[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl[7]
A61K 31/41

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01814399.7

[43] 公开日 2003 年 10 月 8 日

[11] 公开号 CN 1447692A

[22] 申请日 2001.8.21 [21] 申请号 01814399.7

[30] 优先权

[32] 2000. 8.22 [33] US [31] 60/226869

[32] 2000.10.13 [33] US [31] 60/240627

[86] 国际申请 PCT/US01/26057 2001.8.21

[87] 国际公布 WO02/15904 英 2002.2.28

[85] 进入国家阶段日期 2003.2.20

[71] 申请人 里巴药品公司

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 J·劳 洪 志

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 张广育 孟凡宏

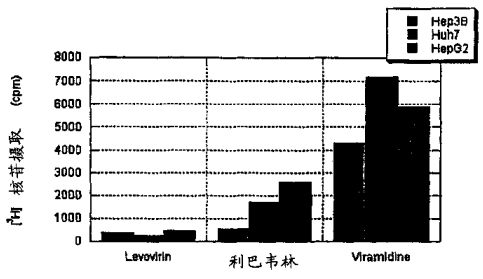
权利要求书 2 页 说明书 11 页 附图 2 页

按照条约第 19 条的修改 2 页

[54] 发明名称 药物释放至肝细胞和治疗黄病毒感染的方法

[57] 摘要

释放药物至肝细胞的方法包括这样一个步骤，其中提供含有甲脒基的化合物至具有转运该化合物穿过肝细胞质膜的转运蛋白的肝细胞，其中该化合物的转运基本上不被利巴韦林所抑制。 进一步考虑的方法包括抑制黄病毒科病毒在含有细胞的系统中生长的方法，其中呈递设想的化合物至含有细胞的系统中的细胞。



ISSN1008-4274

知识产权出版社出版

1、释放药物至肝细胞的方法，包含:

提供具有甲脒基的化合物，其中该化合物具有选自抗病毒活性和抗肿瘤活性的活性;

确定肝细胞包含转运该化合物穿过肝细胞质膜的转运蛋白，其中该化合物的转运基本上不被利巴韦林所抑制；和

将该化合物呈递给该转运蛋白。

2、权利要求 1 的方法，其中该化合物包含具有与糖偶联的碱基的核苷。

3、权利要求 2 的方法，其中该碱基包含单环的碱。

4、权利要求 3 的方法，其中该单环的碱包含 1,2,4-三唑。

5、权利要求 2 的方法，其中该糖包含β-呋喃核糖。

6、权利要求 2 的方法，其中该核苷包含 1-β-D-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲脒。

7、权利要求 2 的方法，其中该核苷包含 1-β-L-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲脒。

8、权利要求 1 的方法，其中该甲脒基在肝细胞内转化为甲酰胺基。

9、权利要求 8 的方法，其中该甲酰胺基被酶磷酸化，由此蓄积在肝细胞内。

10、权利要求 1 的方法，其中该抗病毒活性是对抗黄病毒科的抗病毒活性。

11、权利要求 10 的方法，其中该对抗黄病毒科的抗病毒活性是对抗瘟病毒和丙型肝炎病毒的抗病毒活性。

12、权利要求 1 的方法，其中该抗肿瘤活性包括对抗瘤性肝细胞的抗肿瘤活性。

13、权利要求 1 的方法，其中该转运蛋白包含 ATP-依赖性转运蛋白。

14、权利要求 1 的方法，其中该转运蛋白包含跨膜蛋白。

15、权利要求 1 的方法，其中该肝细胞是患病的。

16、权利要求 1 的方法，其中该化合物的转运包含被第二种具有甲脒基的化合物所抑制的转运。

17、抑制属于黄病毒科的病毒在含有细胞的系统中复制的方法，包含:

提供具有甲脒基的药物组合物；和

将该药物组合物呈递给含有细胞的系统中的细胞，其中化合物被转运穿过该细胞的质膜，其中该化合物的转运基本上不被利巴韦林所抑制。

18、权利要求 17 的方法，其中该病毒是西尼罗河病毒。

19、权利要求 17 的方法，其中该病毒是丙型肝炎病毒。

20、权利要求 17 的方法，其中该含有细胞的系统是体外系统。

21、权利要求 17 的方法，其中该含有细胞的系统是体内系统。

22、权利要求 22 的方法，其中该体内系统具有至少一个被该病毒感染的肝细胞。

23、权利要求 17 的方法，其中该药物化合物包含 1-β-D-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲脒*HCl。

24、权利要求 17 的方法，其中该药物化合物是 L-构型。

药物释放至肝细胞和治疗黄病毒感染的方法

本申请要求保护 08/22/00 提交的美国临时申请 No. 60/226869 和 10/13/00 提交的美国临时申请 No. 60/240627 的利益，二者均引用在此作为参考。

发明领域

本发明属于药物领域。

发明背景

大量药理活性分子是通过口服或肠胃外方式对系统（经常是哺乳动物，通常是人）给药的，不过，它们在细胞内区室中表现它们的所需活性，例如细胞质或细胞核。所以，这类分子需要穿过细胞膜才能到达作用部位。在各种其他药理活性分子中，抗病毒药向细胞质和/或细胞核中的释放对适当的抗病毒活性来说是尤为重要的。

大量变体已知有利于这类分子向靶细胞内的转运。例如，一些变体包括细胞转运蛋白的完整底物或底物部分（例如关于 GLUT-1 的葡萄糖、关于脱唾液酸糖蛋白的多元氨基酸等）。不幸的是，这类加成作用经常向药理活性分子增加分子量或者加入不可取的代谢负担。根据分子的化学结构或修饰的类型，受体介导的摄取可以发生在各种膜转运蛋白中。例如，各种单羧酸盐药物可以被单羧酸盐转运蛋白输入，而一些内源性胺和异生素已知是经由有机阳离子转运蛋白输入细胞内的。还有其他转运蛋白以浓度依赖性或能量依赖性方式向细胞内输入核苷。Lee, V.H.回顾了各种膜转运蛋白(Eur. J. Pharm. Sci. 11, Suppl. 2 (2000): 41-50)，引用在此作为参考。

其他修饰包括区域或器官特异性修饰。例如，胆汁酸加合物可以从药理活性分子生成，增加这类分子在肝胆系统中的循环。不过，这类修饰趋于降低溶解度，因此潜在地降低总体可达到的浓度。在另一种实例中，磷

酸基团上的修饰（例如膦酸酯的生成）转化药物分子为前体药物，后者具有相对高的器官特异性，被器官特异性酶系统转化回药物（例如参见美国专利 No. 6,225,460 或美国专利 No. 6,110,903）。进一步的变体包括抗体或其片段，增加携带该抗体的药理活性分子的靶特异性。尽管具有相对高的抗体选择性，关于抗体的致免疫性和它们的产生和/或纯化也趋于成问题的。

尽管本领域已知存在各种对药理活性分子的修饰，不过它们全部或者几乎全部都有一个或多个缺点。因此，仍然需要提供改进的方法和组合物，以增加药理活性分子的特异性。

发明概述

本发明涉及释放药物至肝细胞的方法和抑制黄病毒在含有细胞的系统中生长的方法。

在发明主题的一个方面，释放药物至肝细胞的方法包含一个步骤，其中提供具有甲脒基的抗病毒或抗肿瘤化合物。在进一步的步骤中，确定的是肝细胞包含转运化合物穿过肝细胞质膜的转运蛋白，其中化合物的转运蛋白基本上不被利巴韦林所抑制，在更进一步的步骤中，将化合物呈递给转运蛋白。

在发明主题的另一方面，设想的化合物包含具有与糖偶联的杂环碱的核苷，其中该碱优选地是单环的碱（例如 1,2,4-三唑），该糖优选地包含β-呋喃核糖。尤其优选的化合物包括 D-与 L-Viramidine™。

在发明主题的进一方面，设想的化合物的甲脒基在肝细胞内转化为甲酰胺基，进一步优选的是化合物被酶磷酸化，由此蓄积在肝细胞内。特别考虑的是肝细胞是患病的（例如病毒感染或侵染）。所考虑的转运蛋白具体包括 ATP-依赖性转运蛋白和跨膜蛋白。

在发明主题的进一方面，抑制黄病毒科病毒在含有细胞的系统中生长的方法包含这样一个步骤，其中提供具有甲脒基的药物组合物。在另一个步骤中，药物组合物呈递给含有细胞的系统中的细胞，其中该化合物被转运穿过细胞质膜，其中该化合物的转运基本上不被利巴韦林所抑制。

本发明的各种目的、特性、方面和优点将因下列优选的发明实施方式的详细说明以及附图而变得更明显。

附图说明

图 1 是描绘核苷摄取进入不同肝细胞系的图形。

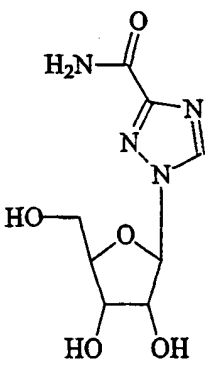
图 2 是描绘 HepG2 细胞内利巴韦林和 Viramidine™ 竞争[^{3}H]-利巴韦林摄取的图形。

图 3 是描绘 HepG2 细胞内利巴韦林和 Viramidine™ 竞争[^{3}H]-Viramidine™ 摄取的图形。

详细说明

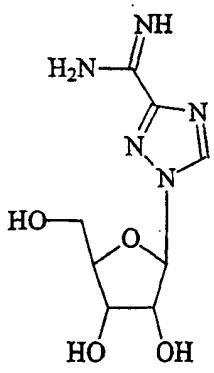
关于 1-β-D-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲酰胺（利巴韦林）向人红细胞内转运的研究表明利巴韦林经由 6-[(4-硝基苄基)硫代]-9-β-D-呋喃核糖基嘌呤(NBMPR)-敏感性核苷转运蛋白进入红细胞，已经证明利巴韦林向红细胞内的转运被 NBMPR 所抑制，IC_{50} 为约 0.99nM（例如参见 Jarvis 等，1998）。

惊人的是，发明人发现密切有关的化合物 1-β-D-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲脒(Viramidine™)向肝细胞内的转运似乎牵涉不同于利巴韦林向肝细胞内转运的细胞转运蛋白。利巴韦林和 Viramidine™ 的结构描绘在下式 1 和 2 中。



利巴韦林

式 1



Viramidine

式 2

而且，发明人发现，Viramidine™摄取进入肝细胞的速率以及总体浓度与利巴韦林相比显著更高，由此提供增加抗病毒剂在肝细胞中的有效浓度的新途径。

为了测定利巴韦林和 Viramidine™是否利用相似的模式进入人肝细胞，发明人进行了若干实验。首先，将各种肝细胞株(Hep3B, HepG2, Huh7)与各种核苷酸类似物（例如利巴韦林、Levovirin（利巴韦林的 L-异构体）和 Viramidine™）一起培育，核苷摄取实验的结果如图 1 所述。关于摄取实验的试验数据清楚地表明，所有三种三唑型核苷类似物都被所有供试肝细胞所摄入，尽管速率和/或数量不同。更具体地，利巴韦林的 D-异构体比利巴韦林的 L-异构体更有效地被摄入。更显著的是，显然含有甲脒的核苷类似物 Viramidine™比含有甲酰胺的核苷类似物的 D-与 L-构型在所有三种细胞系中都被摄入至显著更高的程度。

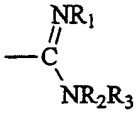
这些和其他实验（没有显示）向发明人提示核苷利巴韦林和 Viramidine™的摄取可能在事实上经由不同的摄取机理而发生。为了澄清这个问题，发明人进行了摄取竞争实验，其中放射性标记的利巴韦林或 Viramidine™分别与未标记的 Viramidine™或利巴韦林竞争摄取。这些实验的结果显示在图 2 和 3 中。惊人的是，二者实验都显示在利巴韦林与 Viramidine™之间至少存在部分的竞争作用，明显提示 Viramidine™和利巴韦林被肝细胞摄取是不同的。

所以，发明人考虑的是肝细胞包括 Viramidine™或其他含有甲脒的化合物的细胞摄取和/或转运蛋白系统，如果不是完全不同的话，也至少部分不同于利巴韦林的转运蛋白系统（也就是 NBMPR-敏感性核苷转运蛋白）。因而，所考虑的是肝细胞能够被选择性利用 Viramidine™摄取和/或转运蛋白系统的药理分子所定向。术语“转运蛋白系统”和“转运蛋白”在本文中可互换使用，表示有利于化合物穿过质膜流入细胞的膜缔合蛋白（跨膜蛋白，或位于/锚定于外或内细胞膜中的蛋白质）或蛋白质复合物。通常，这类转运蛋白将是能量依赖性的（例如 ATP 依赖性的），所考虑的转运蛋白可以进一步受各种因素的调节（例如膜电位、Ca^{2+}浓度、cGTP 等）。而且，所考虑的是适合的转运蛋白系统可以被具有甲脒基的第二种

化合物所抑制。

关于所考虑的药理分子，应当领会到适合的分子不仅包括 Viramidine™，而且包括 Viramidine™ 的大量变体。例如，特别考虑的变体包括 Viramidine™ 的 L-异构体。进一步考虑的变体尤其包括 Viramidine™ 的单-、二-与三-磷酸盐形式，和所有化学和/或生理学上合理的前体药物形式。这类前体药物形式的实例列举在 PCT 申请 PCT/US01/08713 中，名称为“核苷化合物及其用途”，提交于 2001 年 3 月 15 日，引用在此作为参考。

而且，所考虑的是进一步适当的核苷和核苷类似物包括核苷酸和核苷酸类似物，后者包括甲脒官能或改性的甲脒官能，其中术语“改性的甲脒官能”确切地包括具有下列结构的基团：



其中 R_1、R_2 和 R_3 独立地包括 H、烷基、链烯基、炔基、芳基和烷芳基，所有它们都可以是直链或支链的，进一步包括官能团。特别优选的官能团包括极性、碱性、酸性、亲电和亲核基团（羧酸酯、硫醇、叔或季铵基团、酯、羟基、酰胺、亚酰胺、醚等），和卤素。在进一步可供替代的方面，所考虑的是适合的核苷或核苷类似物的碱包括天然存在的以及非天然存在的碱，尤其考虑的碱是鸟嘌呤、次黄嘌呤、尿嘧啶、胞苷、腺嘌呤、胞苷、氟尿嘧啶、单环碱（例如 1,2,4-三唑）等。

类似地，糖部分可以包括天然和/或改性的糖。例如，若天然的糖是优选的，则可以结合有非呋喃核糖的糖，例如阿拉伯糖。另一方面，非天然糖可以有利地包括构象上被限制或固定的糖、具有非-OH 取代基（例如乙炔基、卤素、烷基）的糖或脱氧糖。特别优选的核苷将表现对抗黄病毒的抗病毒活性，尤其对抗丙型肝炎病毒（例如 HCV 病毒或瘟病毒属），或者表现对抗瘤性肝细胞的抗肿瘤活性。

应当进一步领会到，除肝细胞以外的大量细胞（它们可以是或者不是肿瘤细胞）也是所考虑的，适合的细胞一般将包括所有表现 Viramidine™ 摄取的细胞，该摄取基本上在图 2 和 3 实验所用浓度范围内不受竞争性利巴韦林的影响。术语基本上不受影响表示 Viramidine™ 摄取的减少不超过 15%，优选不超过 10%，更优选不超过 8%，最优选不超过 5%。不过，一般所考虑的是肝细胞、尤其是患病的肝细胞（例如病毒感染或侵染）是优选的细胞。

因而，应当领会到，核苷或核苷酸化合物的毒性可以通过修饰该化合物而降低，以包括如上所述的甲脒部分或改性的甲脒部分，其中改性化合物的靶细胞包括非靶细胞缺乏的转运蛋白系统。例如，利巴韦林容易被红细胞和肝细胞摄入，保留在细胞内磷酸化作用之后，当患者接受利巴韦林的大剂量或长期给药时经常引起患者的溶血性贫血。不过有趣的是，Viramidine™ 不被红细胞摄入，而仍然被肝细胞摄入。所考虑的是这种摄取上的差异可归因于 Viramidine™ 摄取和/或转运蛋白系统的缺乏。事实上，实验显示 Viramidine™ 在任何可感知的程度上都不被摄入红细胞（数据没有显示）。

而且，由于肝细胞内的脱氨基酶/脱酰胺酶活性相对较高，Viramidine™ 在肝内转化为利巴韦林（未发表过的结果），随后被细胞内磷酸化为利巴韦林单磷酸酯，后者通常保留在肝细胞内。因此，所考虑的是通过在分子中包括甲脒基和利用相对较高的肝细胞脱氨基酶/脱酰胺酶活性，分子可以被特异性地定向至肝脏。关于所考虑的具有-C(NR_1)(NR_2R_3)的分子，应当领会到，肝细胞的各种脱氨基酶/脱酰胺酶活性之高足以使这类化合物从前体药物形式转化为活性药物形式（例如当存在甲酰胺基时，增加药物活性）。

不希望局限于特定的理论或酶机理，所考虑的是含有甲脒的化合物向对应的含有甲酰胺的化合物的转化作用可以包括酶转化，转化含有甲脒的化合物为对应的含有甲酰胺的化合物（例如转化 Viramidine™ 为利巴韦林）的酶属于氨基水解酶类。特别考虑的氨基水解酶包括腺苷-或胞嘧啶-脱氨基酶、芳基-脱酰胺酶和谷氨酸盐-丙酮酸盐转氨酶。

所以，发明人考虑的是释放药物至肝细胞的方法包含一个步骤，其中提供具有甲脒基的抗病毒或抗肿瘤化合物。在另一个步骤中，确定的是肝细胞包含转运化合物穿过肝细胞质膜的转运蛋白，其中化合物的转运蛋白基本上不被利巴韦林所抑制。术语“基本上不被利巴韦林所抑制”表示在实验一节所述试验条件下，抑制作用不超过20%，更通常不超过15%，进而更通常不超过10%，最通常不超过8%，其中利巴韦林的浓度在100μM与2mM之间。在更进一步的步骤中，将化合物呈递给转运蛋白。

在发明主题的进一步方面，发明人发现特定病毒科、更具体为黄病毒的生长可以在含有细胞的培养基中被向含有细胞的培养基加入一些设想的化合物所抑制，尤其是Viramidine™的盐酸盐（1-β-D-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲脒*HCl）（数据没有显示）。黄病毒科最近已经获得特别的关注，因为在美国西部发生了若干例西尼罗河病毒性脑炎，导致至少7例已报道死亡，至少62例严重疾病。而且，丙型肝炎样病毒（和HCV病毒）也属于黄病毒科，进一步提高黄病毒关于公众与个人健康的意义。尽管不希望局限于特定的理论或假设，不过所考虑的是Viramidine™*HCl的转运增加特别有益于黄病毒科病毒感染的治疗。

所以，特别适合用Viramidine™*HCl治疗的感染包括丙型肝炎病毒(HCV)、西尼罗河病毒、黄热病病毒、Kokobera病毒、澳洲墨莱溪谷脑炎、Kunjun病毒和Langat病毒、和来自蜱传播的脑炎病毒群、日本脑炎群和登革热群的病毒。

因此，抑制含有细胞的系统中属于黄病毒科的病毒的生长的方法将包括这样一个步骤，其中提供具有甲脒基的药物组合物。在另一个步骤中，将药物组合物呈递给含有细胞的系统中的细胞，其中该化合物被转运穿过该细胞的质膜，其中该化合物的转运基本上不被利巴韦林所抑制。特别优选的含有细胞的系统包括体外系统（例如陪替氏培养皿或细胞培养物）和体内系统（例如哺乳动物，尤其是人），进一步特别考虑的是适合的细胞包括被病毒感染的肝细胞。

所考虑的是Viramidine™*HCl（D-或L-构型）将以任意适当的药物制剂并且在任意适当的方案下给药。因而，给药可以采取口服、肠胃外（包

括皮下、静脉内、肌内、胸骨内注射或输注工艺）、吸入喷雾、直肠、局部等，剂量单位制剂含有常规的、无毒的药学上可接受的载体、助剂和赋形剂。举例来说，所考虑的是 Viramidine™*HCl 可以配制成与药学上可接受的载体的混合物。例如，Viramidine™*HCl 可以以药学上可接受的盐形式口服给药。因为 Viramidine™*HCl 主要是水溶性的，它能够以生理盐水溶液形式静脉内给药（例如缓冲至 pH 约 7.2 至 7.5）。为此可以使用常规的缓冲剂，例如磷酸盐、碳酸氢盐或柠檬酸盐。当然，本领域普通技术人员可以在本说明书的教导范围内修改制剂，以提供用于特定给药途径的大量制剂，而不会赋予 Viramidine™*HCl 不稳定性或者不包含它们的治疗活性。确切地说，使 Viramidine™*HCl 更易溶于水或另一种载体的修改例如可以通过微小修改（成盐、酯化等）而容易实现，这完全在本领域普通技术的范围内。也完全在本领域普通技术范围内的是修改特定化合物的给药途径和剂量方案，目的是控制本发明化合物的药动学，对患者实现最大有益效果。

在某些药物剂型中，化合物的前体药物形式、尤其包括本发明化合物的酰化（乙酰化或其他）的衍生物、吡啶盐和各种盐形式是优选的。本领域普通技术人员将确认如何容易修饰本发明化合物为前体药物形式，以有利于活性化合物释放至宿主生物体或患者体内的靶部位。本领域普通技术人员还将利用有利的前体药物形式的药动学参数，用于释放本发明化合物至宿主生物体或患者体内的靶部位，以最大化化合物的预期效果。

另外，Viramidine™*HCl 可以单独或者与其他用于治疗上述感染或疾病的药物联合给药。根据本发明的联合疗法包含至少一种本发明化合物或其功能衍生物和至少一种其他药物活性成分的给药。活性成分和药物活性剂可以单独或一起给药，当单独给药时，可以同时或按任意顺序单独进行。活性成分和药物活性剂的给药量和相对时间将是经过选择的，目的是实现所需的联合治疗效果。优选地，联合疗法牵涉 Viramidine™*HCl 或其生理学上的功能衍生物和下文提到的药物之一的给药。

在与 Viramidine™ 联合时有效的所考虑的其他药物或活性成分的实例是抗病毒剂，例如各种干扰素，包括但不限于干扰素α与γ、利巴韦林、

阿昔洛韦和 AZT™；抗真菌剂，例如托萘酯、Fungizone™、Lotrimin™、Mycelex™、制菌霉素和两性霉素；抗寄生物剂，例如 Mintezol™、Niclocide™、Vermox™和 Flagyl™；肠用药物，例如 Immodium™、Lomotil™和 Phazyme™；抗肿瘤剂，例如干扰素α与γ、Adriamycin™、Cytoxan™、Imuran™、甲氨蝶呤、Mithracin™、Tiazofurin™、Taxol™；皮肤病学药物，例如 Aclovate™、Cyclocort™、Denorex™、Florone™、Oxsoralen™、煤焦油和水杨酸；偏头痛制剂，例如麦角胺化合物；上面没有列举的固醇类和免疫抑制剂，包括环孢菌素、Diprosone™、氢化可的松；Floron™、Lidex™、Topicort 和 Valisone；代谢剂，例如胰岛素；和其他可能不太适合归入上述类别的药物，包括细胞因子，例如 IL2、IL4、IL6、IL8、IL10 和 IL12。尤其优选的主要药物是 AZT、3TC、8-取代的鸟苷类似物、2,3-二脱氧核苷、白介素 II、干扰素（例如 IαB-干扰素）、妥卡雷琐、左旋咪唑、异丙肌苷和 cyclolignans。

这类进一步的治疗剂的实例包括有效调节免疫系统或有关疾病的药物，例如 AZT、3TC、8-取代的鸟苷类似物、2',3'-二脱氧核苷、白介素 II、干扰素（例如α-干扰素）、妥卡雷琐、左旋咪唑、异丙肌苷和 cyclolignans。某些根据本发明的化合物通过减少其他化合物的代谢或失活，可以有效增强某些根据本发明的药物的生物活性，因此为达到预期效果是共同给药的。

所考虑的是各种替代剂量也是适当的，包括在 1－200mg/天之间的剂量和以下。在优选的实施方式中，适当的剂量为 10－200mg/天。在更优选的实施方式中，剂量为 50－200mg/天，在进而更优选的实施方式中，剂量为 5－100mg/天。一般而言，适当的剂量将取决于多个参数，包括病毒感染的类型、病毒感染的阶段、Viramidine™的所需血浆浓度、治疗的持续时间等。例如，在相对低的 Viramidine™血浆浓度下对有些病毒感染可以取得治疗的成功，不过其他病毒感染可能需要相对高的剂量。

活性化合物的给药可以从每天连续给药（静脉内滴注）至若干次口服给药（例如 Q.I.D.），给药途径可以包括口服、局部、肠胃外、肌内、静脉内、皮下、透皮（可以包括渗透增强剂）、颊和栓剂给药。

为了制备根据本发明的药物组合物，优选地按照生产药剂的常规药物复合工艺，将治疗有效量的一种或多种根据本发明的化合物与药学上可接受的载体紧密混合。载体可以采取各种形式，这取决于给药所需制剂的形式，例如口服或肠胃外。在制备口服剂型的药物组合物时，可以使用任意常用的药物介质。因而，关于液体口服制剂，例如悬液、酏剂和溶液，可以使用适合的载体和添加剂，包括水、二醇、油、醇、矫味剂、防腐剂、着色剂等。关于固体口服制剂，例如粉剂、片剂、胶囊剂，和固体制剂，例如栓剂，可以使用适合的载体和添加剂，包括淀粉、糖载体（例如葡萄糖、甘露糖醇、乳糖和相关的载体）、稀释剂、造粒剂、润滑剂、粘合剂、崩解剂等。如果需要的话，按照标准工艺，片剂或胶囊剂可以是肠溶衣的或持续释放的。

关于肠胃外制剂，载体通常将包含无菌的水或氯化钠水溶液，不过可以包括其他成分，包括有助于分散的那些。当然，当使用无菌的水并且要保持无菌时，组合物和载体也必须是经过灭菌的。还可以制备可注射的悬液，在这种情况下可以采用适当的液体载体、悬浮剂等。

实施例

利巴韦林、Viramidine™和 Levovirin™被不同人肝细胞系摄取

在 24 孔平板内使用 Hep3B、HepG2 和 Huh7 细胞系，浓度为 50,000 细胞/孔，在 37°C 下与[^{3}H]-标记的利巴韦林、Levovirin™和 Viramidine™ (20μCi/ml)加 10μM 冷的核苷培育 4 小时。将细胞用 PBS 洗涤，溶解，在闪烁计数器中测定细胞溶解产物中的放射性(也就是被细胞摄入的标记核苷的量）。

核苷竞争测定

将 50,000 HepG2 细胞/孔置于 24 孔平板中，与[^{3}H]-标记的核苷 (20μCi/ml)培育。增加冷的竞争核苷的浓度(0, 100μM, 500μM, 2mM)，进行竞争。培育时间为 37°C 下 2 小时。然后将细胞用 PBS 洗涤，溶解。在闪烁计数器中测定细胞溶解产物中的放射性(也就是被细胞摄入的标记核苷的量）。

因而，已经公开了药物释放至肝细胞和治疗黄病毒感染的方法的具体

实施方式。不过应当为本领域技术人员显而易见的是，除了已经描述的那些以外，更多的修改也是可能的，而不背离这里的发明概念。发明主题因此仅受所附权利要求的精神的限制。而且，在解释说明书和权利要求书时，所有术语都应当以最广泛可能的与上下文一致的方式加以解释。确切地说，术语“包含”应当被解释为以非排他性方式涉及元素、组分或步骤，说明可以存在所涉及的元素、组分或步骤，或者可以与没有明确涉及的其他元素、组分或步骤联用。

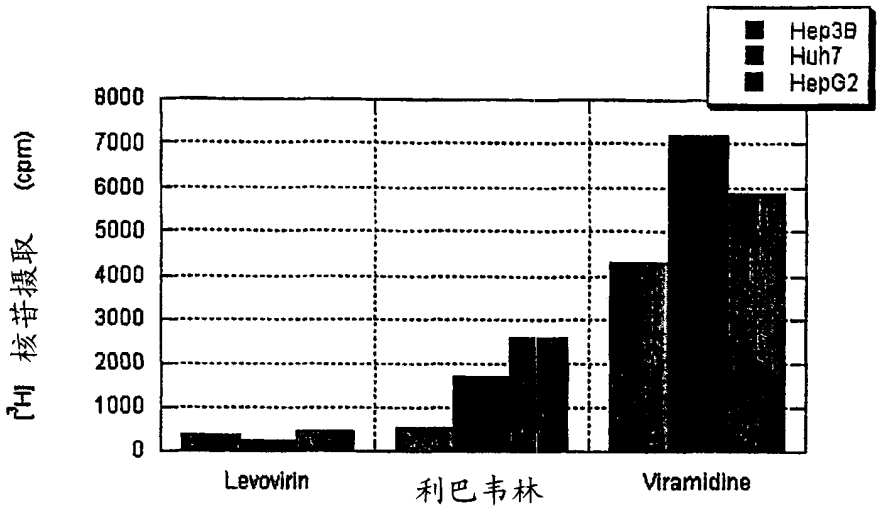

Hep3B
Huh7
HepG2
[3H] 核苷摄取 (cpm)
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
Levovirin
利巴韦林
Viramidine

图 1

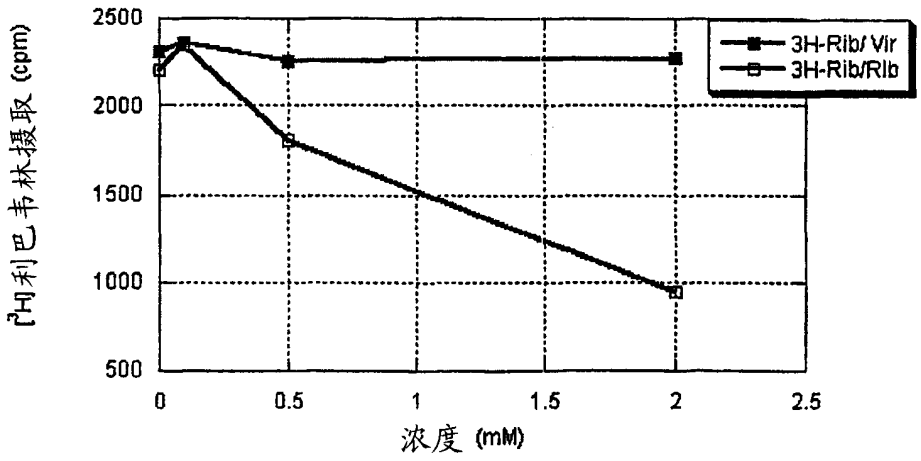

3H-Rib/ Vir
3H-Rib/Rib
[3H]利巴韦林摄取 (cpm)
2500
2000
1500
1000
500
0
0.5
1
1.5
2
2.5
浓度 (mM)

图 2

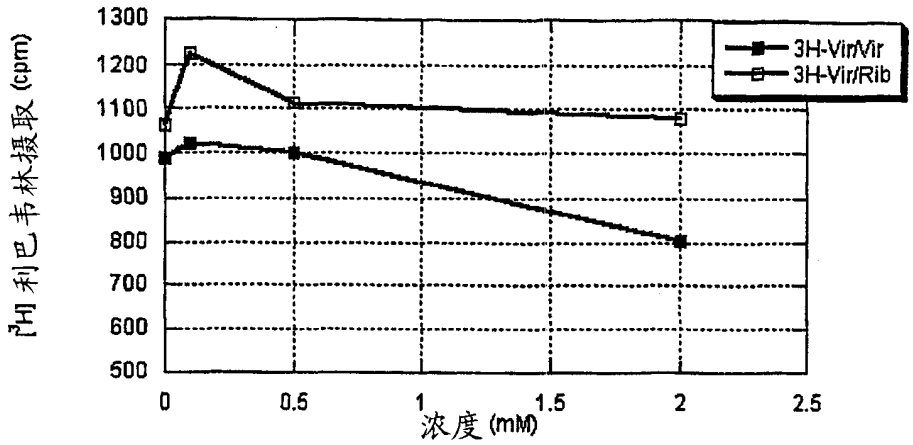

[3H] 利巴韦林摄取 (cpm)
1300
1200
1100
1000
900
800
700
600
500
0
0.5
1
1.5
2
2.5
浓度 (mM)
3H-Vir/Vir
3H-Vir/Rib

图 3

1、释放药物至肝细胞的方法，包含:

提供具有甲脒基的化合物，其中该化合物具有选自抗病毒活性和抗肿瘤活性的活性;

确定肝细胞包含转运该化合物穿过肝细胞质膜的转运蛋白，其中该化合物的转运基本上不被利巴韦林所抑制; 和

将该化合物呈递给该转运蛋白，其中该转运蛋白是有利于该化合物穿过质膜流入肝细胞的膜结合蛋白或蛋白复合物。

2、权利要求 1 的方法，其中该化合物包含具有与糖偶联的碱基的核苷。

3、权利要求 2 的方法，其中该碱基包含单环的碱。

4、权利要求 3 的方法，其中该单环的碱包含 1,2,4-三唑。

5、权利要求 2 的方法，其中该糖包含β-呋喃核糖。

6、权利要求 2 的方法，其中该核苷包含 1-β-D-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲脒。

7、权利要求 2 的方法，其中该核苷包含 1-β-L-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲脒。

8、权利要求 1 的方法，其中该甲脒基在肝细胞内转化为甲酰胺基。

9、权利要求 8 的方法，其中该甲酰胺基被酶磷酸化，由此蓄积在肝细胞内。

10、权利要求 1 的方法，其中该抗病毒活性是对抗黄病毒科的抗病毒活性。

11、权利要求 10 的方法，其中该对抗黄病毒科的抗病毒活性是对抗瘟病毒和丙型肝炎病毒的抗病毒活性。

12、权利要求 1 的方法，其中该抗肿瘤活性包括对抗瘤性肝细胞的抗肿瘤活性。

13、权利要求 1 的方法，其中该转运蛋白包含 ATP-依赖性转运蛋白。

14、权利要求 1 的方法，其中该转运蛋白包含跨膜蛋白。

15、权利要求 1 的方法，其中该肝细胞是患病的。

16、权利要求 1 的方法，其中该化合物的转运包含被第二种具有甲脒基的化合物所抑制的转运。

17、抑制属于黄病毒科的病毒在含有细胞的系统中复制的方法，包含:

提供具有甲脒基的药物组合物；和

将该药物组合物呈递给含有细胞的系统中的细胞，其中化合物被转运穿过该细胞的质膜，其中该化合物的转运基本上不被利巴韦林所抑制;

其中该转运蛋白是有利于该化合物穿过质膜流入肝细胞的膜结合蛋白或蛋白复合物。

18、权利要求 17 的方法，其中该病毒是西尼罗河病毒。

19、权利要求 17 的方法，其中该病毒是丙型肝炎病毒。

20、权利要求 17 的方法，其中该含有细胞的系统是体外系统。

21、权利要求 17 的方法，其中该含有细胞的系统是体内系统。

22、权利要求 22 的方法，其中该体内系统具有至少一个被该病毒感染的肝细胞。

23、权利要求 17 的方法，其中该药物化合物包含 1-β-D-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲脒*HCl。

24、权利要求 17 的方法，其中该药物化合物是 L-构型。