或分離，或者可以例如按照Yamamoto在*J. Chem. Soc.，Perkin Trans. 1*，613 (1987)中的描述合成。也參見Dalsin等人，*J. Am. Chem. Soc.*，125，4253 (2003)。

【0021】 如此MAP的衍生物可以單獨用於根據本發明的組合產品，或者與一種或多種其它如此衍生物和/或上述全長MAP組合使用。

【0022】 可以提及的孟魯司特的醫藥上可接受的鹽包括酸加成鹽和鹼加成鹽。如此鹽可以通過常規手段形成，例如通過活性成分與一當量或更多當量的合適酸或鹼任選在溶劑中或在鹽不溶於其中的介質中反應，然後使用標準技術(例如在真空中，通過冷凍乾燥或過濾)除去所述溶劑或所述介質進行。也可以如下製備鹽：例如使用適宜的離子交換樹脂使鹽形式的活性成分的相對離子與另一種相對離子交換。

【0023】 優選的鹽包括，例如，鹽酸鹽、硫酸氫鹽、馬來酸鹽、甲磺酸鹽、甲苯磺酸鹽、鹼土金屬鹽，諸如鈣鹽和鎂鹽、或鹼金屬鹽，諸如鈉鹽和鉀鹽。優選的孟魯司特的鹽包括鈉鹽和二環己基胺鹽。

【0024】 孟魯司特可以按對映異構體富集形式使用。吾人用「對映異構體富集」分別表示孟魯司特的對映異構體的任何混合物，其中一種異構體以大於另一種異構體的比例存在。例如，可以使用光學純度(對映異構體過量；e.e.)大於90%的孟魯司特的對映異構體。

【0025】 根據本發明的組合產品提供至少一種MAP或其(例如醫藥上可接受的)衍生物與孟魯司特或其醫藥上可接受的鹽或溶劑化物聯合投予，並因此可呈分開的調配物，其中該等調配物中的至少一者包含MAP/衍生物，且至少一者包含孟魯司特/鹽/溶劑化物，或者可呈(即調配成)組合製劑(即呈包括MAP/衍生物和孟魯司特/鹽/溶劑化物的單一調配物)。

【0026】 因此，進一步提供了：

(1)醫藥調配物，其包含：至少一種MAP或其衍生物；孟魯司特或其醫藥上可接受的鹽或溶劑化物；和醫藥上可接受的佐劑、稀釋劑或載體(所述調配物在下文稱為「組合製劑」)；和

(2)部件套組(kit of parts)，其包含以下組分：

(A)醫藥調配物，其包含：至少一種MAP或其衍生物與醫藥上可接受的佐劑、稀釋劑或載體的混合物；和

(B)醫藥調配物，其包含：孟魯司特或其醫藥上可接受的鹽或溶劑化物與醫藥上可接受的佐劑、稀釋劑或載體的混合物，

其中組分(A)和(B)各自以適於與另一者聯合來投予的形式提供。

【0027】 根據本發明的再一方面，提供了製備如上定義的部件套組的方法，所述方法包括使如上定義的組分(A)與如上定義的組分(B)聯合，由此使得兩種組分適於彼此聯合投予。

【0028】 通過使兩種組分彼此「聯合」在一起，吾人要求(include)，部件套組的組分(A)和(B)可以：

(i)作為單獨的調配物(即彼此獨立)提供，然後將其等放置在一起，以在組合療法中彼此聯合使用；或

(ii)作為「組合包」的單獨組分一起包裝和呈現，以在組合療法中彼此聯合使用。

【0029】 因此，進一步提供了包含以下的部件套組：

(I)如上定義的組分(A)和(B)之一；連同

(II)使用說明，以將該組分與兩種組分的另一種聯合使用。

【0030】 本申請所述的部件套組可以包含多於一種包含適當量/劑量的MAP/衍生物的調配物，和/或多於一種包含適當量/劑量的孟魯司特/鹽/溶劑化物的調配物，以便於提供重複給藥。如果存在多於一種調配物(包含任一種活性化合物)，則如此調配物在任一化合物的劑量、化學組成和/或物理形式方面可以相同或可以不同。

【0031】 關於本申請所述的部件套組，吾人用「與...聯合投予」包括在治療相關病況的期間將包含MAP (或其衍生物)和孟魯司特(或其鹽/溶劑化物)的相應調配物依序、單獨和/或同時投予。

【0032】 因此，關於根據本發明的組合產品，術語「與...聯合投予」包括組合產品的兩種組分(MAP和孟魯司特)或一起、或在時間上充分接近地投予(任選重複地)，以使得在治療相關病況的期間對患者的有益效果大於以下情況：在相同的治療期間，包含MAP的調配物、或包含孟魯司特的調配物在沒有另一種組分的情況下單獨投予(任選重複地)。確定一種組合是否關於特定病況和在治療特定病況的期間提供較大的有益效果將取決於待治療或預防的病況，但是可以由所屬技術領域中具有通常知識者按常規技術手段實現。

【0033】 此外，在根據本發明的部件套組的上下文中，術語「與...聯合」包括兩種調配物中的一種或另一種可以在另一組分的投予之前、之後、和/或與其同時投予(任選重複地)。當用於該上下文時，術語「同時投予」和「與...同時投予」包括個別劑的有關MAP和孟魯司特在彼此的48小時(例如24小時)內投予。

【0034】 根據本發明的組合產品可用於治療炎症。「治療炎症」包括不

考慮原因在身體的任何器官(包括軟組織、關節、神經、血管系統、內部器官，尤其是黏膜表面，特別是皮膚)中治療炎症，並且也包括所有如此炎症性病況或病況、和/或特徵在於炎症(例如作為症狀)的病況或病況。

【0035】 炎症性病況的特徵可以(且通常)在於啟動免疫防禦機制，對宿主所產生的有害影響大於對宿主的益處。如此病況通常與以下有關：各種程度的組織發紅或充血、腫脹、發熱、疼痛(包括隱痛)、體液滲出、發癢(瘙癢)、細胞死亡和組織破壞、細胞增殖和/或喪失功能。

【0036】 可以提及的炎症性病況包括動脈炎、糖尿病、代謝症候群、酒渣、哮喘和過敏性反應、關節黏連性脊椎炎、慢性阻塞性肺病、痛風性關節炎、炎症性腸病(諸如克羅恩氏病和潰瘍性結腸炎)、多發性硬化症、骨關節炎、胰腺炎、前列腺炎、牛皮癬性關節炎、類風濕性關節炎、腱炎、滑液囊炎、乾燥症候群、全身性紅斑狼瘡、葡萄膜炎、蕁麻疹、血管炎、肥大細胞增多症、糖尿病血管併發症、偏頭痛、動脈粥樣硬化和相關的心血管疾病。可以特別提及的病情是慢性阻塞性肺病(COPD)。

【0037】 可以更特別提及的炎症性病況包括皮膚或黏膜(包括口腔黏膜、鼻黏膜、眼黏膜、陰道黏膜、子宮頸黏膜和/或肛腸黏膜，更特別是口腔黏膜或鼻黏膜)的炎症，諸如由於感染(諸如病毒和/或細菌感染)帶來的炎症，或過敏性/特應性病況(諸如鼻炎、咽炎、牙周炎、齒齦炎、乾眼症、結膜炎、皮膚炎、蕁麻疹(urticaria) (hives)和食物過敏)；和其它炎症性病況，諸如皰疹、藥疹、多形性日光疹、曬傷、皮膚癌的早期表現(紅斑樣皮膚損傷)、病理性脫髮(包括在皮膚移植之後)、化療疹(chemo rash)、牛皮癬、多形紅斑、毛囊炎、濕疹和外耳道炎。

【0038】 更特別地，根據本發明的組合產品可以用於治療特徵在於炎症、和/或與炎症相關的某些病況。如此病況可以包括傷口(包括擦傷(抓傷)、切

口(包括手術切口)、撕裂、刺傷、撕除、瘀傷和疤痕形成)、燒傷(包括由於燒傷之後的外科手術(諸如皮膚移植)引起的炎症)和其它病況，諸如痔瘡。

【0039】 皮膚或黏膜的傷口可以產生於對膜表面的內部或外部物理性損傷，或者可以由其引起(即，是潛在生理失調的症狀)。

【0040】 物理性(例如「開放性」)傷口可以由以下引起：利器(割傷、切口、刺傷)或鈍器/機械力(撕裂、擦傷、撕除)、物理打擊(瘀傷)、熱或化學品(燒傷和水疱)、UV光(曬傷)、寒冷(凍瘡或凍傷)。傷口可以是表面傷口(僅損傷表皮和/或真皮)或者可以是全層皮膚缺損的傷口(full thickness wound) (表皮和/或真皮以下的損傷)。在嚴重的情況中，皮下和/或黏膜下組織，諸如肌肉、骨骼、關節、和甚至內部器官可能被損傷。

【0041】 本發明的組合產品不僅可以用於治療炎症、疼痛(包括隱痛)和/或與傷口本身以及癒合過程相關的瘙癢(發癢)，而且其等也可以用於防止體液從傷口滲出、感染的風險、以及防止源自炎症和/或傷口癒合過程的生理性反應，諸如疤痕形成和黑色素沉著。

【0042】 疤痕形成是炎症和/或傷口癒合的結果，且是作為如此炎症/癒合的結果的纖維化組織形成的通用術語。

【0043】 本發明的組合產品也可以用於抑制可能產生自炎症/傷口癒合的黑色素沉著的產生。本發明的組合產品也可以用於抑制與黑色素沉著相關的病症，諸如黃褐斑、雀斑、黑變病、蝴蝶斑和其它色素沉著、具有黑色素瘤的皮膚癌、和由暴露於陽光引起的色素沉著或皮膚病(如痤瘡)。

【0044】 傷口也可以作為疾病或病症的結果產生。此等可以包括皮膚和黏膜的水疱形成和/或潰瘍。此等是往往長期和難以治療的普通病況。皮膚組織可往往是損傷的、被移除的、液化的、受感染的和/或壞死的。潰瘍可以導致對健康的繼發性結果，特別是如果其等變得受感染的話，其難以痊癒且造成重大

損失。其等也可以對患者造成明顯的心理壓力和經濟損失，影響總體幸福感和生活品質兩者。

【0045】 在可替換的實施方式中，其中根據本發明的組合產品可特別用於其的炎症性皮膚病況或疾病包括牛皮癬、痤瘡、濕疹和皮膚炎，尤其是過敏性/異位性皮膚炎。

【0046】 牛皮癬是慢性炎症性皮膚病，其往往會復發(一些患者在其整個生命過程中從未痊癒)。牛皮癬的臨床表現主要包括紅斑和鱗屑。其可以發生在整個身體上，但是更常在頭皮和肢體上觀察到。

【0047】 痤瘡是毛囊(毛囊及皮脂腺單位)的慢性炎症性皮膚病，其發生與例如下述的主要因素緊密相關：皮脂分泌過多、閉塞性毛囊及皮脂腺管(包括閉合性和開放性粉刺)、細菌感染和炎症性反應，其往往在青年時期發生，特徵在於面部上的多形性皮膚損傷。術語痤瘡因此包括尋常痤瘡和酒渣性痤瘡(即，褐鼻病)。

【0048】 濕疹是具有由多種內部和外部因素引起的強烈發癢的皮膚炎症性反應。其具有三個階段，即急性期、亞急性期和慢性期。在急性期，往往產生滲出物，而慢性期則包括浸潤和肥大。皮膚損傷通常發癢且容易復發。

【0049】 皮膚炎是常見皮膚病，其特徵在於粗糙、發紅、發癢、濕疹和乾燥。由皮膚炎引起的小腫塊、難治性潰瘍和色素斑，如果未立即治療，則可能發展成基底細胞癌、鱗狀細胞癌和惡性黑色素瘤。皮膚炎可能由各種內部和外部感染性或非感染性因素引起，包括物質(接觸性皮膚炎)或過敏(過敏性/異位性皮膚炎)。也包括脂溢性皮膚炎(脂溢性濕疹)和所有形式的類固醇依賴性皮膚炎(包括光敏性脂溢性、口周皮膚炎、酒渣樣皮膚炎、類固醇酒渣、類固醇誘導的酒渣、醫源性酒渣、類似於類固醇皮膚炎的酒渣、局部皮質類固醇誘導的酒渣樣皮膚炎，和更特別是面部皮質類固醇成癮性皮膚炎(FCAD)或面部皮質類

固醇依賴性皮膚炎(FCDD)，特徵在於在用(包括不受控使用、濫用或錯用)局部皮質類固醇長期治療之後在面部區域出現的潮紅、紅斑、毛細管擴張、萎縮、丘疹和/或膿疱；參見，例如，Xiao等人，*J. Dermatol.*，**42**，697 (2015)和Lu等人，*Clin. Exp. Dermatol.*，**35**，618 (2009))。

【0050】 已經發現，根據本發明的組合產品在減輕由各種病況(包括本申請一般和具體提及者)引起的紅斑、發紅和腫脹、水腫、水疱和大疱性類天疱瘡方面可具有正面效果，並且可以抑制皮下組織液的滲出，和抑制由如此炎症性病況引起的發癢和疼痛。

【0051】 可以提及的其它炎症性病況包括：

(a)黏膜炎症，諸如口腔黏膜炎、口瘡潰瘍、中耳炎、喉炎、氣管炎、食道炎、胃炎、腸炎和小腸結腸炎(包括細菌性痢疾、慢性阿米巴痢疾、血吸蟲病、非特異性潰瘍性結腸炎和局部性腸炎)、子宮頸炎和子宮頸內膜炎、子宮內膜炎、由吸入性損傷及類似者引起的炎症、以及與影響黏膜表面(諸如口腔、鼻咽、耳朵、喉、氣管、胃腸道、子宮頸等中者)的癌症和感染(例如病毒感染，諸如普通感冒或流感)相關的炎症。

(b)與例如骨折、骨骼和關節的化膿性感染相關的骨科炎症、由以下引起的炎症：風濕性骨病、以及化膿性骨髓炎(急性、慢性、局部的、硬化的、創傷後的)、化膿性關節炎；骨腫瘤(骨瘤、骨樣骨瘤、軟骨瘤)、骨囊腫、破骨細胞瘤、原發性骨肉瘤(骨肉瘤、軟骨肉瘤、骨纖維肉瘤、尤文氏肉瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、骨髓瘤、脊索瘤)、轉移性骨腫瘤、骨的腫瘤樣病變(骨囊腫、動脈瘤性骨囊腫、嗜酸性球性肉芽腫、纖維性發育不全)；和類風濕性關節炎。

(c)神經炎症，諸如多發性周圍神經炎、面神經炎、周圍神經炎、皮下神經炎、尺骨神經炎、肋間神經炎等。

(d)皮下和黏膜下軟組織炎症，諸如肌炎、韌帶炎、肌腱炎、脂層炎囊炎、淋巴

腺炎、腹股溝腺炎(bubonadentitis)、扁桃腺炎、滑膜炎、筋膜炎、和由肌肉、韌帶、筋膜、肌腱、滑膜、脂肪、關節囊和淋巴組織的損傷、挫傷或撕裂引起的軟組織炎症。

(e)血管炎症，諸如過敏性白血球破碎性血管炎、過敏性皮膚血管炎、結節性多動脈炎、血栓性血管炎、肉芽腫性血管炎、淋巴細胞性血管炎、血液組成中具有異常的血管炎和風濕性血管炎、以及與由以下引起的血管癌相關的血管炎症：過敏性白血球碎裂性小血管炎、結節性多動脈炎、血栓性血管炎、肉芽腫性血管炎、淋巴細胞性血管炎、血液組成中具有異常的血管炎和風濕性血管炎。

(f)內部器官(例如心臟、胃、腸、肺臟、肝臟、脾臟、腎臟、胰臟、膀胱、卵巢、和前列腺)的炎症，包括但不限於心包炎、心肌炎、心內膜炎、肺炎、肝炎、脾炎、腎炎胰臟炎、膀胱炎、卵巢炎、前列腺炎和胃潰瘍之治療。

【0052】 根據本發明的再一個方面，提供了治療炎症、炎症性病徵、和/或特徵在於炎症(例如作為症狀)的病徵/病況的方法，該方法包括將根據本發明的組合產品投予至需要如此治療的患者。

【0053】 為了避免疑惑，在本發明的上下文中，術語「治療」、「療法」和「治療方法」包括有需要的患者的治療性或舒緩性治療、以及易患炎症和/或炎症性病徵的患者的預防性治療和/或診斷。

【0054】 「患者」包括兩棲動物且優選為哺乳動物(特別是人類)患者。

【0055】 根據本發明，MAP/衍生物和孟魯司特/鹽/溶劑化物優選局部或全身性投予，例如口服投予、靜脈內或動脈內投予(包括通過血管內和其它血管周裝置/劑型(例如支架))、肌內投予、皮膚投予、皮下投予、透黏膜投予(例如舌下或口頰投予)、直腸投予、陰道內投予、透皮投予、鼻投予、肺投予(例如氣管投予或支氣管投予)、局部投予或通過任何其它非腸道途徑投予，形式為呈

醫藥上可接受的劑型的包含化合物的醫藥製劑。當待治療的病況是鼻炎或源自呼吸道的病毒感染(普通感冒、流感)的炎症時，通過吸入(例如鼻)投予特別有用。當待治療的病況是COPD時，肺投予特別有用。可以通過產生包含活性成分的噴霧增強局部投予形式，例如通過使用粉末氣溶膠或借助於使用適當的霧化技術或設備(諸如噴霧器)的水霧。

【0056】 MAP及其衍生物的優選遞送模式包括在適當的(例如醫藥上可接受的)媒介物和/或商業上可購得的調配物中局部遞送至炎症部位，但是也可以包括口服、靜脈內、皮膚或皮下、鼻、肌內或腹膜內遞送。可以提及的孟魯司特/鹽/溶劑化物的遞送模式包括在已知的醫藥上可接受的和/或商業上可購得的調配物中口服遞送，但是也可以包括靜脈內、皮膚或皮下、鼻、肌內或腹膜內遞送、以及在適當的(例如醫藥上可接受的)媒介物中局部投予至炎症部位。

【0057】 MAP/衍生物和孟魯司特通常會以與醫藥上可接受的佐劑、稀釋劑或載體混合的一種或多種(例如醫藥)調配物的形式共同或單獨投予，所述佐劑、稀釋劑或載體可以適當考慮預定投予途徑和標準醫藥實踐來選擇。如此醫藥上可接受的載體可以對活性化合物具有化學惰性，並且可以在使用條件下不具有有害副作用或毒性。如此醫藥上可接受的載體也可以賦予任一種活性成分的立即釋放或修飾釋放，不管是在組合製劑中一起投予還是以部件套組的形式投予。

【0058】 適宜的醫藥調配物可係商業上可購得的或否則以根據文獻(例如，Remington *The Science and Practice of Pharmacy*, 22nd edition, Pharmaceutical Press (2012)和Martindale – *The Complete Drug Reference*, 38th Edition, Pharmaceutical Press (2014)以及其中提及的文獻，所有文獻中的相關揭露內容皆以引用形式併入本申請內)中描述的技术製備。否則，適宜調配物的製備，特別是包含MAP/衍生物和孟魯司特/鹽/溶劑化物兩者的組合製劑的製備可

以由所屬技術領域中具有通常知識者使用常規技術無創造性地實現。

【0059】 活性成分(諸如MAP (例如Mefp-1)及其衍生物，以及孟魯司特)可以為含水調配物的形式，諸如乳液、懸浮液和/或溶液(例如(任選)緩衝的含水調配物(例如溶液)，諸如含生理鹽水的調配物(例如溶液)、含磷酸鹽的調配物(例如溶液)、含醋酸鹽的調配物(例如溶液)或含硼酸鹽的調配物(例如溶液))、或凍乾粉末。

【0060】 在可替換的實施方式中，活性成分可以與適當的賦形劑組合以製備：

- 凝膠調配物(對其適宜的凝膠基質材料包括纖維素衍生物、卡波姆和海藻酸鹽、西黃蓍膠、明膠、果膠、卡拉膠、結冷膠、澱粉、黃原膠、陽離子瓜爾膠、瓊脂、非纖維素多糖、乙烯基聚合物、丙烯酸樹脂、聚乙烯醇、羧基乙烯基聚合物，和特別是透明質酸)；
- 洗劑(濃縮物；對其適宜的基質材料包括纖維素衍生物、甘油、非纖維素多糖、具有不同分子量的聚乙二醇和丙二醇)；
- 糊劑或軟膏劑(對其適宜的糊劑基質材料包括甘油、凡士林、石蠟、具有不同分子量的聚乙二醇等)；
- 乳膏劑或泡沫劑(對其適宜的賦形劑(例如發泡劑)包括羥基丙基甲基纖維素、明膠、具有不同分子量的聚乙二醇、十二烷基硫酸鈉、脂肪醇鈉、聚氧乙烯醚磺酸鹽、玉米蛋白粉和丙烯醯胺)；
- 粉末氣溶膠(對其適宜的賦形劑包括甘露醇、甘氨酸、糊精、右旋糖、蔗糖、乳糖、山梨醇和聚山梨酯)；和/或
- 液體(氣溶膠)噴霧，用於口服使用或用於吸入(對其適宜的賦形劑包括黏度調整劑，諸如透明質酸、乳化劑、緩衝劑、醇、水、防腐劑、甜味劑、香料等)。

【0061】 視情況而定，以下物質也可以包括在如此調配物中：保濕劑，

諸如甘油、丙三醇、聚乙二醇、海藻糖、甘油、礦脂、石蠟油、透明質酸及其鹽(例如鈉鹽和鉀鹽)、辛酸/羊脂酸甘油三酯、及類似者；和/或抗氧化劑，諸如維生素和谷胱甘肽；和/或pH調整劑，諸如酸、鹼和pH緩衝劑。此外，可以包括以下者：表面活性劑/乳化劑，諸如十六烷醇(鯨蠟醇)、脂肪酸(例如硬脂酸)、十二烷基硫酸鈉(月桂基硫酸鈉)、山梨聚糖酯(例如山梨聚糖硬脂酸酯、山梨聚糖油酸酯等)、單酯基甘油酯(諸如單硬脂酸甘油酯)聚乙氧基化醇、聚乙烯醇、多元醇酯、聚氧乙烯烷基醚(例如聚氧乙烯山梨聚糖單油酸酯)、聚氧乙烯蓖麻油衍生物、乙氧基化脂肪酸酯、聚氧甘油酯、月桂基二甲基胺氧化物、膽汁鹽(例如去氧膽酸鈉、膽酸鈉)、磷脂、N,N-二甲基十二烷胺-N-氧化物、十六烷基三甲基溴化銨、泊洛沙姆、卵磷脂、固醇(例如膽固醇)、糖酯、聚山梨酯、及類似者；防腐劑，諸如苯氧基乙醇、乙基己基甘油、及類似者；和增稠劑，諸如牛磺酸丙烯鹽基二甲基酯/VP共聚物。特別地，可包括硬脂酸、單硬脂酸甘油酯、十六醇、山梨聚糖硬脂酸酯、鯨蠟醇、辛酸/羊脂酸甘油酯等，特別是在乳膏調配物中。

【0062】 吾人已經發現，可以如下有利地調配孟魯司特及其鹽，以局部用作乳膏劑、洗劑、蠟、或特別是軟膏劑：將具有不同分子量的聚乙二醇(PEG)調配在一起，所述聚乙二醇的分子量可以是約62至約22,000之間的任何分子量(例如PEG 150、PEG 200、PEG 350、PEG 400、PEG 600、PEG 800、PEG 1000、PEG 2000、PEG 3350、PEG 4000、PEG 6000)。孟魯司特可以首先溶解於低分子量PEG中，諸如PEG 200，或更特別是PEG 400，可以向該低分子量PEG中添加其它賦形劑，包括具有較高分子量的PEG (例如PEG 1000、PEG 3350、PEG 4000或PEG 6000)、溶劑，諸如低級烷基醇(例如乙醇)或水、和/或其它成分，諸如以上列出者。

【0063】 吾人已經意外地發現，孟魯司特可以容易溶解於如此基於PEG

的溶劑中，以製備乳膏劑和軟膏劑，所述乳膏劑和軟膏劑具有較低的pH (例如 pH 5.9至7.5)而非主要在含水調配物(例如具有極低量乙醇的水)中觀察到並且可能刺激皮膚或黏膜的較高的pH (pH 9.5)。孟魯司特可以按該方式溶解，然後將其調配為乳膏劑或軟膏劑，所述乳膏劑或軟膏劑出乎意料地穩定(即，不易氧化)，其pH對於皮膚/黏膜而言較可接受/具有較小刺激，且當溶解於水時較接近MAP的pH。

【0064】 活性成分(諸如MAP (例如Mefp-1)及其衍生物，以及孟魯司特)和包含其等(例如，醫藥)的調配物(例如，如上所述的含水溶液、凝膠、乳膏劑、軟膏劑、洗劑/濃縮物、泡沫劑和/或糊劑)可以進一步與適當的基質材料組合以製備用於施用在生物表面(諸如皮膚或黏膜表面)上的敷料或治療貼片。如此調配物因此可以用於浸漬基質材料，諸如紗布、不織布或絲紙。治療貼片或者可以是，例如，創可貼、面膜、眼膜、手膜、足膜等。

【0065】 凡士林可以用於將如此敷料施用於傷口，但是吾人也已經發現上述基於PEG的軟膏劑可以與基質材料組合以在無需使用凡士林的情況下製備敷料。

【0066】 活性成分(諸如MAP (例如Mefp-1)及其衍生物、以及孟魯司特)也可於治療中與一種或多種選自以下的生長因子組合：血小板型生長因子(包括血小板衍生性生長因子，PDGF)；骨肉瘤衍生性生長因子(ODGF)、表皮生長因子(EGF)、轉形生長因子(TGF α 和TGF β)、成纖維細胞生長因子(α FGF、 β FGF)、似胰島素生長因子(IGF-I、IGF-II)、神經生長因子(NGF)、白血球介素型生長因子(IL-1、IL-1、IL-3)、促紅細胞生成素(EPO)和集落刺激因子(CSF)。

【0067】 活性成分的投予可以是連續的或間歇的。投予模式也可以由投予的時機和頻率決定，但是在炎症之治療性處理的情況下也取決於病況的嚴重程度。

【0068】 取決於待治療的病症和患者以及投予途徑，活性成分可以按不同的治療有效劑量投予至需要其的患者。

【0069】 類似地，活性成分在調配物中的量將取決於病況的嚴重程度，和取決於待治療的患者，但是可以由所屬技術領域中具有通常知識者確定。

【0070】 活性成分之適宜劑量包括在醫學文獻(諸如*Martindale – The Complete Drug Reference*，38th Edition，Pharmaceutical Press (2014)以及其中提及的文獻，所有此等文獻的相關揭露內容皆以引用形式併入本申請內)中提及者。

【0071】 在任何事例中，取決於病況的嚴重程度和投予途徑，醫學從業者或其它技術人員會能夠按例行地確定最適宜於個別患者的實際劑量。上述劑量是一般情況的示例；當然可以存在其中較高或較低的劑量範圍是有利的個別情況，此等也在本發明的範圍內。

【0072】 口服和局部劑可以每日投予一次至每日投予四次。

【0073】 MAP及其衍生物在含水溶液產物中的適當濃度可以為約0.01 (例如約0.1)至約15.0 (例如約1.5) mg/mL，並且適當的pH值的範圍為約1.0至約7.0 (例如約3.0至約6.5)，而不管使用的調配物是如本申請所述的組合製劑還是部件套組。如此含水溶液的適宜商業來源包括USUN Bio Co.，Jiangyin，Jiangsu Province，China。

【0074】 MAP及其衍生物的適當的局部劑量為約0.1至約50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 的治療面積，諸如約1至約20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 的治療面積，包括約2至約10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 的治療面積，諸如約5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 的治療面積。

【0075】 孟魯司特在含水溶液產品中的適當濃度可以為0.1至10 mg/mL (以游離鹼計算)，且如此溶液的適當pH值範圍為約5.0 (例如約7.0)至約11.0 (例如約5.5 (例如約8.0)至約10.0，諸如約pH 9.0，或約5.5至約7.5)，而不管使用的

調配物是如本申請所述的組合製劑還是部件套組。

【0076】 孟魯司特及其鹽/溶劑化物的適當局部劑量為約0.01至約50 (諸如約20, 例如約17.5, 包括約10) $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 的治療面積, 諸如約0.05 (例如約0.1, 包括約0.5)至約17.5, 包括約10, 諸如約7.5, 例如約5) $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 的治療面積, 在所有的情況中均以游離鹼計算。

【0077】 根據本發明的再一方面, 提供了包含孟魯司特或其醫藥上可接受的鹽或溶劑化物的醫藥(例如基於液體或(例如含水)溶液的)調配物, 所述調配物適合於、適用於和/或包裝和呈現以用於, (a)局部投予(例如投予至黏膜或優選為投予至皮膚); 和/或(b)治療炎症、炎症性病症和/或特徵在於炎症的病況。類似地, 提供了用於治療炎症、炎症性病症和/或特徵在於炎症(例如作為症狀)的病況的如此調配物, 所述治療借助於直接局部投予所述調配物(例如投予至黏膜或優選為投予至皮膚)進行。

【0078】 關於本發明的該方面, 為避免疑問, 包含孟魯司特的局部調配物可以用於治療任何和所有炎症、用於治療任何和所有炎症性病症、和/或用於治療任何和所有特徵在於炎症的病況, 如上文提及、定義或描述。類似地, 可以提及的包含孟魯司特的局部調配物(包括組合)包括任何和所有上文提及、定義或描述的調配物。任何和所有與本發明該部分有關的以上相關揭露內容皆以引用方式併入本申請內。

【0079】 然而, 已經發現包含孟魯司特或其醫藥上可接受的鹽或溶劑化物的局部(例如基於液體或(例如含水)溶液的)調配物可特別用於傷口癒合, 並且可以減輕與傷口本身和傷口癒合過程有關的疼痛(包括隱痛)和特別是瘙癢/發癢。吾人也已經發現, 如此局部孟魯司特調配物可特別用於預防和/或抑制體液從傷口的滲出物, 特別是在急性炎症期過程中, 例如在首個48小時過程中, 在已經遭受燒傷或傷口之後。此避免了感染和其它生理反應的風險。吾人也已經

發現，如此局部孟魯司特調配物可特別用於預防和/或抑制疤痕形成和黑色素沉著(見上)，不管是與傷口還是與其它有關的。

【0080】 可以提及的孟魯司特的適宜口服劑量為每天約0.25 mg至約600 mg，諸如約0.4 mg至約200 mg，優選約5 mg至約100 mg，例如約7 mg (例如約8 mg)至約25 mg (例如約12 mg)，而不管使用的調配物是如本申請所述的組合製劑還是部件套組。

【0081】 在任何事例中，關於任一種活性成分，在本發明的內容中投予至哺乳動物(特別是人類)的劑量應該足以在合理的時段(如上文描述)內在哺乳動物中產生治療響應。所屬技術領域中具有通常知識者將會認識到，對確實劑量和組成物以及最適當的遞送方案的選擇也會受以下(以及其他者)影響：調配物的藥理學性質、待治療的病況的性質和嚴重程度、和接受者的身體狀況和精神敏度、以及待治療患者的年齡、狀況、體重、性別和反應、和疾病的分期/嚴重程度、以及患者之間的遺傳差異。

【0082】 當措辭「約」用於本申請時，例如在量(諸如活性成分的濃度和/或劑量、分子量或pH)的上下文中，應瞭解的是，如此變數是近似值，就其本身而言可以在下述範圍內變化：本申請指定的數字 $\pm 10\%$ ，例如本申請指定的數字 $\pm 5\%$ ，優選為 $\pm 2\%$ (例如 $\pm 1\%$)。在此方面，術語「約10%」表示例如數字10周圍的 $\pm 10\%$ ，即，在9%和11%之間。

【0083】 一種或多種MAP或其衍生物和孟魯司特的組合可以在生物和/或臨床試驗中表明清楚的協同效果。

【0084】 本申請所述的組合產品/方法具有的優勢可以是，其等使得能夠在局部施用的情況下投予通常口服投予的抗發炎藥孟魯司特。

【0085】 本申請所述的組合產品/方法也可以具有下述優勢，：在上文提及的病況的治療中，與先前技術中已知用於治療炎症性病症的類似方法(治療)

或其它者相比，本申請所述的組合產品/方法可對於醫生和/或患者而言較方便、較有效、毒性較小、具有較寬範圍的活性、較強力、產生較少的副作用、或者可以具有其它有用的藥理學性質。

【圖式簡單說明】

【0086】 本發明由以下實施例說明，其中：

圖1和2及展示用各種測試化合物測試的分別根據實施例1和2從來自在小鼠中誘導的氣囊(air pouch)的滲出物獲得的各種炎症性標誌物的ELISA試驗結果；

圖3說明用各種測試化合物測試的大鼠中誘導的三度燒傷的癒合隨時間變化的燒傷得分；

圖4和5展示分別根據實施例4和5從來自在小鼠中誘導的氣囊的滲出物獲得的各種炎症性標誌物的ELISA試驗結果；

圖6顯示在實施例6的急性傷口模型中孟魯司特對傷口癒合的作用；

圖7顯示在實施例6模型中樣品中的傷口羥基脯氨酸含量；

圖8顯示在實施例7的糖尿病傷口模型中孟魯司特對傷口癒合的作用；

圖9顯示在實施例7模型中在第6天樣品中的傷口血管內皮生長因子含量(pg/g)；

圖10顯示在實施例7模型中在第6天和第12天樣品中的組織病理學分析；

圖11顯示在實施例16的體內大鼠模型中局部施用的孟魯司特對燙傷傷口癒合的作用；

圖12和13顯示在孟魯司特單獨局部施用的情況下(圖12)和在最初施用MAP之後(圖13)，在類似的體內大鼠模型中孟魯司特滲透進未受傷的皮膚和燙傷的皮膚(參見實施例17)；

圖14顯示與磺胺嘧啶銀治療相比，在具有二度燒傷的患者中局部施用的孟

魯司特的作用；

圖15顯示在具有黑色素相關的皮膚病(黃褐斑和蝴蝶斑)的患者中局部施用的孟魯司特的作用；和

圖16顯示在具有類固醇依賴性皮膚炎的患者中局部施用的孟魯司特的作用。

實施例

實施例1

氣囊模型I

【0087】 重量在20和30 g之間的健康成年雄性C57BL/6小鼠由Changzhou Cvens Experimental Animal Co. Ltd (Changzhou, Jiangsu Province, China)提供。在進行任何實驗之前，將小鼠安置在標準化的條件下(在 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 的恒定溫度，而亮暗各自交替12小時的時間段)，並以標準小鼠飲食與水餵食達約一週。

【0088】 使用腹膜內3%水合氯醛(Sinopharm Chemical Reagent Co., Ltd., Shanghai, China)；1 mL/10 g體重)來誘發全身麻醉。在無菌空氣注射之前1天，剃掉整個背部的毛髮並脫毛。

【0089】 氣囊如下產生：將無菌空氣(5 mL)皮下注射進小鼠的肩胛區。3天之後，另進行一次注射空氣(3 mL)以維持氣囊。為了誘發急性炎症，在該最終注射之後3天，使動物接受注射無菌卡拉膠溶液(CP Kelco, Taixing, Jiangsu Province, China；1%，0.5 mL；通過將0.1 g卡拉膠粉末添加到包含10 mL的0.9%鹽水溶液的燒杯中並攪拌進行製備)。在將卡拉膠注射進皮下氣囊之前的1小時和之後的23小時，將小鼠用測試樣品或媒介物預處理。在注射卡拉膠之後24小時，將動物犧牲。

【0090】 皮膚生檢從氣囊獲取。將生檢的一部分固定於福馬林(通過將超純水添加到50 mL的40%甲醛溶液(Nanchang Rain Dew Experimental Equipment Co., Ltd., Nanchang, Hubei Province, China)以達500 mL的總體積進行製備)中並通過組織埋進石蠟、切片並染色進行分析。

【0091】 將空腔用4 mL無菌磷酸鹽緩衝溶液(pH 7.4；通過將4 g的NaCl、0.1 g的KCl、1.749 g的 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 和0.1 g的 KH_2PO_4 溶解在超純水中，用HCl將pH調整至7.4和用水稀釋至500 mL的總體積進行製備)洗滌。

【0092】 收集滲出物並定量其體積。細胞的總數使用血細胞計數器(ADVIA 2120 Hematology System, Siemens Healthineers)確定。將滲出物以3000 rpm在4°C離心10分鐘，收集上清液並將其於-20°C儲存，以便使用標準ELISA測試套組(Biolegend™，得自Dakewe Biotech Co., Beijing, China，或Abcam™，Abcam (Shanghai) Trading Co. Ltd, China)和ELISA讀取器(SH-1000 Hitachi, Japan)對以下進行ELISA分析：組織壞死因子- α (TNF- α)、白血球介素1- β (IL-1 β)、白血球介素6 (IL-6)、白血球介素10 (IL-10)、前列腺素E2 (PGE2)、干擾素- γ (IFN- γ)和5-羥基色胺(5-HT；血清素)。

【0093】 在進行一些初步實驗以驗證模型之後，進行下述實驗，即其中根據以下表1授予測試樣品或媒介物來處理小鼠。

【0094】 在表1中，MAP是Mefp-1溶液，其如下製備。在中國山東省沿海區域採集藍貽貝。收集貽貝足絲，將其切成小片，並將其於包含5%乙酸在4 mol/L脲水溶液中的提取緩衝液中進行均化。在離心之後收集粗製提取物，然後通過液相色譜純化。將經純化的蛋白質(半成品；濃度8 mg/mL；通過HPLC測得的純度為91.72%；pH 4.2)在0°C儲存。以下使用的溶液如下製備：將鹽水溶液添加到此半成品中以獲得表1中所述的濃度。孟魯司特鈉(「Mon」；MedChemExpress, Shanghai, China)和地塞米松(MedChemExpress)都以粉末形

式獲得，並且將其等溶解於超純水中，得到具有表1中所述濃度的溶液。表1中列出的所有物質都通過直接注射進氣囊進行局部投予。

表1

組別	小鼠 數目	藥物濃度 (mg/mL)	劑量/小鼠	治療時機(在注射卡拉膠之前)
對照(僅注射空氣)	6	生理鹽水	4.5 mg (的NaCl)	n/a
模型(注射卡拉膠)	6	生理鹽水	4.5 mg (的NaCl)	1小時
陽性(地塞米松)	6	0.4	200 µg	1小時
MAP	6	3	1.5 mg	1小時
Mon (口服)	6	1	200 µg	1小時
Mon (局部)	6	0.4	200 µg	1小時
MAP + Mon (口服)	6	3 (MAP) 1 (Mon)	1.5 mg (MAP) 200 µg (Mon)	1小時(MAP) 1.5小時(Mon)
MAP + Mon (局部)	6	6 (MAP) 0.8 (Mon)	1.5 mg (MAP) 200 µg (Mon)	1小時(MAP) 1.5小時(Mon)
MAP 0.25mg	3	0.5	0.25 mg	1小時
MAP 2.5mg	3	5	2.5 mg	1小時
MAP 5mg	3	10	5 mg	1小時
MAP 7.5mg	3	15	7.5 mg	1小時

【0095】 對於各組，滲出物的體積和氣囊壁的重量(±SD)在以下表2中作成表格。

表2

組別	滲出物體積(mL)	氣囊壁重量(g)
對照	3.33±0.10	0.58±0.06
模型	3.73±0.12	0.81±0.14
陽性	3.60±0.14	0.72±0.09
MAP	3.62±0.12	0.66±0.06
Mon (口服)	3.58±0.15	0.67±0.10
Mon (局部)	3.68±0.15	0.66±0.13
MAP + Mon (口服)	3.53±0.08	0.61±0.12
MAP + Mon (局部)	3.60±0.09	0.66±0.07
MAP 0.25mg	3.43±0.12	0.85±0.07
MAP 2.5mg	3.60±0.10	0.74±0.04
MAP 5mg	3.57±0.15	0.69±0.14
MAP 7.5mg	3.6±0.10	0.68±0.15

【0096】 總細胞計數和分類($\times 10^6/\text{mL}$)在以下表3中作成表格。

表3

組別	白血球	嗜中性粒細胞	單核細胞	淋巴細胞
對照	0.04	0.01	0.00	0.01
模型	5.06	0.28	0.10	4.57
陽性	2.48	0.22	0.05	2.08
MAP	2.71	0.23	0.10	2.24
Mon (口服)	2.38	0.21	0.07	1.98
Mon (局部)	3.82	0.29	0.17	3.22
MAP + Mon (口服)	1.53	0.21	0.06	1.16
MAP + Mon (局部)	1.65	0.19	0.11	1.27
MAP 0.25mg	0.40	0.09	0.01	0.26
MAP 2.5mg	1.26	0.18	0.05	0.94
MAP 5mg	1.19	0.17	0.04	0.92
MAP 7.5mg	1.65	0.27	0.07	1.22

【0097】 分析組織學樣本，並如下估算炎症得分、活性得分(即，病理切片中所示的嗜中性粒細胞的數目和密度，指示炎症的程度，以及在開放性傷口和感染性疾病的情況下，感染的程度)、水腫得分和纖維增生性增生得分。

【0098】 在光學顯微鏡下觀察HE染色切片，並根據感知的炎症水準(在顯示僅少量炎症細胞散落在區域中的情況下—1分(輕微)；在其中觀察到很多炎症細胞的情況下—2分(中等)；和，在具有彌漫性浸潤的情況下—3分(嚴重))進行評分(1分，2分，或3分)。在總體觀察之後，類似的評分系統用於水腫水準(最嚴重對應於3分，輕微對應於1分)。嗜中性粒細胞的得分使用與用於炎症細胞的方法相同的方法。

表4

組別	炎症得分	活性得分	水腫得分	總計	纖維增生性增生得分
對照	0.67	0.50	1.00	3.00	0.83
模型	3.00	2.00	1.50	6.67	0.17
陽性	1.50	0.83	1.67	4.00	0.00
MAP	2.67	1.50	1.67	6.00	0.17
Mon (口服)	1.83	1.00	1.00	4.17	0.33
Mon (局部)	2.17	1.00	1.50	5.50	0.83
MAP+Mon(口服)	1.83	1.00	0.67	4.83	1.33
MAP+Mon(局部)	2.00	1.17	0.83	4.33	0.33
MAP 0.25 mg	2.00	1.33	1.00	5.00	0.67
MAP 2.5 mg	1.67	1.00	1.67	4.67	0.33
MAP 5 mg	2.00	1.00	1.67	5.00	0.33
MAP 7.5 mg	2.00	1.00	1.00	5.00	1.00

【0099】 在對照組中，氣囊壁顯示少量的零散的炎症細胞浸潤，稀少的嗜中性粒細胞浸潤，輕微的水腫，和輕微的纖維組織增生。

【0100】 在模型組中，氣囊壁顯示在整個層中的嚴重的炎症細胞浸潤(大量嗜中性粒細胞)，嚴重的間質性水腫，偶爾有纖維組織增生。

【0101】 在陽性對照組中，氣囊壁顯示輕微到中等的炎症細胞浸潤，偶爾在整個層中有浸潤，嚴重的間質性水腫，且無纖維組織形成。

【0102】 在MAP (1.5 mg)組中，氣囊壁顯示在整個層中的嚴重的炎症細胞

第 25 頁，共 53 頁(發明說明書)

胞浸潤，中等到嚴重的間質性水腫，偶爾有纖維組織增生。

【0103】 在Mon (口服)組中，氣囊壁顯示中等的炎症細胞浸潤，有少量的嗜中性粒細胞浸潤，輕微的間質性水腫，偶爾有纖維組織增生。

【0104】 在Mon (局部)組中，氣囊壁顯示中等到嚴重的炎症細胞浸潤，有少量的嗜中性粒細胞浸潤，輕微到中等的嚴重的間質性水腫，和輕微的纖維組織增生。

【0105】 在MAP+Mon (口服)組中，氣囊壁顯示中等的炎症細胞浸潤，有少量的嗜中性粒細胞浸潤，輕微的間質性水腫，和明顯的纖維組織增生。

【0106】 在MAP+Mon (局部)組中，氣囊壁顯示中等的炎症細胞浸潤，有少量的嗜中性粒細胞浸潤，輕微的間質性水腫，偶爾有纖維組織增生。

【0107】 在MAP (0.25 mg)組中，氣囊壁顯示中等的炎症細胞浸潤，有少量的嗜中性粒細胞浸潤，輕微的間質性水腫，和輕微的纖維組織增生。

【0108】 在MAP (2.5 mg)組中，氣囊壁顯示中等的炎症細胞浸潤，有少量的嗜中性粒細胞浸潤，明顯的間質性水腫，偶爾有纖維組織增生。

【0109】 在MAP (5 mg)組中，氣囊壁顯示中等的炎症細胞浸潤，有少量的嗜中性粒細胞浸潤，輕微到中等的間質性水腫，偶爾有纖維組織增生。

【0110】 在MAP (7.5 mg)組中，氣囊壁顯示中等的炎症細胞浸潤，有輕微到中等的嗜中性粒細胞浸潤，輕微的間質性水腫，和輕微的纖維組織增生。

【0111】 滲出物的ELISA試驗結果顯示PGE2和5-HT水準低於檢測範圍。TNF- α 、IL-6、IL-10和IFN- γ 的結果($\pm$ SD)在以下表5中作成表格，並且圖示地顯示於圖1 (關於其，在表5中給出縮寫)。

表5

組別	TNF- α	IL-6	IL-10	IFN- γ
對照	8.62 $\pm$ 0.10	2.3 $\pm$ 0.00	24.32 $\pm$ 0.00	-5.00 $\pm$ 3.00
模型	674.65 $\pm$ 244.26	34050 $\pm$ 13984	72.13 $\pm$ 33.13	167 $\pm$ 44.48
陽性	71.31 $\pm$ 111.19	3649 $\pm$ 1764	52.33 $\pm$ 11.60	2879 $\pm$ 1267
MAP	55.45 $\pm$ 11.51	10411 $\pm$ 6948	65.79 $\pm$ 12.64	1842 $\pm$ 1129
Mon (口服) (MON-O)	39.41 $\pm$ 17.62	8453 $\pm$ 9758	52.59 $\pm$ 7.22	2495 $\pm$ 711
Mon (局部) (MON-T)	90.73 $\pm$ 109.02	2528 $\pm$ 1538	68.18 $\pm$ 15.81	1690 $\pm$ 725
MAP+Mon(口服) (MMO)	27.08 $\pm$ 6.14	2459 $\pm$ 681	37.06 $\pm$ 11.91	1534 $\pm$ 685
MAP+Mon(局部) (MMT)	27.87 $\pm$ 8.49	330 $\pm$ 0.00	56.24 $\pm$ 13.73	2362 $\pm$ 1233
MAP 0.25mg (0.25mg)	14.95 $\pm$ 4.54	98.7 $\pm$ 73.55	70.50 $\pm$ 23.86	1778 $\pm$ 1430
MAP 2.5mg (2.5mg)	21.53 $\pm$ 2.69	5289 $\pm$ 5575	56.64 $\pm$ 17.56	379.91 $\pm$ 138.01
MAP 5mg (5mg)	21.76 $\pm$ 3.84	811 $\pm$ 224.56	65.50 $\pm$ 9.33	575.66 $\pm$ 289.83
MAP 7.5mg (7.5mg)	26.23 $\pm$ 2.02	757 $\pm$ 331.78	56.51 $\pm$ 7.15	688.76 $\pm$ 374.80

實施例2

氣囊模型II

【0112】 按照以上實施例1所述的相同程序，進行進一步的對比實驗，其中將小鼠(Comparative Medicine Centre, Yangzhou University, Jiangsu Province, China)通過根據以下表6投予測試樣品或媒介物來處理。

【0113】 在表6中，「Dex」是地塞米松的縮寫，「多巴胺」是多巴胺鹽酸鹽(Shanghai Aladdin Bio-Chem Technology Co., Ltd., Shanghai, China)的4 mg/mL水溶液。

表6

組別	小鼠 數目	藥物濃度 (mg/mL)	劑量/小鼠	治療時機(在注射卡拉膠之前)
對照	6	生理鹽水	4.5 mg(的NaCl)	n/a
模型	6	生理鹽水	4.5 mg(的NaCl)	1小時
Dex	6	0.8	400 µg	1小時
多巴胺	6	4	2 mg	1小時
MAP	6	0.5	250 µg	1小時
Mon +MAP	6	0.4 (Mon) 1 (MAP)	100 µg (Mon) 250 µg (MAP)	1.5小時(Mon) 1小時(MAP)
Dex +MAP	6	1.6 (Dex) 1 (MAP)	400 µg (Dex) 250 µg (MAP)	1.5小時(Dex) 1小時(MAP)
Mon	6	0.2	100 µg	1小時

【0114】 對於各組，滲出物的體積和氣囊壁的重量(平均值±SD)在以下表7中作成表格。

表7

組別	滲出物體積(mL)	氣囊壁重量(g)
對照	2.57±0.05	0.44±0.02
模型	3.10±0.21	0.62±0.09
Dex	2.87±0.06	0.45±0.01
多巴胺	2.93±0.06	0.44±0.07
MAP	3.00±0.10	0.49±0.04
Mon + MAP	2.90±0.10	0.53±0.04
Dex + MAP	3.03±0.06	0.48±0.05
Mon	2.83±0.15	0.52±0.03

【0115】 總細胞計數和分類($\times 10^6$ /mL)在以下表8中作成表格。

表8

組別	白血球	嗜中性粒細胞	單核細胞	淋巴細胞
對照	0.07	0.02	0.03	0.01
模型	2.33	0.14	2.08	0.05
Dex	0.88	0.13	0.67	0.03
多巴胺	1.91	0.19	1.58	0.05
MAP	1.74	0.19	1.40	0.06
Mon+MAP	1.00	0.18	0.69	0.05
Dex+MAP	1.06	0.16	0.77	0.05
Mon	1.58	0.26	1.15	0.07

【0116】 分析組織學樣本，按照以上實施例1估算炎症得分、活性得分和纖維增生性增生得分，並將其以下表9中作成表格。

表9

組別	炎症得分	活性得分	水腫得分	總計	纖維增生性增生得分
對照	0.50	0.00	1.00	1.50	0.67
模型	2.17	1.83	2.00	6.00	0.00
Dex	0.83	0.33	0.83	2.00	0.00
多巴胺	2.00	1.67	2.33	6.00	0.00
MAP	1.33	1.17	1.67	4.17	0.00
Mon+MAP	1.67	1.17	1.17	4.00	0.00
Dex+MAP	1.00	0.17	1.17	2.33	0.00
Mon	1.83	1.50	1.50	4.83	0.00

【0117】 在對照組中，氣囊壁顯示少量的淋巴細胞浸潤，無嗜中性粒細胞浸潤，偏輕微到中等的水腫，和輕微的纖維組織增生。

【0118】 在模型組中，氣囊壁顯示在整個層中的嚴重的炎症細胞浸潤，嚴重的間質性水腫，且無纖維組織增生。

【0119】 在Dex組中，氣囊壁顯示少量的淋巴細胞浸潤，偶爾有輕微的嗜中性粒細胞浸潤，輕微的間質性水腫，且無纖維組織形成。

【0120】 在多巴胺組中，氣囊壁顯示大量的炎症細胞浸潤，輕微到中等

的間質性水腫，且無纖維組織增生。

【0121】 在MAP組中，氣囊壁顯示大量的炎症細胞浸潤，輕微到中等的間質性水腫，且無纖維組織增生。

【0122】 在Mon+MAP組中，氣囊壁顯示中等的炎症細胞浸潤，輕微的間質性水腫，且無纖維組織增生。

【0123】 在Dex+MAP組中，氣囊壁顯示少量的零散的淋巴細胞浸潤，偶爾有嗜中性粒細胞浸潤，輕微的間質性水腫，且無纖維組織增生。

【0124】 在Mon組中，氣囊壁顯示大量的炎症細胞浸潤，輕微到中等的間質性水腫，且無纖維組織增生。

【0125】 對於TNF- α 、IL-6、IL-10和IFN- γ ，滲出物的ELISA試驗結果總是顯示穩定的高回應，具有類似的變化趨勢。將IL-6和IFN- γ 的結果($\pm$ SD)在以下表10中作成表格並圖示地顯示於圖2。

表10

組別	IL-6	IFN- γ
對照	1083.94 $\pm$ 433.74	-3.74 $\pm$ 1.3
模型	1213.54 $\pm$ 790.71	855.32 $\pm$ 570.36
Dex	3697.30 $\pm$ 5112.52	238.91 $\pm$ 272.27
多巴胺	1740.11 $\pm$ 765.02	5153.02 $\pm$ 5773.45
MAP	1686.11 $\pm$ 632.33	282.01 $\pm$ 192.24
Mon + MAP	1674.80 $\pm$ 696.85	1487.61 $\pm$ 815.47
Dex + MAP	8352.25 $\pm$ 6162.60	48.44 $\pm$ 35.58
Mon	1493.42 $\pm$ 564.77	896.90 $\pm$ 633.60

實施例3

燒傷模型

【0126】 重量在200至300 g之間的健康成年雄性Sprague-Dawley大鼠由Beijing Vital River Laboratory Animal Technology Co. Ltd，Beijing，China提供。

【0127】 在進行任何實驗之前，將大鼠安置在標準化的條件下(在22 $\pm$ 2°C

的恒定溫度，而亮暗各自交替12小時的時間段)，並以標準大鼠飲食與水餵食。

【0128】 通過腹膜內注射投予3%水合氯醛(Sinopharm Chemical Reagent Co., Ltd., Shanghai, China) (1 mL/10 g體重)來麻醉大鼠。用電動剃鬚刀剃掉每個大鼠的背側幹(dorsal trunk)，用70%酒精擦拭進行外科準備。使用恆溫恆壓燙傷儀器(YLS-5Q, Shandong Academy of Medical Sciences, China)，因為此允許精確測量施加於皮膚表面的壓力。如下誘導產生熱損傷：將觸針(其表面積為4 cm²)加熱至80°C，將觸針施加於皮膚表面，接觸時間為18秒。在操作期間施加500克壓力。以此種方式在每隻大鼠上產生四個二度從淺到深的燒傷傷口。將測試化合物或媒介物施用於傷口的表面。

【0129】 使大鼠保持處於單獨的籠子中，但是允許其在整個試驗期間自由活動。在第一次處理之後，在外科手術之後約3至4小時(第0天)施用500 µL有關溶液，然後接下來的7天每日施用一次。每天觀察燙傷傷口的總體外觀。用數位相機在48小時(第2天)、以及在第4天和第7天拍攝照片以比較傷口癒合。評價以下標準的皮膚損傷：水疱、腫脹、發紅、結痂、出血、分泌、肉芽組織和疤痕組織。癒合的程度表示為傷口收縮率(WCR)：

$$WCR=(A_0-A_t)/A_0\times 100\%$$

其中A₀和A_t分別表示初始面積和在時間t的傷口面積。

【0130】 在施加燒傷之後的第2天、第4天和第7天，犧牲兩隻大鼠，切除燒傷的皮膚。將新鮮分離的皮膚在10%中性緩衝的福馬林(其包含4%的甲醛)中固定。此用於組織學包埋、染色和免疫組織化學研究。

【0131】 通過根據以下表11投予測試樣品或媒介物來處理大鼠。投予的溶液基本上如以上實施例1所述構成。

表11

組別	藥物濃度(mg/mL)	劑量/傷口
對照(即，未處理的大鼠)	-	-
鹽水	生理鹽水	4.5 mg NaCl
地塞米松	0.8	0.4 mg
MAP	0.5	0.25 mg
孟魯司特	0.5	0.25 mg
MAP+地塞米松	1 (MAP) 1.6 (地塞米松)	0.25 mg (MAP) 0.4 mg (地塞米松)
MAP+孟魯司特	1 (兩者都是)	每種藥物各0.25 mg

結果

【0132】 燒傷評分顯示於以下表12並在圖3中說明。將皮膚樣品送至 Department of Pathology of Nanjing Hospital of Chinese Medicine，China。將樣品固定和包埋，將組織切片切割和染色。在光學顯微鏡下檢查染色的切片，拍攝圖片。根據以下標準解釋和評分所有圖片：一度—表皮受損，底層保持完整(評分1分)；淺二度—表皮完全受損，乳頭層受損(1.5分)；深二度—真皮受損至網狀層，保留一些真皮(2.5分)；和三度—真皮完全受損，肌肉和/或骨骼受影響(3分)。

表12

組別	第2天	第4天	第7天
對照	0.00	0.00	0.00
鹽水(模型)	2.70	2.94	1.88
地塞米松(Dex)	2.25	2.64	2.50
MAP	2.36	2.79	2.63
孟魯司特(Mon)	1.50	2.38	2.00
MAP+地塞米松	2.50	2.63	2.75
MAP+孟魯司特	1.80	2.00	2.00

實施例4

氣囊模型：局部投予相比於口服投予

【0133】基本上如實施例1所述進行實驗(所不同的是，此次，C57BL/6小鼠由Nanjing Biomedical Research Institute of Nanjing University (NBRI)提供)。

【0134】進行實驗，其中通過根據以下表13投予測試樣品或媒介物處理小鼠。如下局部投予表13中列出的所有物質：將其直接注射進氣囊中，除了胃內投予的Mon (口服)(Mon-O)之外。

表13

組別	小鼠數目	藥物濃度 (mg/mL)	劑量/小鼠	治療時機(在注射卡拉膠之前)
對照(僅注射空氣)	6	生理鹽水	4.5 mg(的NaCl)	n/a
模型(注射卡拉膠)	8	生理鹽水	4.5 mg(的NaCl)	1小時
陽性(地塞米松)	6	0.4	200 µg	1小時
Mon-O	8	0.4	200 µg	1小時
Mon-T	8	0.4	200 µg	1小時

【0135】對於各組，滲出物的體積和氣囊壁的重量(平均值±SD)在以下表14中作成表格。

表14

組別	滲出物體積(mL)	氣囊壁重量(g)
對照	3.48±0.12	0.68±0.07
模型	3.76±0.05	0.72±0.09
陽性	3.3±0.15	0.63±0.09
Mon-O	3.69±0.14	0.68±0.08
Mon-T	3.54±0.09	0.65±0.06

【0136】將總細胞計數和分類(x10⁶/mL)在以下表15中作成表格。

表15

組別	白血球	嗜中性粒細胞	單核細胞
對照	0.09	8.75	0.00
模型	3.34	260.03	74.17
陽性	3.49	285.97	62.53
Mon-O	2.66	216.89	46.81
Mon-T	2.19	170.98	42.10

【0137】 分析組織學樣本，炎症得分、活性得分、水腫得分和成纖維細胞增殖得分主要如以上實施例1中所述估算，並且顯示於以下表16中。

表16

組別	炎症得分	水腫得分	活性得分	總計
對照	0.33	1.17	0.00	1.50
模型	2.17	2.67	1.17	6.00
陽性	1.83	1.67	0.67	4.17
Mon-O	2.33	2.17	1.67	6.17
Mon-T	2.00	1.50	1.00	4.50

【0138】 在對照組中，氣囊壁顯示少量零散的炎症性細胞浸潤，輕微的水腫，且無明顯的嗜中性粒細胞浸潤。

【0139】 在模型組中，氣囊壁顯示在整個層中的中等到嚴重的慢性炎症細胞浸潤，中等到嚴重的水腫和零散的嗜中性粒細胞浸潤。

【0140】 在陽性對照組中，氣囊壁顯示中等的慢性炎症細胞浸潤，中等的間質性水腫和少量的嗜中性粒細胞浸潤。

【0141】 在Mon-O組中，氣囊壁顯示在整個層中的中等到嚴重的慢性炎症細胞浸潤，和中等到嚴重的水腫。

【0142】 在Mon-T中，氣囊壁顯示中等的慢性炎症細胞浸潤，輕微到中性的水腫，和少量的嗜中性粒細胞浸潤。

【0143】 TNF-α、IL-6、IL-10和IFN-γ的滲出物的ELISA試驗結果總是以

相似的變化趨勢顯示穩定的高回應。TNF- α 、IL-6和IFN- γ 的結果($\pm$ SD)在以下表17中作成表格，並以圖示顯示於圖4。

表17

組別	TNF- α	IL-6	IFN- γ
對照	8.42 $\pm$ 5.65	36.95 $\pm$ 14.22	18.34 $\pm$ 33.65
模型	143.60 $\pm$ 65.56	487.97 $\pm$ 231.99	718.51 $\pm$ 331.12
陽性	65.08 $\pm$ 7.70	428.05 $\pm$ 267.27	388.83 $\pm$ 130.02
Mon-O	146.3 $\pm$ 70.74	500.25 $\pm$ 292.84	557.95 $\pm$ 231.86
Mon-T	80.37 $\pm$ 61.72	312.05 $\pm$ 189.23	568.19 $\pm$ 316.70

實施例5

氣囊模型：孟魯司特的組合

【0144】 按照如以上實施例1所述的相同程序，進行進一步的對比實驗，其中通過根據以下表18投予測試樣品或媒介物處理小鼠(由Changzhou Cvens Experimental Animal Co. Ltd.提供)。

表18

組別	小鼠數目	藥物濃度(mg/mL)	劑量/小鼠	治療時機(在注射卡拉膠之前)
對照(僅注射空氣)	6	生理鹽水	4.5 mg(的NaCl)	n/a
模型(注射卡拉膠)	6	生理鹽水	4.5 mg(的NaCl)	1小時
陽性(地塞米松)	6	0.4	200 μ g	1小時
MAP	6	3	1.5 mg	1小時
MON-O	6	1	200 μ g	1小時
MON-T	6	0.4	200 μ g	1小時
MAP+Mon (口服)(MMO)	6	3 (MAP) 1 (Mon)	1.5 mg (MAP) 200 μ g (Mon)	1小時(MAP) 1.5小時(Mon)
MAP+Mon (局部)(MMT)	6	6 (MAP) 0.8 (Mon)	1.5 mg (MAP) 200 μ g (Mon)	1小時(MAP) 1.5小時(Mon)

【0145】 對於各組，滲出物的體積和氣囊壁的重量(平均值 $\pm$ SD)在以下表19中作成表格。

表19

組別	滲出物體積(mL)	氣囊壁重量(g)
對照	3.33±0.10	0.58±0.06
模型	3.73±0.12	0.81±0.14
陽性	3.60±0.14	0.72±0.09
MAP	3.62±0.12	0.66±0.06
MON-O	3.58±0.15	0.67±0.10
MON-T	3.68±0.15	0.66±0.13
MMO	3.53±0.08	0.61±0.12
MMT	3.60±0.09	0.66±0.07

【0146】 將總細胞計數和分類($\times 10^6/\text{mL}$)在以下表20中作成表格。

表20

組別	白血球	嗜中性粒細胞	單核細胞	淋巴細胞
對照	0.04	0.01	0.00	0.01
模型	5.06	0.28	0.10	4.57
陽性	2.48	0.22	0.05	2.08
MAP	2.71	0.23	0.10	2.24
MON-O	2.38	0.21	0.07	1.98
MON-T	3.82	0.29	0.17	3.22
MMO	1.53	0.21	0.06	1.16
MMT	1.65	0.19	0.11	1.27

【0147】 分析組織學樣本，炎症得分、活性得分、水腫得分和成纖維細胞增殖得分如以上實施例1中所述估算，並且顯示於以下表21中。

表21

組別	炎症得分	活性得分	水腫得分	總計	成纖維細胞增殖得分
對照	0.67	0.50	1.00	3.00	0.83
模型	3.00	2.00	1.50	6.67	0.17
陽性	1.50	0.83	1.67	4.00	0.00
MAP	2.67	1.50	1.67	6.00	0.17
MON-O	1.83	1.00	1.00	4.17	0.33
MON-T	2.17	1.00	1.50	5.50	0.83
MMO	1.83	1.00	0.67	4.83	1.33
MMT	2.00	1.17	0.83	4.33	0.33

【0148】 在對照組中，氣囊壁顯示少量零散的炎症細胞浸潤，稀少的嗜中性粒細胞浸潤，輕微的水腫，和輕微的纖維組織增生。

【0149】 在模型組中，氣囊壁顯示在整個層中的嚴重的炎症細胞浸潤(大量嗜中性粒細胞)，嚴重的間質性水腫，偶爾有纖維組織增生。

【0150】 在陽性對照組中，氣囊壁顯示輕微到中等的炎症細胞浸潤，偶爾在整個層中有浸潤，嚴重的間質性水腫，且無纖維組織形成。

【0151】 在MAP (1.5 mg)組中，氣囊壁顯示在整個層中的嚴重的炎症細胞浸潤，中等到嚴重的間質性水腫，偶爾有纖維組織增生。

【0152】 在MON-O組中，氣囊壁顯示中等的炎症細胞浸潤，與少量的嗜中性粒細胞浸潤，輕微的間質性水腫，偶爾有纖維組織增生。

【0153】 在MON-T組中，氣囊壁顯示中等到嚴重的炎症細胞浸潤，與少量的嗜中性粒細胞浸潤，輕微到中等的間質性水腫，和輕微的纖維組織增生。

【0154】 在MMO組中，氣囊壁顯示中等的炎症細胞浸潤，與少量的嗜中性粒細胞浸潤，輕微的間質性水腫，和明顯的纖維組織增生。

【0155】 在MMT組中，氣囊壁顯示中等的炎症細胞浸潤，與少量的嗜中性粒細胞浸潤，輕微的間質性水腫，偶爾有纖維組織增生。

【0156】 滲出物的ELISA試驗結果顯示，PGE2和5-HT水準低於檢測範圍。將TNF- α 、IL-6、IL-10和IFN- γ 的結果($\pm$ SD)在以下表22中作成表格，且圖示地顯示於圖5。

表22

組別	TNF- α	IL-6	IL-10	IFN- γ
對照	8.62 $\pm$ 0.10	2.3 $\pm$ 0.00	24.32 $\pm$ 0.00	-5.00 $\pm$ 3.00
模型	674.65 $\pm$ 244.26	34050 $\pm$ 13984	72.13 $\pm$ 33.13	167 $\pm$ 44.48
陽性	71.31 $\pm$ 111.19	3649 $\pm$ 1764	52.33 $\pm$ 11.60	2879 $\pm$ 1267
MAP	55.45 $\pm$ 11.51	10411 $\pm$ 6948	65.79 $\pm$ 12.64	1842 $\pm$ 1129
Mon(口服)	39.41 $\pm$ 17.62	8453 $\pm$ 9758	52.59 $\pm$ 7.22	2495 $\pm$ 711
Mon(局部)	90.73 $\pm$ 109.02	2528 $\pm$ 1538	68.18 $\pm$ 15.81	1690 $\pm$ 725
MMO	27.08 $\pm$ 6.14	2459 $\pm$ 681	37.06 $\pm$ 11.91	1534 $\pm$ 685
MMT	27.87 $\pm$ 8.49	330 $\pm$ 0.00	56.24 $\pm$ 13.73	2362 $\pm$ 1233

實施例6

急性創傷模型

【0157】 6-8週齡雄性C57BL/6小鼠由Changzhou Cvens Experimental Animal Co. Ltd提供。在進行任何實驗之前，將小鼠安置在標準化的條件下(在22 $\pm$ 2°C的恒定溫度，而亮暗各自交替12小時的時間段)，並以標準小鼠飲食與水餵食達約一週。

【0158】 使用腹膜內3%水合氯醛(Sinopharm Chemical Reagent Co., Ltd. , Shanghai , China ; 1 mL/10 g體重)來誘發全身麻醉。用嬰兒剃髮器將背部上的毛髮剃掉，並用乳膏劑脫毛。用75%酒精將皮膚區域擦拭和消毒兩次。

【0159】 使用具有0.6 mm直徑的EMS皮膚生檢打孔器(Electron Microscopy Sciences , P.O. Box 550 , 1560 Industry Road , Hatfield , PA 19440)在背部中線的每一側上產生兩個圓形傷口。移除全層皮膚，傷口的深度達到筋膜。傷口保持開放，不進行縫合。

【0160】 將不同藥物以20 μ L/傷口進行局部投予，從第0天至第12天每日投予一次。給予模型組相同量的生理鹽水。在該實驗中存在6個組，包括54隻小鼠，顯示於表23。購買重組人表皮生長因子(rhEGF , Shanghai Haohai Biological Technology Co. Ltd , Shanghai , China) ，並根據製造商說明書進行製

備。將rhEGF凍乾粉(100000 IU/小瓶)溶解於20 mL生理鹽水中，以製備具有5000 IU/mL濃度的溶液。對於該實驗，rhEGF的工作劑量為100 IU/傷口。孟魯司特鈉(「Mon」；MedChemExpress，MCE China，Shanghai，China)以粉末形式獲得，將其溶解於超純水中，得到具有如表22中所述濃度的溶液(L、M和H分別表示低、中和高的孟魯司特劑量)

表23

組別	第3天	第7天	第12天	總計	含義	劑量
對照	3	4	2	9	鹽水	/
模型	3	4	2	9	模型+鹽水	/
rhEGF	3	4	2	9	模型+ rhEGF	100 IU/傷口
Mon L	3	4	2	9	模型+ Mon L	50 µg/傷口
Mon M	3	4	2	9	模型+ Mon M	100 µg/傷口
Mon H	3	4	2	9	模型+ Mon H	200 µg/傷口

- 【0161】 在投予藥物之後，用透明敷料敷裹傷口。
- 【0162】 從第0天每隔一天為每個傷口拍攝照片。將照片掃描進電腦中，使用ImageJ圖像分析軟體(National Institutes of Health，China)計算傷口面積。
- 【0163】 未癒合的傷口面積表示為初始傷口面積的百分比：

$$A_t/A_0 \times 100\% ,$$

其中A₀和A_t分別指在第0天的初始面積和在測量日(時間t)的傷口面積。

- 【0164】 在傷口-傷口浸潤之後的第3天、第7天和第12天，獲取樣品。將小鼠犧牲，取面積為1.8 cm x 2.5 cm的傷口組織。將一半組織保藏在10%中性緩衝的福馬林(Nanchang Rain Dew Experimental Equipment Co., Ltd.，Nanchang，Hubei Provence，China)中，並通過組織包埋進石蠟、切片和染色進行分析。在

光學顯微鏡下分析HE和Masson染色石蠟切片。估算皮膚再生、成纖維細胞增殖、膠原蛋白再生得分和炎症得分。

【0165】 將剩餘的樣品在-80°C儲存用於進一步分析。將組織切割成小片，添加液氮以增加脆度。將9 mL生理鹽水添加到1 g組織中，然後將其使用組織破碎儀(Shanghai Jingxin Industrial Development Co., Ltd. , Shanghai , China)以55 Hz研磨60秒，然後以8000 rpm在4°C離心10分鐘。

【0166】 收集上清液，提取的蛋白質用於使用標準ELISA測試套組和ELISA讀取器(SH-1000 Hitachi , Japan)進行ELISA分析。測定組織壞死因子- α (TNF- α)、白血球介素1- β (IL-1 β)和白血球介素6 (IL-6)、血管內皮生長因子(VEGF)和羥基脯氨酸(Hyp)。ELISA套組購自Beijing 4A Biotech Co., Ltd. (Beijing , China)。

【0167】 孟魯司特對傷口癒合的作用顯示於以下表24 (其中數字表示在不同組中的各個時間點剩餘的傷口面積相比於初始傷口的百分比($\pm$ SD ; n=5)和圖6中。

表24

組別	模型	rhEGF	Mon L	Mon M	Mon H
第2天	90.58 $\pm$ 6.48	85.73 $\pm$ 10.29	78.41 $\pm$ 9.51	79.97 $\pm$ 11.79	76.11 $\pm$ 6.40
第4天	79.97 $\pm$ 12.74	68.15 $\pm$ 16.47	57.59 $\pm$ 11.54	55.09 $\pm$ 8.83	48.60 $\pm$ 6.49
第6天	48.79 $\pm$ 9.10	30.85 $\pm$ 1.87	27.53 $\pm$ 3.76	28.51 $\pm$ 1.03	29.13 $\pm$ 6.16
第8天	24.76 $\pm$ 6.29	16.93 $\pm$ 4.03	14.08 $\pm$ 2.85	13.87 $\pm$ 3.51	14.59 $\pm$ 3.04
第12天	10.66 $\pm$ 4.13	5.02 $\pm$ 3.03	1.15 $\pm$ 2.29	2.15 $\pm$ 3.73	2.48 $\pm$ 3.43

【0168】 以上數據表明，孟魯司特對傷口癒合具有顯著作用。在第4天，在Mon H組中的改善率為約39%。

【0169】 樣品中的傷口HYP (μ g/mg)含量指示膠原蛋白再生，其顯示於以下表25中和圖7中。

表25

Hyp含量(μg/mg組織重量)					平均值(n=4)	SD
對照	4.43	5.06	5.50	5.03	5.01	0.44
模型	5.40	2.82	3.89	4.25	4.09	1.06
RhEGF	6.54	4.89	5.39	5.45	5.57	0.70
Mon L	4.65	4.41	6.71	6.05	5.46	1.11
Mon M	4.94	4.18	6.80	4.98	5.23	1.11
Mon H	4.62	5.83	3.99	4.64	4.77	0.77

實施例7

糖尿病傷口模型

【0170】 在8至12週齡雄性db/db小鼠(C57BL/KsJ-db/db，具有35-45 g/小鼠的體重；由Changzhou Cvens Experimental Animal Co. Ltd.提供)上進行具有與以上實施例6中所述基本上相同的程序的類似實驗。

【0171】 具有0.8 mm直徑的EMS皮膚生檢打孔器用於產生傷口。

【0172】 將不同藥物以20 μL/傷口進行局部投予，從第0天至第18天每日投予一次。給予模型組相同量的生理鹽水。在該實驗中存在3個組，包括39隻小鼠，如以下表26所示。

表26

組別	第6天	第12天	第18天	總計	含義	劑量
模型	4	8	1	13	模型+鹽水	/
rhEGF	4	8	1	13	模型+rhEGF	100 IU/各傷口
Mon	4	8	1	13	模型+Mon	100 μg/各傷口

【0173】 在傷口浸潤之後的第6天、第12天和第18天，獲取樣品。

【0174】 孟魯司特對傷口癒合的作用顯示於圖8。

【0175】 將VEGF含量(pg/g)在第6天的結果在以下表27中作成表格並圖示地顯示於圖9。

表27

		模型	RhEGF	Mon
VEGF	平均值	3.15	4.55	5.47
	SD	0.97	1.60	1.31

【0176】 結果表明，孟魯司特在受傷的組織中具有增加的VEGF產生，相比於在模型組中的產生增加約74%。

【0177】 分析組織學樣本，如下估算皮膚再生、成纖維細胞增殖、膠原蛋白再生得分(Masson得分)和炎症得分。

【0178】 在光學顯微鏡下觀察HE和Masson染色切片，並根據以下標準評分(1分，2分，或3分)。當新產生的皮膚覆蓋的面積不大於傷口面積的三分之一時，皮膚再生得分為1分；當新產生的皮膚覆蓋的面積大於傷口面積的三分之一但是小於三分之二時，得分為2分；當新產生的皮膚覆蓋的面積為傷口面積的至少三分之二時，得分為3分。

【0179】 成纖維細胞增殖按照以下標準評分：

成纖維細胞增殖得分	
膠原纖維增生	得分
肌纖維母細胞增殖	1
纖維組織增生	2
纖維組織之間出現的膠原蛋白	3

【0180】 炎症按照以下標準評分：

炎症得分	
炎症細胞浸潤	得分
偶爾(Occasional)	0
零星的(Sporadic)	1
明顯的(Manifest)	2
彌漫性浸潤	3

【0181】 Masson染色樣品的膠原沉積得分標準如下。與正常組織進行比較。無清晰的藍色染色得0分；在零散圖案中出現藍色纖維評分為1分；如果出現更多的藍色纖維，將其評分為2分，彌漫性藍色得3分。

【0182】 組織病理學分析的結果顯示於圖10。

【0183】 結果表明，孟魯司特對加速傷口癒合具有作用，尤其是在傷口浸潤之後的早期階段。

實施例8

孟魯司特乳膏劑

【0184】 製備基於孟魯司特鈉的乳膏劑，其由以下組分組成：孟魯司特鈉(200 mg；Arromax Pharmatech Co., Ltd, Suzhou, China)，硬脂酸(2 g)，單硬脂酸甘油酯(2 g)，十六醇(2 g)，甘油(5 g)和氫氧化鈉(0.25 g) (全部得自Sinopharm Chemical Reagent Co. Ltd, Shanghai, China)；丙烯醯基二甲基牛磺酸銨/VP共聚物(0.13 g；Clariant Chemical (Guangzhou) Co., Ltd., Guangzhou, China)；苯氧基乙醇(0.3 g)和乙基己基甘油(0.1 g) (都得自Shanghai Rayson Chemicals Co., Ltd., Shanghai, China)；和純化水(88.42 g)。

【0185】 將硬脂酸、單硬脂酸甘油酯和十六醇混合，並伴隨攪拌加熱至85°C，直到混合物完全熔融。

【0186】 伴隨攪拌在85°C將丙烯醯基二甲基牛磺酸銨/VP共聚物、純化水和氫氧化鈉混合，形成均質的膠態懸浮液。

【0187】 然後伴隨攪拌將孟魯司特鈉、甘油、苯氧基乙醇和乙基己基甘油組合，直到孟魯司特完全溶解。

【0188】 將共聚物/水混合物添加到含硬脂酸的混合物中，通過使用乳化

設備快速攪拌5分鐘將其乳化。將所得乳液冷卻至55°C，添加含孟魯司特的混合物並混合。將所得混合物冷卻至室溫，獲得成品。

實施例9

孟魯司特乳膏劑II

【0189】 按照與以上實施例8中所述的相似操作以製備第二乳膏劑。

【0190】 此次，首先伴隨攪拌將硬脂酸(2 g)和單硬脂酸甘油酯(2 g)加熱至85°C，直到混合物完全熔融；然後將聚山梨酯80 (1 g；Sinopharm Chemical Reagent Co. Ltd)和透明質酸鈉(0.4 g；Shandong Focuschem Biotech Co.，Ltd，Shandong，China)與純化水在85°C混合在一起，直到透明質酸鈉完全溶脹。

【0191】 將此兩種混合物組合、乳化和攪拌，然後冷卻至55°C，然後添加相同的含孟魯司特的混合物(如以上實施例8中所述)並混合。冷卻至室溫得到成品。

實施例10

孟魯司特乳膏劑III

【0192】 按照與以上實施例8中所述的相似操作以製備第三乳膏劑。

【0193】 此次，伴隨攪拌將山梨聚糖單硬脂酸酯(0.6 g)、聚山梨酯80 (1 g)、十六醇(2 g)、辛酸/癩酸甘油三酯(5 g)、石蠟油(4 g)、單硬脂酸甘油酯(2 g)和石油凍(petroleum jelly) (5 g) (全部得自Sinopharm Chemical Reagent Co. Ltd)混合並加熱至85°C，直到混合物完全熔融。然後，在85°C將丙烯醯基二甲基牛磺酸銨/VP共聚物(0.13 g)、甘油(4 g)、海藻糖(0.5 g；Sinopharm Chemical Reagent Co. Ltd)與純化水(70.5 g)混合在一起，直到各種組分均溶解。

【0194】 伴隨攪拌製備包含孟魯司特鈉(200 mg)、聚乙二醇200 (4 g；

Sinopharm Chemical Reagent Co. Ltd)、苯氧基乙醇(0.3 g)和乙基己基甘油(0.1 g)的第三混合物，直到孟魯司特溶解。

【0195】 將共聚物/水混合物添加到含山梨聚糖單硬脂酸酯的混合物中，然後乳化，攪拌，並冷卻至55°C。然後添加矽油(0.5 g；Sinopharm Chemical Reagent Co. Ltd)連同含孟魯司特的混合物，並混合。冷卻至室溫得到成品。

實施例11

孟魯司特軟膏劑I

【0196】 如下製備軟膏劑：首先通過伴隨攪拌加熱至60°C將聚乙二醇3350 (21.3 g；Sinopharm Chemical Reagent Co. Ltd)溶解於聚乙二醇400 (58.5 g；Sinopharm Chemical Reagent Co. Ltd)中。伴隨攪拌將孟魯司特鈉(200 mg)溶解於聚乙二醇400 (20.0 g)中。

【0197】 在將第一溶液冷卻至40-50°C之後，伴隨攪拌將第二溶液添加到其中並混合5至10分鐘。冷卻至室溫得到成品。

實施例12

孟魯司特軟膏劑II

【0198】 另一軟膏劑如實施例11所述製備，所不同的是將聚乙二醇4000 (21.3 g，Sinopharm Chemical Reagent Co. Ltd)溶解於相同量的聚乙二醇400 (58.5 g)中。

實施例13

孟魯司特氣溶膠粉末噴霧

【0199】 如下製備基於氣溶膠粉末噴霧：伴隨攪拌將孟魯司特鈉(200

mg)添加到乙醇(70 g；Sinopharm Chemical Reagent Co. Ltd)中，直到其完全溶解。

【0200】 將多孔澱粉(28 g；Sinopharm Chemical Reagent Co. Ltd)添加到所得溶液中，得到懸浮液，然後將其填充進氣溶膠噴霧瓶中。

實施例14

孟魯司特敷料

【0201】 如下製備敷料：用平板將按照以上實施例12中所述製備的孟魯司特鈉軟膏劑均勻塗敷在紗布(Shanghai Health Materials Factory Co.，Ltd，Shanghai，China)上，將其冷卻至室溫。

實施例15

耳脹(Swollen Ear)模型

【0202】 6-8週齡且平均體重為18-25 g的12隻健康雄性BALB/c小鼠由Changzhou Cvens Experimental Animal Co. Ltd.提供，在實驗前將其安置和照料約1週。安置溫度為25-27°C，濕度為74%，而亮暗各自交替12小時的時間段，且其可自由獲取食物和水。將小鼠隨機分成4組，如表28中所述，其中每組3隻小鼠。

表28

組別	藥物濃度	在右耳上投予藥物	藥物的總量(µg/小鼠)
模型	/	二甲苯	/
空白	/	二甲苯+乳膏劑 無API	/
Dex乳膏劑	10 µg/µL	二甲苯+Dex乳膏劑	400
Mon乳膏劑	5 mg/g	二甲苯+Mon乳膏劑	500

【0203】 孟魯司特乳膏劑(Mon乳膏劑)是以上實施例8中所述的乳膏劑。空白乳膏劑按照相同過程製備，不向混合物中添加孟魯司特。地塞米松乳膏劑(Dex乳膏劑)也使用相同的操作製備，用地塞米松(160 mg；Shanghai Aladdin Bio-Chem Technology Co. Ltd.)代替孟魯司特。

【0204】 每隻小鼠的左耳用作自體對照。每隻小鼠的右耳用各種處理物(treatment)處理。首先將20 μL二甲苯(Shanghai Aladdin Bio-Chem Technology Co., Ltd.)施用於每隻小鼠的右耳的內側和外側。在約4分鐘之後耳朵開始腫脹。然後，將40 μL各種乳膏劑施用於每組的右耳。將小鼠放回其等的籠子中。

【0205】 在40分鐘之後通過頸椎脫位犧牲小鼠。將左耳和右耳割下。具有8 mm直徑的皮膚囊(Electron Microscopy Sciences，Hatfield，PA，USA)用於從兩隻耳朵的相同部位取耳朵之一小塊。記錄重量，腫脹率如下計算：

腫脹率=(右耳重量-左耳重量)/左耳重量×100%

且結果顯示於表29。

表29

組別	重量(g)			腫脹率	
	左耳	右耳	差值		
模型	0.013	0.025	0.012	0.923	97.4%
	0.012	0.021	0.009	0.750	
	0.012	0.027	0.015	1.250	
空白	0.013	0.025	0.012	0.923	83.5%
	0.012	0.023	0.011	0.917	
	0.015	0.025	0.010	0.667	
Dex 乳膏劑	0.013	0.019	0.006	0.462	48%
	0.013	0.022	0.009	0.692	
	0.014	0.018	0.004	0.286	
Mon 乳膏劑	0.012	0.018	0.006	0.500	38.1%
	0.014	0.020	0.006	0.429	
	0.014	0.017	0.003	0.214	

【0206】 結果表明，孟魯司特乳膏劑顯著減少小鼠耳朵中二甲苯誘導的

腫脹。該效果甚至優於公知的局部抗發炎藥物地塞米松。

實施例16

大鼠燙傷模型I

【0207】 平均體重在250至300 g之間的6-8週齡雄性Sprague Dawley大鼠由Changzhou Cvens Experimental Animal Co. Ltd.提供。在進行任何實驗之前，將大鼠安置在標準化的條件下(在 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 的恒定溫度，而亮暗各自交替12小時的時間段)，並以標準小鼠飲食與水餵食達約一週。

【0208】 使用自製模具。獲取一段竹子，沿其長度除去頂部1/3。在竹子的底部制出尺寸為 $2.5 \times 4.5 \text{ cm}$ 的橢圓形孔，以使大鼠的背部暴露於熱水。暴露的皮膚面積為其總體表面積(TBSA)的約10-13%：

$$\text{TBSA (cm}^2\text{)} = K \times W \times 2/3 ,$$

其中K是對於給定物種恒定的校正係數(表面積相對於體重/形狀)(對於大鼠為9.1)，W是大鼠的體重(以g計)。

【0209】 將大鼠背部上的毛髮剃掉。注射10%水合氯醛以麻醉大鼠(350 mg/kg ； 3.5 mL/kg)。

【0210】 將6隻大鼠分成2組，一組3隻大鼠。在麻醉之後，將大鼠固定在模具內部。膠帶用於固定四肢和腹部，將竹子緊緊地貼附於背部，通過孔暴露皮膚。將 100°C 的沸騰熱水施加至大鼠皮膚達12秒。

【0211】 然後將孟魯司特乳膏劑(按照以上實施例8中所述製備)投予至測試組的燙傷傷口，將空白乳膏劑(不含活性成分的相同的乳膏劑)投予至對照組。之後將處理物一天投予一次，共計10天。

【0212】 在燙傷之後10天，觀察到在測試組的燙傷區域中開始長出毛髮。在對照組的燙傷區域中沒有毛髮生長的跡象。此顯示於圖11，其表明孟魯

司特乳膏劑有助於在燒傷之後恢復皮膚功能。

實施例17

大鼠燙傷模型II

【0213】 將8隻Sprague Dawley大鼠分成兩組，一組4隻。如下按與以上實施例16中所述基本上相同的方式施加燙傷傷口：施加(或者視情況而定不施加)熱水，熱水的溫度和施加時間如以下表30中所示。

【0214】 在其中一組中，在燙傷之後立即將孟魯司特乳膏劑(僅有；按照以上實施例8所述製備)施加至燙傷傷口。1 g孟魯司特乳膏劑用於各傷口。對於其它組，在燙傷之後立即將0.5 mL濃度為4.9 mg/mL的MAP鹽水溶液施加至燙傷傷口的表面。短暫等待幾分鐘以使溶劑蒸發之後，再施加0.5 mL的相同MAP溶液，將其總共重複3次。在此之後，將1 g相同的孟魯司特乳膏劑施用於MAP的頂部。

表30

組別	含義	治療	藥物投予
Mon	孟魯司特乳膏劑	未燙傷	將1 g孟魯司特乳膏劑施用於燙傷傷口的表面
		85°C 15s	
		85°C 10s	
		75°C 15s	
MM	塗敷MAP，然後孟魯司特乳膏劑	未燙傷	將MAP溶液施用3次，然後將1 g孟魯司特乳膏劑施用於燙傷傷口的表面
		85°C 15s	
		85°C 10s	
		75°C 15s	

【0215】 使用具有8 mm直徑的EMS皮膚生檢打孔器在0時間、然後在燙傷之後的1小時、2小時、3小時、6小時和8小時從每隻大鼠獲取樣品。移除全層皮膚並稱重。

【0216】 然後，將組織切成小片。將9 mL生理鹽水添加到1 g組織中，然

後使用Tissuelyser以55 Hz將其研磨60秒，然後將其以8000 rpm在4°C離心10分鐘，收集上清液用於HPLC分析。

【0217】 HPLC條件如下：柱：Angilent ZORBAX Eclipse XDB-C8 (4.6 × 250 mm，5 μm)；緩衝液：A：0.1% TFA (三氟乙酸，(Shanghai Aladdin Bio-Chem Technology Co., Ltd.)在水中；B：0.1% TFA在乙腈中(Merck，Darmstadt，Germany)；梯度：0-20分鐘；49% B；流動速率：1 mL/min；檢測波長：388 nm；樣品體積：20 μL。

【0218】 檢測包含在各樣品中的孟魯司特的量，並基於峰面積進行計算。峰面積相對於孟魯司特量的標準曲線用於計算。

【0219】 未燙傷的完整皮膚樣品的結果顯示於以下表31中和圖12中。

表31

取樣時間(h)	峰面積	孟魯司特量(g)	濕重(g)	孟魯司特濃度(μg/g)
0	756	0	0.069	0
1	171262	2.53	0.069	36.69
2	381470	5.44	0.080	67.98
3	52374	0.89	0.066	13.44
6	53490	0.90	0.058	15.56
8	244228	3.54	0.064	55.32

【0220】 結果表明，在完整皮膚上，MM組中的濃度峰比Mon組中的濃度峰晚1小時。此表明MAP可以延遲孟魯司特滲透進皮膚。

【0221】 燙傷組的結果顯示於圖13。

【0222】 與完整皮膚相比，看起來皮膚在燙傷之後變得較難滲透。在Mon組和MM組兩者中，孟魯司特的峰在2小時顯示。但是，與Mon組相比，在MM組中包含在樣品中的孟魯司特的量隨時間流逝顯著減少。此等結果證明，MAP可以延遲孟魯司特的滲透，而不管何種皮膚狀況。

實施例18

孟魯司特乳膏劑治療燒傷患者的水腫的臨床實施例

【0223】 孟魯司特乳膏劑根據與以上實施例8中所述的相同方法製備。乳膏劑中孟魯司特鈉的濃度為5 mg/g。

【0224】 在研究中招募的受試者為頭部和頸部區域具有二度燒傷的患者(圖14；照片(a))。在燒傷傷害維持之後的20小時開始將孟魯司特乳膏劑施用於患者面部的左側上。將一種公認的局部燒傷處理物磺胺嘧啶銀軟膏劑施用於面部的右側作為比較。兩種藥物都每天施用兩次。

【0225】 如圖14所述，在處理後1天(照片(b))，面部左側的水腫明顯比右側減少的更快和更廣。此相對改善在接下來幾天之內還在繼續(在處理後2天(照片(c))，在處理後3天(照片(d))，和在處理後14天(照片(e)))。

【0226】 該實驗表明，孟魯司特乳膏劑有效治療燒傷的急性炎症期中的水腫且比磺胺嘧啶銀更有效。

實施例19

孟魯司特乳膏劑治療燒傷疤痕發癢的臨床實施例

【0227】 孟魯司特乳膏劑(含有5 mg/g濃度的孟魯司特鈉)根據與以上實施例8中所述的相同方法製備。

【0228】 在研究中招募的受試者為具有陳舊癍痕性疤痕的燒傷患者。症狀包括不規則形狀的增生性疤痕，伴有疼痛和發癢。已知環境溫度變化或情緒激動會加重疼痛和/或發癢。

【0229】 要求受試者在早晚清潔疤痕之後使用乳膏劑。

【0230】 所有招募的受試者都感覺在首次使用的8分鐘內緩解發癢，表明孟魯司特乳膏劑可以用於治療燒傷疤痕發癢。

實施例20

孟魯司特乳膏劑治療黑色素相關的皮膚病的臨床實施例I

【0231】 孟魯司特乳膏劑(含有5 mg/g濃度的孟魯司特鈉)根據與以上實施例9中所述的相同方法製備。

【0232】 在研究中招募的受試者為具有黑色素相關的皮膚病的患者。症狀包括在燒傷或痤瘡爆發之後的色素沉著。要求受試者在早晚清潔面部之後使用乳膏劑。

【0233】 所有招募的受試者都感覺在使用2週之後皮膚顏色改善，表明孟魯司特乳膏劑可以用於治療黑色素沉著和/或黑色素相關的皮膚病。

實施例21

孟魯司特乳膏劑治療黑色素相關的皮膚病的臨床實施例II

【0234】 孟魯司特乳膏劑(含有5 mg/g濃度的孟魯司特鈉)根據與以上實施例9中所述的相同方法製備。

【0235】 在研究中招募的受試者為具有黑色素相關的皮膚病的患者。症狀包括黃褐斑和蝴蝶斑。

【0236】 採用鐳射預處理試圖除去症狀中最差者。要求受試者在早晚清潔面部之後使用乳膏劑。

【0237】 受試者感覺在使用2週之後2週之後她的皮膚顏色有改善。此係可從圖15所見的情況，其中在鐳射處理之前(照片(a))、開始用孟魯司特乳膏劑處理之後7天(照片(b))、和用孟魯司特乳膏劑處理之後14天(照片(c))可見面部的兩側。此表明，孟魯司特乳膏劑可以用於治療黑色素沉著和/或黑色素相關的皮膚病。

實施例22

孟魯司特乳膏劑治療類固醇依賴性皮炎的臨床實施例

【0238】 孟魯司特乳膏劑(含有5 mg/g濃度的孟魯司特鈉)根據與以上實施例9中所述的相同方法製備。

【0239】 在研究中招募的受試者為具有類固醇依賴性皮炎的患者。症狀包括皮膚發紅、丘疹、發癢和腫脹。

【0240】 要求受試者在早晚清潔面部之後使用乳膏劑。

【0241】 觀察到使用乳膏劑可在5分鐘內緩解受試者之發癢。從圖16 (在治療之前(照片(a))，和在治療之後(照片(b)))可見，孟魯司特乳膏劑可以用作類固醇依賴性皮炎的輔助治療。

【符號說明】

無

【發明申請專利範圍】

【第1項】一種適合於、適用於和/或包裝和呈現以用於局部投予的醫藥調配物之用途，該醫藥調配物包含：孟魯司特或其醫藥上可接受的鹽與醫藥上可接受的局部佐劑、稀釋劑或載體的混合物，該用途係用於製造用於癒合或恢復特徵在於炎症的病況的醫藥品，該特徵在於炎症的病況選自皮膚或黏膜之開放性傷口或燒傷、或痔瘡，該癒合或恢復係藉由將該調配物直接局部施用至該開放性傷口、燒傷、痔瘡。

【第2項】如請求項1所述的用途，其中所述開放性傷口是選自由以下者組成的群組：擦傷、抓傷、切口、撕裂、皮膚刺傷、撕除、及水疱。

【第3項】如請求項1所述的用途，其中所述病況是痔瘡。

【第4項】如請求項1所述的用途，其中所述病況是由熱、化學品、曬傷、凍瘡或凍傷引起的開放性傷口或燒傷。

【第5項】如請求項1所述的用途，其中所述開放性傷口是疾病或病症之結果。

【第6項】如請求項5所述的用途，其中所述開放性傷口是皮膚或黏膜之潰瘍。

【第7項】如請求項6所述的用途，其中所述潰瘍是難以痊癒的皮膚潰瘍或胃潰瘍。

【第8項】如請求項5或6所述的用途，其中所述疾病或病症是潰瘍性結腸炎。

【第9項】如請求項5或6所述的用途，其中所述疾病或病症是食道炎或胃炎。

【第10項】如請求項1至7中任一項所述的用途，其中所述開放性傷口導因於對黏膜表面的內部或外部損傷。

【第11項】如請求項1至7中任一項所述的用途，其中所述開放性傷口或燒傷包含對於表皮或真皮的傷害和/或表皮或真皮下的傷害。

【第12項】如請求項11所述的用途，其中所述傷害包含對於肌肉、骨骼、關節、和/或內部器官的傷害。

【第13項】如請求項1至7中任一項所述的用途，其中所述調配物進一步治療與以下者相關的疼痛和/或發癢：所述病況或與其有關的癒合過程。

【第14項】如請求項1至7中任一項所述的用途，其中所述調配物進一步預防導因於所述病況的體液之滲出和/或感染之風險，和/或進一步預防導因於癒合過程的生理性反應。

【第15項】如請求項14所述的用途，其中所述生理性反應包括疤痕形成和/或黑色素沉著。

【第16項】如請求項15所述的用途，其中所述黑色素沉著與黃褐斑、雀斑、黑變病、蝴蝶斑、具有黑色素瘤的皮膚癌和/或由暴露於日光引起的色素沉著有關。

【第17項】如請求項1至6中任一項所述的用途，其中所述局部投予是投予至皮膚。

【第18項】如請求項1至7中任一項所述的用途，其中所述局部投予是投予至黏膜表面。

【第19項】如請求項1至7中任一項所述的用途，其中所述調配物是呈水溶液、凝膠、乳膏劑、軟膏劑、洗劑、濃縮物、泡沫劑、或糊劑的形式。

【第20項】如請求項19所述的用途，其中所述調配物進一步包含聚乙二醇。

【第21項】如請求項20所述的用途，其中所述聚乙二醇是聚乙二醇400。

【第22項】如請求項15所述的用途，其中所述生理性反應包括疤痕形成。

【第23項】如請求項22所述的用途，其中所述局部投予是肺投予至黏膜表面。

【第24項】如請求項23所述的用途，其中所述肺投予是氣管投予或支氣管投予。

【第25項】如請求項24所述的用途，其中所述肺投予是用以治療吸入性損傷。

【第26項】如請求項25所述的用途，其中所述調配物係呈用於吸入的液體噴霧之形式。

【第27項】如請求項22所述的用途，其中所述局部投予是投予至口、鼻、眼、陰道、子宮頸或肛腸黏膜表面。

【第28項】如請求項27所述的用途，其中所述投予是投予至陰道、子宮頸或肛腸黏膜表面。

【第29項】如請求項28所述的用途，其中所述調配物呈凝膠形式。

【第30項】如請求項1至7中任一項所述的用途，其中所述調配物進一步包含至少一種貽貝黏著蛋白或其衍生物，該衍生物係序列Ala-Lys-Pro-Ser-Tyr-Hyp-Hyp-Thr-DOPA-Lys之肽或其鹽。

【第31項】如請求項1至7中任一項所述的用途，其中所述調配物是部件套組(kit of parts)之部件，所述部件套組進一步包含含有至少一種貽貝黏著蛋白或其衍生物與醫藥上可接受的佐劑、稀釋劑或載體的混合物的醫藥調配物，該衍生物係序列Ala-Lys-Pro-Ser-Tyr-Hyp-Hyp-Thr-DOPA-Lys之肽或其鹽，其中所述兩種調配物各自以適於與另一者聯合投予的形式提供。

【第32項】如請求項31所述的用途，其中所述兩種調配物適於在治療所述病況中依序、分開和/或同時使用。

【第33項】如請求項30所述的用途，其中所述至少一種貽貝黏著蛋白選自

以下者之群：mefp-1、mefp-2、mefp-3、mefp-4、mefp-5、mefp-6及其等之組合。

【第34項】如請求項33所述的用途，其中所述至少一種貽貝黏著蛋白包含 mefp-1。

【發明圖式】

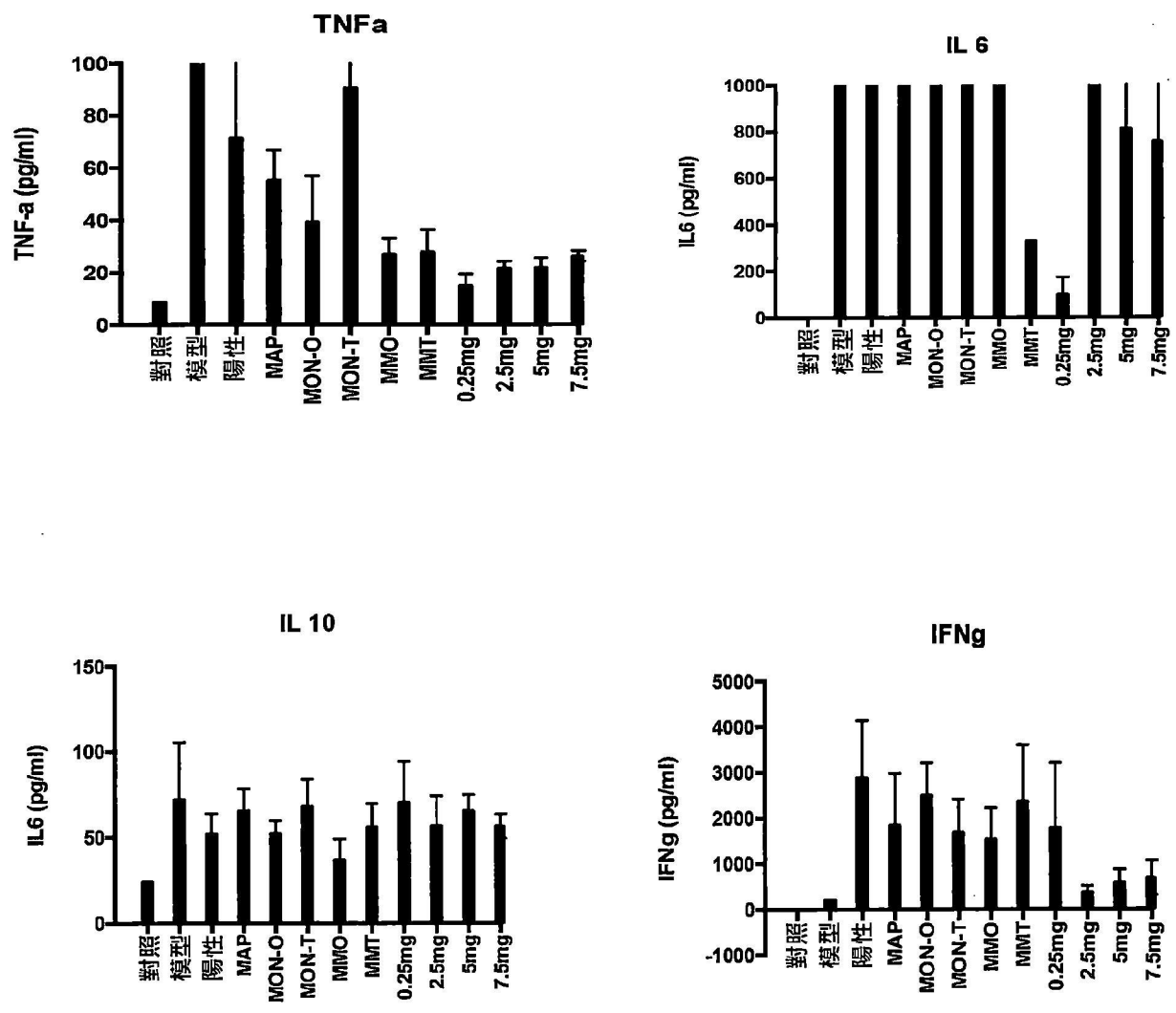


圖 1

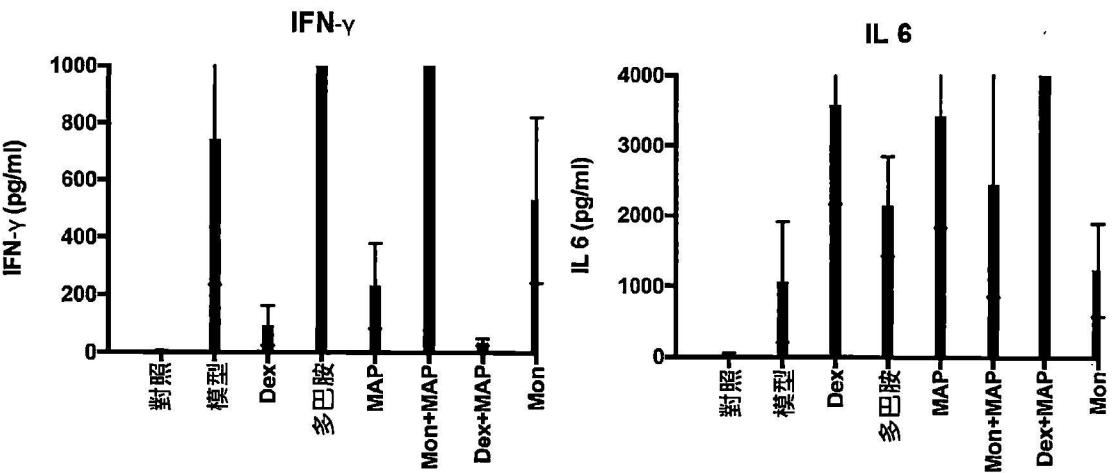


圖2

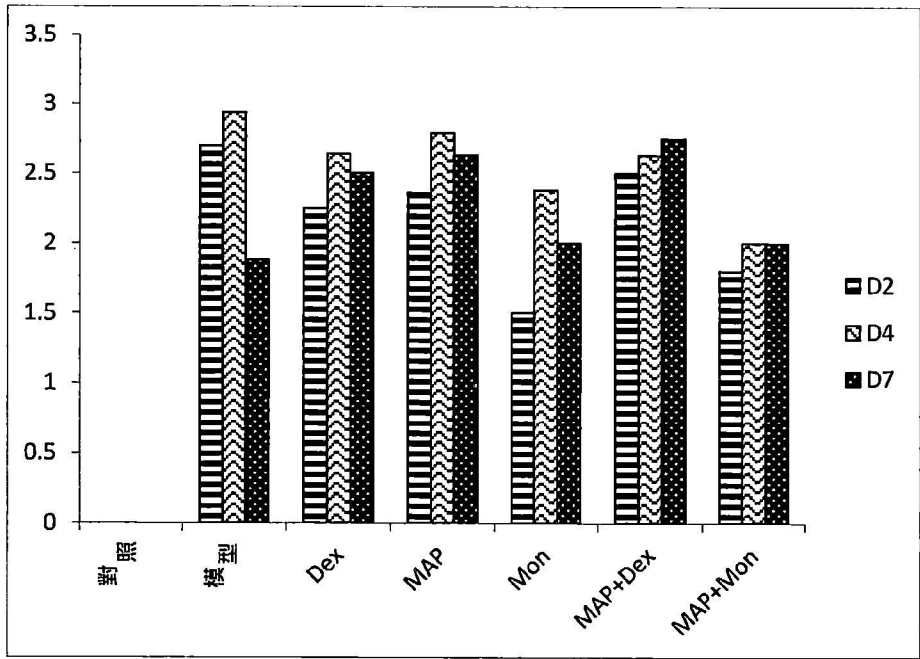


圖3

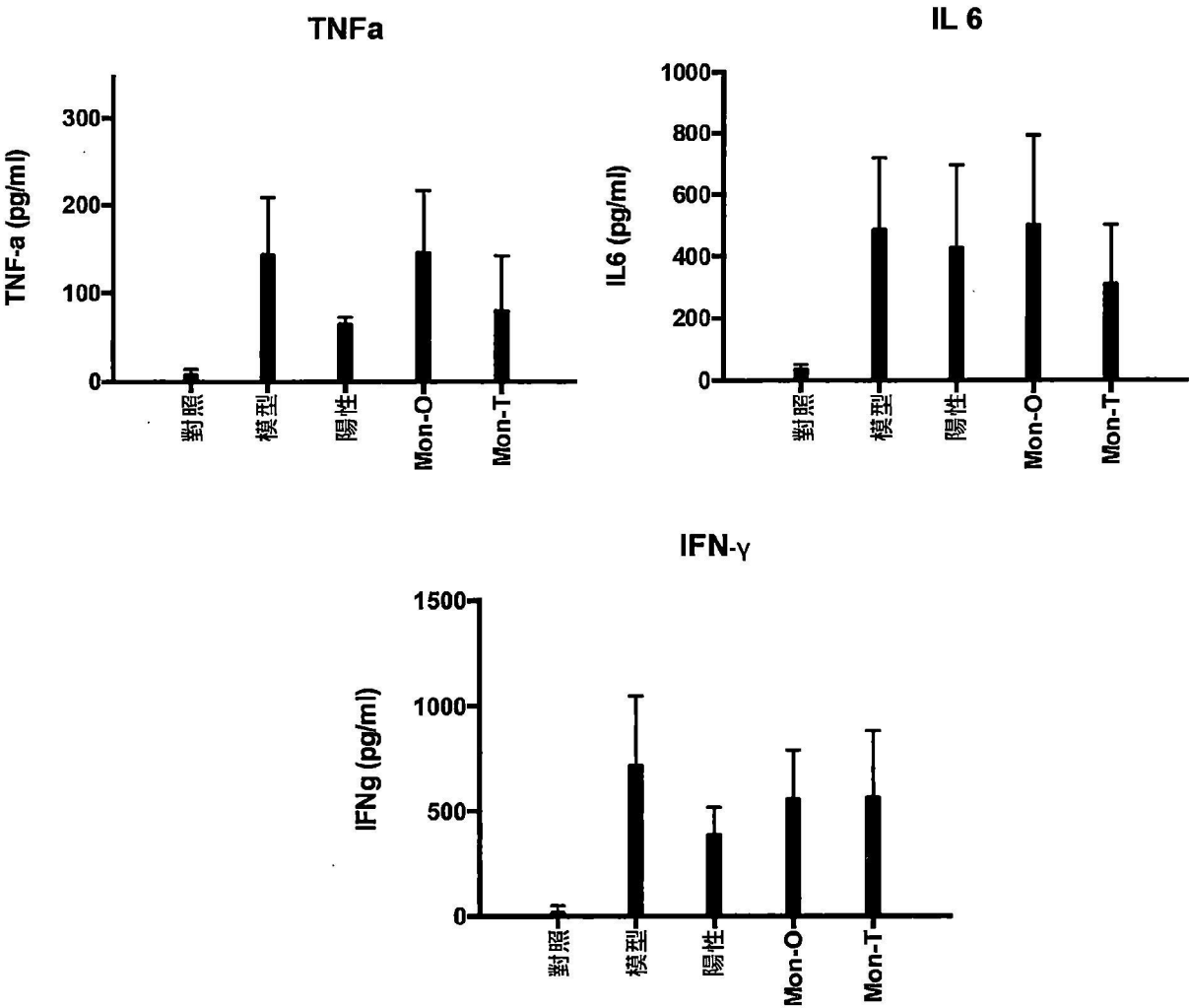


圖4

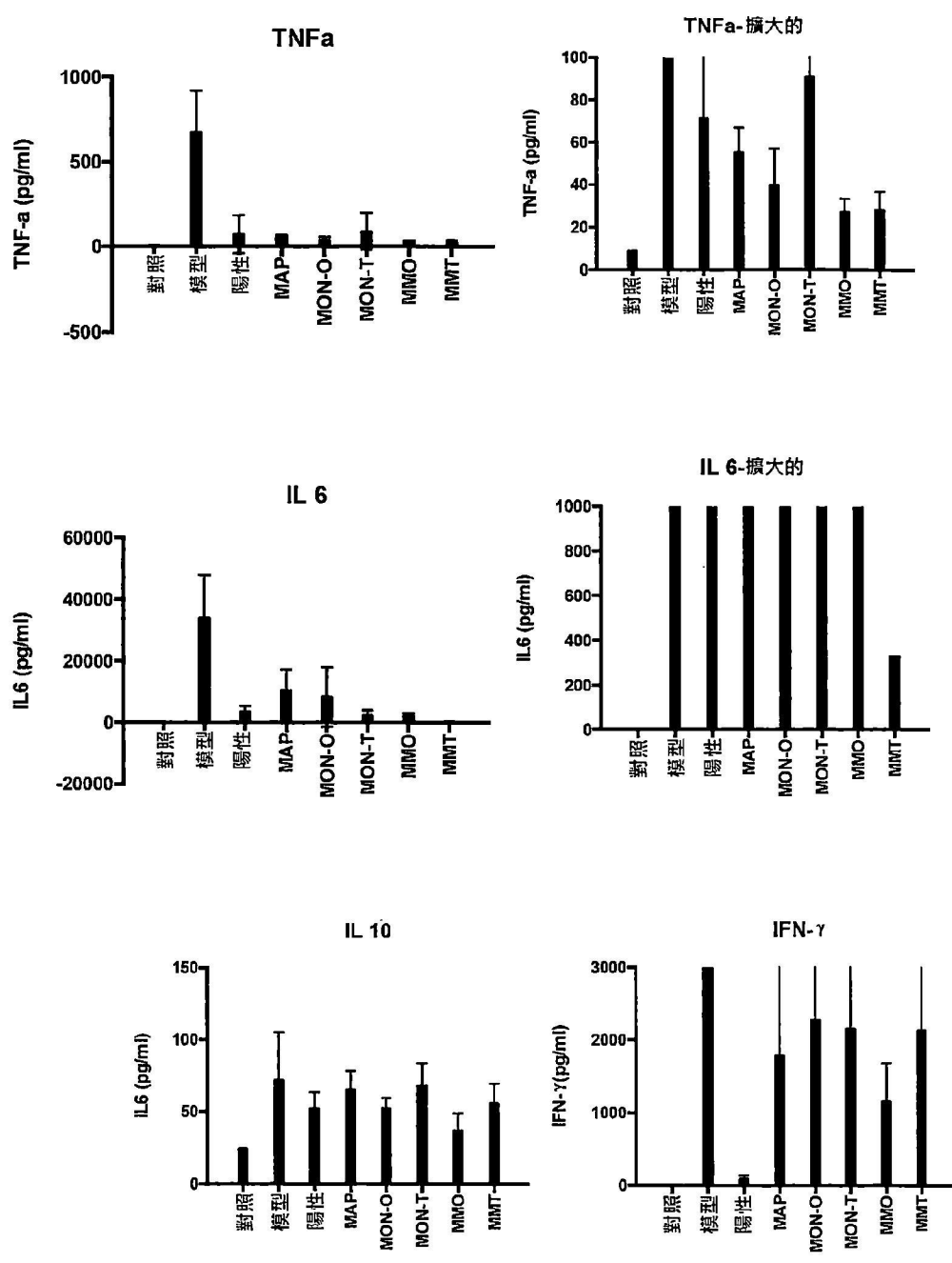


圖5

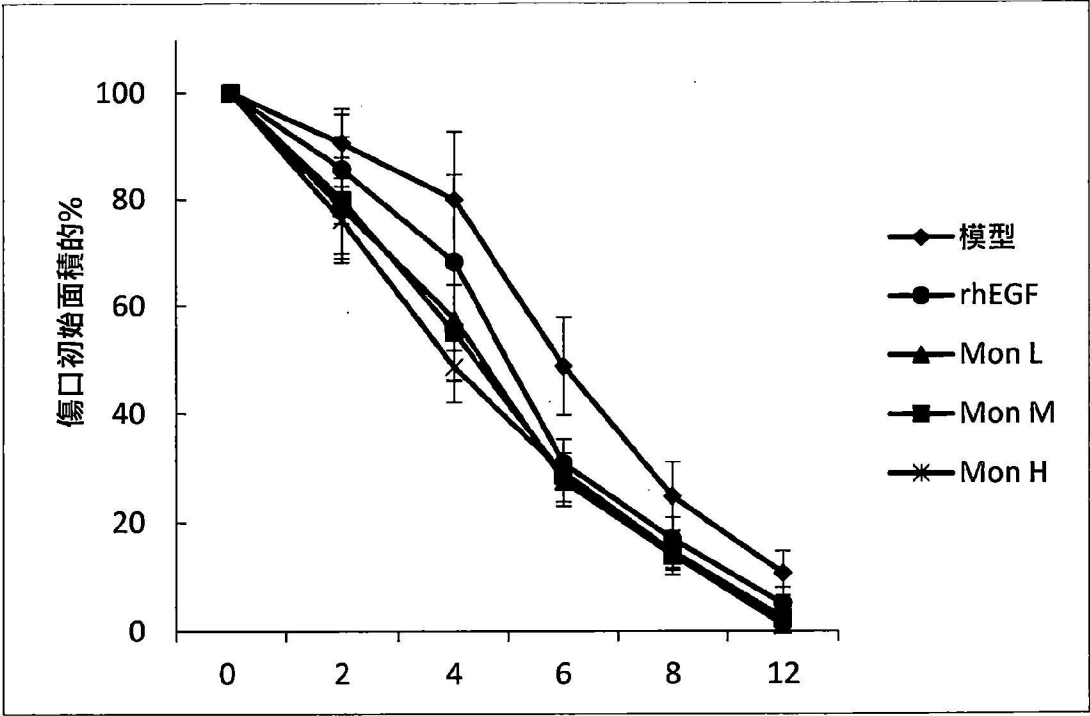


圖6

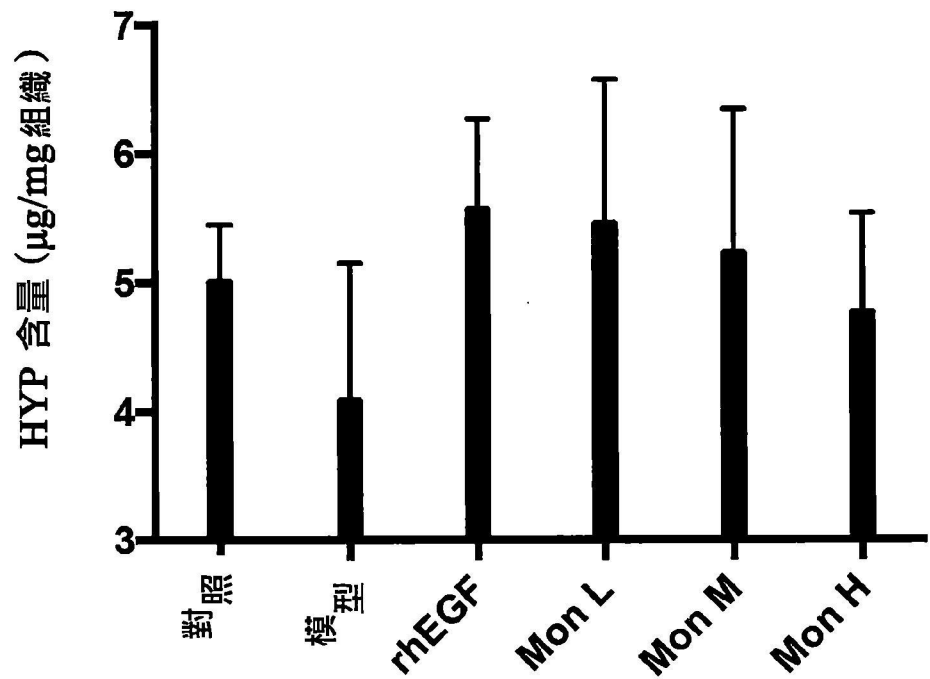


圖7

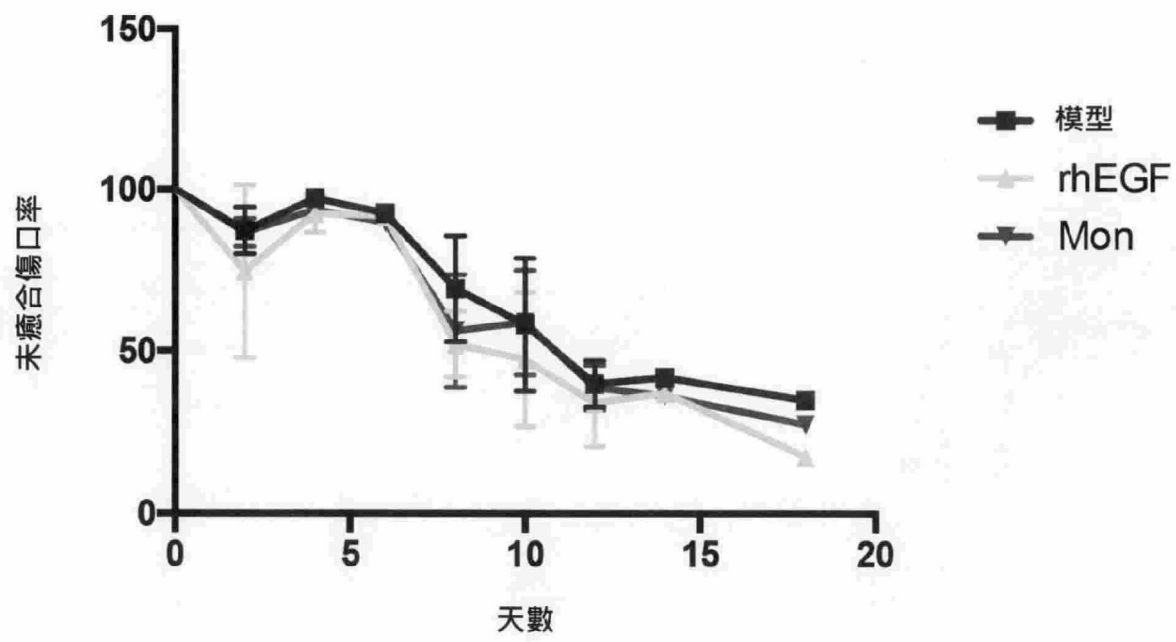


圖8

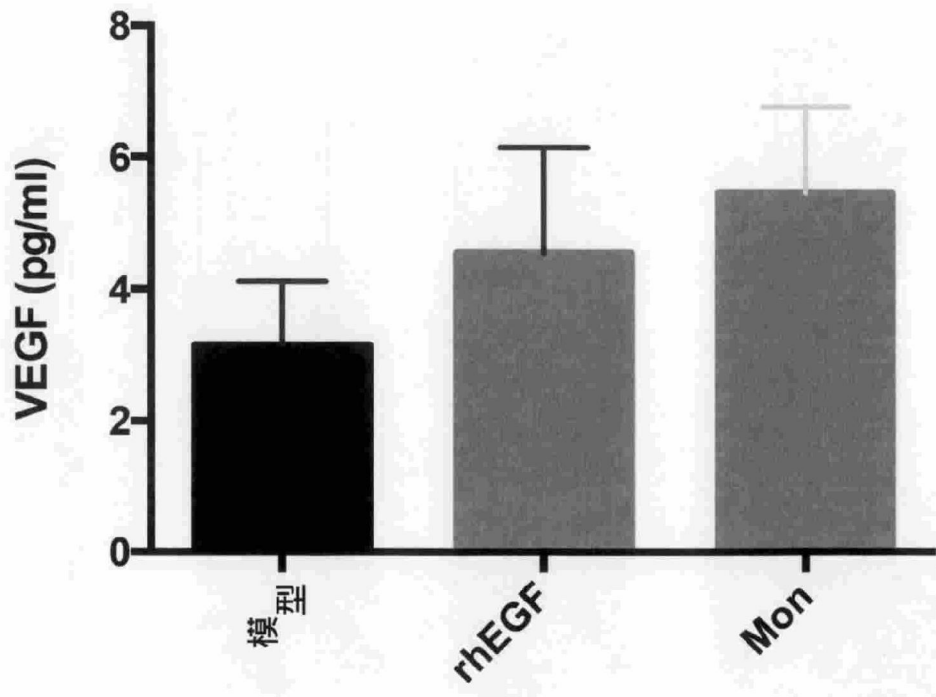


圖9

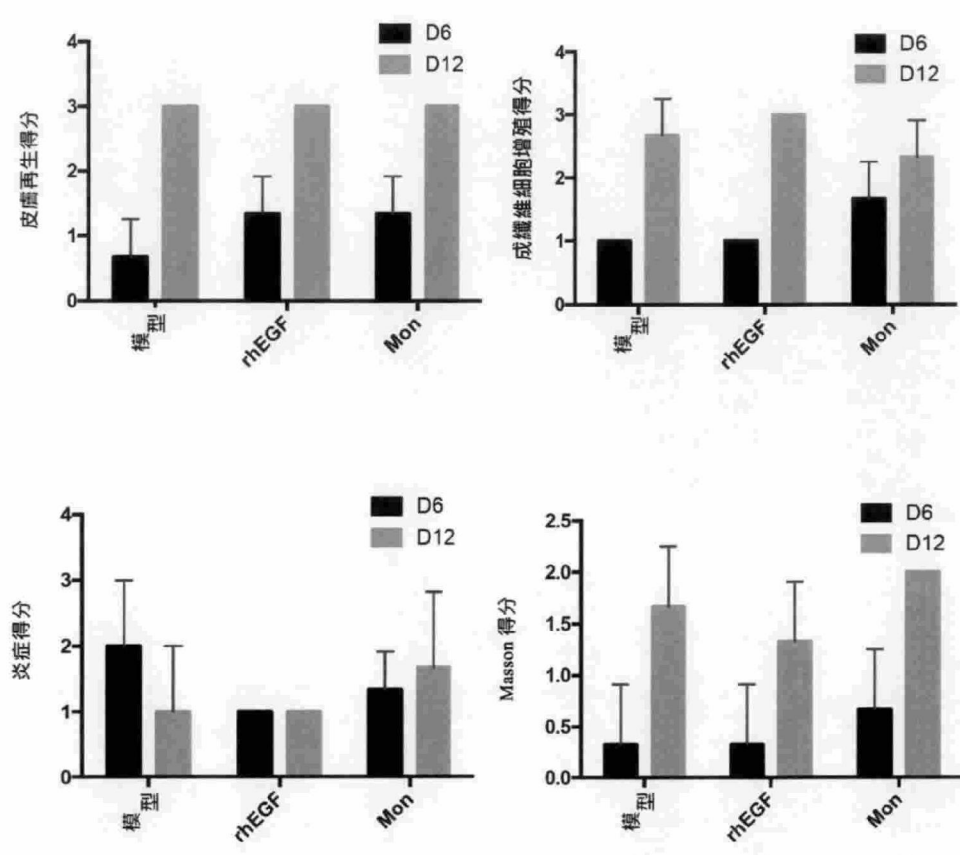
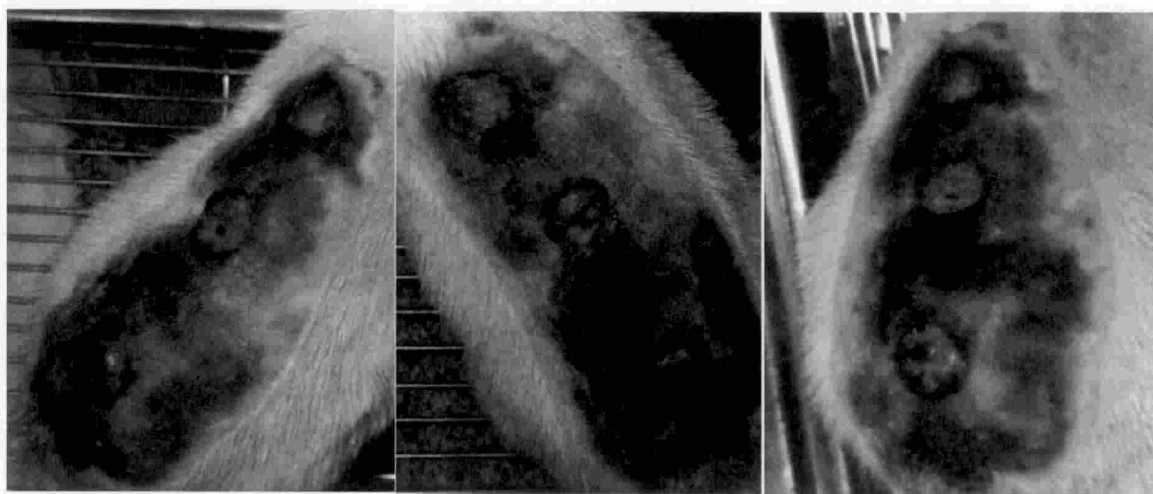


圖10

對照組



試驗組



圖11

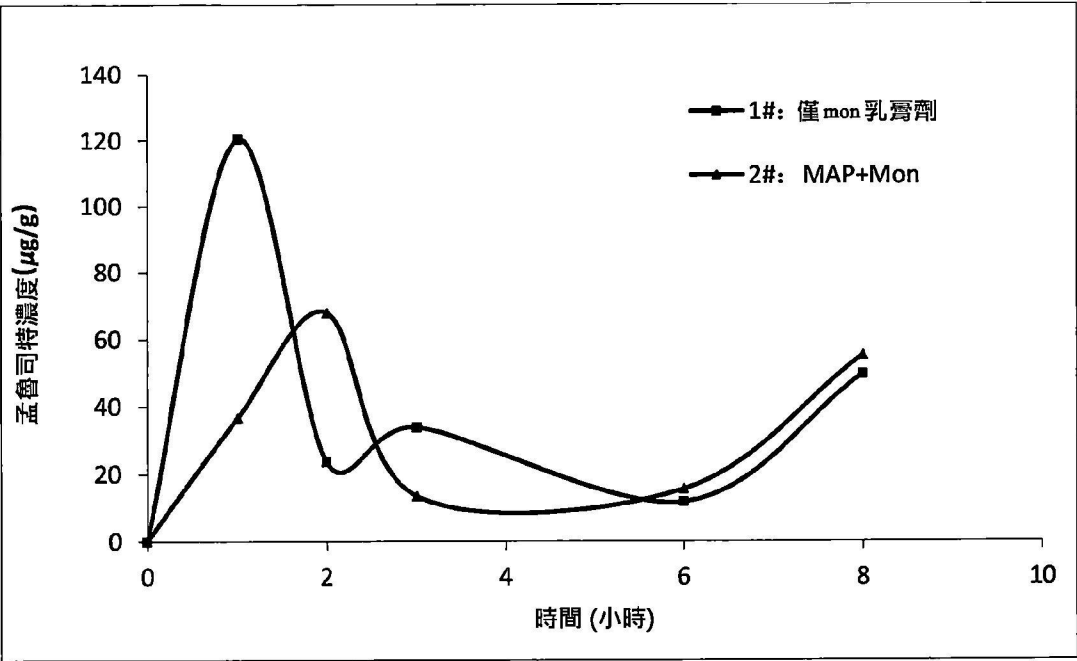


圖12

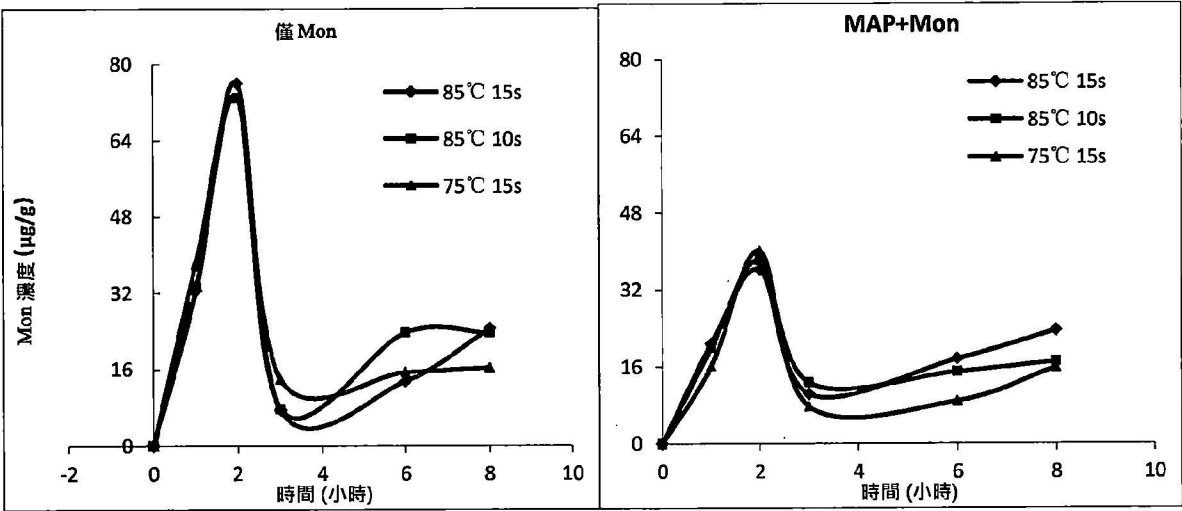


圖13

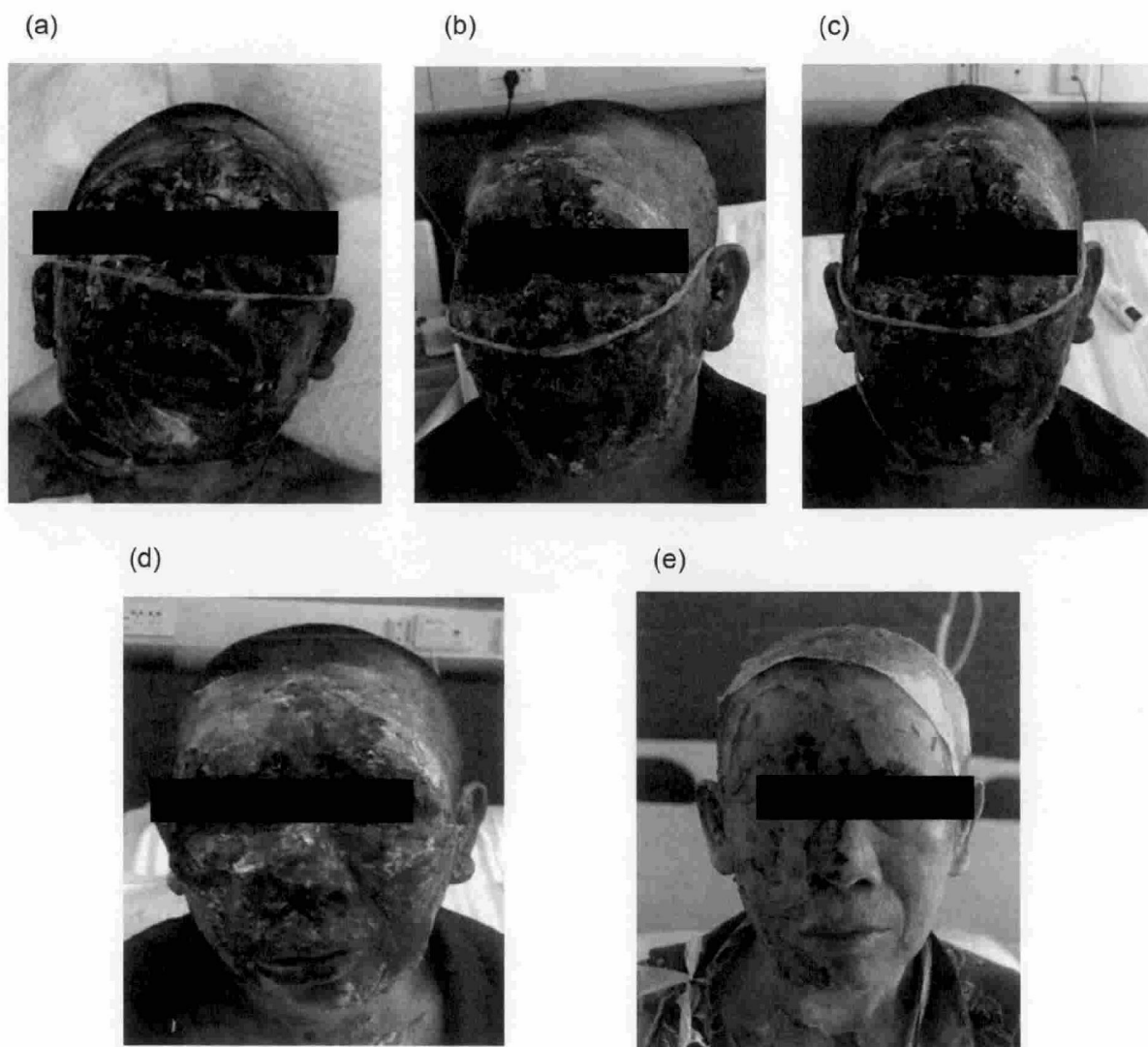
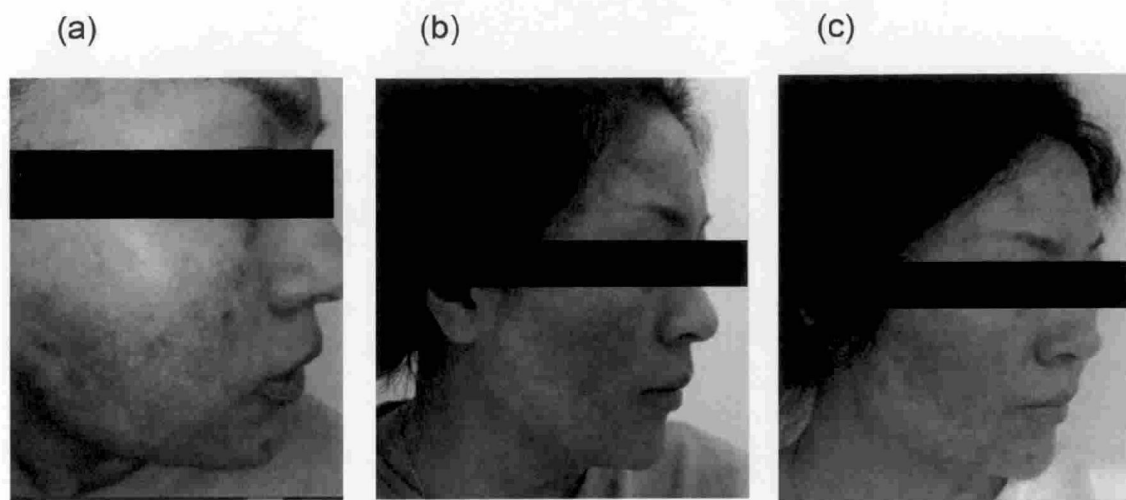


圖14

右側



左側

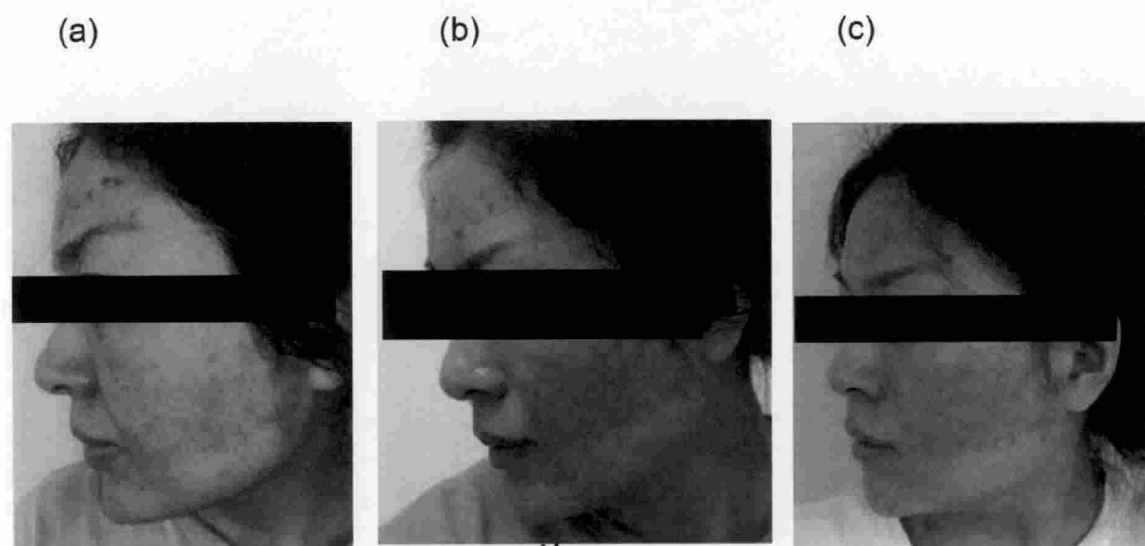


圖15

(a)



(b)



圖16