(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 114081876 A
(43)申请公布日 2022.02.25

(21)申请号 202111418630.7

(22)申请日 2015.05.15

(30)优先权数据
61/993,774 2014.05.15 US
61/993,784 2014.05.15 US
62/018,528 2014.06.27 US
62/018,530 2014.06.27 US
62/083,739 2014.11.24 US
62/083,749 2014.11.24 US

(62)分案原申请数据
201580038245.6 2015.05.15

(71)申请人 株式会社ENZYCHEM生命科学
地址 韩国首尔

(72)发明人 韩雍惠 庄西荷 孙起荣 金明焕 金载和

(74)专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理有限责任公司 11204
代理人 王达佐 安佳宁

(51)Int.Cl.
A61K 31/231(2006.01)
A61P 7/04(2006.01)
A61P 7/00(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

权利要求书3页 说明书30页 附图9页

(54)发明名称

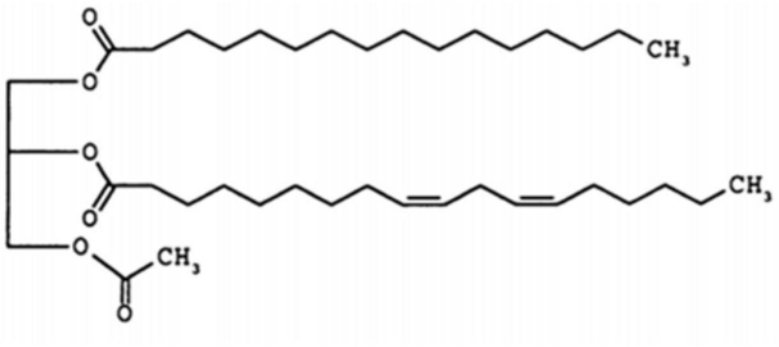
治疗白细胞减少症和血小板减少症的方法

(57)摘要

本公开提供了例如在癌症化疗的场合中用于治疗、控制或减轻白细胞减少症(例如,嗜中性粒细胞减少症)和/或血小板减少症的方法,该方法包括给予单乙酰基-二酰基-甘油化合物,以及其有用的组合物。

CN 114081876 A

1.式2化合物在制备用于治疗人的选自嗜中性粒细胞减少症和/或血小板减少症的疾病状态的药物中的用途,其中所述嗜中性粒细胞减少症是由化疗全部引起或部分引起的,所述血小板减少症是骨髓抑制性化疗诱发的血小板减少症,所述人患有化疗诱发的嗜中性粒细胞减少症,或者经历化疗,因此处于发展化疗诱发的嗜中性粒细胞减少症的风险中,或者患有化疗诱发的血小板减少症,或者处于发展化疗诱发的血小板减少症的风险中,



式 2

其中,所述人的嗜中性粒细胞绝对计数没有下降至低于500个细胞/μl,或者所述人的血小板数量没有下降至低于25,000个细胞/μl。

2.如权利要求1所述的用途,其中所述式2化合物以基本上不含有其他单乙酰基二酰基甘油化合物的药物形式被给予。

3.如权利要求2所述的用途,其中所述式2化合物以基本上不含有甘油三酯化合物的药物形式被给予。

4.如权利要求1所述的用途,其中所述人在不存在其它治疗下,意欲接受足以引起嗜中性粒细胞减少症的剂量的化疗,或者所述人患有因化疗发生的嗜中性粒细胞减少症或血小板减少症。

5.如权利要求1所述的用途,其中所述人是接受骨髓抑制性化疗的癌症患者。

6.如权利要求1所述的用途,其中所述式2化合物在清髓性化疗之前给予或者在清髓性化疗之后给予。

7.如权利要求1所述的用途,其中所述人接受用于治疗可由G-CSF诱发或激发的癌症的化疗剂。

8.如权利要求7所述的用途,其中所述人接受选自环磷酰胺、阿霉素、依托泊苷、异环磷酰胺、美司钠、顺铂、吉西他滨、他莫西芬和来那度胺中的一种或多种的化疗剂。

9.如权利要求8所述的用途,其中所述化疗剂是来那度胺。

10.如权利要求7所述的用途,其中所述人患有多发性骨髓瘤、慢性髓细胞性白血病(CML)、急性髓性白血病、或骨髓增生异常综合征。

11.如权利要求7所述的用途,其中所述式2化合物在清髓性化疗之前给予或者在清髓性化疗之后给予。

12.如权利要求1所述的用途,其还包括向所述人给予G-CSF。

13.如权利要求12所述的用途,其中所述人由于使用选自环磷酰胺、阿霉素、依托泊苷、异环磷酰胺、美司钠、顺铂、吉西他滨和他莫西芬的一种或多种化疗剂治疗而患有或处于患有嗜中性粒细胞减少症或血小板减少症的风险中。

14.如权利要求12所述的用途,其中所述G-CSF选自非格司亭、培非格司亭和来格司亭。

15.如权利要求14所述的用途,其中所述G-CSF是非格司亭。

16.如权利要求12所述的用途,其中所示式2化合物以有效减轻或治疗G-CSF的副作用的量相继或同时给药。

17.如权利要求12所述的用途,其中所述人是癌症患者,所述式2化合物和G-CSF在清髓性化疗前给予或在清髓性化疗之后给予。

18.如权利要求1所述的用途,其中将所述药物给予经历化疗的所述人以减轻或预防化疗诱发的嗜中性粒细胞减少症或血小板减少症。

19.如权利要求2所述的用途,其中所述药物被配制为用于口服或非口服给药的固体、液体、凝胶或悬浮液形式。

20.如权利要求19所述的用途,其中所述式2化合物以用于口服给药的药物形式给药。

21.如权利要求20所述的用途,其中所述式2化合物以药物的形式给药,所述药物为含有与医药上可接受的稀释剂或载体组合或联合的所述式2化合物的软明胶胶囊。

22.如权利要求21所述的用途,其中所述式2化合物的总的日剂量为250mg至2000mg。

23.如权利要求22所述的用途,其中所述药物进一步包含医药上可接受的抗氧化剂。

24.如权利要求23所述的用途,其中所述医药上可接受的抗氧化剂选自抗坏血酸(AA,E300)、生育酚(E306)、没食子酸丙酯(PG,E310)、叔丁基氢醌(TBHQ)、丁基化的羟基苯甲醚(BHA,E320)和丁基化的羟基甲苯(BHT,E321)。

25.如权利要求24所述的用途,其中所述式2化合物以包含250mg至1000mg的式2化合物、基本上不含甘油三酯、以及含有0.1mg至3mg的医药上可接受的生育酚化合物的用于口服给药的软明胶胶囊形式给药。

26.如权利要求25所述的用途,其中所述软明胶胶囊包含500mg的所述式2化合物和1mg的医药上可接受的生育酚化合物且基本上不含甘油三酯,每天一次或两次给药。

27.如权利要求1所述的用途,其中在给予所述式2化合物后,嗜中性粒细胞从血液中的迁移减少。

28.如权利要求1所述的用途,其中在给予所述式2化合物后,STAT6的活性降低。

29.如权利要求1所述的用途,其中所述使用所述药物的治疗在化疗给药前至少24小时直至化疗给药后至少24小时的期间暂停。

30.如权利要求1所述的用途,其中待治疗的所述疾病状态是嗜中性粒细胞减少症和血小板减少症两者。

31.如权利要求1所述的用途,其中所述治疗为预防性的。

32.如权利要求1所述的用途,其中所述骨髓抑制性化疗诱发的血小板减少症由选自阿柏西普、贝伦妥单抗维多汀、普拉曲沙、更昔洛韦、缬更昔洛韦、罗米地辛、鲁索利替尼、地西他滨、伊马替尼、拓扑替康、来那度胺、伊立替康、干扰素类、苯肼、他莫西芬、脂多糖、蒽环类抗生素、道诺霉素、阿霉素、吉西他滨、环磷酰胺、紫杉醇、烷化抗肿瘤剂、DNA嵌入剂、烷化剂、苯达莫司汀、氮芥、拓朴异构酶抑制剂、硼替佐米、替昔罗莫司、伏立诺他、异环磷酰胺和伊沙匹隆的药物所引起。

33.如权利要求1所述的用途,其中所述式2化合物的给药能对上调的或活化的补体3(C3)进行预防或抑制。

34.如权利要求1所述的用途,其中所述人的血小板计数不具有>70%减少。

35.如权利要求1所述的用途,其中所述所述式2化合物的总的日剂量为500mg至2000mg。

36.如权利要求1所述的用途,其中所述所述式2化合物的总的日剂量为1000mg至2000mg。

37.如权利要求1所述的用途,其中所述人的血小板数量没有下降至低于50,000个细胞/μl。

治疗白细胞减少症和血小板减少症的方法

[0001] 本申请是2015年05月15日提交的发明名称为“治疗白细胞减少症和血小板减少症的方法”的第201580038245.6号中国专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请请求2014年5月15日提出的美国临时申请第61/993774号、2014年5月15日提出的美国临时申请第61/993784号、2014年6月27日提出的美国临时申请第62/018528号、2014年6月27日提出的美国临时申请第62/018530号、2014年11月24日提出的美国临时申请第62/083739号和2014年11月24日提出的美国临时申请第62/083749号的优先权，各申请的内容通过引用并入本文。

[0004] 领域

[0005] 本公开内容涉及例如在癌症化疗的场合中用于治疗、控制或减轻白细胞减少症和/或血小板减少症的方法，该方法包括给予单乙酰基-二酰基甘油化合物，以及其有用的组合物。

[0006] 背景

[0007] 在造血期间，骨髓内的造血干细胞(HSC)分化为共同淋巴细胞前体(CLP)和共同髓系前体(CMP)。CMP分化为髓系的细胞，例如红细胞、巨核细胞/血小板、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞和树突细胞；CLP产生淋巴细胞系的细胞，例如T细胞、B细胞与NK细胞。

[0008] 功能性地，血细胞包含供应氧至组织的红细胞、控制凝血的血小板和保护对抗传染病与外来物质的白细胞。白细胞包括髓系的白细胞，例如嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和单核细胞；以及淋巴细胞，例如T细胞和B细胞。每1μl血液有约4,000至10,000个白细胞。白细胞群通常由50％至60％嗜中性粒细胞、1％至6％嗜酸性粒细胞、小于1％的嗜碱性粒细胞、2％至10％单核细胞和20％至30％淋巴细胞所组成。然而，取决于例如身体状况与炎症状态等因素，白细胞的水平与组成在不同的个体间或相同个体中随时间广泛地变化。

[0009] 如果HSC分化为CMP细胞被抑制，则血液中白细胞的浓度将减少至低于正常范围，引起白细胞减少症。白细胞减少症通常可以由细菌感染或病毒感染引起。然而，白细胞减少症也可能由再生障碍性贫血、白血病、骨髓增生异常综合征(MDS)或其他骨髓病症引起。尽管轻微的白细胞减少症仅导致免疫反应的微小缺失，但是严重的白细胞减少症甚至可引起败血症。

[0010] 由于嗜中性粒细胞为最丰富的白细胞，白细胞减少症通常引起嗜中性粒细胞减少症。嗜中性粒细胞通过破坏血液中的细菌而作为对抗感染的首要防御。患有嗜中性粒细胞减少症的患者更易受细菌感染，如果状况未被控制，则易受潜在地致命的败血症的伤害。嗜中性粒细胞绝对计数(Absolute neutrophil count，ANC)因年龄和性别而变化，成人的正常范围为每微升(μl)血液1500至8000个细胞，尽管健康成人的ANC通常为>2500个细胞/μl。ANC<500个细胞/μl被认为是严重的并是非常危险的情况，与高的严重感染风险相关。嗜中性粒细胞减少症可能由许多事件引起，例如，损害骨髓的癌症或其他疾病、特征为差的骨髓

功能的先天性病症、破坏骨髓功能的病毒感染、破坏嗜中性粒细胞或骨髓细胞的自体免疫性病症、比产生嗜中性粒细胞更快速地耗尽嗜中性粒细胞的暴发性感染(overwhelming infection)、或破坏嗜中性粒细胞或损害骨髓的药物。许多抗癌药物以及用于癌症的放射治疗可能直接引起剂量依赖性骨髓抑制。其他抗癌药物可在骨髓腔室内激发免疫介导的祖细胞的破坏,以及在一些情况下增加外周嗜中性粒细胞的破坏或清除。

[0011] 多种细胞因子参与造血。粒细胞-集落刺激因子(G-CSF或GCSF),也称为集落刺激因子3(CSF 3),是刺激骨髓中的造血前体细胞增殖并分化为成熟的粒细胞和干细胞并将它们释放至血流中的糖蛋白。G-CSF还诱发造血干细胞(HSCs)从骨髓释放至血流中,尽管其不特别刺激这些细胞。在人中,G-CSF以两种活性形式存在,其中更丰富的形式为174个氨基酸长,另一个为177个氨基酸长。天然存在的G-CSF的医药类似物是人174个氨基酸肽的重组形式(rhG-CSF),并包括:

[0012] .非格司亭(filgrastim)(例如,来自Amgen的Neupogen®),其在大肠杆菌中制造,具有相同活性,但与天然糖蛋白的不同之处在于其具有N-末端蛋氨酸残基及缺乏糖基化;

[0013] .来格司亭(lenograstim)(例如,来自Chugai的Granocyte®),在哺乳动物细胞[中国仓鼠卵巢(CHO)细胞]中制造,因此基本上与人G-CSF难以区分;

[0014] .培非格司亭(pegfilgrastim),非格司亭的聚乙二醇化形式,(例如,来自Amgen的Neulasta®与来自Roche的Neulastim®),具有共价结合至非格司亭的N-末端甲硫氨酰基残基的20kD单甲氧基聚乙二醇部分,相较于非格司亭,其增加溶解度与作用的持续时间。

[0015] 这些药物在美国及许多其他国家中已被批准为主要在接受化疗的癌症患者中治疗与减轻嗜中性粒细胞减少症,例如用于一个或多个下述适应症

[0016] .如发热性嗜中性粒细胞减少症所显示的,在接受与发热性嗜中性粒细胞减少症的临床上显著的发生率相关的骨髓抑制性抗癌药物的非骨髓性恶性肿瘤的患者中,减少感染的发生率;

[0017] .在诱发或巩固患有急性骨髓样淋巴瘤的成人的化疗处理后,缩短嗜中性粒细胞恢复的时间和发烧的持续时间;

[0018] .缩短嗜中性粒细胞减少症和嗜中性粒细胞减少症相关的临床后遗症的持续时间,该临床后遗症例如为,骨髓移植后进行清髓性化疗的非骨髓性恶性肿瘤患者的发热性嗜中性粒细胞减少症;

[0019] .动员造血祖细胞进入外周血以经由白细胞分离术进行收集,然后可移植入经清髓性化疗后的患者,如此可导致支持性护理需求的降低;

[0020] .在患有先天性嗜中性粒细胞减少症、周期性嗜中性粒细胞减少症或特发性嗜中性粒细胞减少症的症状性患者中,降低嗜中性粒细胞减少症的后遗症(例如,发烧、感染、口咽溃疡)的发生率和持续时间。

[0021] Neupogen®通常以4至8mcg/kg/天、高达10mcg/kg/天的剂量给予。已给予高达138mcg/kg/天的更高剂量而无毒性效应,但日剂量大于10mcg/kg/天以上的剂量反应曲线变为平坦。Neupogen®与其他形式的G-CSF的副作用可包括重复给药后的轻度至中度骨痛、注射部位的局部皮肤反应、过敏性反应、脾脏扩大或破裂、齿槽出血、急性呼吸窘迫综合

征(ARDS)、咳血、及(早已存在镰状细胞疾病的患者的)镰状细胞危象。G-CSF药物由于其可能潜在地刺激癌细胞的生长,因此通常不给予患有慢性髓细胞性白血病(CML)或骨髓增生异常综合征的患者。

[0022] 血小板,也称为凝血细胞,是帮助血液凝结的无色血细胞。正常的人血小板计数范围为每微升(μl)血液130,000至400,000个血小板。如在嗜中性粒细胞减少症的情形下,如果HSC分化为CMP被抑制,或如果血小板被破坏,例如由于自体免疫性疾病状态的结果,则血液中的血小板浓度可能下降至正常范围以下(血小板减少症)。每微升血液的血小板计数<50,000个血小板被认为是严重的状况,而每微升血液<20,000个血小板的计数可能自发地发生致命性内出血。血小板减少症几乎没有症状,直到当由自发性瘀青、极轻度创伤后的瘀青、瘀斑(由皮肤和黏膜的微小出血引起的皮肤上的红色或紫色斑点)和来自小伤口、鼻出血或刷牙的过度流血证实凝血损伤时,血小板计数极低。其他症状可包括不舒服、疲劳和全身无力(伴随或未伴随血液流失)。血小板减少症可能由例如,细菌或病毒感染、肝硬化、化疗或放射治疗、急性白血病、再生障碍性贫血、或自体免疫性疾病状态所引起,或可能为多种药物治疗的副作用。和嗜中性粒细胞减少症一样,血小板减少症为癌症的化疗或放射治疗常见的副作用。

[0023] 血小板减少症可以引起、恶化或伴随贫血。贫血可以由活动性出血引起,例如来自严重的月经出血、创伤、消化道溃疡或癌症,如可以缓慢渗血的结肠癌,这类出血可以被血小板减少症引发或恶化。贫血还在患有慢性疾病、营养不良和肾衰竭的患者中常见,所有这些可以在接受化疗或放射治疗的癌症患者中发生。

[0024] 多发性骨髓瘤(MM)是生产抗体的浆细胞的癌症。骨髓瘤阻止抗体的正常产生,使免疫系统变弱,患者易受感染;同时产生可能导致肾脏损害的有缺陷抗体。骨髓瘤细胞的增殖还干扰红细胞和白细胞的正常产生与功能,并且骨髓瘤细胞通常产生引起骨骼破坏的物质,这导致骨痛和/或骨折。多发性骨髓瘤特异性地由G-CSF刺激。急性髓性白血病(AML),也称为急性粒细胞白血病或急性非淋巴细胞白血病(ANLL),为血细胞的髓系的癌症,其特征在于累积在骨髓中并干扰正常血细胞的产生的异常白细胞的迅速生长。AML为最常见的影响成人的急性白血病。骨髓增生异常综合征(也称为MDS或脊髓发育不良)的特征在于骨髓类血细胞的无效产生(或发育不良)。MDS患者会发展成严重贫血并需要输血。在一些情况下,疾病恶化以及患者发展成由进行性骨髓衰竭而导致的血细胞减少症。慢性髓细胞性白血病(CML)为白血病的一种形式,其特征在于骨髓中骨髓细胞的显著性增加与紊乱生长及血液中这些细胞的蓄积。CML为克隆骨髓干细胞病症,其中发现成熟的粒细胞(嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞与嗜碱性粒细胞)及其前体的增殖。

[0025] 骨髓恶性肿瘤,例如MM、AML、MDS和CML,可能被粒细胞集落刺激因子(G-CSF)诱发或激发。虽然在少数情形下,G-CSF已在这些类型的癌症中被故意用于刺激癌细胞的增殖,以增强它们对化疗剂(通常靶向增殖的细胞)的敏感性,但重组的G-CSF药物(例如,非格司亭、来格司亭、或培非格司亭)对于从这些类型的癌症中复原的患者而言,通常不是治疗化疗诱发的嗜中性粒细胞减少症的良好选择。

[0026] 举例而言,来那度胺(lenalidomide)(Revlimid®)是沙利度胺(thalidomide)的衍生物,用于治疗多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征和其他癌症。来那度胺已显著地改善骨髓瘤(其通常具有差的预后)的整体存活,但该药物相当毒。导致严重的嗜中性粒细胞减

少症和血小板减少症的骨髓抑制为主要的剂量限制性毒性。

[0027] 需要新的治疗和管理嗜中性粒细胞减少症和血小板减少症的方法，例如，特别是针对患有G-CSF诱发的癌症及其嗜中性粒细胞减少症不能用G-CSF处理的患者，容许以比目前安全的更高剂量和/或更长持续时间进行更积极的化疗。

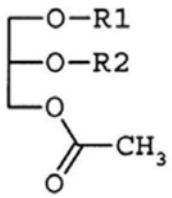
[0028] 鹿茸是传统的亚洲药物，通过干燥未角质化的鹿茸而制备。如在1613年首次出版的韩国医学书籍Dong-eui Bogam中所述，鹿茸已被称赞具有多种医疗效果，例如，生长和发育促进作用、促进造血功能、治疗精神崩溃、对心功能不全有益、改善五脏六腑的功能。据报导，鹿茸的某些组分，包括得自鹿茸的氯仿提取物的rac-1-棕榈酰基-2-亚油酰基-3-乙酰基甘油(PLAG)，对造血干细胞和巨核细胞具有生长刺激活性(WO 99/26640)；还报导，为鹿茸活性组分的单乙酰基-二酰基甘油衍生物有效治疗自体免疫性疾病、败血症、诸如胆管癌、肾癌或恶性黑色素瘤等癌症(WO 2005/112912)。

[0029] 发明简述

[0030] 本文描述的单乙酰基二酰基甘油，特别是PLAG，已令人意外地被发现经由不同于G-CSF的机制刺激嗜中性粒细胞生成，以增加血小板生成及减少嗜中性粒细胞移出血液。因此，这些化合物可用于帮助治疗和减轻嗜中性粒细胞减少症和/或血小板减少症，例如，当由诸如来那度胺等化疗剂引起所述疾病时，特别是在患有可由G-CSF诱发或恶化的癌症的患者中。此外，本文描述的单乙酰基二酰基甘油，特别是PLAG，通过减少癌细胞从血液移动至淋巴结而有助于防止诸如此类的血癌的转移。本文描述的单乙酰基二酰基甘油还可减少补体活性，因此有用于保护对抗补体介导的血小板的耗减，例如由自体免疫疾病状态所引起的补体介导的血小板的耗减。

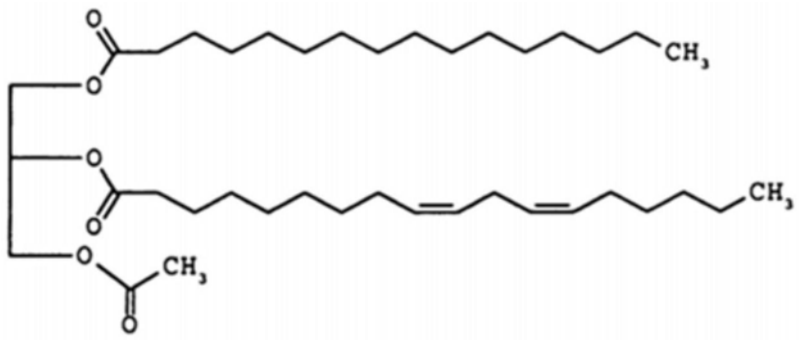
[0031] 本公开内容显示出本文描述的式1的单乙酰基二酰基甘油，特别是式2的PLAG，通过增强HSC分化并增殖为CMP并抑制补体的活性而有效地预防和治疗血小板减少症和白细胞减少症，例如嗜中性粒细胞减少症：

[0032] [式1]

[0033] 

[0034] 其中R_1和R_2独立地为具有14至22个碳原子的脂肪酸残基，例如：

[0035] [式2(PLAG)]

[0036] 

[0037] 在一些实施方案中，本公开内容提供了治疗(例如，抑制、减少、控制、减轻、或逆

转)选自白细胞减少症(例如,嗜中性粒细胞减少症)和/或血小板减少症的疾病状态的方法,该方法包括向有需要的患者给予有效量的式1化合物,例如PLAG。

[0038] 在一些实施方案中,本公开内容提供了用于预防或抑制上调的或活化的补体3(C3)的方法,该方法包括向有需要的个体给予有效量的式1化合物,例如PLAG。

[0039] 在一些实施方案中,本公开内容提供了用于治疗、控制或减轻白细胞减少症并增强先天性免疫力的方法,该方法包括向有需要的个体给予有效量的式1化合物,例如PLAG,通过增加髓系的白细胞,如嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、单核细胞的比例并同时减少为免疫细胞的淋巴细胞来实现。

[0040] 在一些实施方案中,本公开内容提供治疗癌症的方法,该方法包括向有需要的患者给予化疗剂连同嗜中性粒细胞保护量或血小板保护量的式1化合物,例如PLAG,其中以在未接受式1化合物的患者中会引起嗜中性粒细胞减少症和/或血小板减少症的剂量和/或时间段给予该化疗剂。

[0041] 在一些实施方案中,本公开内容提供用于治疗、控制或减轻接受例如来那度胺的化疗剂治疗由G-CSF激发的癌症(例如,多发性骨髓瘤、急性髓性白血病、慢性髓细胞性白血病或骨髓增生异常综合征)患者中的嗜中性粒细胞减少症和/或血小板减少症的方法,该方法包括向有需要的患者给予有效量的式1化合物,例如PLAG。

[0042] 在一些实施方案中,本公开内容提供治疗血癌的方法,例如,选自(例如多发性骨髓瘤、急性髓性白血病、慢性髓细胞性白血病或骨髓增生异常综合征),例如可能由G-CSF诱发或恶化的血癌,该方法包括(相继或同时)共同给予例如来那度胺的化疗剂和式1化合物。

[0043] 在一些实施方案中,本公开内容提供用于治疗(包括预防)嗜中性粒细胞减少症和/或用于动员外周血祖细胞(PBPC)的方法,该方法包括向有需要的患者(相继或同时)给予有效量的(i)式1化合物,例如PLAG,和(ii)G-CSF,例如,选自非格司亭、培非格司亭和来格司亭。

[0044] 在一些实施方案中,本公开内容提供减轻或治疗G-CSF的副作用的方法,所述副作用例如由G-CSF诱发的血小板减少症和/或骨痛,该方法包括向有需要的患者相继或同时共同给予式1化合物,例如PLAG。

[0045] 在另一实施方案中,本公开内容提供治疗贫血的方法,该方法包括向有需要的患者给予有效量的式1化合物,特别是PLAG。因为式1化合物促进HSC分化为CMP,由此扩大髓系的细胞,因此,它们用于增加红细胞的产生,并同时,通过增加血小板数量,它们减少由低的血小板计数引起的慢性出血,例如来自胃溃疡或月经过多的慢性出血,由此既增加又保留红细胞并减轻贫血。

[0046] 另外,本公开内容提供药物组合物,包括功能性保健食品,其包含用于预防或改善白细胞减少症或血小板减少症的式1化合物。

[0047] 本公开内容进一步提供用于所述方法的以及用于制造用于所述方法的药物的式1化合物和含有式1化合物的药物组合物。

[0048] 在一个实施方案中,本公开内容提供了用于口服给药的软明胶胶囊形式的新的药物单位剂量药物产品,其含有250mg至1000mg(例如500mg)的PLAG药物物质,基本上不含其他甘油三酯类,以及含有作为抗氧化剂的0.1mg至3mg(例如1mg)的医药上可接受的生育酚化合物,例如α-生育酚,例如,以500mg至4,000mg的日剂量每天给药一次或两次。

[0049] 从下文提供的详细说明和实施例中本发明的应用性的其它方面将变得显而易见。应理解的是，详细说明和具体实施例虽表明本发明的某些优选实施方案，但旨在仅示例性说明的目的，并不旨在限制本发明的范围。

[0050] 附图的简要说明

[0051] 图1描述在经PLAG处理的HepG2细胞中STAT1和STAT6转录活性的报告基因检测。

[0052] 图2描述在HMC-1细胞中，PLAG对补体3的抑制。

[0053] 图3A证实在WST-1检测中，PLAG不影响HepG2细胞系的细胞增殖与死亡。图3B显示通过PLAG的给药，C3的表达被剂量依赖性地减少。图3C显示通过S6I的给药，得到类似结果

[0054] 图4描述在小鼠模型中PLAG对三种化疗剂的嗜中性粒细胞保护作用。

[0055] 图5描述在小鼠模型中PLAG对三种化疗剂的血小板保护作用。

[0056] 图6描述在小鼠模型中三种化疗剂的补体3活化作用，以及PLAG阻断这些作用。

[0057] 图7描述PLAG对补体3的作用的临床试验的结果。

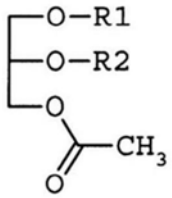
[0058] 图8描述在临床试验中被PLAG治疗抑制的化疗药物诱发的血小板减少症(CIN)。

[0059] 图9描述在临床试验中被PLAG治疗抑制的化疗药物诱发的嗜中性粒细胞减少症(CIN)。

[0060] 发明的详细说明

[0061] 用于治疗血小板减少症和/或白细胞减少症的本公开内容的组合物包含以下式1的具有一个乙酰基和两个酰基的甘油衍生物：

[0062] [式1]

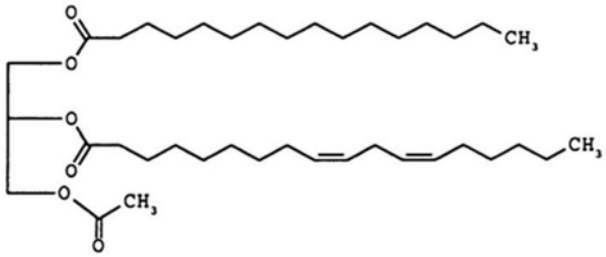
[0063] 

[0064] 其中R1和R2独立地为具有14至22个碳原子的脂肪酸残基。

[0065] 在本公开内容中，式1的甘油衍生物有时称为单乙酰基二酰基甘油(MDAG)。脂肪酸残基是指来源于通过脂肪酸与醇的反应的酯键形成的酰基基团。R_1与R_2的非限制性实例因此包括棕榈酰基、油酰基、亚油酰基、亚麻酰基、硬脂酰基、肉豆蔻酰基、花生四烯酰基等。R_1与R_2(R_1/R_2)的优选组合包括油酰基/棕榈酰基、棕榈酰基/油酰基、棕榈酰基/亚油酰基、棕榈酰基/亚麻酰基、棕榈酰基/花生四烯酰基、棕榈酰基/硬脂酰基、棕榈酰基/棕榈酰基、油酰基/硬脂酰基、亚油酰基/棕榈酰基、亚油酰基/硬脂酰基、硬脂酰基/亚油酰基、硬脂酰基/油酰基、肉豆蔻酰基/亚油酰基、肉豆蔻酰基/油酰基等。在光学活性上，式1的单乙酰基二酰基甘油衍生物可为(R)-型、(S)-型或外消旋混合物，并可包括其立体异构体。当R_1和/或R_2取代基为不饱和脂肪酸残基时，双键可具顺式构型。

[0066] 在一个实施方案中，单乙酰基二酰基甘油是以下式2化合物：

[0067] [式2]

[0068] 

[0069] 式2化合物是1-棕榈酰基-2-亚油酰基-3-乙酰基甘油，在本说明书中有时称为“PLAG”。式2化合物的R_1与R_2分别为棕榈酰基和亚油酰基。甘油部分上的第2个碳是手性的。PLAG通常以外消旋物形式提供，并且R-与S-对映异构体似乎具相同的活性。已知在使用盲肠结扎穿刺的败血症动物模型实验中，式2的PLAG增加动物的存活比例，以及在GLP(优良实验室条例)毒性测试中显示无毒性。然而，包括PLAG在内的单乙酰基二酰基甘油化合物对血小板减少症和白细胞减少症的作用、尤其是对嗜中性粒细胞减少症的作用，以及单乙酰基二酰基甘油化合物与G-CSF药物组合的作用在现有技术中仍未知或未揭示。

[0070] 单乙酰基二酰基甘油化合物可从天然鹿茸中分离和提取，或可通过常规的有机合成方法制造。更具体而言，用己烷提取鹿茸，随后用氯仿提取残留物，并去除氯仿以提供氯仿提取物。此提取所用的溶剂的体积刚刚足够浸没鹿茸。一般而言，1公斤鹿茸使用约4至5升己烷和/或氯仿，但不限于此。通过此方法获得的提取物使用一系列的硅胶柱色谱法和TLC方法被进一步分级与纯化，以获得用于本发明的单乙酰基二酰基甘油化合物。用于提取的溶剂选自氯仿/甲醇、己烷/乙酸乙酯/乙酸，但不限于此。

[0071] 制备单乙酰基二酰基甘油化合物的化学合成法例如显示于韩国注册的专利(Korean Registered Patent)第10-0789323号和第10-1278874号中，其内容通过引用并入本文以作参考。例如，PLAG可通过用乙酰基、棕榈酰基和亚油酰基官能团酰化甘油的羟基而合成。该最终产物类似于自鹿茸中鉴定并分离出的天然组分；二者皆为外消旋物。

[0072] 在本发明中，术语“治疗(treatment)”或“治疗(treating)”涵盖了待处理的疾病状态的预防、减轻、改善或消除；举例而言，通过本公开内容的药物组合物的给药，抑制或推迟血小板减少症和白细胞减少症的发作(有时称为预防)，以及改善血小板减少症和白细胞减少症，或改变血小板减少症和白细胞减少症的症状至更有益的状态。

[0073] 细胞系中的体外药理学研究显示PLAG能够抑制PKCθ/p38/ERK通路，其参与了来自HSC的淋巴样祖细胞的成熟。另外，在骨髓衍生的HSC中显示了体外诱发增加的集落形成。而且，PLAG抑制在人HMC-1细胞中的补体C3的表达。体内PLAG显示出在移植有同源HSC的经照射的小鼠的脾脏中增加结节的形成。在经他莫西芬处理的小鼠中，PLAG给药防止细胞毒性剂诱发的嗜中性粒细胞减少症并改善存活率。

[0074] 单乙酰基二酰基甘油化合物，尤其是PLAG，促进造血干细胞(HSC)分化为共同髓系前体(CMP)，其为(i)分化成血小板的巨核细胞和(ii)分化成嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、单核细胞等的原始粒细胞的前体；而非分化为共同淋巴细胞前体(CLP)；因此增加例如嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、单核细胞等巨噬细胞的比例，并减少过度产生的淋巴细胞。它们预防和治疗白细胞减少症，更具体而言，预防、减少或治疗嗜中性粒细胞减少症以增强先天性免疫力。

[0075] 除了增加集落形成并激活HSC分化成诸如嗜中性粒细胞和巨核细胞的髓系细胞

外,单乙酰基二酰基甘油化合物,特别是PLAG,还减少补体活化。关于补体依赖性机制在药物诱发的嗜中性粒细胞减少症中的角色以及嗜中性粒细胞在血管炎症和对败血症的反应中的角色所发表的报告建议,补体活化可能参与化疗诱发的血小板减少症和白细胞减少症。不受任何理论束缚,认为所述化合物通过抑制STAT6的活性而抑制C3,C3可能被化疗上调或活化。STAT6抑制剂经由IL-4阻断细胞中的STAT6信号传导,从而抑制C3的表达。

[0076] 因此,使用式1的单乙酰基二酰基甘油化合物,特别是PLAG,选择性降低补体活性,有助于有效对抗化疗诱发的嗜中性粒细胞减少症和血小板减少症。此外,补体活性的降低通过减少补体诱发的嗜中性粒细胞自循环中离去而增强对嗜中性粒细胞减少症的治疗。还通过减少补体介导的血小板的破坏(例如在自体免疫性血小板减少症中)而增强对血小板减少症的治疗。

[0077] 式1的单乙酰基二酰基甘油化合物,特别是PLAG,通过不同于G-CSF的机制刺激嗜中性粒细胞的生成,因此在治疗或减轻嗜中性粒细胞减少症和/或动员外周血祖细胞(PBPC)中,可以将诸如非格司亭、培非格司亭和来格司亭等G-CSF药物的作用增强至单独给予G-CSF无法达到的程度。在一些情况中,单乙酰基二酰基甘油化合物还可减轻G-CSF的副作用,例如,通过增强血小板的生成并减轻与G-CSF给药相关的骨痛来实现。因此,本公开内容提供了用于治疗嗜中性粒细胞减少症和/或动员PBPC的方法,该方法包括向有需要的患者同时、相继或与粒细胞集落刺激因子(G-CSF)相组合地给予单乙酰基二酰基甘油,例如,PLAG。患者可以例如为接受化疗和/或放射治疗的癌症患者,或者患有或处于患有嗜中性粒细胞减少症风险中的其他患者;以及单乙酰基二酰基甘油,例如,PLAG,可在化疗和/或放射治疗期间和/或之后被给予以治疗所发生的嗜中性粒细胞减少症,和/或可在之前被给予以帮助减轻此类治疗的影响,或动员造血祖细胞进入外周血以通过白细胞分离术进行收集,以及随后在清髓性化疗后用于救治患者。

[0078] 式1的单乙酰基二酰基甘油,特别是PLAG,通过不同于G-CSF的机制刺激嗜中性粒细胞的生成。由于式1化合物如PLAG提高血小板水平以及嗜中性粒细胞水平,可推测其自G-CSF上游促进增殖和分化。而且,式1化合物如PLAG减少补体活化、在炎性刺激后减少嗜中性粒细胞离开进入淋巴结中,并减少血小板的破坏,所有这些反应皆与G-CSF不同。

[0079] 因此,式1化合物,特别是PLAG,可帮助减轻由诸如来那度胺的化疗剂引起的嗜中性粒细胞减少症和血小板减少症,特别是针对不能使用G-CSF的患者,例如,患有可被G-CSF诱发或恶化的癌症的患者。由于式1化合物,特别是PLAG,不与G-CSF竞争而是增强G-CSF的作用,因此可与G-CSF组合使用以提供单独使用G-CSF无法达到的功效程度,或减少为达功效所需的G-CSF的量,例如,针对曾经经历源自G-CSF的副作用的患者。

[0080] 此外,式1化合物,特别是PLAG,通过减少癌细胞从血液迁移至淋巴结,有助于防止诸如此类的血癌的转移。如实施例中所述,当用脂多糖(LPS)注射小鼠以激起免疫应答时,在PLAG存在或不存在下,在用LPS和PLAG处理的小鼠中,相较于仅用LPS的对照组,嗜中性粒细胞的浓度增加,而在淋巴中的嗜中性粒细胞水平降低。这显示出在PLAG提高血液中的嗜中性粒细胞水平的同时,它也抑制至淋巴结的迁移。

[0081] 包含单乙酰基二酰基甘油的药物组合物可以仅由或基本上由纯的式1的单乙酰基二酰基甘油衍生物构成,或可以包含活性成分(式1的单乙酰基二酰基甘油衍生物)和常规的医药上可接受的载体、赋形剂、或稀释剂。药物组合物中的单乙酰基二酰基甘油的量可广

泛变化而没有特别限定，以及具体而言，相对于组合物的总量，为0.0001至100重量％，例如，0.001至50重量％、0.01至20重量％、或95-99重量％。药物组合物可被配制为供口服或非口服给药的固体、液体、凝胶或悬浮液形式，例如，片剂、丸剂、粉剂、颗粒剂、胶囊例如硬明胶胶囊或软明胶胶囊、乳剂、悬浮液、糖浆、可乳化的浓缩物、无菌的水性溶液、非水性溶液、冻干的制剂、栓剂等。在配制组合物时，可使用常规的赋形剂或稀释剂，例如填充剂、增容剂(bulking agent)、粘合剂、润湿剂、崩解剂和表面活性剂。用于口服给药的固体制剂包括片剂、丸剂、粉剂、颗粒剂、胶囊等，该固体制剂可通过将一种或多种活性成分与例如淀粉、碳酸钙、蔗糖、乳糖、明胶等至少一种赋形剂混合来制备。除了赋形剂以外，还可使用润滑剂，例如硬脂酸镁和滑石。用于口服给药的液体制剂包括乳剂、悬浮液、糖浆等，以及可包含常规的稀释剂例如水和液态石蜡，或可包含多种赋形剂，例如润湿剂、甜味剂、矫味剂和防腐剂。用于非口服给药的制剂包括无菌的水性溶液、非水性溶液、冷干的制剂、栓剂等，以及用于此类溶液的溶剂可包括丙二醇、聚乙二醇、植物油例如橄榄油、和用于注射器注射的酯类例如油酸乙酯。栓剂的基质材料可包括witepsol(合成脂肪酸酯)、聚乙二醇(macrogol)、吐温61、可可脂、三月桂酸甘油酯和甘油明胶(glycerogelatine)。

[0082] 单乙酰基二酰基甘油化合物可以以药物有效量给药。术语“药物有效量”用于指在医疗中足够实现所期望的结果的量。“药物有效量”可根据个体的类别、年龄、性别、疾病的严重性和类型、药物的活性、对药物的敏感度、给药时间、给药途径、排泄率等予以确定。

[0083] 术语“治疗(treatment)”或“治疗(treating)”包括通过给予本发明的组合物，血小板减少症和/或白细胞减少症的症状的预防、减轻、改善、推迟或减少以及症状的部分或全部消除或预防。本公开内容的组合物可单独给药或与其他药物相继或同时给药。当本公开内容的组合物与G-CSF药物一起给药时，则术语“治疗”包括通过(相继或同时)给予单乙酰基二酰基甘油与G-CSF药物的组合，嗜中性粒细胞减少症和/或G-CSF的副作用的症状的预防、减轻、改善、推迟或减少以及症状的部分或全部消除或预防。

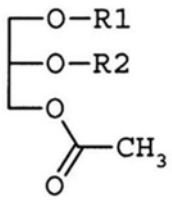
[0084] 本公开内容的组合物的优选量可根据患者的状况和重量、疾病的严重性、药物的制剂类型、给药途径和治疗期而改变。每一天的适当的给药总量可由医师决定，通常为约0.05至200mg/kg。从动物的体内实验和细胞的体外实验中推论，成人每天的优选的总给药量为0.1至100mg/kg。举例而言，50mg/kg的总量可一天一次给药或可分为多个剂量一天两次、三次、或四次给药。

[0085] 举例而言，在一个实施方案中，本公开内容提供了单位剂型的新的药物组合物，其形式为含有250至1000mg(如，500mg)的PLAG药物物质且不含其他甘油三酯类并含有0.1至3mg(如，1mg)的医药上可接受的生育酚化合物(如，α-生育酚)作为抗氧化剂的供口服给药的软明胶胶囊；例如，以500mg至4,000mg的日剂量一天给药一次或两次，例如，以早上500mg及晚上500mg的分剂量给予1000mg/天。

[0086] 本公开内容的组合物可向需要预防或治疗血小板减少症和白细胞减少症的任何个体给药。举例而言，本公开内容的组合物不仅可给予人，而且可给予非人类动物(特别是哺乳动物)，例如猴子、狗、猫、家兔、天竺鼠、大鼠、小鼠、牛、绵羊、猪、山羊等。本公开内容的组合物可通过多种常规方法给药，例如，通过口服或直肠给药，或通过静脉内(i.v.)、肌内(i.m.)、皮下(s.c.)或脑血管注射给药。由于单乙酰基二酰基甘油是口服有效的，因此它们通常被口服给药，例如以明胶胶囊形式或以功能性保健食品形式，即含有有效量的式1的单

乙酰基二酰基甘油的食品形式给予。

[0087] 因此，在一方面中，本公开内容提供用于治疗(例如，抑制、减少、控制、减轻或逆转)选自白细胞减少症(例如，嗜中性粒细胞减少症)和/或血小板减少症的疾病状态的方法(方法1)，该方法包括向有需要的患者给予有效量(例如，嗜中性粒细胞保护量或血小板保护量)的式1化合物：

[0088] 

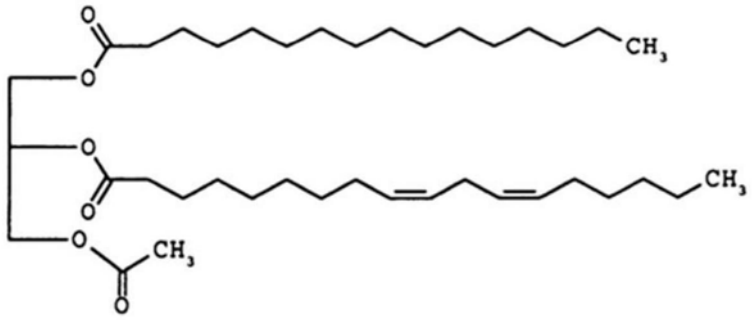
[0089] 其中R_1和R_2独立地为具有14至22个碳原子的脂肪酸基团，例如，PLAG；

[0090] 举例而言，

[0091] 1.1.方法1，其中R_1与R_2独立地选自棕榈酰基、油酰基、亚油酰基、亚麻酰基、硬脂酰基、肉豆蔻酰基和花生四烯酰基。

[0092] 1.2.方法1或1.1，其中R_1与R_2(R_1/R_2)选自油酰基/棕榈酰基、棕榈酰基/油酰基、棕榈酰基/亚油酰基、棕榈酰基/亚麻酰基、棕榈酰基/花生四烯酰基、棕榈酰基/硬脂酰基、棕榈酰基/棕榈酰基、油酰基/硬脂酰基、亚油酰基/棕榈酰基、亚油酰基/硬脂酰基、硬脂酰基/亚油酰基、硬脂酰基/油酰基、肉豆蔻酰基/亚油酰基和肉豆蔻酰基/油酰基。

[0093] 1.3.前述任一方法，其中式1化合物是式2化合物(PLAG)：

[0094] 

。

[0095] 1.4.前述任一方法，其中式2化合物以药物组合物形式给药，所述药物组合物基本上不含其他的单乙酰基二酰基甘油，例如，其中在制剂中至少95％、例如至少99％的总的单乙酰基二酰基甘油为式2。

[0096] 1.5.前述任一方法，其中式2化合物以基本上不含其他单乙酰基二酰基甘油化合物的药物组合物的形式给药。

[0097] 1.6.前述任一方法，其中式2化合物以基本上不含其他甘油三酯化合物的药物组合物的形式给药。

[0098] 1.7.前述任一方法，其中式1化合物是从天然鹿茸中分离和提取的。

[0099] 1.8.前述任一方法，其中式1化合物通过化学合成来制备。

[0100] 1.9.前述任一方法，其中式1化合物以用于口服给药的药物组合物的形式给予。

[0101] 1.10.前述任一方法，其中式1化合物以药物组合物的形式给药，所述药物组合物为含有与医药上可接受的稀释剂或载体组合或联合的式1化合物的软明胶胶囊，例如，其中所述医药上可接受的稀释剂或载体包含食用油，例如植物油，如橄榄油。

[0102] 1.11.前述任一方法,其中式1化合物以药物组合物的形式给予,以该组合物的重量计,所述药物组合物包含0.0001至100.0重量%,例如50至95%或95至99%。

[0103] 1.12.前述任一方法,其中所述组合物进一步包含医药上可接受的抗氧化剂,例如抗坏血酸(AA,E300)与生育酚(E306),以及合成的抗氧化剂,例如没食子酸丙酯(PG,E310)、叔丁基氢醌(TBHQ)、丁基化的羟基苯甲醚(BHA,E320)和丁基化的羟基甲苯(BHT,E321),例如α-生育酚。

[0104] 1.13.前述任一方法,其中式1化合物为式2化合物,该式2化合物以含有与约50mg医药上可接受的稀释剂或载体(例如,食用油,如植物油,如橄榄油)相组合或联合的250mg式2化合物的软明胶胶囊的形式给药。

[0105] 1.14.前述任一方法,其中式1化合物以功能性食品的形式、例如以适用于人类消费的食品的添加剂或掺混物的形式给予。

[0106] 1.15.前述任一方法,其中式1化合物以一天一次(q.d.)或一天两次(b.i.d.)进行给予。

[0107] 1.16.前述任一方法,其中式1化合物的总的日剂量为250mg/天至2000mg/天,例如500mg/天至1500mg/天,例如500mg/天、1000mg/天、或1500mg/天。

[0108] 1.17.前述任一方法,其中式1化合物以一天两次(例如,在早上与晚上)500mg的剂量进行给予。

[0109] 1.18.前述任一方法,其中式1化合物以一天一次(例如,在晚上)500mg的剂量进行给予。

[0110] 1.19.前述方法的任一项,其中式1化合物在至少两周、例如至少一个月的期间进行给予。

[0111] 1.20.前述任一方法,其中药物组合物可被配制为用于口服或非口服给药的固体、液体、凝胶或悬浮液形式。

[0112] 1.21.前述任一方法,其中式1化合物为式2化合物(PLAG),所述式2化合物以含有500mg PLAG药物物质和1mg作为抗氧化剂的α-生育酚的用于口服给药的软明胶胶囊的形式给予,以500mg至4,000mg的总的日剂量每天给予一次或两次。

[0113] 1.22.前述任一方法,其中待治疗的疾病状态为嗜中性粒细胞减少症。

[0114] 1.23.前述任一方法,其中待治疗的疾病状态由选自肺炎、耳部感染、口腔牙龈感染、砷中毒、血液透析、化学化合物、蛋白质、抗癌剂、化疗和照射治疗的疾病之一所引起。

[0115] 1.24.前述任一方法,其中待治疗的疾病状态由选自肺炎、耳部感染、口腔牙龈感染、砷中毒、血液透析、化学化合物、蛋白质、抗癌剂、化疗和照射治疗的疾病之一所引起。

[0116] 1.25.前述任一方法,其中待治疗的疾病状态由选自阿柏西普(ziv-aflibercept)、贝伦妥单抗维多汀(brentuximab vedotin)、普拉曲沙(pralatrexate)、更昔洛韦(ganciclovir)、缬更昔洛韦(valganciclovir)、罗米地辛(romidepsin)、鲁索利替尼(ruxolitinib)、地西他滨(decitabine)、伊马替尼(imatinib)、拓扑替康(topotecan)、来那度胺、伊立替康(irinotecan)、干扰素类、苯肼、他莫西芬、脂多糖、蒽环类抗生素、吉西他滨(gemcitabine)、环磷酰胺(cytoxan)、紫杉醇(paclitaxel)、烷化抗肿瘤剂、DNA嵌入剂、拓朴异构酶抑制剂及其衍生物或混合物的化合物所引起或恶化。

[0117] 1.26.前述任一方法,其中待治疗的疾病状态包括由药物诱发的血小板减少症,例

如,药物选自阿柏西普、贝伦妥单抗维多汀、普拉曲沙、更昔洛韦、缬更昔洛韦、罗米地辛、鲁索利替尼、地西他滨、伊马替尼、拓扑替康、来那度胺、伊立替康、干扰素类、苯肼、他莫西芬、脂多糖、蒽环类抗生素(例如,道诺霉素(daunorubicin)、多柔比星(doxorubicin)(=阿霉素(Adriamycin)]、吉西他滨、环磷酰胺、紫杉醇、烷化抗肿瘤剂、DNA嵌入剂(例如,烷化剂、苯达莫司汀(bendamustin)、芥末)、拓朴异构酶抑制剂、硼替佐米(Bortezomib)、替昔罗莫司(Temsirolimus)、伏立诺他(Vorinostat)、异环磷酰胺(Ifosfamide)、伊沙匹隆(Lxabepilone)及其衍生物。

[0118] 1.27.前述任一方法,其中待治疗的疾病状态包括由药物诱发的白细胞减少症,例如,嗜中性粒细胞减少症,例如,药物选自阿柏西普、贝伦妥单抗维多汀、去铁酮(Deferiprone)、吉西他滨、普拉曲沙、更昔洛韦、缬更昔洛韦、沙利度胺(Thalidomide)、罗米地辛、波普瑞韦(Boceprevir)、地西他滨、伊马替尼、拓扑替康、来那度胺、紫杉醇、奥氮平(Olanzapine)、伊立替康、帕利哌酮(Paliperidone)、干扰素类、脂多糖、他莫西芬、氟卡胺(Flecainide)(1C类的心脏的抗心律失常药物)、苯妥英(Phenytoin)、吲哚美辛(Indomethacin)、丙基硫氧嘧啶(Propylthiouracil)、卡比马唑(Carbimazole)、氯丙嗪(Chlorpromazine)、甲氧苄氨嘧啶(Trimethoprim)/磺胺甲噁唑(sulfamethoxazole)[复方新诺明(cotrimoxazole)]、氯氮平(Clozapine)、噻氯吡啶(Ticlodipine)和它们的衍生物、环磷酰胺、Mechlorethanime、苯丁酸氮芥(Chlorambucil)、美法仑(Melphalan)、卡莫司汀[Carmustine(BCNU)]、洛莫司汀[Lomustine(CCNU)]、丙卡巴肼(Procarbazine)、达卡巴嗪[Dacarbazine(DTIC)]、六甲蜜胺(Altretamine)、顺铂(Cisplatin)、卡铂(Carboplatin)、放线菌素D、依托泊苷(Etoposide)、拓扑替康、伊立替康、阿霉素&道诺霉素、6-硫基嘌呤、6-硫鸟嘌呤、伊达比星(Idarubicin)、表柔比星(Epirubicin)、米托蒽醌(Mitoxantrone)、硫唑嘌呤(Azathioprine)、2-氯脱氧腺苷、羟基脲、甲氨喋呤(Methotrexate)、5-氟脲嘧啶、阿糖胞苷(Cytosine arabinoside)、氮杂胞苷(Azacytidine)、吉西他滨、磷酸氟达拉滨(Fludarabine phosphate)、长春新碱(Vincristine)、长春碱(Vinblastine)、长春瑞滨(Vinorelbine)、紫杉醇、多西他赛(Docetaxel)、他莫西芬、培美曲塞(Pemetrexed)、纳米白蛋白结合型紫杉醇(Nab-paclitaxel)、达沙替尼(Dasatinib)、普拉曲沙、地西他滨、罗米地辛、伊马替尼、来那度胺、苏尼替尼(Sunitinib)、奥沙利铂(Oxaliplatin)、及沙利度胺的药物。

[0119] 1.28.前述任一方法,其中患者在不存在用式1化合物的治疗下,接受或意欲接受足以引起嗜中性粒细胞减少症或血小板减少症的剂量的化疗,或患有因化疗发生的嗜中性粒细胞减少症或血小板减少症。

[0120] 1.29.前述任一方法,其中患者是接受骨髓抑制性化疗的癌症患者。

[0121] 1.30.前述任一方法,其中患者是接受骨髓抑制性化疗的癌症患者,其中使用式1化合物的治疗在化疗给药前至少24小时至化疗给药后至少24小时的期间被中止,例如以减少由式1化合物刺激的细胞对化疗的脆弱性。

[0122] 1.31.前述任一方法,其中患者是接受骨髓移植的癌症患者。

[0123] 1.32.前述任一方法,其中患者是癌症患者,式1化合物在清髓性化疗前给予以提高外周血祖细胞的水平,该外周血祖细胞被收集以用于在清髓性化疗后再引入患者中,任选地,在清髓性化疗之后还给予式1化合物。

[0124] 1.33.前述任一方法,其中患者患有慢性嗜中性粒细胞减少症,例如,先天性嗜中性粒细胞减少症、周期性嗜中性粒细胞减少症或特发性嗜中性粒细胞减少症。

[0125] 1.34.前述任一方法,其中待治疗的疾病状态包括嗜中性粒细胞减少症,例如,其中"嗜中性粒细胞减少症"被认为每微升血液嗜中性粒细胞的计数为2000个或更少,例如,1,700个或更少,例如,1500个或更少。

[0126] 1.35.前述任一方法,其中持续治疗直至患者的每微升血液具有至少5000个,例如,至少8000个,例如,至少10,000个嗜中性粒细胞。

[0127] 1.36.前述任一方法,其中嗜中性粒细胞减少症与发烧有关。

[0128] 1.37.前述任一方法,其中式1化合物以有效地减轻或治疗G-CSF的副作用(例如由G-CSF诱发的血小板减少症和/或骨痛)的量给予。

[0129] 1.38.前述任一方法,其中患者由于使用选自环磷酰胺、阿霉素、依托泊苷、异环磷酰胺、美司钠(mesna)、顺铂、吉西他滨和他莫西芬中的一种或多种化疗剂治疗而患有或处于患有嗜中性粒细胞减少症或血小板减少症的风险中。

[0130] 1.39.前述任一方法,患者由于放射治疗而患有或处于患有嗜中性粒细胞减少症或血小板减少症的风险中。

[0131] 1.40.任一前述权利要求的方法,其中待治疗的疾病状态全部或部分由化疗引起。

[0132] 1.41.任一前述权利要求的方法,其中待治疗的疾病状态全部或部分由放射治疗引起。

[0133] 1.42.前述任一方法,其中待治疗的疾病状态包括血小板减少症,例如,其中血小板减少症被认为每微升(μl)血液的血小板低于130,000个,例如,低于100,000个,例如,低于50,000个。

[0134] 1.43.前述任一方法,其中患者例如由于癌症、病毒感染、再生障碍性贫血、免疫性血小板性紫癜(ITP)、血栓性血小板减少性紫癜(TTP)或肝病而患有慢性血小板减少症。

[0135] 1.44.前述任一方法,其中所治疗的疾病状态是由选自如下的疾病状态引起的或与选自如下的疾病状态同时发生的血小板减少症:瘀斑、胃出血、血尿(尿中带血)、月经量过多、卒中、失明、特发性血小板减少性紫癜(ITP)、高脾脏活性(hyper-spleen activities)、肝硬化、肝炎(尤其是肝炎C)、慢性肝病、白血病、淋巴瘤、狼疮、人类免疫缺陷病毒(HIV)感染、化学化合物、抗癌剂、蛋白质和照射治疗。

[0136] 1.45.前述任一方法,其中持续治疗直至患者每微升血液的血小板至少50,000个,例如,至少100,000个,例如,至少130,000个。

[0137] 1.46.前述任一方法,其中所治疗的疾病状态为嗜中性粒细胞减少症,以及患者接受用于治疗可由G-CSF诱发或激发的癌症的化疗剂,例如,其中该化疗剂选自环磷酰胺、阿霉素、依托泊苷、异环磷酰胺、美司钠、顺铂、吉西他滨、他莫西芬和来那度胺的一种或多种;例如,其中该化疗剂为来那度胺;例如,其中该癌症为多发性骨髓瘤、慢性髓细胞性白血病(CML)、急性髓性白血病、或骨髓增生异常综合征。

[0138] 1.47.前述任一方法,其中式1化合物在清髓性化疗之前给予以提高外周血祖细胞的水平,该外周血祖细胞被收集以用于在清髓性化疗后再引入患者中,任选地,在清髓性化疗之后还给予该式1化合物。

[0139] 1.48.前述任一方法,其中式1化合物诱发造血干细胞(HSC)分化形成共同髓系前

体(CMP)、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和单核细胞,并抑制造血干细胞(HSC)分化形成共同淋巴样前体(CLP),其产生共同淋巴细胞前体和淋巴细胞。

[0140] 1.49.前述任一方法,其中待治疗的疾病状态为嗜中性粒细胞减少症和血小板减少症。

[0141] 1.50.前述任一方法,其中所述治疗为预防性的。

[0142] 1.51.前述任一方法,其中患者为人。

[0143] 1.52.前述任一方法,其中患者先前已被诊断出患有癌症。

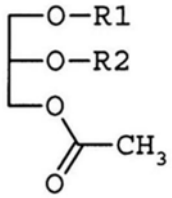
[0144] 此外,本公开内容提供式1化合物,例如PLAG,(或药物组合物,例如,本文描述的包含有效量的式1化合物,例如PLAG的药物组合物)以用于治疗(例如,抑制、减少、控制、减轻或逆转)选自白细胞减少症(例如,嗜中性粒细胞减少症)和/或血小板减少症的疾病状态,例如,用于方法1及以下任何方法中。

[0145] 此外,本公开内容提供式1化合物,例如PLAG在制备用于治疗(例如,抑制、减少、控制、减轻、或逆转)选自白细胞减少症(例如,嗜中性粒细胞减少症)和/或血小板减少症的疾病状态的药物中的用途,例如,在方法1及以下任何方法中。

[0146] 在特别实施方案中,本公开内容提供治疗癌症的方法,该方法包括给予有需要的患者化疗剂并结合根据方法1及以下任何方法给予的式1化合物,其中该化疗剂以在未接受式1化合物的患者中将引起嗜中性粒细胞减少症和/或血小板减少症的剂量和/或时间段给予。

[0147] 另外,本公开内容提供用于改善接受化疗和/或放射治疗的患者的生活质量的方法,该方法包括给予有效量的式1化合物,特别是PLAG,例如以减轻化疗诱发的疲劳或粘膜炎,例如通过根据方法1及以下任何方法给予式1化合物来实现。

[0148] 在另一方面,本公开内容提供在接受化疗剂(例如来那度胺)的患者中用于治疗、控制或减轻嗜中性粒细胞减少症和/或血小板减少症以治疗由G-CSF所刺激或恶化的癌症(例如,骨髓恶性肿瘤,例如,多发性骨髓瘤、急性髓性白血病、慢性髓细胞性白血病或骨髓增生异常综合征)的方法(方法2),该方法包括例如根据方法1及以下任何方法向有需要的患者给予有效量的式1化合物:

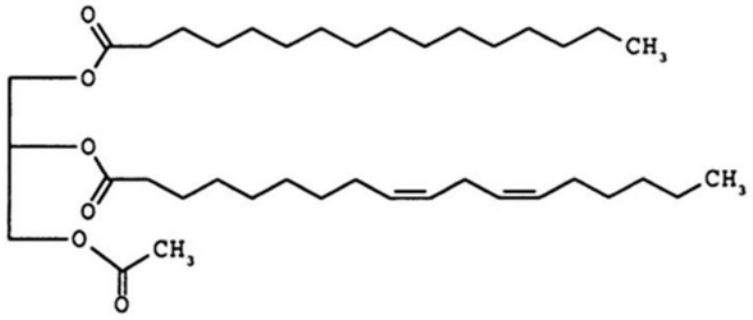
[0149] 

[0150] 其中R_1和R_2独立地为具有14至22个碳原子的脂肪酸基团,例如,PLAG。

[0151] 举例而言,

[0152] 2.1.方法2,其中R_1与R_2独立地选自棕榈酰基、油酰基、亚油酰基、亚麻酰基、硬脂酰基、肉豆蔻酰基及花生四烯酰基。

[0153] 2.2.方法2或2.1,其中该式1化合物为式2化合物:

[0154] 

[0155] 2.3.方法2.2,其中该式2化合物以基本上不含其他单乙酰基二酰基甘油的药物组合物的形式给予,例如,其中在制剂中,至少95%,例如至少99%的总的单乙酰基二酰基甘油为式2。

[0156] 2.4.前述任一方法,其中该式1化合物从天然鹿茸中分离或提取。

[0157] 2.5.前述任一方法,其中该式1化合物通过化学合成制备。

[0158] 2.6.前述任一方法,其中该式1化合物以用于口服给药的药物组合物的形式给予。

[0159] 2.7.前述任一方法,其中该式1化合物以药物组合物的形式给予,该药物组合物为含有与医药上可接受的稀释剂或载体相组合或联合的式1化合物的软明胶胶囊,举例而言,其中该医药上可接受的稀释剂或载体包含食用油,例如植物油,如橄榄油。

[0160] 2.8.前述任一方法,其中该式1化合物以药物组合物的形式给予,以该组合物的重量计,该药物组合物包含0.0001至100.0重量%,例如50至95%。

[0161] 2.9.前述任一方法,其中该式1化合物为式2化合物,该式2化合物以含有与约50mg医药上可接受的稀释剂或载体(例如,食用油,如植物油,如橄榄油)相组合或联合的250mg式2化合物的软明胶胶囊的形式给药。

[0162] 2.10.方法2至2.5的任一项,其中式1化合物以功能性食品的形式、例如以适用于人类消费的食品的添加剂或掺混物的形式给予。

[0163] 2.11.前述任一方法,其中式1化合物以一天一次(q.d.)或一天两次(b.i.d.)进行给予。

[0164] 2.12.前述任一方法,其中式1化合物的总的日剂量为250mg/天至2000mg/天,例如500mg/天至1500mg/天,例如500mg/天、1000mg/天、或1500mg/天。

[0165] 2.13.前述任一方法,其中式1化合物以一天两次(例如,在早上与晚上)500mg的剂量进行给予。

[0166] 2.14.前述任一方法,其中式1化合物以一天一次(例如,在晚上)500mg的剂量进行给予。

[0167] 2.15.前述任一方法,其中式1化合物与食物一起给予,例如,在晚餐后。

[0168] 2.16.前述方法的任一项,其中式1化合物在至少两周、例如至少一个月的期间进行给予。

[0169] 2.17.前述任一方法,其中式1化合物为式2化合物(PLAG),所述式2化合物以含有500mg PLAG药物物质和1mg作为抗氧化剂的α-生育酚的用于口服给药的软明胶胶囊的形式给予,以500mg至4,000mg的总的日剂量每天给予一次或两次。

[0170] 2.18.前述任一方法,其中该化疗剂选自环磷酰胺、阿霉素、依托泊苷、异环磷酰胺、美司钠、顺铂、吉西他滨、他莫西芬和来那度胺中的一种或多种。

[0171] 2.19.前述任一方法,其中该化疗剂为来那度胺。

[0172] 2.20.前述任一方法,其中该癌症为多发性骨髓瘤。

[0173] 2.21.前述任一方法,其中该癌症为慢性髓细胞性白血病(CML)。

[0174] 2.22.前述任一方法,其中该癌症为急性髓性白血病。

[0175] 2.23.前述任一方法,其中该癌症为骨髓增生异常综合征。

[0176] 2.24.前述任一方法,其中该患者

[0177] 01.24.1.在不存在其它治疗下,意欲以足以引起嗜中性粒细胞减少症的剂量接受化疗,或

[0178] 01.24.2.患有由化疗造成的嗜中性粒细胞减少症。

[0179] 2.25.前述任一方法,其中患者是癌症患者,式1化合物在清髓性化疗前给予以提高外周血祖细胞的水平,该外周血祖细胞被收集以用于在清髓性化疗后再引入患者中,任选地,在清髓性化疗之后还给予式1化合物。

[0180] 2.26.前述任一方法,其中"嗜中性粒细胞减少症"被认为每微升血液嗜中性粒细胞的计数为2000个或更少,例如,1,700个或更少,例如,1500个或更少。

[0181] 2.27.前述任一方法,其中持续治疗直至患者的每微升血液具有至少5000个,例如,至少8000个,例如,至少10,000个嗜中性粒细胞。

[0182] 2.28.前述任一方法,其中嗜中性粒细胞减少症与发烧有关。

[0183] 2.29.前述任一方法,其中患者由于使用选自环磷酰胺、阿霉素、依托泊苷、异环磷酰胺、美司钠(mesna)、顺铂、吉西他滨和他莫西芬的一种或多种化疗剂治疗而患有或处于患有嗜中性粒细胞减少症或血小板减少症的风险中。

[0184] 2.30.前述任一方法,其中待治疗的疾病状态包括血小板减少症,例如,其中血小板减少症被认为每微升(μl)血液的血小板低于130,000个,例如,低于100,000个,例如,低于50,000个。

[0185] 2.31.前述任一方法,其中患者例如由于癌症、病毒感染、再生障碍性贫血、免疫性血小板性紫癜(ITP)、血栓性血小板减少性紫癜(TTP)或肝病而患有慢性血小板减少症。

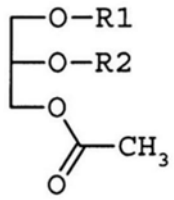
[0186] 2.32.前述任一方法,其中持续治疗直至患者每微升血液的血小板至少50,000个,例如,至少100,000个,例如,至少130,000个。

[0187] 2.33.前述任一方法,其中根据方法1及以下方法中的任一方法给予式1化合物。

[0188] 此外,本公开内容提供与诸如来那度胺的化疗剂组合使用的式1化合物,例如PLAG,(或药物组合物,例如,本文所述的包含有效量式1化合物,例如PLAG的药物组合物),例如,用于方法2及以下任何方法中。

[0189] 此外,本公开内容提供式1化合物,例如PLAG在制备与化疗剂(例如,来那度胺)组合使用的药物中的用途,例如,用于方法2及以下任何方法中。

[0190] 在另一方面,本公开内容提供用于治疗血癌的方法(方法3),所述血癌例如骨髓恶性肿瘤,例如,可能由G-CSF诱发或恶化的血癌,例如选自多发性骨髓瘤、急性髓性白血病、慢性髓细胞性白血病和骨髓增生异常综合征),该方法包括向有需要的患者(相继或同时)共同给予有效量的(i)化疗剂,例如来那度胺和(ii)式1化合物:

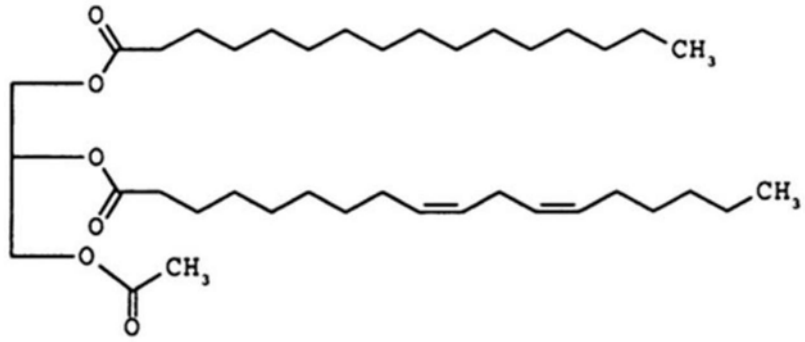
[0191] 

[0192] 其中R1和R2独立地为具有14至22个碳原子的脂肪酸基团，例如，PLAG；

[0193] 举例而言，

[0194] 3.1.方法3，其中R1与R2独立地选自棕榈酰基、油酰基、亚油酰基、亚麻酰基、硬脂酰基、肉豆蔻酰基和花生四烯酰基。

[0195] 3.2.方法3或3.1，其中该式1化合物为式2化合物：

[0196] 

[0197] 3.3.方法3.2，其中式2化合物以药物组合物形式给药，所述药物组合物基本上不含其他的单乙酰基二酰基甘油，例如，其中在制剂中至少95％、例如至少99％的总的单乙酰基二酰基甘油为式2。

[0198] 3.4.前述任一方法，其中该式1化合物从天然鹿茸中分离或提取。

[0199] 3.5.前述任一方法，其中式1化合物通过化学合成来制备。

[0200] 3.6.前述任一方法，其中式1化合物以用于口服给药的药物组合物的形式给予。

[0201] 3.7.前述任一方法，其中式1化合物以药物组合物的形式给药，所述药物组合物为含有与医药上可接受的稀释剂或载体组合或联合的式1化合物的软明胶胶囊，例如，其中所述医药上可接受的稀释剂或载体包含食用油，例如植物油，如橄榄油。

[0202] 3.8.前述任一方法，其中式1化合物以药物组合物的形式给予，以该组合物的重量计，所述药物组合物包含0.0001至100.0重量％，例如50至95％。

[0203] 3.9.前述任一方法，其中该式1化合物为式2化合物，该式2化合物以含有与约50mg医药上可接受的稀释剂或载体(例如，食用油，如植物油，如橄榄油)相组合或联合的250mg式2化合物的软明胶胶囊的形式给药。

[0204] 3.10.方法3至3.5的任一项，其中式1化合物以功能性食品的形式、例如以适用于人类消费的食品的添加剂或掺混物的形式给予。

[0205] 3.11.前述任一方法，其中式1化合物以一天一次(q.d.)或一天两次(b.i.d.)进行给予。

[0206] 3.12.前述任一方法，其中式1化合物的总的日剂量为250mg/天至2000mg/天，例如500mg/天至1500mg/天，例如500mg/天、1000mg/天、或1500mg/天。

[0207] 3.13.前述任一方法，其中式1化合物以一天两次(例如，在早上与晚上)500mg的剂量进行给予。

[0208] 3.14.前述任一方法,其中式1化合物以一天一次(例如,在晚上)500mg的剂量进行给予。

[0209] 3.15.前述任一方法,其中式1化合物为式2化合物(PLAG),所述式2化合物以含有500mg PLAG药物物质和1mg作为抗氧化剂的α-生育酚的用于口服给药的软明胶胶囊的形式给予,以500mg至4,000mg的总的日剂量每天给予一次或两次。

[0210] 3.16.前述任一方法,其中式1化合物与食物一起给予,例如,在晚餐后。

[0211] 3.17.前述任一方法,其中式1化合物在至少两周、例如至少一个月的期间进行给予。

[0212] 3.18.前述任一方法,其中该化疗剂选自环磷酰胺、阿霉素、依托泊苷、异环磷酰胺、美司钠、顺铂、吉西他滨、他莫西芬和来那度胺中的一种或多种。

[0213] 3.19.前述任一方法,其中该化疗剂为来那度胺。

[0214] 3.20.前述任一方法,其中该癌症为多发性骨髓瘤。

[0215] 3.21.前述任一方法,其中该癌症为慢性髓细胞性白血病(CML)。

[0216] 3.22.前述任一方法,其中该癌症为急性髓性白血病。

[0217] 3.23.前述任一方法,其中该癌症为骨髓增生异常综合征。

[0218] 3.24.前述任一方法,其中该患者

[0219] .24.1.在不存在其它治疗下,意欲以足以引起嗜中性粒细胞减少症的剂量接受化疗,或

[0220] .24.2.患有由化疗造成的嗜中性粒细胞减少症。

[0221] 3.25.前述任一方法,其中患者是癌症患者,式1化合物在清髓性化疗前给予以提高外周血祖细胞的水平,该外周血祖细胞被收集以用于在清髓性化疗后再引入患者中,任选地,在清髓性化疗之后还给予式1化合物。

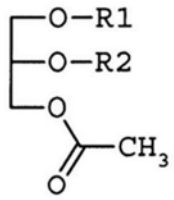
[0222] 3.26.前述任一方法,其中持续治疗直至患者的每微升血液具有至少5000个,例如,至少8000个,例如,至少10,000个嗜中性粒细胞。

[0223] 3.27.前述任一方法,其中根据方法1及以下方法中的任一方法给予式1化合物。

[0224] 此外,本公开内容提供了结合有效量的化疗剂(例如来那度胺)的(相继或同时)共同给药的用于治疗血癌的式1化合物,例如PLAG(或药物组合物,例如,本文所述的包含有效量的式1化合物,如PLAG的药物组合物),所述血癌例如骨髓恶性肿瘤,如可能由G-CSF诱发或恶化的血癌,如选自多发性骨髓瘤、急性髓性白血病、慢性髓细胞性白血病和骨髓增生异常综合征,例如,用于方法3及以下方法中的任一方法中。

[0225] 此外,本公开内容提供式1化合物,例如PLAG在制备用于治疗血癌的药物中的用途,所述血癌例如骨髓恶性肿瘤,如可能由G-CSF诱发或恶化的血癌,例如选自多发性骨髓瘤、急性髓性白血病、慢性髓细胞性白血病和骨髓增生异常综合征,该式1化合物结合有效量的化疗剂(例如来那度胺)进行(相继或同时)共同给药,例如,用于方法3及以下方法中的任一方法中。

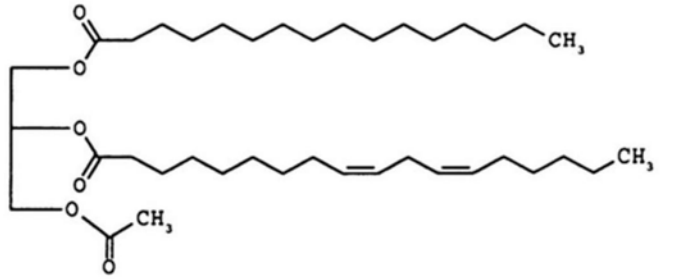
[0226] 在另一方面,本公开内容提供用于治疗(包括预防)嗜中性粒细胞减少症和/或动员外周血祖细胞(PBPC)的方法(方法4),该方法包括向有需要的患者(相继或同时)给予有效量的(i)式1化合物:

[0227] 

[0228] 其中R_1和R_2独立地为具有14至22个碳原子的脂肪酸基团，例如PLAG，和(ii)G-CSF，例如，选自非格司亭、培非格司亭和来格司亭；举例而言，

[0229] 4.1.方法4，其中R_1与R_2独立地选自棕榈酰基、油酰基、亚油酰基、亚麻酰基、硬脂酰基、肉豆蔻酰基和花生四烯酰基。

[0230] 4.2.方法4或4.1，其中该式1化合物为式2化合物：

[0231] 

[0232] 4.3.方法4.2，其中该式2化合物以药物组合物形式给药，所述药物组合物基本上不含其他的单乙酰基二酰基甘油，例如，其中在制剂中至少95％、例如至少99％的总的单乙酰基二酰基甘油为式2。

[0233] 4.4.前述任一方法，其中该式1化合物从天然鹿茸中分离或提取。

[0234] 4.5.前述任一方法，其中该式1化合物通过化学合成来制备。

[0235] 4.6.前述任一方法，其中该式1化合物以用于口服给药的药物组合物的形式给予。

[0236] 4.7.前述任一方法，其中该式1化合物以药物组合物的形式给药，所述药物组合物为含有与医药上可接受的稀释剂或载体组合或联合的式1化合物的软明胶胶囊，例如，其中所述医药上可接受的稀释剂或载体包含食用油，例如植物油，如橄榄油。

[0237] 4.8.前述任一方法，其中该式1化合物以药物组合物的形式给予，以该组合物的重量计，所述药物组合物包含0.0001至100.0重量％，例如50至95％。

[0238] 4.9.前述任一方法，其中该式1化合物为式2化合物，该式2化合物以含有与约50mg医药上可接受的稀释剂或载体(例如，食用油，如植物油，如橄榄油)相组合或联合的250mg式2化合物的软明胶胶囊的形式给药。

[0239] 4.10.方法4至4.5的任一项，其中该式1化合物以功能性食品的形式、例如以适用于人类消费的食品的添加剂或掺混物的形式给予。

[0240] 4.11.前述任一方法，其中该式1化合物以一天一次(q.d.)或一天两次(b.i.d.)进行给予。

[0241] 4.12.前述任一方法，其中该式1化合物的总的日剂量为250mg/天至2000mg/天，例如500mg/天至1500mg/天，例如500mg/天、1000mg/天、或1500mg/天。

[0242] 4.13.前述任一方法，其中该式1化合物以一天两次(例如，在早上与晚上)500mg的剂量进行给予。

[0243] 4.14.前述任一方法，其中该式1化合物以一天一次(例如，在晚上)500mg的剂量进

行给予。

[0244] 4.15.前述任一方法,其中该式1化合物为式2化合物(PLAG),所述式2化合物以含有500mg PLAG药物物质和1mg作为抗氧化剂的α-生育酚的用于口服给药的软明胶胶囊的形式给予,以500mg至4,000mg的总的日剂量每天给予一次或两次。

[0245] 4.16.前述任一方法,其中该式1化合物与食物一起给予,例如,在晚餐后。

[0246] 4.17.前述任一方法,其中该式1化合物在至少两周、例如至少一个月的期间进行给予。

[0247] 4.18.前述任一方法,其中该G-CSF选自非格司亭、培非格司亭、和来格司亭,例如,其中该G-CSF为非格司亭。

[0248] 4.19.前述任一方法,其中该患者

[0249] 01.19.1.在不存在其它治疗下,意欲以足以引起嗜中性粒细胞减少症的剂量接受化疗,或

[0250] 01.19.2.患有由化疗造成的嗜中性粒细胞减少症。

[0251] 4.20.前述任一方法,其中该患者为接受骨髓抑制性化疗的癌症患者。

[0252] 4.21.前述任一方法,其中该患者是接受骨髓抑制性化疗的癌症患者,其中使用式1化合物和G-CSF的治疗在化疗给药前至少24小时至化疗给药后至少24小时的期间被中止,例如以减少由式1化合物和G-CSF刺激的细胞对化疗的脆弱性。

[0253] 4.22.前述任一方法,其中该患者是接受骨髓移植的癌症患者。

[0254] 4.23.前述任一方法,其中该患者是癌症患者,式1化合物和G-CSF在清髓性化疗前给予以提高外周血祖细胞的水平,该外周血祖细胞被收集以用于在清髓性化疗后再引入患者中,任选地,在清髓性化疗之后还给予式1化合物和G-CSF。

[0255] 4.24.前述任一方法,其中该患者患有慢性嗜中性粒细胞减少症,例如,先天性嗜中性粒细胞减少症、周期性嗜中性粒细胞减少症或特发性嗜中性粒细胞减少症。

[0256] 4.25.前述任一方法,其中“嗜中性粒细胞减少症”被认为每微升血液嗜中性粒细胞的计数为2000个或更少,例如,1,700个或更少,例如,1500个或更少。

[0257] 4.26.前述任一方法,其中持续治疗直至患者的每微升血液具有至少5000个,例如,至少8000个,例如,至少10,000个嗜中性粒细胞。

[0258] 4.27.前述任一方法,其中该嗜中性粒细胞减少症与发烧有关。

[0259] 4.28.前述任一方法,其中该式1化合物以有效地减轻或治疗G-CSF的副作用(例如由G-CSF诱发的血小板减少症和/或骨痛)的量给予。

[0260] 4.29.前述任一方法,其中该患者由于使用选自环磷酰胺、阿霉素、依托泊苷、异环磷酰胺、美司钠(mesna)、顺铂、吉西他滨和他莫西芬中的一种或多种化疗剂治疗而患有或处于患有嗜中性粒细胞减少症的风险中。

[0261] 4.30.前述任一方法,其中该式1化合物根据方法1及以下方法中的任一方法进行给予。

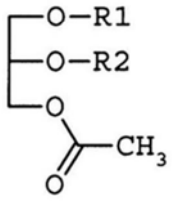
[0262] 此外,本公开内容提供减轻或治疗G-CSF的副作用的方法(方法5),该副作用例如为由G-CSF诱发的血小板减少症和/或骨痛,该方法包括向有需要的患者相继或同时地共同给予式1化合物,例如PLAG,例如,在方法1及以下方法中的任何方法中描述的方案中。

[0263] 此外,本公开内容提供与G-CSF联合使用的式1化合物,例如,PLAG(或药物组合物,

例如，本文所述的包含有效量的式1化合物，例如PLAG的药物组合物)，例如，用于方法1及以下方法、方法4及以下方法或方法5的任一方法中。

[0264] 此外，本公开内容提供式1化合物，例如PLAG，在制备与G-CSF联合使用的药物中的用途，例如，用于方法1及以下方法、或方法4及以下方法或方法5的任一方法中。

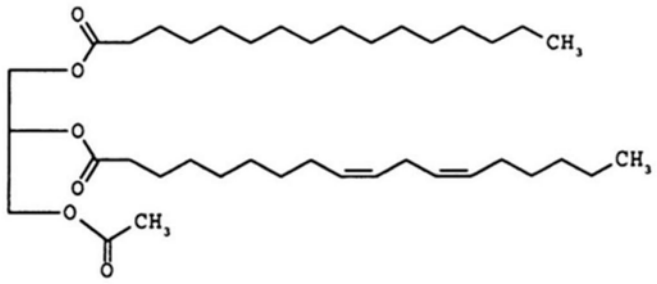
[0265] 另外，本公开内容提供治疗贫血的方法(方法6)，其包括向有需要的患者给予有效量的式1化合物：

[0266] 

[0267] 其中R_1和R_2独立地为具有14至22个碳原子的脂肪酸基团，例如PLAG；例如，

[0268] 6.1.方法6，其中R_1与R_2独立地选自棕榈酰基、油酰基、亚油酰基、亚麻酰基、硬脂酰基、肉豆蔻酰基和花生四烯酰基。

[0269] 6.2.方法6或6.1，其中该式1化合物为式2化合物：

[0270] 

。

[0271] 6.3.方法6.2，其中该式2化合物以药物组合物形式给药，所述药物组合物基本上不含其他的单乙酰基二酰基甘油，例如，其中在制剂中至少95％、例如至少99％的总的单乙酰基二酰基甘油为式2。

[0272] 6.4.前述任一方法，其中该式1化合物从天然鹿茸中分离或提取。

[0273] 6.5.前述任一方法，其中该式1化合物通过化学合成来制备。

[0274] 6.6.前述任一方法，其中该式1化合物以用于口服给药的药物组合物的形式给予。

[0275] 6.7.前述任一方法，其中该式1化合物以药物组合物的形式给药，所述药物组合物为含有与医药上可接受的稀释剂或载体组合或联合的式1化合物的软明胶胶囊，例如，其中所述医药上可接受的稀释剂或载体包含食用油，例如植物油，如橄榄油。

[0276] 6.8.前述任一方法，其中该式1化合物以药物组合物的形式给予，以该组合物的重量计，所述药物组合物包含0.0001至100.0重量％，例如50至95％。

[0277] 6.9.前述任一方法，其中该式1化合物为式2化合物，该式2化合物以含有与约50mg医药上可接受的稀释剂或载体(例如，食用油，如植物油，如橄榄油)相组合或联合的250mg式2化合物的软明胶胶囊的形式给药。

[0278] 6.10.方法6至6.5的任一项，其中该式1化合物以功能性食品的形式、例如以适用于人类消费的食品的添加剂或掺混物的形式给予。

[0279] 6.11.前述任一方法，其中该式1化合物以一天一次(q.d.)或一天两次(b.i.d.)进行给予。

[0280] 6.12.前述任一方法,其中该式1化合物的总的日剂量为250mg/天至2000mg/天,例如500mg/天至1500mg/天,例如500mg/天、1000mg/天、或1500mg/天。

[0281] 6.13.前述任一方法,其中该式1化合物以一天两次(例如,在早上与晚上)500mg的剂量进行给予。

[0282] 6.14.前述任一方法,其中该式1化合物以一天一次(例如,在晚上)500mg的剂量进行给予。

[0283] 6.15.前述任一方法,其中该式1化合物为式2化合物(PLAG),所述式2化合物以含有500mg PLAG药物物质和1mg作为抗氧化剂的α-生育酚的用于口服给药的软明胶胶囊的形式给予,以500mg至4,000mg的总的日剂量每天给予一次或两次。

[0284] 6.16.前述任一方法,其中该式1化合物与食物一起给予,例如,在晚餐后。

[0285] 6.17.前述任一方法,其中该式1化合物在至少两周、例如至少一个月的期间进行给予。

[0286] 6.18.前述任一方法,其中该患者还患有血小板减少症。

[0287] 6.19.前述任一方法,其中该患者接受化疗和/或放射治疗。

[0288] 6.20.前述任一方法,其中贫血是正常红细胞性贫血。

[0289] 6.21.前述任一方法,其中贫血由活动性出血引起,例如来自严重的月经期出血、创伤、消化道溃疡或癌症,如结肠的癌症。

[0290] 6.22.前述任一方法,其中贫血是骨髓增生异常来源的。

[0291] 6.23.前述任一方法,其中该患者具有低于12g/dL的血红蛋白水平。

[0292] 6.24.前述任一方法,其中继续治疗直至患者具有至少12g/dL的血红蛋白水平。

[0293] 6.25.前述任一方法,其中该患者还接受补充性铁。

[0294] 6.26.前述任一方法,其中根据方法1及下列方法中的任一方法给予式1化合物。

[0295] 另外,本公开内容提供用于治疗贫血,例如用于方法6及以下方法中的任一方法的式1化合物,例如PLAG(或药物组合物,例如,如本文所描述的包含有效量的式1化合物,例如PLAG的药物组合物)。

[0296] 另外,本公开内容提供式1化合物,例如PLAG在制备用于治疗贫血的药物中的用途,例如用于方法6及以下方法中的任一方法。

[0297] 如全文中所用,范围被用作以简约方式叙述该范围内的每一值和各值。范围内的任何值皆可被选作该范围的端点。此外,本文所引用的所有参考文献,其全部内容均并入本文以作参考。在本公开内容中的定义与所引用参考文献中的定义发生抵触的情形下,以本公开内容为准。除非另行指定,否则在本文及说明书中别处所表示的所有百分比和数量应被理解为指重量百分比。所提供的数量基于该物质的有效重量(active weight)。

[0298] 提供以下实施例以便更好地理解本发明。然而,本公开内容不受限于所述实施例。

[0299] 实施例1-在RBL-2H3细胞中PKCθ/p38/ERK活性的体外抑制

[0300] 在细胞系中的体外药理学研究显示PLAG能抑制PKCθ/p38MAPK/ERK通路,其参与来自HSC的淋巴样祖细胞的成熟。分别使用抗磷酸化(anti-phospho)-p38和抗磷酸化-ERK1/2,通过蛋白质免疫印迹分析测定在经PLAG处理的RBL-2H3细胞中p38 MAPK和ERK1/2的去磷酸化。为了活化在RBL-2H3细胞中的p38和ERK1/2,用50ng/mL的抗-DNP-IgE使细胞敏化一夜。在用PBS洗涤三次后,添加20ng/ml的DNP-HSA。用于蛋白质免疫印迹的各细胞裂解物在

经PLAG处理的RBL-2H3细胞中以剂量依赖性方式制备，并孵育相同时间(15分钟)。β-肌动蛋白用作内部对照。在IgE-抗原复合物刺激后，立即启动ERK1/2和p38磷酸化，并持续充分活化5分钟。然而，当在PLAG预孵育的RBL-2H3细胞中施加IgE-抗原复合物刺激时，ERK1/2和p38的磷酸化被向下调节。蛋白质免疫印迹显示，在经IgE-抗原复合物刺激的RBL-2H3细胞中，PLAG对p38 MAP激酶和ERK1/2(MEK1/2)的活化有抑制作用。

[0301] 实施例2-补体活化通路的体外抑制

[0302] 通过抑制C3的生成，实现了PLAG的调节补体活性的活性。C3的生成取决于STAT6的活性。因此，据推测，PLAG抑制STAT6的活性，从而抑制经由化疗而上调或活化的C3的生成。

[0303] 在经PLAG处理的细胞中STAT6的去磷酸化：在用浓度为0.01μg/ml至10μg/ml的PLAG处理的U937、A549和Jurkat细胞裂解物中，使用抗磷酸化的STAT6检验STAT6的去磷酸化。通过用10ng/ml IL-4进行处理，诱发STAT6的磷酸化。在用PLAG(0.01至10μg/ml)处理的U937细胞裂解物中检验STAT1的去磷酸化。通过10ng的IFN-γ处理，诱发STAT1的磷酸化。在经PLAG预处理的细胞中，分别用IFN-γ和IL-4刺激后，在15分钟时检验STAT1和STAT6的去磷酸化。蛋白质免疫印迹分析显示STAT6和STAT1的活性。STAT6的转录活性因STAT6的去磷酸化而减少。在淋巴瘤衍生的细胞系U937、T细胞衍生的Jurkat细胞和肺上皮细胞系A549中，IL-4处理诱发的STAT6磷酸化随着PLAG浓度增加而被抑制。未观察到PLAG对STAT1磷酸化的作用。

[0304] STAT6的活性：通过使用STAT6抑制剂(S6I)，证实在HepG2细胞(人肝细胞细胞系)中，补体3的减少被STAT6所调节。当用PLAG处理HepG2细胞时，如荧光素酶活性研究所证实的，STAT6的转录活性根据PLAG的量逐渐减少。还证实，PLAG对STAT6比对STAT1更具有选择性功效。图1呈现的图显示了在PLAG处理的HepG2细胞中STAT1和STAT6的转录活性。NC指未经刺激的对照细胞。对于STAT1检测，经基因转染的HepG2(人肝细胞细胞系)用10ng的IFN-γ进行处理，然后添加经系列稀释(如所示的0.01μg/ml、0.1μg/ml、1μg/ml和10μg/ml)的PLAG，以了解其在经刺激的细胞中对基因表达的作用。对于STAT6检测，基因转染的HepG2细胞用10ng的IL-4处理，然后再添加经系列稀释(如所示的0.01μg/ml、0.1μg/ml、1μg/ml和10μg/ml)的PLAG，以了解其在经刺激的细胞中对基因表达的作用。该检测在对经处理的细胞孵育12小时之后进行。在此检测中，PLAG不对STAT1表达产生作用，但对STAT6表达具有显著的剂量依赖性作用。

[0305] 在人HMC-1细胞中C3表达的体外抑制：关于补体依赖性机制在药物诱发的嗜中性粒细胞减少症中的角色以及嗜中性粒细胞在血管炎症和对败血症的应答中的角色所发表的报告建议，补体活化可能参与由化疗所诱发的血小板减少症和白细胞减少症。我们已发现PLAG可向下调节C3以减弱补体活化；经PLAG处理的人单核细胞(HMC-1)与经PLAG处理的肝细胞(HepG2)显示减少的C3的表达。

[0306] 在37℃和5％CO_2潮湿条件下，孵育血细胞系HMC-1(人肥大细胞，美国菌种保存中心，ATCC，Rockville，MD)并维持在此条件下。培养基为含有10％胎牛血清(FCS，HyClone，Logan，UT)、2mM L-谷氨酸盐、100μg/ml青霉素、100μg/ml链霉素(Life Technologies)的IMDM(Life Technologies，Karlsruhe，德国)。用0.1μg/mL和1μg/mL浓度的PLAG预处理所培养的HMC-1细胞(1x10^6个细胞/ml)，随后用IL-4(5ng)和/或TNF-α(10ng)处理以诱发细胞活性。

[0307] 通过使用RT-PCR(反转录酶聚合酶链式反应)观察表达的C3及其mRNA水平变化。如下述实施RT-PCR:通过标准实验流程分离总RNA,并使用AccuScript High Fidelity 1st Strand cDNA合成试剂盒(Stratagene)根据制造商的使用说明合成cDNA。使用寡-dT引物与反转录酶、引物对和Taq聚合酶(Takara,Shiga,Japan)进行两步RT-PCR反应。将合成的cDNA(1μl)连同0.5U ExTaq DNA聚合酶、1缓冲液和1mM dNTP混合物(Takara)及该引物对用于20μl PCR反应。PCR扩增使用GeneAmp PCR系统2700(Applied Biosystems,Foster city,CA,USA)在下述条件下进行;在94℃ 5分钟,接着在94℃ 45秒、在56℃ 45秒和在72℃ 1分钟共25至40个循环,并在72℃下进行最终延伸反应7分钟。用于cDNA扩增的PCR引物用Primer3程序设计,并购自Bioneer(Daejeon,KOREA)。使用1.5%琼脂糖凝胶分离PCR的产物、用溴化乙锭(EtBr)进行染色、并用Gel Doc 2000UV透照器(Bio-Rad Laboratories,Hercules,CA,USA)显现;以及使用Quantity One软件(Bio-Rad Laboratories)分析实验数据。蛋白质免疫印迹显示,用IL-4和TNF-α处理HMC-1细胞导致C3的表达,其被PLAG以浓度依赖性方式抑制,相当于用IL-4和TNF-α处理的细胞,随后用S6I处理(信号转导及转录激活因子6(STAT6)抑制剂,AS1517499,Axon Medchem,Netherlands)。STAT6抑制剂在细胞中经由IL-4阻断STAT6的信号转导,因而抑制C3的表达。这些数据表明PLAG可以以类似于STAT6抑制剂的方式运作。

[0308] 在HMC-1中C3被PLAG抑制:在单独实验中,以不同浓度(1μg/mL、10μg/mL和100μg/mL)的PLAG处理人肥大细胞(HMC-1,1x10^5细胞/ml)2小时。用含10%FBS(胎牛血清)的IMDM活化所述细胞72小时。通过所表达的蛋白质的ELISA分析确认C3的减少。如图2中所示,C3的减少与PLAG的浓度成正比(图中PLAG称为EC,单位是μg/ml)。

[0309] 从HepG2细胞系中的C3排出:在37℃和5%CO_2潮湿氛围中,在DMEM培养基中孵育并维持肝细胞系HepG2(美国菌种保存中心,ATCC,Rockville,MD)。用PLAG处理已知在培养中产生补体的HepG2细胞时,如mRNA的RT-PCR所证实,补体的活性被有效地降低。在该RT-PCR中,将5x10^5个HepG2细胞/ml分配至12孔板中,用10%FCS诱发C3 12小时。接着添加PLAG,并进一步培养2小时。收集细胞,分离mRNA,并用C3的特定引物进行RT-PCR;GAPDH用作内部对照。该RT-PCR显示,PLAG在1微克/ml时稍微抑制C3表达,而在10微克/ml时则完全抑制C3表达,相当于用10微克/ml和100微克/ml S6I获得的结果。

[0310] 用PLAG(1至100μg/ml)处理孵育的HepG2细胞系,随后用IL-4和TNF-α反应1小时,在37℃下孵育18小时,分离上清液。使用市售可得的单克隆抗体(mAb,R&D Systems)及厂商的实验流程,通过ELISA对来自HepG2细胞的细胞培养基(上清液)中的C3的量进行定量;其结果呈现于图3中。在使用10%FCS添加至HepG2细胞孵育12小时的体外培养条件下,C3自发地表达。所述细胞用1μg/mL至100μg/ml的不同剂量的PLAG(图A、图B)或10μg/mL和100μg/ml的S6I(图C)处理,用IL-4和TNF-α反应1小时,然后在37℃孵育18小时。使用WST-1检测确认细胞存活率(图A)。此检测显示了通过经由细胞的线粒体中的脱氧酶由四唑鎓盐(WST-1)形成荧光物质甲臜(formazan)而测量的细胞存活率。图3A确认PLAG不影响细胞增殖和死亡。图3B显示C3的表达经由给予PLAG而呈剂量依赖性减少,图3C显示通过给予S6I得到类似的结果。

[0311] 实施例3-在小鼠体内PLAG对嗜中性粒细胞减少症、血小板减少症和补体活化的体内作用

[0312] 体内脾脏检测中的集落形成单位(CFU):为了测定PLAG对恢复造血作用的体内作用,在重度照射的小鼠中进行CFU检测。用PLAG以50mg/kg/d的剂量i.p.或p.o.处理的小鼠的脾脏的显微镜检查显现在所有经处理的动物中,脾小结的数量和原始的祖细胞及巨核细胞的数量显著增加。

[0313] 小鼠中的体内功效研究:在动物模型中评估PLAG对治疗由化疗诱发的(CIN)嗜中性粒细胞减少症和血小板减少症的作用。每天给予抗癌剂(吉西他滨50mg/kg、环磷酰胺100mg/、或他莫西芬50mg/kg),为时3周;每天还给予PLAG 50mg/kg,为时3周。3周后,收集嗜中性粒细胞,并用自动血液分析仪BC-5300进行计数。如图4中所示,用PLAG的处理阻止了化疗后减少的嗜中性粒细胞计数。相较于用PLAG共同处理的组(其显示了活性和存活率的更快速的改善),只用他莫西芬处理的小鼠显示急遽的减重、脱水、和丧失退避活性(loss of activity to retreat)。在用PLAG和吉西他滨处理的小鼠组中,嗜中性粒细胞得分显著改善。相较于吉西他滨单独处理的组,在接受PLAG的共同给药的动物中,尽管吉西他滨最初减少了嗜中性粒细胞计数,但嗜中性粒细胞计数恢复至正常并维持在正常水平,且PLAG的持续给药导致存活率的改善。在用PLAG和环磷酰胺处理的小鼠组中,相较于对照组,嗜中性粒细胞计数也显著改善。

[0314] 关于血小板计数的数据描述于图5中,显示PLAG为血小板提供了对抗吉西他滨50mg/kg、环磷酰胺100mg/、或他莫西芬50mg/kg的类似的保护作用。

[0315] 认为这些药剂和其他化疗剂的嗜中性粒细胞减少症和血小板减少症可能至少部分由于特定的补体介导的毒性。由图6可看出。所有这些药剂显著地活化补体3,此活性大部分被PLAG阻断。

[0316] 实施例4-小鼠中对血小板减少症的体内保护

[0317] 为了评估PLAG对血小板浓度的作用,用预期能引起血小板数量减少的化合物处理小鼠,具体而言该化合物为苯肼、他莫西芬或脂多糖。

[0318] 用100mg/kg苯肼(PHZ)i.p.注射小鼠腹腔以诱发贫血和血小板的减少。向小鼠口服给予5mg/kg PLAG,并随后在3天和13天时采集血样。此外,为了比较,制备未用苯肼处理的正常小鼠作为正常组,制备用PHZ和代替PLAG的橄榄油处理的小鼠作为对照组。用0.5ml EDTA处理从小鼠中采集的血样(微量采血管(Minicollect tube),Greiner bio-one,Austria),并使用自动化血液样本分析仪BC-6800(Mindray,Shenzhen,China)以每毫升血小板的数量计(k:1,000)来测量血小板的浓度。结果显示于表1中。

[0319] 表1

[0320]

	正常组	PHZ+油处理的对照组(第 3 天)	PHZ+PLAG 处理的组(第 3 天)
血小板浓度(k/ul)(第 3 天)	964.4±57.4	851±44.5	1072±125.4
血小板浓度(k/ul)(第 13 天)	1002.4±36.8	1051±55.4	1188.8±115.6

[0321] 使用以100mg/kg的量注射的抗癌剂他莫西芬(Tam)或1mg/kg的量的炎症诱发剂脂

多糖(LPS)以诱发血小板减少,重复该实验。在PLAG处理后15小时,测量血小板浓度。为了比较,对于他莫西芬和脂多糖实验,分别使用橄榄油和PBS代替PLAG作为对照。结果示于表2和表3中。

[0322] 表2

[0323]

	正常组	Tam + 油处理的对照组(15 小时后)	Tam+PLAG(5mg/kg)处理的组(15 小时后)
血小板浓度 (k/ul)	1015.7±33.5	459±171.1	780.7±195.9

[0324] 表3

[0325]

	正常组	LPS + PBS	LPS + PLAG (1 mg/kg)	LPS + PLAG (2 mg/kg)
血小板浓度 (k/ul)	1005.50±140.7	423.33±55.2	450.00±101.8	553.33±42.0

[0326] 正常血小板浓度为400k/μl至1600k/μl,可依据环境而改变。表1至3显示,当给予这些化合物人工诱发贫血时,血液中的血小板浓度降低;向这些患者给予PLAG时,血小板浓度恢复。

[0327] 实施例5-在小鼠中相对于其他白细胞PLAG对嗜中性粒细胞水平的作用

[0328] 嗜中性粒细胞与淋巴细胞:为了观察Balb/C小鼠的血液中嗜中性粒细胞与淋巴细胞的比例,向小鼠i.p.注射1mg/kg脂多糖(LPS)以诱发炎症。向小鼠口服给予5mg/kg PLAG,并随后在第3天及第13天采集血液样本。此外,为了比较,未用PLAG处理的正常小鼠接受PBS(磷酸盐缓冲的盐水)和橄榄油。用0.5ml EDTA瓶(微量采血管,Greiner bio-one,Austria)处理从小鼠中采集的血液样本,并使用自动化血液样本分析仪BC-6800(Mindray,Shenzhen,China)测量以总白细胞的百分比表示的嗜中性粒细胞(NEU)和淋巴细胞(LYM)的水平。如表4中所示,对LPS的反应,嗜中性粒细胞的相对水平增加;对LPS+PLAG的反应甚至增加更多。

[0329] 表4

[0330]

	正常组	LPS + PBS 处理的对照组	LPS + 油 处理的对照组	LPS + PLAG 处理的组
嗜中性粒细胞的比例(%)	16.4±0.1	36.9±10.3	36.2±3.2	53.2±6.3
淋巴细胞的比例(%)	79.7±1.9	50.9±15.5	49.7±2.2	34.6±7.0

[0331] 单核细胞:除了使用C57BL/6小鼠代替Balb/C小鼠外,以与实施例6相同的方式处理小鼠,测量单核细胞(Mono)对总白细胞的比例,结果示于表5中。

[0332] 表5

[0333]

	正常组	LPS + PBS 处理的对照组	LPS + 油处理的对照组	LPS + PLAG 处理的组
单核细胞的比例(%)	1.9±0.2	2.0±2.4	1.6±0.8	18.4±6.6

[0334] 经他莫西芬和PLAG的处理后,嗜中性粒细胞、淋巴细胞和嗜酸性粒细胞的比例:使用100mg/kg的抗癌剂他莫西芬(Tam)以诱发嗜中性粒细胞的减少,随后用5mg/kg PLAG进行处理,然后如在先前的实验中,在15小时后测量嗜中性粒细胞(NEU)、淋巴细胞(LYM)、和嗜酸性粒细胞(EOS)的比例。结果显示于表6中。

[0335] 表6

[0336]

	正常组	Tam + 油处理的对照组	Tam + PLAG 处理的组
嗜中性粒细胞的比例(%)	39.9±7.4	25.1±8.0	35.2±2.4
嗜酸性粒细胞的比例(%)	3.9±1.3	6.4±4.0	15.1±0.3
淋巴细胞的比例(%)	49.6±7.3	66.4±8.8	45.7±4.1

[0337] 即使各种白细胞的浓度可根据个体状况而改变,但在本实验中,在白细胞中嗜中性粒细胞比例的正常范围为7-50%,以及淋巴细胞比例为42-92%。如在表4和表5中所见,用LPS和PLAG处理时,嗜中性粒细胞和单核细胞比例显著增加,而淋巴细胞比例减少。表6显示,PLAG针对他莫西芬挑战,普遍维持了正常比例的嗜中性粒细胞、淋巴细胞和嗜酸性粒细胞。

[0338] 实施例6-PLAG对减少嗜中性粒细胞迁移的作用

[0339] 在PLAG存在或不存在下,用细菌脂多糖(LPS)注射小鼠以引起炎性反应:

[0340] 表7

[0341]

	对照组	只有 LPS	LPS + PLAG
血液中的嗜中性粒细胞计数(k/μl)	1.12	1.25	3.41
淋巴中的嗜中性粒细胞计数(k/μl)	1.44	3.24	1.48

[0342] 虽然PLAG提高血液中的嗜中性粒细胞水平,但其抑制迁移至淋巴结。

[0343] 实施例7-在小鼠模型中PLAG与G-CSF组合的功效

[0344] 小鼠接受环磷酰胺(100mpk,i.p.)以及有或无G-CSF(0.25mpk,i.p.)或G-CSF(0.25mpk,i.p.)加PLAG(25mpk,p.o.),为期10天:

[0345] 表7

[0346]

	只有环磷酰胺	G-CSF	G-CSF+PLAG
白细胞(WBC)(k/μl)	3.34	5.37	8.68
嗜中性粒细胞(k/μl)	2.39	4.36	7.45

[0347] 在此实验中G-CSF的剂量为有效剂量,并且,无关乎剂量,关于G-CSF的作用存在上限,以及存在由于副作用的高水平(upper level)。在此实验中,PLAG比单独的G-CSF提供了超过60%WBC及超过70%嗜中性粒细胞的增加。PLAG加G-CSF因而提供了比单独使用G-CSF可达到的更大的益处,此为令人惊异且重要的新的技术效果。添加PLAG至G-CSF可使白细胞和嗜中性粒细胞的水平达到未经处理的小鼠的水平,为环磷酰胺诱发的嗜中性粒细胞减少症提供基本上完全的保护。

[0348] 实施例8-临床研究:PLAG对补体3的活性

[0349] 临床研究由27位健康患者于韩国关东大学(Gwandong University)明知医院(MyungJi Hospital)临床研究中心进行以研究PLAG的免疫调节作用。在合法的临床许可下,志愿者以口服给药方式(每天500mg PLAG)进行体内测试30天。使用C3检测试剂盒计算补体3。分析结果显示于图7中,并且经PLAG给药的健康个体的免疫活性变化显示于表8中(经4周介入后,PLAG补充对外周血液的免疫功能的影响)。如图7和表8所示,消费PLAG达一个月的大多数个体(27位患者中的26位个体)显示减少的补体3(C3),而用大豆油处理的对照组则显示C3的增加和减少两者。在PLAG给药后,血液中C3的平均浓度显示约10mg/dL的减少,p值<0.001。

[0350] 表8

[0351]

	对照组(n=22)			PLAG (n=27)		
	前	后	p 值	前	后	p 值
C3, mg/dl	102.6±22.5	97.5±13.4	0.131	109.5±13.0	99.7±12.4	<0.001
C4, mg/dl	19.6±5.7	19.6±5.5	0.927	21.6±6.6	20.8±5.6	0.187

[0352] 实施例9-先导性研究:在接受化疗的患者中PLAG对血小板减少症和嗜中性粒细胞减少症的活性

[0353] 将PLAG给予16位化疗后的胰腺癌患者。此研究的个体为ECOG(美国东岸癌症临床研究合作组织)体能状态“0”或“1”的不宜动手术的胰腺癌患者,亦即身体状况良好、不很疼痛、可享受几乎正常生活方式的患者,因此适于抗癌治疗至少2个月。该胰腺癌患者是肿瘤转移至胰脏周围的主要血管的“局部晚期”患者或远处转移至肝脏、肺脏、骨骼等的“远处转移”患者。ECOG体能状态“0”指无症状、充分活跃、能无疼痛及正常生活方式无问题且能无限制地进行所有疾病前活动(predisease activities)的患者;“1”则指有症状但有轻度疼痛及正常生活稍有问题的能完全地走动的患者。抗癌(吉西他滨与厄洛替尼(Erlotinib)组合治疗)治疗方案如下:一周一次注射1,000mg吉西他滨,为时3周(第1天、第8天、第15天),并在下一周不注射(第22天)。因此,1个循环的抗癌治疗需要1个月。每天口服给予100mg厄洛替尼(特罗凯(Tarceva)),每天一次。从抗癌治疗前3天开始直到最后的化疗治疗,每天一次

还口服给予1,000mg PLAG。PLAG治疗组与对照组皆完成2个循环的抗癌治疗。对照组与PLAG治疗组之间在抗癌治疗的量或进度无差异。

[0354] 对血小板的作用:在PLAG治疗组中,没有患者由于血小板数量减少至低于50,000/μl而需要推迟抗癌治疗或需要调整剂量。在PLAG治疗组中,也没有患者的血小板数量下降至在临床上意味着高出血风险的低于25,000/μl。在PLAG治疗组的16位患者中,7位患者(43.8%)的血小板计数具有>50%减少,4位患者(25%)具有>60%减少,无患者具有>70%减少。

[0355] 在对照组中,接受抗癌治疗的患者中有5位患者(15.6%)具出血高风险,血小板数量<50,000,这意味着需要推迟抗癌治疗或需要调整剂量,1位患者(3.1%)血小板减少至<25,000/μl,呈现严重的危急性内出血风险。24位患者(75%)血小板减少超过50%,14位患者(43.8%)血小板减少超过60%,6位患者(18.8%)血小板减少超过70%,以及4位患者(12.5%)血小板减少超过75%(见图8)。

[0356] 对嗜中性粒细胞的作用:在PLAG治疗组中,6位患者(37.5%)嗜中性粒细胞(嗜中性粒细胞绝对计数:ANC)减少至低于1,500/μl;3位患者(18.8%)嗜中性粒细胞减少至低于1,000/μl;没有患者减少至低于500/μl;6位患者(37.5%)嗜中性粒细胞数量减少至小于50%;3位患者(18.8%)嗜中性粒细胞数量减少至小于60%;没有患者嗜中性粒细胞数量减少至小于75%。

[0357] 在对照组中,26位患者(81.3%)嗜中性粒细胞减少至低于1,500/μl;13位患者(40.6%)嗜中性粒细胞减少至低于1,000/μl;2位患者(6.3%)嗜中性粒细胞减少至低于500,因此必须停止对患者的抗癌治疗;29位患者(90.6%)嗜中性粒细胞减少超过50%;21位患者(65.6%)嗜中性粒细胞减少超过60%;以及12位患者(37.5%)嗜中性粒细胞减少超过75%(见图9)。在对照组中,发现26位患者(81.3%)在抗癌治疗期间具有高度感染的风险,嗜中性粒细胞数量低于1,500,但在PLAG治疗组中,仅发现6位患者(37.5%)具有高度感染的风险,嗜中性粒细胞数量低于1,500,因此证实PLAG的有效性。再者,尽管在对照组中抗癌治疗导致12位患者(37.5%)的嗜中性粒细胞具有75%减少,但在PLAG治疗组中没有一个患者的嗜中性粒细胞具有75%减少。

[0358] 此先导性试验在治疗组与对照组之间具有p值<0.05的统计学意义。该结果显示,在两个组中化疗均降低嗜中性粒细胞和血小板的水平,但在PLAG组中则明显降低地更少。PLAG组中的患者不仅处于更低的患有血小板减少症和嗜中性粒细胞减少症的风险,而且他们因此能更好地完成他们的化疗,这意味着预期他们具有更好的从癌症中存活下来的机会。因此,结果显示,PLAG对于接受化疗的癌症患者的血小板减少症和白细胞减少症的治疗与管理非常有效。

[0359] 实施例10-单位剂量制剂

[0360] 制备含有(i)PLAG和(ii)α-生育酚的用于本文所述方法的示例性软明胶胶囊,其具有如下组成:

[0361] 表9 PLAG软明胶胶囊的组成

[0362]

组分	功能	单位配方
PLAG	活性成分	500.0mg
α-生育酚	抗氧化剂	1.0mg

[0363] 表10软胶囊壳的组成

[0364]

成分	功能
明胶	胶囊壳
浓甘油	增塑剂
对羟基苯甲酸甲酯	防腐剂
对羟基苯甲酸丙酯	防腐剂
乙基香草醛	调味剂
二氧化钛	着色剂
焦油色、MFDS公告蓝色1号(MFDS notified Blue No.1)	着色剂
焦油色、MFDS公告红色40号	着色剂
焦油色、MFDS公告黄色203号	着色剂
纯化水	载体

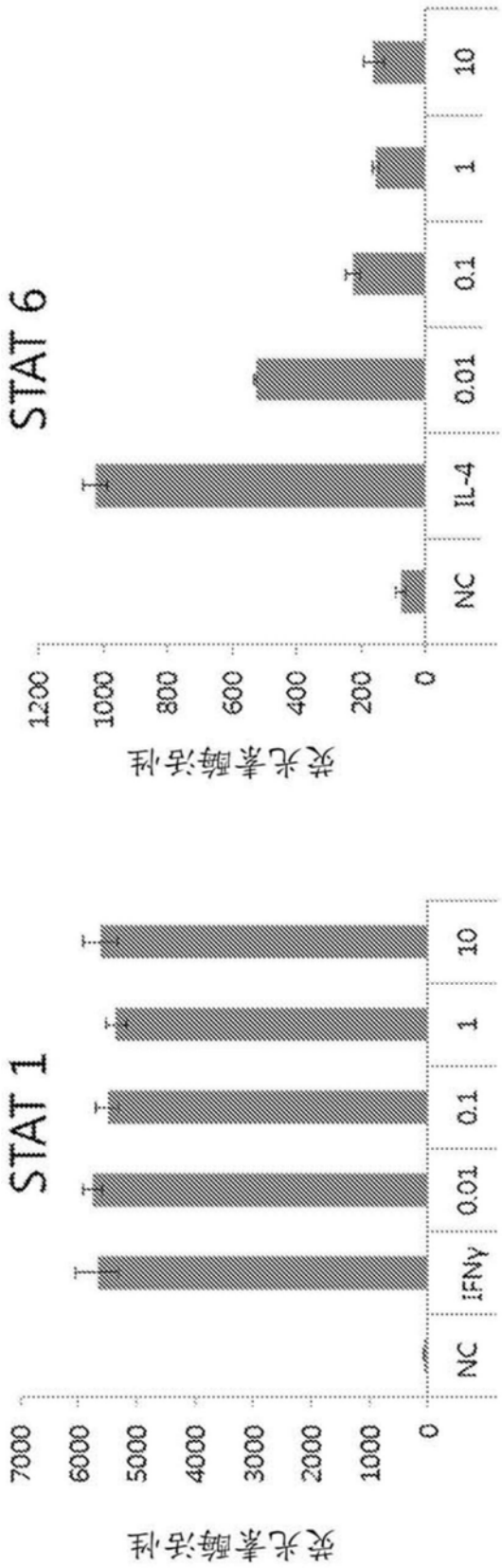

STAT 6
荧光素酶活性
1200
1000
800
600
400
200
0
NC
IL-4
0.01
0.1
1
10
STAT 1
荧光素酶活性
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
NC
IFNγ
0.01
0.1
1
10

图1

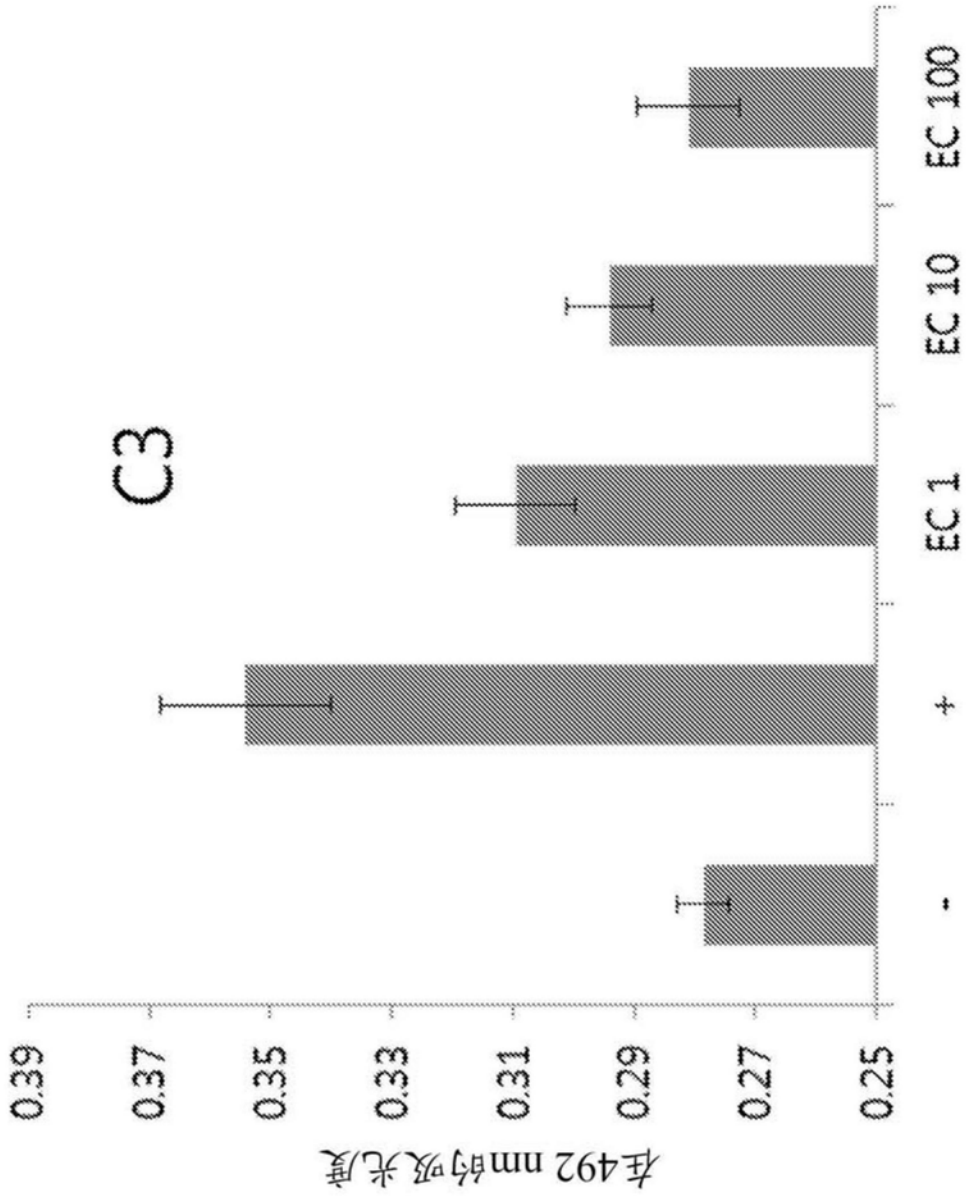


图2

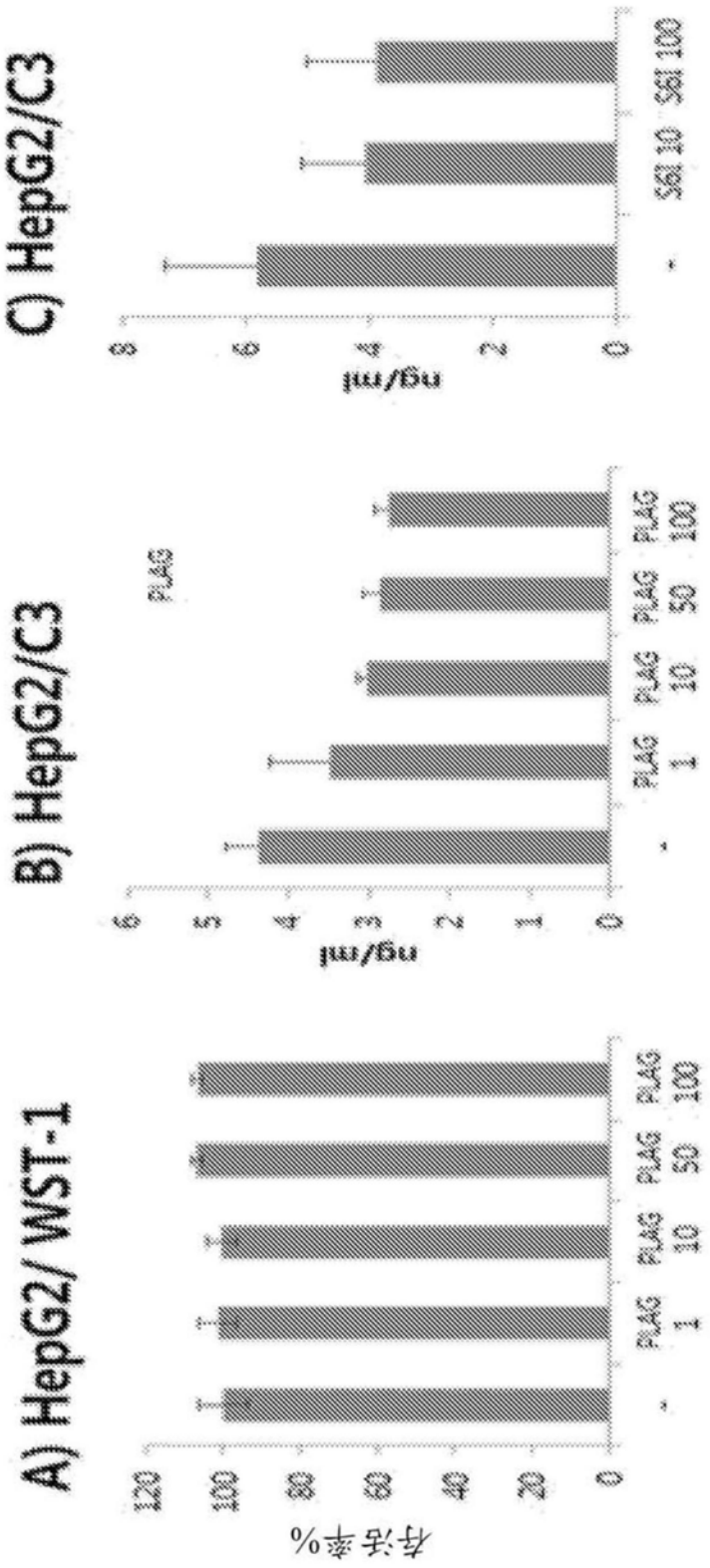

C) HepG2/C3
ng/ml
0
2
4
6
8
-
S6I 10
S6I 100
B) HepG2/C3
ng/ml
0
1
2
3
4
5
6
-
PLAG 1
PLAG 10
PLAG 50
PLAG 100
PLAG
A) HepG2/ WST-1
存活率%
0
20
40
60
80
100
120
-
PLAG 1
PLAG 10
PLAG 50
PLAG 100

图3

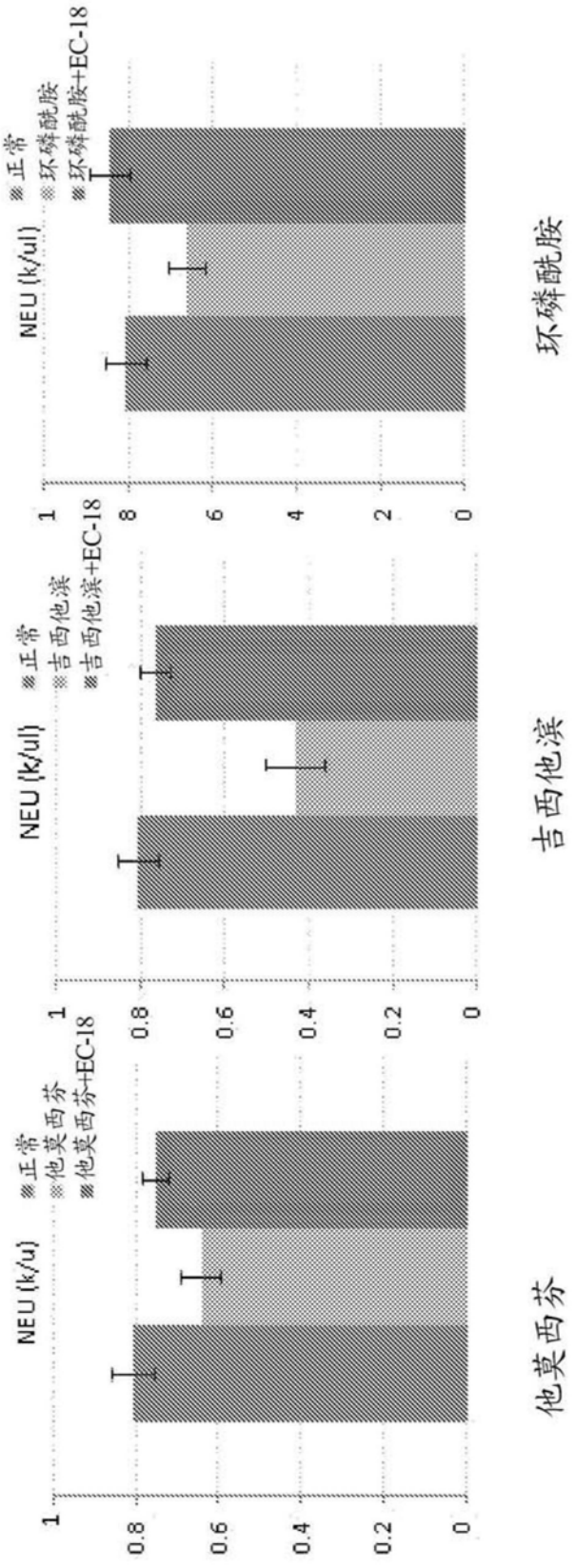

NEU (k/ul)
正常
他莫西芬
他莫西芬+EC-18
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
他莫西芬
NEU (k/ul)
正常
吉西他滨
吉西他滨+EC-18
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
吉西他滨
NEU (k/ul)
正常
环磷酰胺
环磷酰胺+EC-18
1
8
6
4
2
0
环磷酰胺

图4

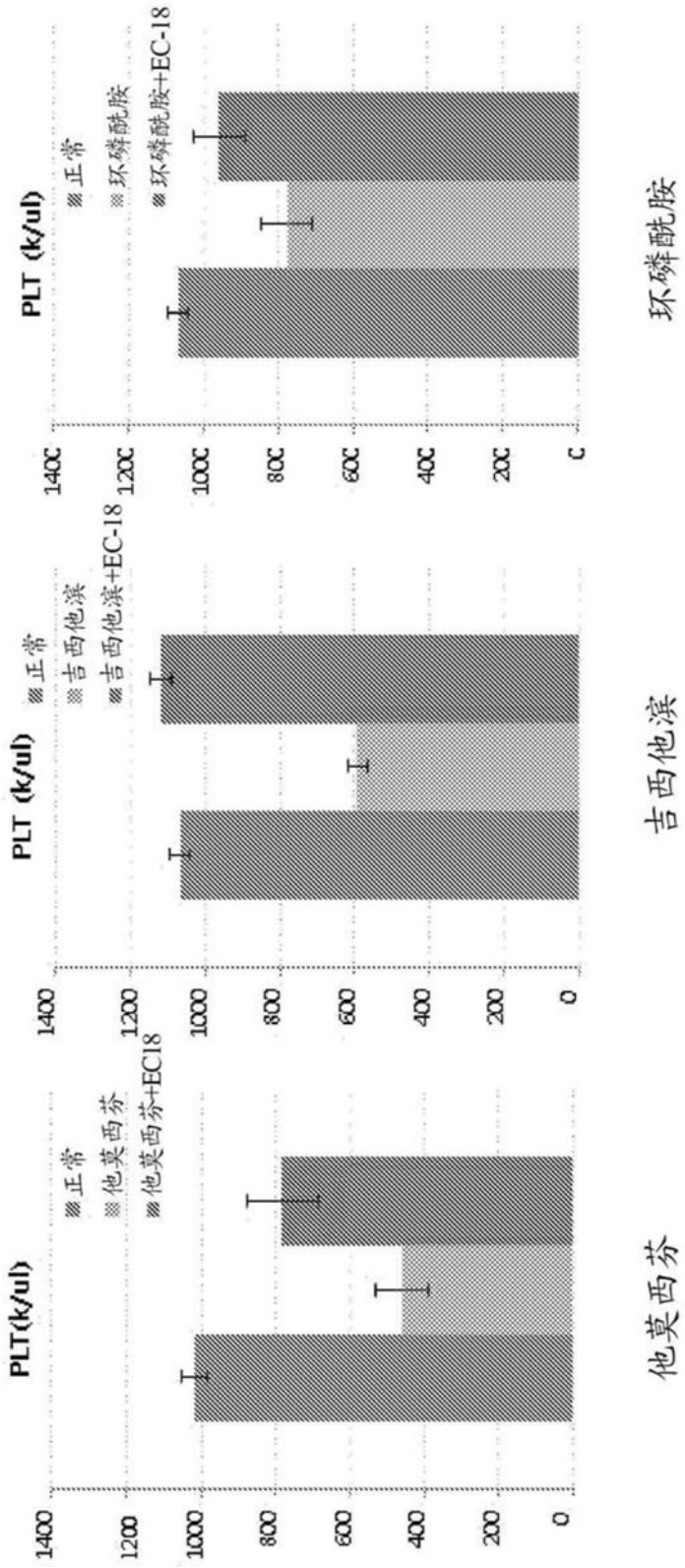

PLT(k/ul)
正常
他莫西芬
他莫西芬+EC18
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
他莫西芬
PLT (k/ul)
正常
吉西他滨
吉西他滨+EC-18
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
吉西他滨
PLT (k/ul)
正常
环磷酰胺
环磷酰胺+EC-18
140C
120C
100C
80C
60C
40C
20C
C
环磷酰胺

图5

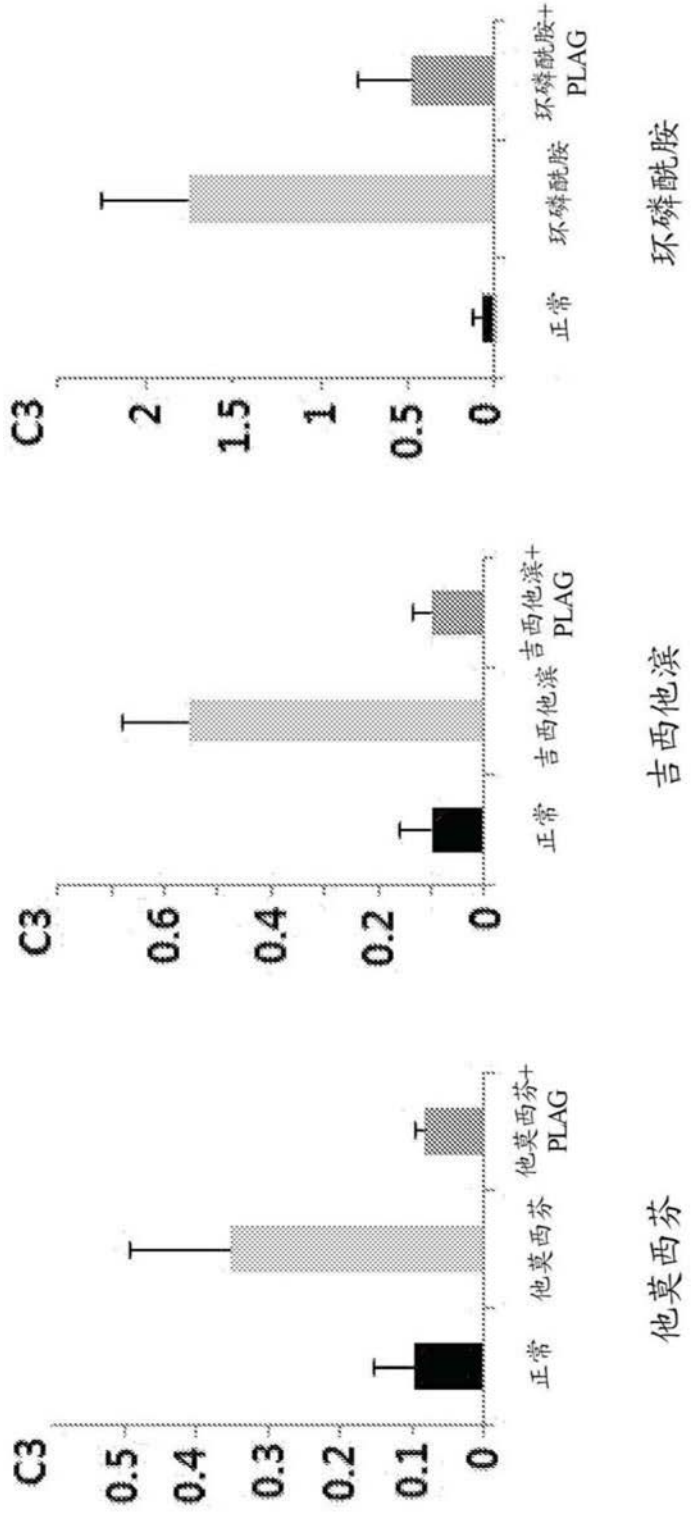

C3
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
正常
他莫西芬
他莫西芬+PLAG
他莫西芬
C3
0.6
0.4
0.2
0
正常
吉西他滨
吉西他滨+PLAG
吉西他滨
C3
2
1.5
1
0.5
0
正常
环磷酰胺
环磷酰胺+PLAG
环磷酰胺

图6

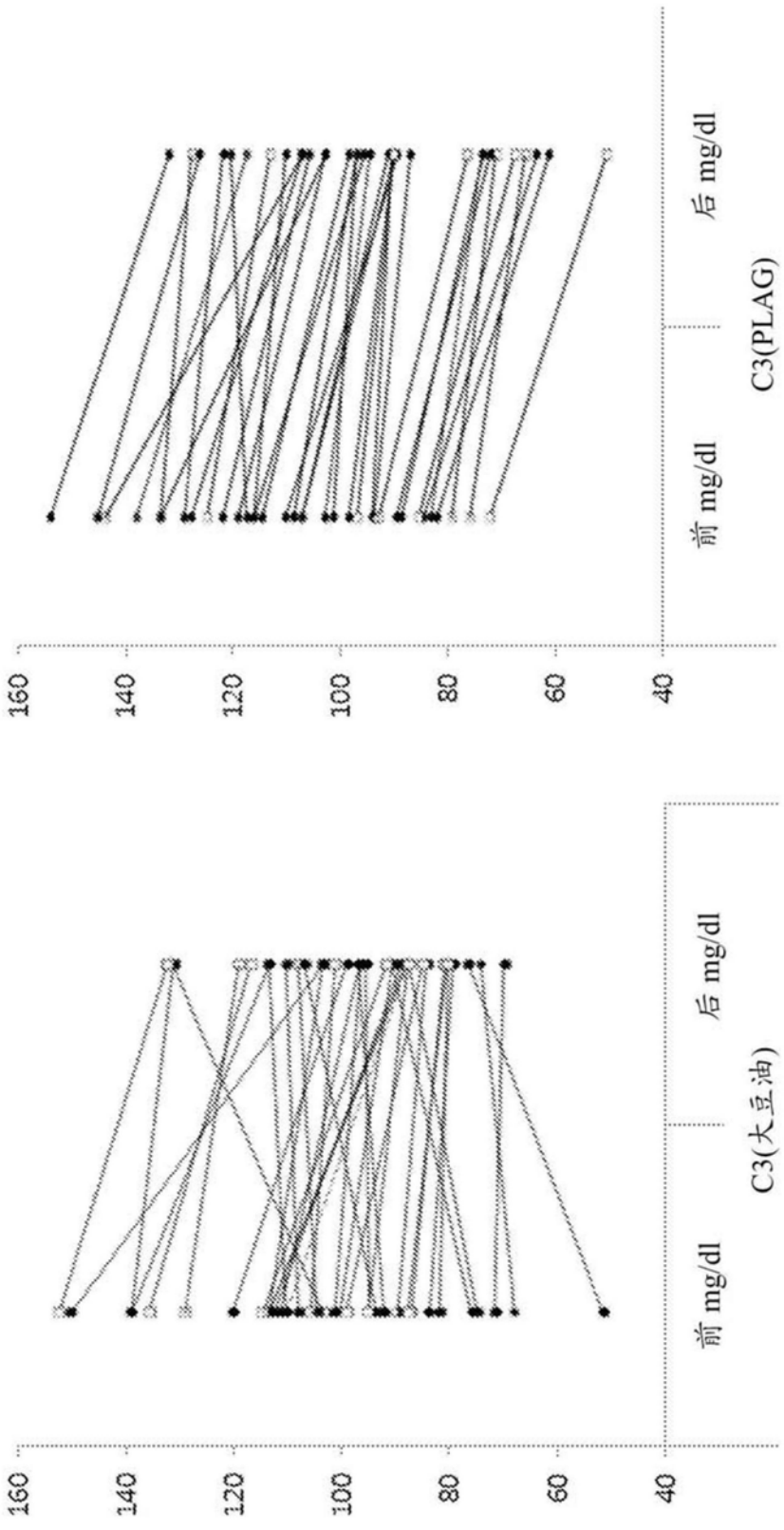

160
140
120
100
80
60
40
前 mg/dl
后 mg/dl
C3(PLAG)
160
140
120
100
80
60
40
前 mg/dl
后 mg/dl
C3(大豆油)

图7

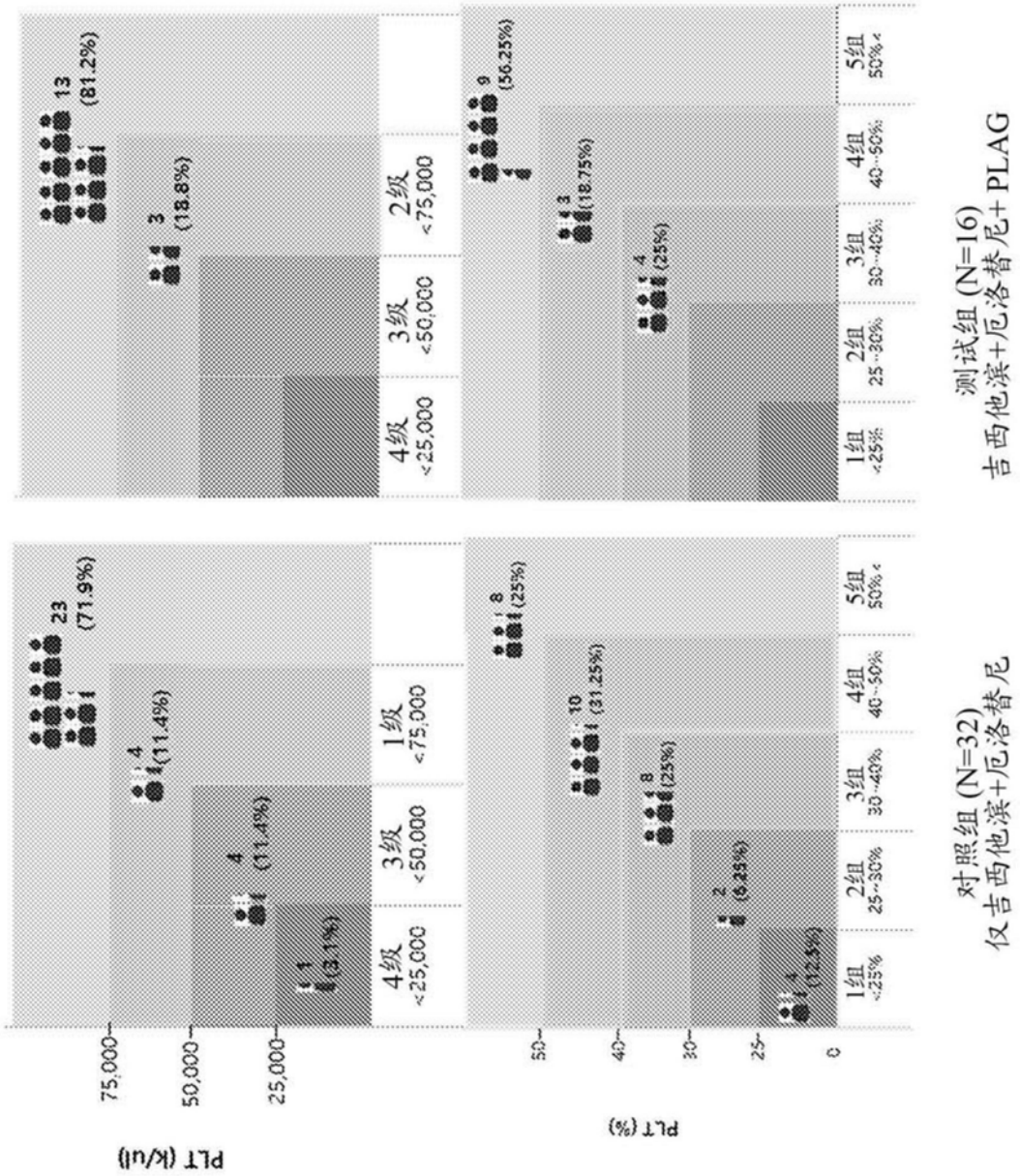

PLT (k/ul)
75,000
50,000
25,000
4级 <25,000
3级 <50,000
2级 <75,000
1级 <75,000
23 (71.9%)
4 (11.4%)
4 (11.4%)
1 (3.1%)
对照组 (N=32)
仅吉西他滨+厄洛替尼
PLT (%)
50
40
30
25
0
1组 <25%
2组 25~30%
3组 30~40%
4组 40~50%
5组 50%<
4 (12.5%)
2 (6.25%)
8 (25%)
10 (31.25%)
8 (25%)
测试组 (N=16)
吉西他滨+厄洛替尼+ PLAG
13 (81.2%)
3 (18.8%)
9 (56.25%)
3 (18.75%)
4 (25%)

图8

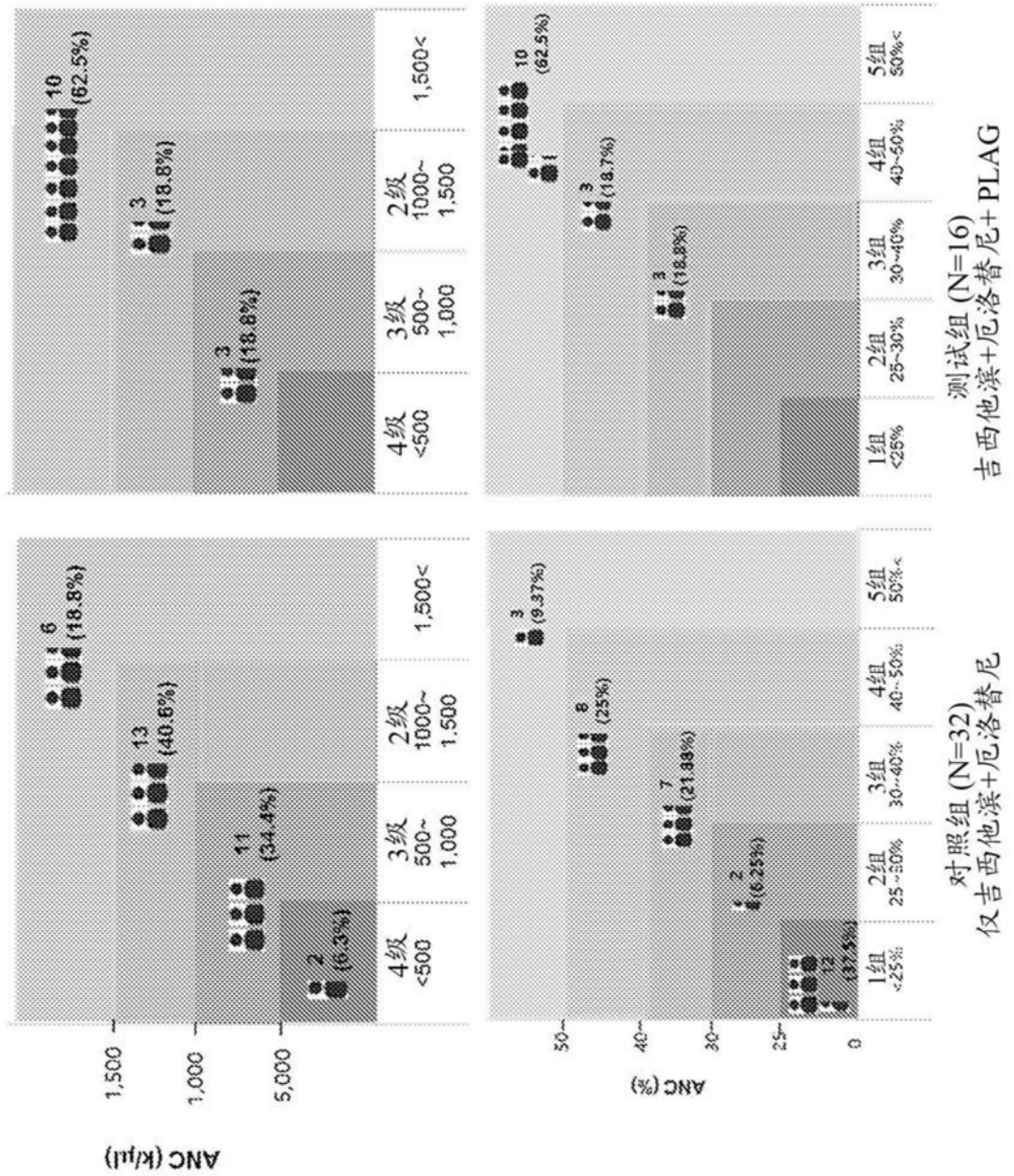

ANC (k/μl)
1,500
1,000
500
0
4级 <500
3级 500~1,000
2级 1000~1,500
1,500<
10 (62.5%)
3 (18.8%)
3 (18.8%)
2 (6.3%)
11 (34.4%)
13 (40.6%)
6 (18.8%)
测试组 (N=16)
吉西他滨+厄洛替尼+ PLAG
ANC (%)
50
40
30
25
0
1组 <25%
2组 25~30%
3组 30~40%
4组 40~50%
5组 50%<
10 (62.5%)
3 (18.7%)
3 (18.8%)
1 (6.3%)
对照组 (N=32)
仅吉西他滨+厄洛替尼
3 (9.37%)
8 (25%)
7 (21.88%)
2 (6.25%)
12 (37.5%)

图9