[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A01N 43/04 (2006.01)
A61K 31/715 (2006.01)
A61K 31/70 (2006.01)

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200480030017.6

[43] 公开日 2006 年 11 月 22 日

[11] 公开号 CN 1867252A

[22] 申请日 2004.9.7
[21] 申请号 200480030017.6
[30] 优先权
[32] 2003. 9. 8 [33] US [31] 10/657,508
[86] 国际申请 PCT/US2004/028883 2004.9.7
[87] 国际公布 WO2005/025501 英 2005.3.24
[85] 进入国家阶段日期 2006.4.13
[71] 申请人 普罗医药公司
地址 美国马萨诸塞
[72] 发明人 E·佐默 D·普拉特
[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所
代理人 李 瑛

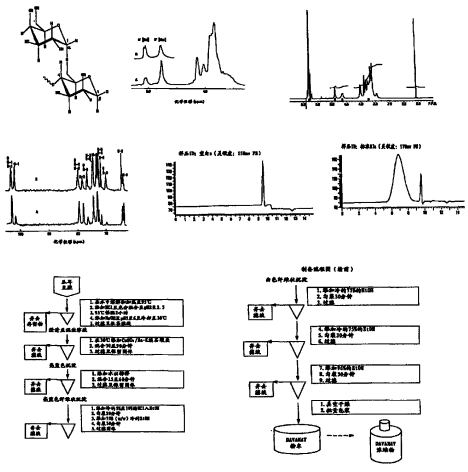
权利要求书 3 页 说明书 38 页 附图 12 页

[54] 发明名称

多糖与用于癌症治疗的化疗剂的共同给药

[57] 摘要

此处公开了用于治疗疾病例如癌症的组合物和方法。 组合物包括一种或多种多糖和一种或多种治疗剂的混合物。 该混合物可以任何已知的给药方法给药于需要其的患者。 该治疗剂，如果单独给药，会在患者中产生不良的副作用。 多糖组分最小化或消除了这些副作用。 此处所述的组合物以提高的治疗效果和降低的毒性而起作用。



1.一种组合物，包含一种或多种多糖和一种或多种治疗剂，其中所述组合物增强治疗功效并且降低与所述治疗相关的毒性。

2.权利要求 1 的组合物，其中所述多糖为支链的或直链的。

3.权利要求 1 的组合物，其中所述多糖选自半乳甘露聚糖、阿拉伯半乳聚糖、鼠李糖半乳糖醛酸聚糖和其组合。

4.权利要求 3 的组合物，其中所述半乳甘露聚糖为β-1，4-D-半乳甘露聚糖。

5.权利要求 3 的组合物，其中所述半乳甘露聚糖为（（（1，4）-连接的β-D-吡喃甘露糖）$_{17}$-（（1，6）-连接的-β-D-吡喃半乳糖）$_{10}$）$_{12}$）。

6.权利要求 5 的组合物，其中所述的（（（1，4）-连接的β-D-吡喃甘露糖）$_{17}$-（（1，6）-连接的-β-D-吡喃半乳糖）$_{10}$）$_{12}$）具有约 2，000Da 至 600，000Da 范围的分子量。

7.权利要求 5 的组合物，其中所述的（（（1，4）-连接的β-D-吡喃甘露糖）$_{17}$-（（1，6）-连接的-β-D-吡喃半乳糖）$_{10}$）$_{12}$）具有约 50，000Da 至 415，000Da 范围的分子量。

8.权利要求 5 的组合物，其中所述的（（（1，4）-连接的β-D-吡喃甘露糖）$_{17}$-（（1，6）-连接的-β-D-吡喃半乳糖）$_{10}$）$_{12}$）具有约 4000Da 至 60，000Da 范围的分子量。

9.权利要求 1 的组合物，其中所述治疗剂选自 5-FU、5-FUdR、氨甲蝶呤、ara-C、6-巯基嘌呤、6-硫代鸟嘌呤、羟基脲、长春花碱、长春新碱、去乙酰长春酰胺、二氯甲二乙胺、苯丙氨酸氮芥、苯丁酸氮芥、氮丙啶、甲基三聚氰胺、烷基磺酸盐、亚硝脲氮芥、环己亚硝脲、链脲霉素、顺氯氨铂、氮烯唑胺、普鲁苄肼、阿霉素、放线菌素、丝裂霉素 C、plycamycin、环磷酰胺、苯丙氨酸氮芥、三胺硫膦、白血福恩、脱氢可的松、氢化强的松、氟羟脱氢皮醇、紫杉醇和其组合。

10.权利要求 9 的组合物，其中所述治疗剂选自 5-FU、5-FUdR、

顺氯氨铂和其组合。

11.权利要求 10 的组合物，其中所述治疗剂为 5-FU。

12.权利要求 1 的组合物，进一步包括亚叶酸。

13.用于癌症治疗的方法，包括将有效量的在药学可接受载体中具有（（（1，4）-连接的β-D-吡喃甘露糖）$_{17}$-（（1，6）-连接的-β-D-吡喃半乳糖）$_{10}$）$_{12}$）和一种化疗剂的混合物给予需要其的患者。

14.权利要求 13 的方法，其中所述化疗剂选自 5-FU、5-FUdR、氨甲蝶呤、ara-C、6-巯基嘌呤、6-硫代鸟嘌呤、羟基脲、长春花碱、长春新碱、去乙酰长春酰胺、二氯甲二乙胺、苯丙氨酸氮芥、苯丁酸氮芥、氮丙啶、甲基三聚氰胺、烷基磺酸盐、亚硝脲氮芥、环己亚硝脲、链脲霉素、顺氯氨铂、氮烯唑胺、普鲁苄肼、阿霉素、放线菌素、丝裂霉素 C、plycamycin、环磷酰胺、苯丙氨酸氮芥、三胺硫膦、白血福恩、脱氢可的松、氢化强的松、氟羟脱氢皮醇、紫杉醇和其组合。

15.权利要求 13 的方法，其中所述化疗剂选自 5-FU、5-FUdR、顺氯氨铂和其组合。

16.权利要求 13 的方法，其中所述化疗剂为 5-FU。

17.权利要求 13 的方法，进一步包括亚叶酸。

18.权利要求 13 的方法，其中所述癌症选自慢性白血病、乳癌、肉瘤、卵巢癌、直肠癌、咽喉癌、黑色素瘤、结肠癌、膀胱癌、肺癌、乳腺癌、胃肠癌、胃癌、前列腺癌、胰腺癌和卡波西肉瘤。

19.权利要求 13 的方法，其中所述混合物具有以适于降低所述患者所经受毒性的比例的一定量的所述（（（1，4）-连接的β-D-吡喃甘露糖）$_{17}$-（（1，6）-连接的-β-D-吡喃半乳糖）$_{10}$）$_{12}$）和一定量的所述化疗剂。

20.权利要求 13 的方法，其中所述混合物具有以适于增强所述化疗剂治疗功效的比例的一定量的所述（（（1，4）-连接的β-D-吡喃甘露糖）$_{17}$-（（1，6）-连接的β-D-吡喃半乳糖）$_{10}$）$_{12}$）和一定量的所述化疗剂。

21.权利要求 13 的方法，其中所述混合物具有以适于降低所述患

者所经受毒性和增强所述化疗剂治疗功效的比例的一定量的所述（（（1，4）-连接的β-D-吡喃甘露糖）$_{17}$-（（1，6）-连接的β-D-吡喃半乳糖）$_{10}$）$_{12}$）和一定量的所述化疗剂。

22.权利要求 13 的方法，其中所述混合物具有适于降低所述患者中毒性的比例的一定量的所述（（（1，4）-连接的β-D-吡喃甘露糖）$_{17}$-（（1，6）-连接的β-D-吡喃半乳糖）$_{10}$）$_{12}$）和一定量的细胞因子和化疗剂。

23.权利要求 13 的方法，其中所述混合物具有适于降低所述患者所经受毒性的比例的一定量的所述（（（1，4）-连接的β-D-吡喃甘露糖）$_{17}$-（（1，6）-连接的-β-D-吡喃半乳糖）$_{10}$）$_{12}$）和一定量的 IL-2、IL-12、α-干扰素或三者以及所述化疗剂。

24.权利要求 13 的方法，其中所述混合物具有适于增强所述化疗剂功效的比例的一定量的所述（（（1，4）-连接的β-D-吡喃甘露糖）$_{17}$-（（1，6）-连接的β-D-吡喃半乳糖）$_{10}$）$_{12}$）和一定量的细胞因子以及所述化疗剂。

25.权利要求 13 的方法，其中所述混合物具有适于增强所述化疗剂功效的比例的一定量的所述（（（1，4）-连接的β-D-吡喃甘露糖）$_{17}$-（（1，6）-连接的-β-D-吡喃半乳糖）$_{10}$）$_{12}$）和一定量的 IL-2、IL-12、α-干扰素或三者以及所述化疗剂。

多糖与用于癌症治疗的化疗剂的共同给药

相关申请

该申请要求2003年9月8日提交的美国专利申请10/657,508的优先权和利益。

技术领域

本发明涉及用于治疗疾病的组合物和方法。具体地，本发明涉及包含多糖和药剂的组合物，其中多糖降低了药物的毒性性质并且提高了其功效。

背景技术

治疗癌症最广泛使用的方法为手术、放射疗法和化学疗法。癌症患者常常接受这些疗法的组合并且约一半的患者接受化学疗法。令人遗憾的是，化疗剂由于其对患者的毒性作用以及用于靶向和杀死肿瘤细胞的特定剂量的功效而具有明显的限制。

一旦癌细胞开始分裂和复制，大多数化疗剂杀死癌细胞。细胞通过破坏细胞分裂而被杀死。例如，化疗剂可阻止新DNA的形成或者阻断细胞内一些其它的基本功能。一些化疗剂可通过诱导凋亡而起作用，主要通过引发细胞的程序性死亡过程而引起细胞自杀。虽然这些药剂对于治疗通常通过无限制的细胞分裂快速生长的癌细胞是有效的，但是其也杀死经历常规细胞分裂的健康的非癌细胞。该毒性作用在快速-生长的正常细胞，如骨髓细胞、消化道中的细胞、毛囊和生殖细胞中尤其明显。由于化学疗法损害健康组织，药物的有效性因其剂量水平和治疗频率不应该超出非-癌细胞的耐性水平而受到限制。此外，由于其身体的和情绪的副作用，化疗方案常常显著降低患者的生活质量。由于没有将药物专门靶向癌组织的能力，化学疗法的剂量必须维持在

健康组织可耐受的范围内（即，治疗指数），因此常常降低化学疗法对疾病组织的最佳有效性。

如果能降低化疗剂的毒性，则专业人员将能提高药物的剂量而无不能接受的副作用的产生。提高药物的功效可转化为药物减少的剂量，其在另一方面将潜在的对患者的有害作用降到最低同时提供最大的益处。通过提高化疗药物的功效而降低剂量与毒副作用的降低一起将通过控制肿瘤和通过降低有害的副作用而导致患者生活质量的改善。

迄今为止已有用于权衡化疗治疗的有效性和有害副作用的各种方法。例如，一些方法包括为了帮助患者更好地耐受治疗，通过更频繁地给予较少的剂量而延长化疗治疗。其它方法包括添加额外的物质于该化疗方案。所述物质包括推定能抵制化疗剂毒副作用（如恶心）并且允许患者更好地耐受化疗药物的那些。由于患者的化疗剂耐性可得到改善或提高，所述物质还允许使用较高剂量的药物来抵抗癌症。

尽管化疗方案已经取得一些进展，仍然有明显未满足的对提高化疗剂功效而同时降低其毒性的医疗需求。需要有通过降低大多数化疗治疗的有害性并且削弱其副作用而更有效地抵抗癌症，而同时在治疗期间提供给患者更好的生活质量的疗法。

发明内容

本发明包括用于治疗疾病如癌症的组合物和方法。本发明的组合物包含一种或多种多糖以及一种或多种药剂。本发明的方法包括一种或多种药学制剂和一种或多种多糖共同给药于需要其的受治疗者，其中包含药学制剂和多糖的该药物制品具有降低的毒性。在一个方面，本发明的组合物具有降低的毒性和提高的功效。

在本发明的一个实施方案中，描述了一种在受治疗者中治疗癌症的方法，包括将一种或多种多糖和有效剂量化疗剂的混合物以药学可接受的制剂给药于受治疗者，其中多糖选自半乳甘露聚糖，其可从许多植物和微生物来源获得。该药物制剂随后以本领域技术人员熟知的可接受的方式给药于需要其的患者。

在本发明的另一个实施方案中，一种或多种多糖和一种或多种化疗剂的混合物给药于需要其的受治疗者，其中该混合物包含适于降低受治疗者中的毒副作用而对所治疗的特定病状有效的比例的足够量的多糖和化疗剂，其中多糖选自半乳甘露聚糖（来自瓜尔豆）、阿拉伯半乳聚糖(来自美国落叶松)、鼠李糖半乳糖醛酸聚糖(来自马铃薯)、角叉菜聚糖（来自麒麟海藻）和刺槐豆胶（来自角豆）。毒副作用被定义为通过受治疗者由于缺乏多糖的化疗剂的给药而产生的那些生理效应（症状）。

在本发明的另一个实施方案中，提供的药物制剂包括药学可接受制剂中的一种或多种多糖和有效剂量的一种或多种化疗剂的混合物，其中多糖选自半乳甘露聚糖（来自瓜尔豆）、阿拉伯半乳聚糖（来自美国落叶松）、鼠李糖半乳糖醛酸聚糖（来自马铃薯）、角叉菜聚糖（来自麒麟海藻）和刺槐豆胶（来自角豆）。在一个方面，制剂中的混合物包含适于降低受治疗者中任何毒副作用比例的一定量的一种或多种多糖和一种或多种化疗剂。多糖与化疗剂的比例可在 10：1 至 1：10 的范围。具有 50，000 MW 的修饰的半乳甘露聚糖时，最适比例在 6：1 至 1：3 的范围。在另一个方面，混合物包含适于提高化疗作用对治疗癌症功效的比例的一定量的一种或多种多糖和一种或多种化疗剂。又一个方面，混合物包含适于有效地治疗癌症以及降低任何潜在毒副作用的比例的一定量的一种或多种多糖和一种或多种化疗剂。在本发明更进一步的方面，提供了用于在需要其的受治疗者中治疗癌症的方法，包括将以使在多糖组分存在时化疗剂具有提高的治疗功效而配制的一种或多种多糖和有效剂量的一种或多种化疗剂的混合物给药。

除非上下文中另外所需，以下术语将具有下列所指明的含义。

"受治疗者"指动物，包括哺乳动物，如人、狗、猫、猪、母牛、绵羊、山羊、马、大鼠、小鼠等等。

"患者"指人受治疗者，其呈现具有特定症状或与病理生理学过程一致的症状的临床背景。

"多糖"指主要由一种或多种糖和替代糖单体组成的聚合物。该糖

单体可以本领域熟知的方式修饰。

有毒治疗剂的"功效"指最小有效剂量和伴随的毒副作用之间的关系。如果治疗终点可通过较低剂量或较短剂量方案的给药而完成，则药剂的功效得到提高。如果可降低毒性，治疗剂能以较长的剂量方案或甚至具有更大的患者适应性和改善的生活质量而长期给药。此外，药剂降低的毒性使得专业人员能提高剂量而更快地达到治疗终点，或实现更高的治疗终点。无毒治疗剂的"功效"指治疗病症时改善的治疗效果。

"药学可接受载体"指生理上相容的任何和所有溶剂，分散介质，例如，人白蛋白或交联的明胶多肽、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂，例如氯化钠或谷氨酸钠，和吸收延迟剂等等。上述介质和试剂用于药学活性物质的用途是本领域所熟知的。优选，载体适于口服、静脉内、肌内、皮下、肠胃外、脊髓或硬膜外的给药（例如，通过注射或输液）。取决于给药途径，活性化合物可用材料包被以保护化合物免受酸类和可灭活该化合物的其它自然条件的作用。

"活性化合物"指此处用于癌症治疗的任何及所有化疗剂，以及任何及所有添加的药剂，其提高化疗剂的功效和/或降低化疗剂的毒性。

"肠胃外给药"包括通过快速浓注或输液的给药，以及通过静脉内、肌内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心内、皮内、腹膜内、气管内、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊髓内、硬膜外以及胸骨内的注射和输液的给药。

"有毒的"指当给药于受治疗者时由药剂引起的任何副作用。

"肿瘤退化"分为（排除非特异性的死亡）"部分的"（小于治疗开始时其大小的 50%），或"完全的"（肿瘤变得不可触知）的等级。

"退化的持续时间"指分级为部分的或完全的退化的肿瘤持续为小于最初治疗时其大小的 50%的时间间隔。

"评估大小"指相对于治疗开始时最初肿瘤大小以一个或两个团加倍而选择的肿瘤团。

"肿瘤团加倍所需的时间"为达到评估大小的时间；其用于半数肿

瘤生长的总时延的计算[（T-C/C×100%]，其中 T-C（天数）为与对照（C）组的中值相比，肿瘤植入后治疗（T）组达到评估大小的时间中值的差异。T-C 值排除非特异性死亡，以及肿瘤未到达评估大小而死亡的任何其它动物而测定。

"有效剂量"为达到预定的生理效应，如肿瘤大小缩小，而不超出患者对于该药剂耐受性所需的化疗剂的剂量。

提高的治疗功效指与对照的化疗剂的治疗指数相比，化疗剂（单独的或如包含一种或多种多糖和一种或多种治疗剂的组合物）的治疗指数超过所期望的生理效应，如肿瘤大小缩小、肿瘤生长延缓等等，和/或改善了患者对于该药剂的耐受性。

附图说明

图 1 为半乳甘露聚糖的立体化学构型；

图 2 为本发明的半乳甘露聚糖（来自瓜耳豆胶）和来自角豆树（槐豆）树胶的半乳甘露聚糖的 1H-NMR 光谱结果的图示；

图 3 为图 2 中所示 1H-NMR 结果的傅里叶变换；

图 4 为本发明的半乳甘露聚糖（来自瓜耳豆胶）和来自角豆树胶的半乳甘露聚糖的 13C-NMR 光谱结果的图示；

图 5 为本发明的半乳甘露聚糖的 HPLC/RI-MALLS 特征结果的图示；

图 6 为生产本发明的半乳甘露聚糖的制造和纯化过程的图示；

图 7 为实施例 3 中所述的功效研究第一部分结果的图表概要；

图 8 为实施例 3 中所述的功效研究第二部分结果的图表概要；

图 9 为实施例 4 中所述的功效研究结果的图表概要；

图 10 为实施例 5 中所述的功效研究结果的图表概要；和

图 11 为实施例 3、4 和 5 中所述的三项功效研究结果的图表概要。

详述

本发明提供用于治疗需要其的个体的组合物和方法。本发明的组合物包含一种或多种多糖和一种或多种治疗剂的混合物。本发明的组

合物针对受疾病，如癌症困扰的个体。本发明的多糖/治疗剂组合物，一旦给药于需要其的个体，优选提高治疗剂的治疗功效而同时降低其毒副作用。

治疗癌症最广泛使用的方法为手术、放射疗法和化学疗法。癌症患者常常接受这些疗法的组合并且约一半的患者接受化学疗法。令人遗憾的是，化疗剂由于其对患者的毒性作用以及用于靶向和杀死肿瘤细胞的特定剂量的功效而具有明显的限制。

由于化学疗法损害健康组织，药物的有效性因其剂量水平和治疗频率不应该超出非癌细胞的耐性水平而受到限制。此外，由于其身体的和情绪的副作用，化疗方案常常显著降低患者的生活质量。由于没有将药物专门靶向癌组织的能力，化学疗法的剂量必须维持在健康组织可耐受的范围内（即，治疗指数），因此常常降低化学疗法对疾病组织的最佳有效性。因此，如果可降低化疗剂的毒性，则专业人员将能提高药物的剂量而无毒副作用的产生。

一类药物，氟代嘧啶（例如，5-氟尿嘧啶（5-FU）），已在许多实体肿瘤包括结肠直肠、乳房、非小细胞肺癌（NSCCL）、胃、胰腺、卵巢和头以及颈部肿瘤的标准化疗方案中使用超过四十年。包括延长的静脉内输液和药物动力学调节的 5-FU 给药的日程安排改变已经产生改善的响应率和耐受性，然而其并不一定很好地转化为提高的存活率。仍然有机会开发药剂，其当与 5-FU 一起给予时，如此处所述的那样，提高肿瘤的特异性传递以及提高给药的安全性和简便性。

最近的二十年中 5-FU 一直是用于如结肠直肠癌的癌症治疗的主要依靠。结肠直肠腺癌是占总数 10-12%的癌死亡的第二个主要原因。美国每年发生估计 130，000-155，000 个新的病例。大约 25%的患者呈现远处转移，而另外的 20％在一生中发生转移。1990 年死亡率男性为 24/100，000 以及女性为 16/100，000。不过，过去的二十年中主要由于较早的检测该疾病的存活率大约提高了 8%。

晚期结肠直肠癌治疗中的进展主要归因于围绕 5-FU 为中心的方案的改进或增加，其仍然是转移性结肠直肠癌治疗的首要化疗剂。快

速浓注静脉内（"IV"）治疗，其在约十年前为护理标准，其产生 11%至 18%范围的响应率。通过"浓度对时间曲线"下面积而测定的暴露于 5-FU 的强度不仅与抗肿瘤活性而且与毒性很相关。包括每三周五天治疗的方案产生了粘膜炎、腹泻和中性白细胞减少。针对通过与甲酰四氢叶酸（亚叶酸）联合的连续 IV 输液或快速浓注而提高胸苷酸合酶抑制持续时间的方案提高响应率至 22%至 38%的范围。连续输液方案可在大约 20%的患者中产生手-足综合症，与快速浓注治疗相比连续输液中有类似的粘膜炎，但是通过连续输液途径，腹泻和中性粒细胞减少具有较低的频率。

拓扑异构酶 I 抑制剂如依立替康已用于患有晚期结肠直肠癌的患者，其是首次接受化疗的或 5-FU 方案无效的。在首次化疗的患者中，南方意大利肿瘤小组的 II 期研究显示在接受 5-FU 加亚叶酸的患者中 18%的响应率，以及恰好在接受 5FU 加亚叶酸之前给予依立替康的患者中 40%的响应率。3-4 级毒性在两种治疗方案中都是很少见的。在 5-FU 无效的患者中，两个随机试验表明与最好的维持护理或连续的 5-FU 输液相比时，依立替康提高响应率和存活率。依立替康产生比 5-FU 更严重的危及生命的脊髓抑制和腹泻。这两种药剂的重叠毒性还限制了两种化合物一起以最大剂量强度的使用。

奥沙利铂为二氨基环己烷铂复合物，其在以前所治疗的结肠直肠癌患者中已显示具有 10%的单药剂响应率。当在接受首次治疗的患者中与 5-FU 输液联合时，观察到高达 58%的响应率。该药物的并发症包括外周神经病和口-咽感觉迟钝。目前正进行临床试验以比较 5-FU 奥沙利铂与 5-FU 或依立替康的联合与作为晚期结肠直肠癌的首次治疗。

本发明提供联合一种或多种多糖和一种或多种治疗剂的用于治疗受治疗者疾病的方法和组合物。本发明的方法包括将有效剂量的一种或多种多糖和有效剂量的一种或多种治疗剂的混合物给药，以配制其中治疗剂在多糖存在时具有提高的治疗功效和降低的毒性的混合物。

本发明的一种目标疾病为癌症。本发明范围内所设想的癌症种类包括但不限于，慢性白血病、乳癌、肉瘤、卵巢癌、直肠癌、咽喉癌、

黑色素瘤、结肠癌、膀胱癌、肺癌、乳腺癌、胃肠癌、胃癌、前列腺癌、胰腺癌和卡波西肉瘤。

然而，其它的治疗方案也认为在本发明的范围内，包括但不限于，抗抑郁剂、消炎药、肠胃病药物（用于治疗溃疡和相关病症）、抗-精神病药物、抗-高血脂剂，等等，由于许多治疗剂必须以慢性药物给药，即以长期的方式，因此潜在的剂量减少和生活质量的改善成为有效性、治疗剂成本和患者顺应性中的重要因素。

多糖组分的有效剂量为将接受化疗剂的受治疗者经历的一些、不一定全部的毒副作用减到最低程度或完全减轻所需的量。在一个方面，有效剂量为提高治疗剂功效所需的量。在另一个方面，有效剂量为将药物的毒副作用减到最低程度或消除并且提高该药物在治疗受治疗者中功效所需的量。

提高的治疗功效指与对照化疗剂的治疗指数相比，化疗剂（作为包含一种或多种多糖和一种或多种治疗剂的组合物）的治疗指数超过所期望的生理效应，如肿瘤大小缩小、肿瘤生长延缓等等，和/或改善患者对于该药剂的耐受性。

在一个实施方案中，公开了包含一种或多种多糖和一种或多种治疗剂的组合物。该多糖由单体单元形成。修饰的多糖也认为在本发明的范围内并且可以包括通过例如，有限控制的解聚，或例如，在该多糖的单体单元附加有脂类、蛋白质或核酸部分的修饰。组合物的多糖可以为支链的或直链的。多糖包括但不限于，可获自许多植物和微生物来源的半乳甘露聚糖，例如植物：三棘皂荚、镰状苜蓿、四方瓜尔豆、胡芦巴子和微生物的如角豆野油菜黄单胞菌、酵母和霉菌半乳甘露聚糖、阿拉伯半乳聚糖（来自美国落叶松）、鼠李糖半乳糖醛酸聚糖（来自马铃薯）、角叉菜聚糖（来自麒麟海藻）和刺槐豆胶（来自角豆）。在一个方面，多糖可以是β-1，4-D-半乳甘露聚糖并且包含约1.7范围比例的甘露糖比半乳糖。在另一个方面，半乳甘露聚糖多糖的分子量在约4，000至约200，000D的范围内。在一个具体的方面，半乳甘露聚糖具有约40，000至60，000D的平均分子量。在另一个方

面，半乳甘露聚糖的结构为聚-β-1，4 甘露聚糖主链，带有通过α-1-6-糖苷键而附加的侧取代基。在一个方面，该半乳甘露聚糖多糖可以是β-1，4-D-半乳甘露聚糖。在一个具体的方面，该多糖为（（（1，4）-连接的β-D-吡喃甘露糖）$_{17}$-（（1，6）-连接的-β-D-吡喃半乳糖）$_{10}$）$_{12}$）。在另一个方面，半乳甘露聚糖可以为来自四方瓜尔豆种子的瓜耳豆胶的衍生物。

本发明的多糖可具有靶特异性糖的侧支链，如半乳糖、鼠李糖、甘露糖或阿拉伯糖，其提供具有靶向细胞，尤其是肿瘤细胞表面上特定植物凝集素类型受治疗者识别能力的聚合物表面。支链可以是低聚糖的单个单元或两个或更多单元。

本发明的组合物可进一步包括增强子。所述增强子的实例为亚叶酸。研究表明增强子如亚叶酸的加入提高了响应率。参见，Benson，A.B.，Oncology，12（10 suppl 7）：28-34，1998；Ardalan，B.，等，Cancer Invest.，16：293-294，1998；和 Harms，B.A.，等，Chapter 62 in Clinical Oncology，2nd ed.，Abeloff（ed），2000，Churchill Livingstone，Inc.pp.1611-1637，其全部教导此处引入作为参考。在首次化疗的患者中，南方意大利肿瘤小组进行的 II 期研究显示在接受 5-FU 加亚叶酸的患者中 18%的响应率，以及恰好在接受 5-FU 加亚叶酸之前给予依立替康的患者中 40%的响应率。参见，Maiello，E.，等，Ann. Oncol. 11：1045-51，2000，其全部教导此处引入作为参考。

本组合物的治疗剂包括所有已知的列于例如，Physicians Desk Reference 中的药物，以及实验性的治疗剂。在一个方面，治疗剂为化疗剂。

现代的癌症化疗是在二次世界大战后以氮芥的引入起始的，氮芥为作为硫芥和一种叶酸拮抗剂，氨基蝶呤所遭遇的造血毒性后果而开发用于临床应用的烷基化剂。这些化合物在淋巴瘤患者和患有急性淋巴细胞性白血病的儿童中产生显著的症状缓解。令人遗憾的是，由于抗药性，一种已注意到的引入临床的每种新药的单剂治疗的问题的快速发展，而未能获得治愈。

实验肿瘤中的研究已清楚地表明在所用剂量为可达到的、符合宿主耐受性的最高时产生最佳的抗肿瘤作用，其为本发明的主题。更近的数年中，术语剂量强度已用于定义每单位时间递送的药物量，通常为每周每平方米的毫克数。对于某些药物，如并不是很依赖日程的烷基化剂，递送的剂量强度直接影响治疗结果。可能治愈的大多数肿瘤中，该问题变得很关键并且低于最佳规定剂量可能导致治疗失败。

在许多通过联合化疗可治愈的人肿瘤中，存在通常具有晚期的、巨大肿瘤的一部分患者，其通过这些方案不能有效地得到治疗。即使是这部分患者通过利用自体骨髓拯救或造血生长因子提高剂量强度的治愈可能性还在继续研究。

当使用单个药物治疗时，抗药性很快就出现。化疗剂的组合可用于治疗各种癌症。当一种药物的剂量-限制毒性与另一种不重叠时，药物可组合使用。当毒性产生时，由于可能并不知道主要的产毒作用药剂，调节随后的药物剂量将是困难的。

周期-活性剂为需要细胞即将进入周期，即主动进入细胞分裂前细胞周期的、具有细胞毒性的药物。这些药物的某些主要对处于细胞一个时期的细胞有效。该命名的重要性为细胞周期-活性剂通常为日程-依赖性的，以及暴露的持续时间和剂量一样重要并且通常比剂量更重要。相反，非细胞周期-活性剂通常不是日程-依赖性的，并且效果取决于给药的总剂量，而不是日程表。烷基化剂通常认为是非周期活性的，而抗代谢物为周期-活性化合物的典型。

细胞周期-活性剂的实例为氟代嘧啶，如 5-氟尿嘧啶（5-FU）和5-氟脱氧尿苷（5-FUdR）。5-FU 通过 DNA 合成的抑制或通过掺入 RNA，由此抑制 RNA 加工和功能而发挥其细胞毒性作用。通过胸苷酸合酶的有效抑制而抑制 DNA 合成的 5-FU 的活性代谢物为 5-氟脱氧尿苷酸（5-FdUMP）。在快速生长的肿瘤中，胸苷酸合成酶的抑制似乎是由 5-FU 引起的细胞死亡的关键机制；然而，在其它肿瘤中，细胞死亡与 5-FU 掺入 RNA 更相关。也可能发生 5-FU 掺入 DNA 并且可能有助于 5-FU 的细胞毒性。

5-FU 和 5-FUdR 具有针对一些实体肿瘤，最值得注意的是结肠癌、乳腺癌以及头和颈部癌的抗肿瘤活性。包含 5-FU 的制品局部用于治疗皮肤表皮角化病和表层基底细胞癌。

5-FU 和 5-FUdR 主要的限制毒性包括骨髓和胃肠毒性。治疗后 4-7 天通常发生口腔炎和腹泻。通常停止进一步的治疗直至从所产生的毒副作用中恢复。白细胞减少症和血小板减少症的最低点通常发生在 5-天疗程的单剂量后 7-10 天。通过肝动脉的 5-FUdR 输液的剂量-限制毒性为短暂的肝脏毒性，有时引起胆硬化症。5-FU 全身给药后所看到的较不常见的毒性为皮疹、小脑病征和结膜炎。

细胞周期-活性剂的另一个实例为氨甲蝶呤。该叶酸拮抗剂为在患有 ALL 的儿童中显示诱导完全症状缓解最早的抗代谢物之一。氨甲蝶呤（4-氨基甲基蝶呤）和氨蝶呤为维生素叶酸的类似物。氨甲蝶呤和类似化合物通过抑制二氢叶酸还原酶而起作用。作为这种抑制的结果，胞内的叶酸辅酶快速消耗。这些辅酶是胸苷酸生物合成以及嘌呤生物合成所必需的，因而，DNA 合成因氨甲蝶呤和类似物的使用而被阻断。存在和氨甲蝶呤的使用相关的很大毒性，如脊髓抑制和胃肠不适。氨甲蝶呤对胃肠道毒性的一个早期征兆是粘膜炎。严重的毒性可引起腹泻，其归因于可发展成溃疡和出血的小肠损伤。

阿糖胞苷（ara-C）为脱氧胞苷的抗代谢物类似物。在该类似物中，OH 基团在 2′位处于 β 构型中。该化合物最初分离自海绵 Cryptothethya 腺管。Ara-C 为选择用于急性髓细胞性白血病治疗的药物。Ara-C 胞内转化为三磷酸核苷酸（ara-CTP），其为 DNA 聚合酶的抑制剂并且掺入 DNA 中。后者事件被认为引起 ara-C 的致死作用。用 ara-C 治疗的患者观察到恶心和呕吐。

许多其它化学疗法被认为在本发明的范围内。嘌呤类似物，如 6-巯基嘌呤和 6-硫代鸟嘌呤，定义为也用作治疗癌症的药物。羟基脲为用于治疗癌症的另一种药物。羟基脲抑制核糖核苷酸还原酶，该酶将二磷酸水平的核糖核苷酸转化为脱氧核糖核苷酸。长春花生物碱类也参与癌症的治疗。长春花生物碱类包括长春花碱、长春新碱和去乙酰

长春酰胺。表鬼臼毒素为鬼臼毒素的衍生物，其用于所述癌症如白血病、Hodgkin′s 症和其它癌症的治疗。

烷基化剂如二氯甲二乙胺、苯丙氨酸氮芥、苯丁酸氮芥、氮丙啶和甲基三聚氰胺以及烷基磺酸盐用于治疗各种癌症。

亚硝基脲如亚硝脲氮芥、环己亚硝脲以及链脲霉素用于治疗各种癌症并且具有很容易通过血脑屏障的能力。

顺氯氨铂（二氨基-二氯-铂）为具有广谱抗肿瘤活性的铂配位化合物。顺氯氨铂为反应性分子并且能形成与 DNA 的内部-和链内连接以便 DNA 和蛋白质交联。卡铂为另一种基于铂的抗肿瘤药物。

三氮烯如氮烯唑胺以及甲基苄肼为抗肿瘤药库的一部分。

例如蒽环类的抗生素具有抗癌活性，如阿霉素、柔红霉素和米托蒽醌。其它抗肿瘤抗生素包括博来霉素、放线菌素、丝裂霉素 C 和 plycamycin。

其它的抗肿瘤药物，如天冬酰胺酶，也认为在本发明的范围内。上述这些和其它药物均具有本领域技术人员熟知的毒性特点。

可用于本发明的其它治疗剂包括环磷酰胺（癌得星）、苯丙氨酸氮芥（马法兰）、苯丁酸氮芥（瘤可宁）、亚硝脲氮芥（BCNU）、硫替派、白血福恩（二甲磺酸丁酯）；糖皮质激素例如脱氢可的松/氢化强的松、曲安缩松；其它的蛋白质/DNA/RNA 合成抑制剂例如氮烯唑胺（DTIC）、普鲁苄肼（甲苯肼）；和紫杉醇。

可以与一种或多种多糖一起给药而降低其毒性或提高功效的治疗剂的实例包括以下：抗感染药包括抗生素、抗-病毒药和疫苗、抗肿瘤药，心血管药物包括抗心率失常药、抗高血压药等等，中枢神经系统药物包括镇痛药、减食欲药、抗惊厥剂、抗炎药和镇静剂等等，耳的(OTICS)、眼睛的（opthalmics）、胃肠的包括抗溃疡药、抗胆碱能药等等，激素、呼吸药物包括过敏药物、支气管扩张药和解充血药，局部药物和维生素以及矿物质。

并不希望受理论的束缚，有三个可能的机制可用于说明多糖如半乳甘露聚糖在与治疗药物如 5-FU 的混合物中的有益效果。一种机制涉

及药物和半乳甘露聚糖之间直接的物理相互作用。例如，作为靶细胞表面半乳糖特异的相互作用的结果，半乳甘露聚糖可能提高癌细胞膜的流动性和渗透性。多糖可由此充当递送药物至靶目标的有效载体。另外，半乳甘露聚糖可起作用而抑制肿瘤细胞的聚集以及其向正常细胞的粘附以使癌症不能转移。一旦聚合物-药物偶联物进入肿瘤，其由于其结构和组成而为多糖所识别，多糖就可以释放抗癌药物。由于药物只要与聚合物结合就是无活性的，所以治疗剂的毒性可得到降低。一旦该聚合物-药物偶联物进入肿瘤，多糖就可以释放治疗剂。

多糖如半乳甘露聚糖另一种可能的作用模式可能涉及其与生物系统内一些调节位点的相互作用，例如，如果那些位点受半乳糖-特异的残基如半乳凝集素的控制。又一种可能的作用模式可能涉及具有特定化学结构（特定的 Man: Gal 比）和特定大小（分子量）的多糖对负责将治疗剂快速清除出体内的酶系统的抑制作用，因此可潜在地提高体内药物的生物利用率和延长药物的平均滞留时间，由此改善药物在癌症治疗中的治疗特点。

在一个具体的方面，多糖为半乳甘露聚糖。包含半乳甘露聚糖的组合物的使用可具有提高患者对化疗响应的直接效果。例如，一种效果为有效化疗所需治疗剂剂量的减少。其可通过降低化疗剂的毒性而对患者产生直接有益的效果，所述化疗剂如此处例示的，但不限于，甲烯土霉素、5-FU、依立替康和顺氯氨铂。

半乳甘露聚糖可从各种如植物和微生物来源的天然来源获得。多糖还可以合成制得。半乳甘露聚糖可源于角豆树胶（角豆）、瓜耳豆胶（四方瓜尔豆）和皂荚树（三棘皂荚），为商业可获得的半乳甘露聚糖的实例。

半乳甘露聚糖为包含甘露糖和半乳糖的聚合物。分离的多糖中甘露糖对半乳糖的最终比例可根据半乳甘露聚糖的来源和所用的分离方法而改变，一般介于一和四之间。

该多糖半乳甘露聚糖为可以各种大小范围存在的聚合物。例如，半乳甘露聚糖可具有约 20，000 至约 600，000D 范围的分子量。半乳

甘露聚糖可在约 90，000 至约 415，000D 的大小范围内。此外，半乳甘露聚糖可以衍生或水解产生例如 4000 至 60，000D 范围内天然分子的片段。

在本发明的一个实施方案中，公开了用于治疗疾病，如癌症的方法，包括将一种或多种多糖和有效剂量的一种或多种化疗剂的混合物以药学可接受的制剂给予受治疗者，其中多糖选自来自各种来源的半乳甘露聚糖。该药物制剂随后以本领域技术人员熟知的任何可接受的方式给予需要其的患者。在该实施方案的一个方面，组分，即多糖和药物可以分别给予受治疗者。

该实施方案的多糖组分可利用此处清楚说明的方法制备。如果例如半乳甘露聚糖为本实施方案的一种组分，其可从本身获自四方瓜尔豆种子的瓜耳豆胶中提取。

一旦制备多糖其可以粉剂或水溶液形式储存，例如在生理盐水中。也可使用其它可接受的生理溶液。可利用制备的多糖和一种或多种药剂组成药物制剂。多糖的 IV 治疗剂量可为 10 至 200mg/kg 范围并且通常优化至用于最佳治疗表现的化疗剂的最优治疗剂量。对于 5-FU 已确定最优剂量（小鼠中）为 30 至 150mg/kg，最佳结果为约 120mg/kg。然而，其可随其它化疗而改变。可用于本组合物给药的药物载体为本领域技术人员熟知的。

给药途径包括口服、静脉内、皮下、腹膜内、肌内及等等。给药途径可以是足以将组合物以符合良好医疗实践的方式导入受治疗者的任何途径。这些不同的给药途径为本领域技术人员所熟知。

在本发明的另一个实施方案中，将一种或多种多糖和化疗剂的混合物给予需要其的受治疗者，其中该混合物包含适于降低受治疗者中的毒副作用而对所针对的特定病状有效的比例的足够量的多糖和化疗剂，其中多糖选自来自不同植物来源的半乳甘露聚糖、阿拉伯半乳聚糖（来自美国落叶松）、鼠李糖半乳糖醛酸聚糖（来自马铃薯）、角叉菜聚糖（来自麒麟海藻）和刺槐豆胶（来自角豆）。毒副作用定义为通过受治疗者由于缺乏多糖的化疗剂的给药而产生的那些生理效应

（症状）。而足够量的多糖此处理解为将药剂给药产生的毒副作用减到最低程度或减轻所需的量。

在本发明的另一个实施方案中，提供药物制剂，在药学可接受的制剂中包括一种或多种多糖和有效剂量化疗剂的混合物，其中多糖选自植物来源的半乳甘露聚糖。在一个方面，制剂中的混合物包含适于有效地治疗癌症以及降低受治疗者中任何毒副作用的比例的一定量的一种或多种多糖和化疗剂。在另一个方面，混合物包含适于提高化疗作用对治疗癌症功效的比例的一定量的一种或多种多糖和化疗剂。在仍是本发明的另一个方面，提供用于治疗需要其的受治疗者中癌症的方法，包括将一种或多种多糖和有效剂量的化疗剂配制而使化疗剂对受治疗者具有提高的治疗功效和降低的毒性作用的混合物给药。

任何本发明确定的化合物可单独或以药物组合物，其中其与合适的载体或赋形剂以预防、治疗或改善各种病症，包括以此处描述为特征的那些的治疗有效剂量混合，而给予受治疗者，包括人。治疗有效剂量进一步指足以达到与所述病症相关的症状的预防或改善的化合物的量。用于本发明化合物配制和给药的技术可在 Goodman 和 Gilman 的 The Pharmacological Basis of Therapeutics，Pergamon Press，最新的版本中查找到。

本发明的化合物可通过直接注射入那些位点而靶向至特定位点。设计用于中枢神经系统的化合物应当能通过血脑屏障或适于通过局部注射给药。

适合用于本发明的药物组合物包括其中包含有效量的活性成分以达到预期目的的组合物。更具体地，治疗有效量指预防所治疗的受治疗者现有症状和基本病状发展或减轻之的有效量。有效量的确定在本领域技术人员的能力内。

对于用于本发明方法的任何化合物，治疗有效剂量可根据细胞培养测定法初步估计。例如，可在动物模型中调配剂量以达到包括如细胞培养中所测定的 IC50（50%的细胞显示预期效果的剂量）的循环浓度范围。上述信息可用于更准确地测定人中的有效剂量。

治疗有效剂量指引起受治疗者中症状减弱或存活延长的化合物的量。所述化合物的毒性和治疗功效可通过细胞培养或实验动物中的标准药学方法确定，例如，用于测定 LD50（50%既定群体致死的剂量）和 ED50（50%既定群体治疗有效的剂量）。毒性作用和治疗作用间的剂量比为治疗指数并且其可以表示为 LD50 和 ED50 的比例。显现高治疗指数的化合物为优选的。获自这些细胞培养测定法和动物研究的数据可用于调配用于人的剂量范围。所述化合物的剂量优选处于包括 ED50 而很少或没有毒性的循环浓度范围内。该范围内的剂量可根据所用的剂量和使用的给药途径改变。可通过个人医师视病情而选择正确的制剂、给药途径和剂量。可分别调整剂量和时间间隔以提供活性部分足以维持预定效果的血浆水平。

在局部给药或选择性摄取的情况下，药物的有效局部浓度不一定和血浆浓度有关。

当然，所给组合物的量将取决于所治疗的受治疗者、受治疗者的体重、病痛的严重程度、给药方式和处方医师的判断。

本发明的药物组合物可以已知的方式，例如，通过常规混合、溶解、粒化、研磨、乳化、胶囊化、包埋（entrapping）或冻干的方法制造。

用于本发明的药物组合物由此可以利用一种或多种生理学可接受载体用常规方法配制，包括赋形剂和辅剂，其能促进活性化合物加工成能在药学上使用的制品。适当的制剂取决于所选的给药途径。

对于注射，本发明的药剂可以在水溶剂中，优选在生理相容的缓冲液如 Hank's 溶液、Ringer's 溶液或生理盐水缓冲液中配制。对于经粘膜给药，适于透过屏障的渗透剂用于制剂中。所述渗透剂通常是本领域已知的。

对于口服给药，化合物可方便地通过将活性化合物和本领域熟知的药学可接受载体结合而配制。所述载体可使得本发明的化合物配制为片剂、丸剂、糖锭、胶囊、液体、凝胶剂、糖浆剂、浆液、悬浮液等等，用于被所治疗的受治疗者口服摄入。用于口服使用的药物制剂

可通过添加固体赋形剂，选择性地研磨得到的混合物和加工该颗粒混合物，如果需要，在添加合适的辅剂后获得片剂或糖衣药丸芯而获得。合适的赋形剂尤其为，填充剂如糖，包括乳糖、蔗糖、甘露糖醇或山梨糖醇；纤维素制品如，例如玉米淀粉、小麦淀粉、米淀粉、马铃薯淀粉、明胶、黄蓍胶、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮（PVP）。如果需要，可添加崩解剂，如交联的聚乙烯吡咯烷酮、琼脂或藻酸或其盐如藻酸钠。

可给糖衣药丸芯提供合适的包衣。为此，可使用浓缩的糖溶液，其可选择性地包含阿拉伯树胶、滑石、聚乙烯吡咯烷酮、聚羧乙烯凝胶、聚乙二醇和/或二氧化钛、漆溶液和合适的有机溶剂或溶剂混合物。染料或颜料可加入到片剂或糖衣药丸包衣中用于标识或表征活性化合物剂量的不同组合。

可口服使用的药物制剂包括由明胶制成的推入配合式（push-fit）胶囊以及由明胶和增塑剂，如甘油或山梨糖醇制成的软的密封胶囊。推入配合式胶囊可以包含与填充剂如乳糖，粘合剂如淀粉、和/或润滑剂如滑石或硬脂酸镁以及可选择的稳定剂混合的活性成分。在软胶囊中，活性化合物可以溶解或悬浮在合适的液体中，例如脂肪油、液体石蜡或液体聚乙二醇。此外，可添加稳定剂。所有用于口服的制剂都应该为适于上述给药的剂量。

对于口腔含化给药，组合物可采取用常规方法配制的片剂或糖锭形式。

对于通过吸入法的给药，用于本发明的化合物以用密闭包装或喷雾器呈递的气雾喷剂的形式，借助合适的推进剂，例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟甲烷、二氧化碳或其它合适的气体而方便地递送。在密闭气雾剂的情况下，剂量单位可通过提供一个用于递送既定量的阀而确定。用于吸入器或吹入器的例如明胶的胶囊和药筒可配制成包含化合物和合适的粉剂如乳糖或淀粉的粉末混合物。

化合物可配制用于通过注射，例如通过快速浓注或连续输液的肠胃外给药。用于注射的制剂可以和加入的防腐剂一起以单元剂量存在，

例如，在安瓿中或在多剂量容器中。该组合物可采取如油或水性赋形剂中悬浮液、溶液或乳液的形式，并且可包含如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂的配制剂。

用于肠胃外给药的药物制剂包括水溶性形式活性化合物的水溶液。另外，活性化合物的悬浮液可以制备成适当的油性注射悬浮液。合适的亲脂性溶剂或赋形剂包括脂肪油如芝麻油，或合成的脂肪酸酯如油酸乙酯或甘油三酯，或脂质体。水性注射悬浮液可包含增加悬浮液粘度的物质，例如羧甲基纤维素钠、山梨糖醇或葡聚糖。可选择地，悬浮液也可以包含合适的稳定剂或提高化合物溶解度从而使得能够制备高浓缩的溶液的试剂。

或者，活性成分可以是粉剂形式而在使用前用于和合适的赋形剂，例如无菌的无热原水组配。

该化合物还可配制为直肠组合物如栓剂或滞留灌肠剂，例如包含常规的栓剂基质如可可脂或其它的甘油酯。

除了之前描述的制剂外，化合物还可配制成长效制剂。所述长效制剂可通过植入（例如，皮下或肌内注射）或通过肌肉注射给药。由此，例如，化合物可与合适的聚合或疏水材料（例如，作为可接受的油的乳剂）或离子交换树脂一起，或以微溶衍生物，例如以微溶盐而配制。

用于本发明疏水化合物的药物载体为包含苯甲醇、非极性表面活性剂、水可混溶的有机聚合物和水相的共溶剂体系。当然，共溶剂体系的比例可在不破坏其溶解性和毒性特征的情况下相当大地进行改变。此外，可改变共溶剂组分的同一性。

或者，可使用用于疏水药物化合物的其它递送体系。脂质体和乳剂为熟知的用于疏水药物的递送赋形剂或载体的实例。某些有机溶剂如二甲亚砜也可使用，虽然通常以更大的毒性为代价。另外，化合物可使用持续释放系统，如包含治疗剂的固体疏水聚合物的半渗透性的基质来递送。各种持续释放材料已确立并且为本领域技术人员所熟知。根据其化学性质，持续释放胶囊剂可以释放化合物几周至 100 天以上。

根据治疗试剂的化学性质和生物学稳定性，可以采用另外的蛋白质稳定化方案。

药物组合物还可以包括适合的固体或凝胶相载体或赋形剂。所述载体或赋形剂的实例包括但不限于，碳酸钙、磷酸钙、各种糖、淀粉、纤维素衍生物、明胶和聚合物，例如聚乙二醇。

本发明的许多化合物可作为具有药物上相容的平衡离子的盐而提供。药物上相容的盐可与许多酸类形成，包括但不限于盐酸、硫酸、醋酸、乳酸、酒石酸、苹果酸、琥珀酸等等。盐倾向于在水或者其它质子溶剂中比其相应的游离碱形式更容易溶解。

合适的给药途径可例如，包括口服、直肠、经粘膜、透皮或肠内给药；肠胃外的递送，包括肌内、皮下、髓内注射以及鞘内、直接心室内、静脉内、腹膜内、鼻内或眼内注射。

或者，化合物可以局部而不是全身的方式给药，例如通过化合物常常以长效或持续释放的制剂直接注射进入患部。

此外，化合物可以在靶向药物递送系统中给药，例如在包被有受感染细胞特异性抗体的脂质体中。该脂质体将靶向至细胞并且由细胞选择性地摄取。

如果需要，该组合物可存在于包装或配量器装置中，其包含一种或多种包含活性成分的单位剂型。该包装可例如包括金属或塑料薄膜，如泡罩包装。该包装或配量器装置可附有给药的说明书。还可以制备包含配制在相容的药物载体中的本发明化合物的组合物，将其置于合适的容器中，并且针对所示病症的治疗作出标明。标签上所示的合适的病症可包括此处所述疾病的治疗。

药学可接受载体通常加入一般的药物制剂中。例如，在口服制剂中，可使用羟基丙基纤维素、胶体二氧化硅、碳酸镁、甲基丙烯酸共聚物、淀粉、滑石、糖球、蔗糖、聚乙二醇、聚山梨酸酯 80 和二氧化钛、交联羧甲纤维素钠、食用墨、明胶、一水合乳糖、硬脂酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、月桂基硫酸钠、巴西棕榈蜡、聚乙烯聚吡咯烷酮、羟丙基甲基纤维素、乳糖、微晶纤维素及其它组分。例如，半乳甘露聚

糖已用作药剂口服递送的载体，其处于非液态的形式。参见美国专利：4，447，337；5，128，143和6，063，402，其全部教导此处引入作为参考。

具体实施方式

实施例1

半乳甘露聚糖的结构

本发明的半乳甘露聚糖寡聚物为多糖。在一个方面其具有约48，000D的平均分子量。如下显示的为本发明半乳甘露聚糖的认可的化学命名和结构式。另显示的为立体化学构型。

完整的化学名称：（（（1，4）-连接的β-D-吡喃甘露糖）$_{17}$-（（1，6）-连接的-β-D-吡喃半乳糖）$_{10}$）$_{12}$）。

由线性（1→4）-β-D-吡喃甘露糖基单元组成的主链，单个β-D-吡喃半乳糖基通过（1→6）键与其连接，如以下图示：

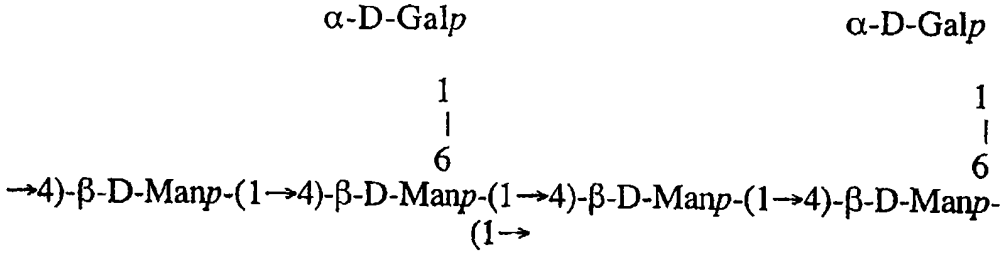


图2显示了经核磁共振（NMR）所测定的本发明半乳甘露聚糖多糖的结构。将本发明的半乳甘露聚糖与来自角豆树（角豆荚果）树胶的半乳甘露聚糖相比。由于来自瓜耳豆胶的半乳甘露聚糖（本发明的半乳甘露聚糖）中Man/Gal的比为1.7：1而来自角豆树胶（角豆）的半乳甘露聚糖中为4：1，两个主要糖残基，即甘露糖（Man）和半乳糖（Gal）的简便鉴定分别来自位于4.8p.p.m.的两个峰（双峰）。

图3显示了本发明瓜耳豆胶半乳甘露聚糖1H-NMR光谱的傅里叶变换。半乳糖的异头质子信号出现在约4.9ppm（双峰）。甘露糖的异头质子信号出现在约4.6ppm（宽的信号）。这些信号与游离单糖的信号

完全分开；半乳糖的α质子在 5.1ppm 而β在 4.5ppm，甘露糖的α在 4.8ppm 而β在 5.0ppm。甘露糖与半乳糖单元的比可针对这个工作标准很容易地计算，为 1.7。

图 4 显示了本发明半乳甘露聚糖的 13C-NMR 光谱，显示了化学位移的详细位置和其强度。该研究证实了半乳甘露聚糖的上述化学结构。

图 4 说明下列情况:

1）在 NMR 光谱中看到所有的三种糖，即，β-D-吡喃半乳糖基、4-O-β-D-吡喃甘露糖基（未取代的）和 4，6-双-O-β-D-吡喃甘露糖基（取代的）。来自所有的三种糖 C1 至 C6，即 G-1 至 G-6、M-1 至 M-6 和 GM-1 至 GM-6 的信号的位置分别显示于图中。(这些对内 G-2 和 G-4、M-1 和 GM-1、M-2 和 GM-2、M-3 和 GM-3、M-4 和 GM-4 的位置是一致的)。

2）NMR 光谱中半乳糖信号的位置完全对应于游离吡喃半乳糖的碳原子的位置，提供了半乳甘露聚糖中 Gal 单元位置取代基缺失的证据。

3）某些甘露糖残基的取代在 C-6（由于信号从"正常的"未取代的亚甲基碳的 63.6p.p.m.至 69.6p.p.m."取代的"亚甲基碳的信号位移，伴随邻近的 C-5 信号从"正常的"78p.p.m.至 76.4p.p.m.的位移）；63.6p.p.m。亚甲基碳的位移得到很好的证明。

4）半乳糖残基的 C-1 参与半乳糖苷键的形成（由于与游离半乳糖的 C-1 相比，NMR 光谱中的 C-1 具有+6.5p.p.m 的低磁场位移）。

5）甘露糖残基彼此"头-尾"连接，形成（1→4）主链。

6）未取代的 Man-Man 对与取代的，Man(Gal)-Man、Man-Man(Gal)和 Man（Gal）-Man（Gal）在一起；来自瓜耳豆胶、角豆树胶和苜蓿种子的半乳甘露聚糖在 C-4（Man）共振区（分为三个峰）的 NMR 光谱显示，观察到来自角豆树胶的半乳甘露聚糖在高磁场的最高峰（Man/Gal=3.8）；最低峰对应于来自苜蓿种子的半乳甘露聚糖（Man/Gal=1.4）和中间峰对应于本发明的半乳甘露聚糖（来自瓜耳豆胶的半乳甘露聚糖，Man/Gal=1.7）。

7）本发明的半乳甘露聚糖（来自瓜耳豆胶的半乳甘露聚糖）中甘露糖与半乳糖的比为 1.7（其为甘露糖和半乳糖 C-1 信号的总强度比，

并且从由 C-4（Man）共振测定的，未取代的和取代的 Man 残基的双频率计算得到）。

8）未取代的 Man-Man 对的相对频率为 22%，Man（Gal）-Man 和 Man-Man（Gal）的相对频率总计为 48%，而完全取代的 Man（Gal）-Man（Gal）对的相对频率为 30%（来自 C-4 信号分离为各自的三个线/峰的强度）。

图 5 显示了本发明的半乳甘露聚糖经 HPLC/RI-MALLS（高效液相色谱法/折射率-多角度激光散射）的定量和分子量。

利用凝胶渗透色谱法（GPC）分离技术（亦称体积排阻色谱法-SEC）的高效液相色谱法（HPLC）为用于聚合物表征的已知技术。GPC 与多角度激光散射（MALLS）和折射率（RI）检测的结合为用于聚合糖类绝对分子量测定的有效方法。光散射检测的运用消除了对 GPC 体系耗时的、依赖构象的校准的需要。GPC-MALLS 超过标准 GPC 的另一个优点为除了分子量，还可遵循有关在溶解状态中半径和构象的额外信息。

GPC-MALLS 方法的原理基于光被大分子比被小分子更强烈地散射的事实。在色谱分析进行期间，MALLS 检测器测定检波器位于十五个不同角度时激光束的光散射程度。光散射检测器的输出与大分子的浓度和分子量的倍增成正比。因此，光散射峰的外形是不对称的。此外，由于 RI 检测器信号仅与浓度成正比（参见图 5），其与 RI 峰不一致。在任何洗脱时间，从柱洗脱的聚合物的分子量可根据 MALLS 和 RI 信号的份额计算。获得分子量对洗脱体积的曲线图并且可计算（平均）分子量和分子量分布。

贯穿本发明的 R&D 和扩大时期，本研究者采用 GPC/IR-MALLS 技术定量药物物质并且表征其平均分子量和分布。MALLS 分析法的使用消除了用"标准的 GPC"的干扰 MW 评估的许多因素。GPC 分离以流体动力学体积差异代替分子量差异为基础。分子构象的差异，例如葡聚糖的支化，可强烈影响流体动力学体积。其次，带正电或负电聚合物的 GPC 洗脱由于固定相的排斥或吸引而可能是不理想的。GPC-MALLS 的结果不受这些色谱缺点的影响，并且可获得绝对分子量。

本发明半乳甘露聚糖的 HPLC 洗脱特点双监测的使用提供了两个重要的化学鉴定，例如，经折射率信号的定量测定和经多角度激光散射（MALLS）检测器的绝对分子量。此外，这些色谱可提供本发明半乳甘露聚糖的分子稳定性和分解衍生物的数据。

实施例 2

纯化和制造过程

图 6 显示的为用于本发明半乳甘露聚糖纯化和制造过程实例的流程图。将优质的瓜耳豆胶以 1%在 45℃溶于温水 2 小时。pH 用 1M HC1 降至 2.2 并且溶液加热至 95℃2 小时。pH 用 1M NaOH 调节至 5.8。溶液随后冷却至 20℃并且用玻璃滤器过滤。接下来加入 $CuSO_4$/Na-K 酒石酸盐并且在 200 目过滤器上收集沉淀，用水溶液洗涤然后在 5% HC1 的 96% EtOH 中洗涤。随后用 75% EtOH 洗涤并且用 96% EtOH 洗涤两次。且最终真空冷冻干燥为白色固体。选择来自很容易可获得来源（例如，瓜耳豆胶）的半乳甘露聚糖用于过程优化以及制造。在体内（动物中）检验可溶半乳甘露聚糖寡聚物的功效和毒性的总降低。

上述制造过程产生了来自合格的高质量瓜耳豆胶粉剂（来自瓜尔胶豆的种子）的半乳甘露聚糖（GM）高可溶寡聚物形式的产物。设计该过程用于产生具有约 48，000 道尔顿范围内的平均分子量，以及甘露糖与半乳糖的比例在约 1：7 范围内的高纯度可溶和均一的寡聚物。该过程包括四个主要阶段；控制解聚作用以产生所需的半乳甘露聚糖寡聚物以及三个纯化步骤，不溶性杂质的除去、水溶性杂质的除去、有机可溶性杂质的除去，以及最终冷冻干燥产生纯的和稳定的形式的半乳甘露聚糖粉剂。

半乳甘露聚糖可在单一使用的小瓶中以无菌浓缩液包装并且递送，而批量的半乳甘露聚糖可以粉剂生产和储存。此处所述的过程用于批量的药物和最终的药物产品。半乳甘露聚糖药物产品可与形成药物制剂活性成分的药物如 5-氟尿嘧啶一起结合和给药。该药物产品包含用于输液的生理盐水（约 0.9M 氯化钠水溶液）并且具有约 6.5 的

pH。

实施例 3-5

功效研究

本发明的半乳甘露聚糖为包括连接于甘露糖主链的暴露的半乳糖部分的半乳甘露聚糖衍生物。该化合物认为与半乳糖结合的、通常位于细胞表面的植物凝集素或半乳凝集素相互作用。植物凝集素为糖结合蛋白质，一般地位于细胞表面，其介导各种类型的细胞相互作用。人们通常认为植物凝集素在植物和在动物组织以及在肿瘤细胞系中介导许多生物学识别事件。植物凝集素在细胞-细胞粘附以及在细胞外基质的组建中起作用。在细胞表面时，植物凝集素可充当参与选择性的细胞间粘附和细胞迁移、循环糖蛋白的识别以及细胞-细胞和细胞-基质相互作用调节的受治疗者。半乳凝集素为具有相关氨基酸序列的β-半乳糖苷结合的植物凝集素家族的成员。半乳凝集素和植物凝集素已是许多实验性试剂（单克隆抗体、单糖和一些多糖，如果胶）的靶目标，其推测在癌细胞表面上与之相互作用。一些这些试剂的使用已显示导致肿瘤细胞集落发展的抑制。

不同于许多已知的多糖，由于其相当简单的和相对规则的结构，本发明的半乳甘露聚糖可被清楚地鉴定和表征。其暴露的半乳糖残基可很容易地和生物学靶目标相互作用，如植物凝集素和半乳凝集素，因此调节信号转导、细胞间相互作用或其它功能。其由此可阻断半乳凝集素（或其它的受治疗者）的作用，从而与其特异性的（或非特异性的）配体竞争。当与 5-FU 结合和给药时，本发明的半乳甘露聚糖提高了结肠直肠癌动物模型中 5-FU 的抗肿瘤作用，虽然明确的机制还有待确定。

在过去 40 年中，5-氟尿嘧啶（5-FU）已成为在转移性结肠直肠癌的治疗中单独或与其它药剂结合使用的标准首要药剂。对多种可溶性半乳甘露聚糖寡聚物初步的动物研究已显示对 5-FU 和具有 1：7 甘露糖与半乳糖之比的半乳甘露聚糖联合治疗的可望好转的响应。

进行了三项非临床药理学研究以评估本发明的半乳甘露聚糖在携带肿瘤的小鼠中单独或与 5-FU 结合的作用。来自植入了人结肠瘤 COLO 205 的无胸腺 MCr-nu 小鼠中两个分开实验的结果表明本发明的半乳甘露聚糖提高了 5-FU 的抗肿瘤作用。

实施例 3

当抗肿瘤药物 5-FU 在半乳甘露聚糖存在下给药时肿瘤生长更大的降低

该研究中，在无胸腺 MCr-nu 小鼠中利用人结肠瘤 COLO 205 表明 5-FU 的静脉注射显著降低了肿瘤生长。该研究的结果概括在图 7 中。然而，当 120mg/kg/天（360mg/m^2）的本发明半乳甘露聚糖和上述剂量的 5-FU 联合给药时，肿瘤生长在肿瘤平均大小和生长速率上进一步降低。对比对照（未治疗的）动物的 12.5 天，达到四倍肿瘤重量所需的时间从单独 5-FU 的 23.5 天增加到本发明半乳甘露聚糖/5-FU 联合的 56.0 天。该研究的结果概括在图 8 中。这两项研究如下进行。

来自瓜尔胶豆的半乳甘露聚糖以 120mg/kg/一剂（360mg/m^2/一剂）每四日静脉内（i.v.）给药一次，总共三次注射（q4d×3），或作为与 5-FU 一起的一次注射以同样的 q4d×3 治疗方案，以 120mg/kg/一剂的 GM 和 75mg/kg/一剂(225mg/m^2/一剂)的 5-FU 的剂量共同给药。5-FU 以同样的 q4d×3 治疗方案以 75mg/kg/一剂（225mg/m^2/一剂）的剂量单独 i.v.给药。5-FU 以 3.75mg/mL 的浓度，pH9.2 配制于治疗当天新鲜的盐水中。在 GM 和 5-FU 共同给药的组中，GM 粉剂溶于 5-FU 溶液中以达到 6mg/mL 的 GM 浓度和 3.75mg/mL 的 5-FU 浓度。单独的化合物和其混合物都根据准确的体重以 0.2mL/10g 体重的注射体积给药。

总共有四组，每组 10 只 s.c.-植入了 COLO 205 人结肠肿瘤异种移植物的动物。各组在肿瘤植入后第 13 天以 q4d×3 的给药方案如下接受治疗：1）盐水（NaCl，0.9%）、2）5-FU（75mg/kg/一剂）、3）GM（120mg/kg/一剂）、4）5-FU（75mg/kg/一剂）+GM（120mg/kg/一剂）。

对照未治疗的肿瘤在所有小鼠中生长良好，达到四倍肿瘤体积的中值等于 12.5 天。该研究 56 天后没有肿瘤的退化，并且事实上没有肿瘤的减小。中值肿瘤体积从治疗起始时（仅用盐水的情况下）的 111mm^{3}增大至 5-8 周后的 2058mm^3。平均存活时间为 14.2 天。

5-FU 75mg/kg/一剂的剂量（即，超过 8 天的 225mg/kg 总剂量）超过了最大耐受剂量并且两周内十只小鼠的三只产生了治疗-相关的死亡。治疗引起四倍肿瘤体积的中值从 12.5 至 23.7 天的延迟。此外，该研究的 56 天后没有肿瘤的退化；然而，观察到两个相对小的肿瘤，其从治疗起始时每个 75mm^{3}长至 126mm^{3}并且在研究结束时为 567mm^3。中值肿瘤体积从治疗起始的 101mm^{3}增加至该研究 56 天后的 2254mm^3。平均存活时间从 14.2 天（对照，未治疗的动物）转变至 23.7 天。

以 120mg/kg/一剂的剂量以 q4d×3 的日程单独给药的 GM 得到很好的耐受。没有观察到死亡或体重下降。达到四倍肿瘤体积的中值为 15.5 天，其比未治疗动物的值（12.5 天）稍微长些。此外，该研究的 56 天后没有肿瘤的退化；然而，观察到两个相对小的肿瘤（与中值肿瘤体积相比），其从治疗起始时的 100mm^{3}和 126mm^{3}分别长至研究结束时的 270mm^{3}和 729m^3。中值肿瘤体积从治疗起始时的 100mm^{3}增加至该研究 56 天后的 1813mm^3，其比未治疗动物的 2058mm^{3}以及 5-FU（75mg/kg/一剂）-治疗的动物的 2254mm^{3}明显更小。平均存活时间从 14.2 天（对照，未治疗的动物）延长至 19.2 天。

GM（120mg/kg/一剂）和 5-FU（75mg/kg/一剂）以 q4d×3 日程的共同给药产生了显著的效果。其引起四倍肿瘤体积，从未治疗动物（对照）的 12.5 天以及单独的 5-FU 和单独的 GM 各自的 23.7 和 15.5 天至其联合的 56.0 天的明显延迟。该研究结束时有一个肿瘤完全消失。该肿瘤经历最初的 75mm^{3}至首次注射后第三天的 126mm^{3}至第二和第三次注射后的 144mm^3，以及该研究两周后，减小至勉强可检测的，并且随后完全消失。另两个肿瘤大小相对较小，其在该研究结束时小于对照值的 20％。总的说来，中值肿瘤体积从治疗起始时的 111mm^{3}增加至该研究 56 天后的仅 379mm^3，一个明显小于未治疗的动物或用 5-FU 单独

治疗的动物的值。平均存活时间从 14.2 天（对照，未治疗的动物）和 23.7 天（5-FU 治疗）增加至联合治疗的 44.2 天。

实施例 4

半乳甘露聚糖/5-FU 与亚叶酸的相容性

小鼠中利用 COLO 205 肿瘤的第二项研究评估了研究的半乳甘露聚糖/5-FU 与亚叶酸（口服给予，25mg/kg/一剂）的相容性以及半乳甘露聚糖从 6 至 600mg/kg/天（或 18 至 1800mg/m^2）的剂量逐步上升。5-FU+半乳甘露聚糖（分别为 48mg/kg 和 120mg/kg）的组合对平均肿瘤大小和达到四倍肿瘤重量所需的时间具有最佳的抗肿瘤响应，优于单独的 5-FU 或 5-FU+亚叶酸组合。

与实施例 3 中所述研究的主要差异为（a）半乳甘露聚糖来自另一种来源，具有不同大小（分子量）和不同的 Man/Gal 比，（b）进行四次连续的注射，而不是三次，（c）所测试半乳甘露聚糖有四个剂量，而不是一个，（d）5-FU 以 48mg/kg/一剂，而不是如第一项研究中的 75mg/kg/一剂给药（i.v.），以及（e）在功效和毒性方面比较半乳甘露聚糖（i.v.注射）与亚叶酸（口服管饲法，5-FU 后两小时给药）。来自瓜尔胶豆的半乳甘露聚糖以 120mg/kg/一剂（360mg/m^2/一剂）的剂量每四日静脉内（i.v.）给药一次，总共四次注射（q4d×4），或作为与 5-FU 一起的一次注射以同样的 q4d×4 治疗方案，以 6、30、120 和 600mg/kg/一剂（分别为 18、90、360 和 1800mg/m^2/一剂）的 GM 和 48mg/kg/一剂（144mg/m^2/一剂）的 5-FU 的剂量共同给药。5-FU 以同样的 q4d×4 治疗方案以 48mg/kg/一剂的剂量单独 i.v.给药。5-FU 以 4.8mg/mL 的浓度，在 pH9.2 下配制于治疗每天新鲜的盐水中。在 GM 和 5-FU 共同给药的组中，GM 粉剂溶于 5-FU 溶液中以达到 0.6、3.0、12 和 60mg/mL 的 GM 浓度和 4.8mg/mL 的 5-FU 浓度。亚叶酸粉剂（临床制剂，用于注射的亚叶酸钙）与注射用水重构以达到 10mg/mL 的浓度。在治疗的每天，原液用注射用水稀释以达到 2.5mg/mL 的浓度。5-FU 和 GM 及其彼此的混合物和亚叶酸根据准确的体重以 0.1mL/10g 体重的

注射或 p.o.体积给药。

另两个组合-治疗组也包含在该研究中。一组小鼠用 5-FU（48mg/kg/一剂，i.v.，q4d×4）治疗，随后为亚叶酸以 25mg/kg/一剂的剂量在 5-FU 后两小时口服管饲法给予（p.o.）的给药。另两组小鼠用 5-FU联合半乳甘露聚糖(分别为 48mg/kg/一剂和 120mg/kg/一剂，i.v.，q4d×4）治疗，随后为亚叶酸以 25mg/kg/一剂的剂量在 5-FU 加半乳甘露聚糖后两小时 p.o.给药的治疗。

总共有九个组，每组 10 只 s.c.-植入了 COLO 205 人结肠肿瘤异种移植物的动物。各组在肿瘤植入后第 14 天以 q4d×3 的给药方案如下接受治疗：1）盐水（NaCl，0.9%）、2）5-FU（48mg/kg/一剂）、3）GM（120mg/kg/一剂）、4）5-FU（48mg/kg/一剂）+GM（6mgkg/一剂）、5）5-FU（48mg/kg/一剂）+GM（30mg/kg/一剂）、（6）5-FU（48mg/kg/一剂）+GM（120mg/kg/一剂）、（7）5-FU（48mg/kg/一剂）+GM（600mg/kg/一剂）、（8）5-FU（48mg/kg/一剂）+亚叶酸（口服，25mg/kg/一剂）和（9）5-FU（48mg/kg/一剂）+亚叶酸（口服，25mg/kg/一剂）+GM（120mg/kg/一剂）。引入最后两组以比较亚叶酸与半乳甘露聚糖的效果。

该研究中没有小鼠死亡。如同在实施例 3 中所述的研究中，所有小鼠中对照的未治疗肿瘤生长良好。达到四倍肿瘤体积的中值为 7.2 天。该研究 13 天后没有肿瘤的退化或减小。中值肿瘤体积从治疗起始时（仅用盐水的情况下）的 $162mm^3$ 增大至 13 天后的 $1288mm^3$。

5-FU 48mg/kg/一剂的剂量（即，在 12 天内 192mg/kg 的总剂量）得到很好的耐受并且产生了达到四倍肿瘤体积的中值的少许生长延缓，从 7.2 天增加至 8.7 天。治疗 13 天后，相比肿瘤大小的中值，10 只小鼠组中两个肿瘤明显（三倍或更多）较小，分别从治疗起始的 100 和 $163mm^3$ 长至研究结束时的 $270mm^3$ 和 $138mm^3$。肿瘤体积的中值从治疗起始的 $172mm^3$ 增加至该研究 13 天后的 $800mm^3$，小于 $1288mm^3$ 的对照值。

按照 q4d×4 的给药方案以 120mg/kg/一剂的剂量单独给药的 GM 没有延缓生长（相比于对照组中的 7.2 天，达到四倍肿瘤体积的中值为

6.9 天）。该研究 13 天后没有出现肿瘤的退化，并且没有观察到相对小的肿瘤（相比于中值肿瘤体积）。中值肿瘤体积从治疗起始时的 157mm^{3}增加至 1152mm^3，一个基本上等于未治疗动物的值（1288mm^3）。

5-FU（48mg/kg/一剂）和 GM（6、30、120 和 600mg/kg/一剂）以 q4d×4 给药方案的共同给药在所有所测试剂量都得到很好的耐受。其引起四倍肿瘤体积，从未治疗动物（对照）的 7.2 天以及单独的 5-FU 和单独的 GM 各自的 8.7 和 6.9 天至分别 14.8、13.5、16.5 和 16.2 天的明显延缓。最佳的结果获自 5-FU 和 120mg/kg/一剂半乳甘露聚糖的组合，相比于 5-FU 单独治疗的 800mm^3，其在第 13 天，治疗的最后一天产生 540mm^3 的中值肿瘤体积。此外，5-FU+GM 120mg/kg/一剂的达到四倍肿瘤体积的中值天数几乎两倍于单独的 5-FU。

亚叶酸存在下用 5-FU 的治疗对药物的功效没有增加任何作用。达到四倍肿瘤重量的中值天数甚至从 8.7 天降至 8.2 天，并且肿瘤重量的中值在治疗起始的第 13 天稍有降低（从 800mg 至 775mg），但是均值明显提高（从 734mg 至 969mg）。半乳甘露聚糖 120mg/kg/一剂加至 5-FU 和亚叶酸的组合仅稍微改善了情况，将达到四倍肿瘤重量的中值天数回升至 8.7 天，和将在第 13 天肿瘤重量的中值从 800mg（5-FU）和 775mg（5-FU/亚叶酸）稍微降低至 725mg，以及均值分别从 734mg 和 969mg 降低至 706mg。

实施例 5

不同剂量 5-FU 和半乳甘露聚糖组合的抗肿瘤功效

研究 NU/NU-nuBR 裸鼠中的第二个人结肠肿瘤，HT-29 来评估以 48mg/kg/一剂的 5-FU、以 30 和 120mg/kg/一剂的半乳甘露聚糖的组合每 4 天 I.V.给予，总共四次注射的抗肿瘤功效。所有组口服接受 25mg/kg/一剂的亚叶酸。在第 33 天，对于 5-FU+亚叶酸+半乳甘露聚糖 120mg/kg，平均肿瘤体积最小。这些发现证实半乳甘露聚糖提高了在亚叶酸存在下 5-FU 的抗肿瘤活性。该研究结果概括在图 10 中。

所有的三项功效研究结果一起概括在图 11 中用于比较。

与第二项研究的主要差异为（a）使用另一种肿瘤（HT-29），和（b）亚叶酸加至该治疗疗法中。GM 以 30 和 120mg/kg/一剂的剂量作为一次注射与 5-FU(48mg/kg/一剂)每四天一次总共四次注射(q4d×4)通过尾部静脉注射 i.v.共同给药，随后亚叶酸在注射后 2 小时以 25mg/kg/一剂的剂量以同样的 q4d×4 的给药方案口服管饲法（p.o.）给予而给药。GM 或 5-FU 还以 120mg/kg/一剂（GM）或 48mg/kg/一剂（5-FU）的剂量以相同的 q4dx×4 治疗方案给药，随后为 2 小时后 25mg/kg 亚叶酸的给药。

GM 以 12mg/mL 的浓度配制于治疗每天新鲜的 0.9%无菌盐水中。亚叶酸粉剂（临床制剂，用于注射的亚叶酸钙）与 0.9%的无菌盐水重构以达到 2.5mg/mL 的浓度。5-FU 以 4.80mg/mL 的浓度，在 pH9.2 下配制于治疗每天新鲜的 0.9%无菌盐水中。在 GM 和 5-FU 共同给药的组中，GM 粉剂和 5-FU 溶于 0.9%新鲜的盐水中以达到 3.0mg/mL 或 12mg/mL 的 GM 浓度和 4.80mg/mL 的 5-FU 浓度。单一的化合物和其组合物都根据准确的体重以 0.1mL/10g 体重的注射体积给药。

总共有五个组，每组 10 只 s.c.-植入了 HT-29 人结肠癌异种移植物的动物。各组在肿瘤植入后第 7 天以 q4d×4 的给药方案如下接受治疗：1）盐水（NaCl，0.9%）、2）GM（120mg/kg/一剂）+亚叶酸（p.o.，25mg/kg/一剂）、3）5-FU（48mg/kg/一剂）+亚叶酸（p.o.，25mg/kg/一剂）、4）5-FU(48mg/kg/一剂)+GM(30mg/kg/一剂)+亚叶酸(p.o.，25mg/kg/一剂）、和 5）5-FU（48mg/kg/一剂）+GM（120mg/kg/一剂）+亚叶酸（p.o.，25mg/kg/一剂）。

如在之前的两项研究中，对照（未治疗的）肿瘤在所有小鼠中生长良好，具有四倍肿瘤体积 13.3 的中值。中值肿瘤体积从治疗起始时（肿瘤植入后第 7 天）的 196mm^3增大至 26 天后的 1318mm^3。

48mg/kg/一剂的 5-FU（治疗 12 天的总剂量 192mg/kg）和如上所述亚叶酸口服一起的剂量在耐受剂量的最大值之内，三周内在 10 只小鼠的组中没有产生治疗-相关的死亡。治疗引起四倍肿瘤体积的 2 天的延迟（从 13.3 至 15.3 天）。中值肿瘤体积从治疗起始时的 179mm^3增

大至研究第 26 天的 1120mm^3。5-FU 与 GM（30mg/kg/一剂），以及和如上所述口服剂量的亚叶酸共同给药进一步引起肿瘤生长的延缓，尤其在研究的前一半中：四倍肿瘤从无 GM 的 15.3 天至具有 GM 的 18.1 天。

在和 5-FU 以 q4d×4 给药方案以及如上所述亚叶酸口服一起共同给药中提高 GM 剂量至 120mg/kg/一剂再次产生四倍肿瘤体积的明显延缓：从未治疗对照动物的 13.3 天和 5-FU/亚叶酸-治疗动物的 15.3 天至用所有三种药物治疗动物的 23.5 天。此外，当所有三种药物组合使用时，1 个肿瘤在治疗起始后 4 周完全消失，另外 2 个肿瘤在研究结束时具有相对小的大小（269 和 352mm^3），而另外的 3 个肿瘤实际上稳定在 1000mm^3 以下的体积。总的说来，中值肿瘤体积从治疗起始时的 176mm^3 增加至研究第 26 天的仅 729mm^3（显著小于未治疗动物的 1318mm^3，以及 5-FU 加亚叶酸-治疗动物的 1120mm^3）。

实施例 6

生物分布研究

在具有肿瘤和不具有肿瘤的小鼠中研究了 3H-半乳甘露聚糖的生物分布。该研究中的主要发现表明氚化半乳甘露聚糖自由结合至肝脏、肾、肺、肿瘤和血浆。在 6 至 60mg/kg（18 至 180mg/m^2）的浓度下没有出现结合的饱和。3H-半乳甘露聚糖的组织分布与注射剂量无关而当 5-FU（342mg/m^2）与 3H-半乳甘露聚糖联合时也没有改变其模式。在不同的组中 3H 半乳甘露聚糖从血浆、肾、肺和肿瘤中的除去是快速的，在 6 小时时检测到平均大约 50%的一小时的放射性，在具有肿瘤的小鼠中除外，其中用 6 或 60mg/kg 3H-半乳甘露聚糖在有或没有 5-FU 治疗的小鼠的肿瘤样品中 6 小时后放射性仍然为平均大约 72%。3H-半乳甘露聚糖从肝脏的除去比在其它组织中更缓慢，而按平均数计算，注射后一小时检测到的超过 50%的放射性在 24 小时时仍然存在。

雄性 NCr-nu 无胸腺裸鼠（Charles Rivers Laboratories，Raleigh，NC）如上述被驯化和圈养。第一组动物（总共 18 只小鼠）

为不携带肿瘤的小鼠。第二组的 18 只小鼠如下携带肿瘤。来自 COLO 205 人结肠肿瘤体内传代的三十至四十毫克碎片皮下（s.c.）植入如上所述的小鼠中，并且使之生长。肿瘤在治疗开始前允许达到 245-392 毫克重量。足够数目的小鼠被植入以便能够为治疗起始当天的试验选择重量范围尽可能窄的肿瘤。将那些具有适当大小范围肿瘤的所选动物分成不同的治疗组。

来自三棘的 GM 的氚化如下进行。12.8mg GM 溶于 2.0mL 水中并且在 Pd/$BaSO_4$ 催化剂（120mg，完全不溶于水）存在时暴露于 25 居里的氚气体。一小时后移去气体供给，过滤掉催化剂，并且 GM 的水溶液反复蒸发至干（4-倍，加水），直至探测不到不稳定的氚。标记的 GM 的总产量为 3.8mCi，比放射性为 300μCi/mg。

分成 18 个组的所有 36 只小鼠，在同一天给予冷的或氚化的 GM（6 或 60mg/kg）或 GM（60mg/kg，冷的或氚化的）和 5-FU（114mg/kg）组合的单次静脉注射。未-标记的 GM 配制在盐水中，而氚化的 GM 添加至该溶液以使每只动物接受 10μCi 的放射性。5-FU 溶于包含 GM 的溶液中（以 6mg/mL 的浓度）。所有规定剂量的溶液（每种 100μL）一式两份计数。

每组 2 只小鼠在注射后 1、6 和 24 小时放血，并且制备血浆。动物随后处死；收集肝脏、肾、肺和肿瘤（来自具有肿瘤的动物），称重并快速-冷冻用于进一步分析。

称重后，肝脏溶于 10mL 的 Soluene 350（Packard Instruments，Downers Grove，IL）并且先在 50℃孵育 4 小时，然后在室温下孵育至组织溶解。一升所得溶液作为单个样品在闪烁计数器中计数。基于组织重量和样品体积，计算每克组织氚化 GM 的μCi 数量。

肾以同样的方式处理，但是溶于 2mL Soluene 中。组织在室温下溶解后，加入 15mL Safety Solve 闪烁液体（Research Products International，Mount Prospect，IL）并且样品孵育过夜。5mL 所得溶液稀释于 15mL Safety Solve 中并且作为单个样品在闪烁计数器中计数。肺以同样的方式处理，但是溶于 1mL Soluene 中。血浆样品（每

个 50μL）直接置于 Safety Solve 中并且作为单个样品计数。

称重后，肿瘤溶于 1 或 2 毫升 Soluene 中并且在 50℃孵育三天直至溶解。随后加入十五毫升 Safety Solve 并且样品在室温下孵育过夜。随后加入 2 毫升水并且样品作为单个样品在闪烁计数器中计数。

将雄性 NCr-nu 无胸腺裸鼠分成两个主要组，每组 18 只动物。第一组的动物为不具有肿瘤的小鼠。第二组的如下携带肿瘤。来自 COLO 205 人结肠肿瘤体内传代的三十至四十毫克碎片皮下（s.c.）植入如上所述的小鼠中，并且使之生长。肿瘤在治疗开始前允许达到 245-392 毫克重量。足够数目的小鼠被植入以便能够为治疗起始当天的试验选择重量范围尽可能窄的肿瘤。将那些具有适当大小范围肿瘤的所选动物分成不同的治疗组。

分成 18 个组的所有 36 只小鼠，在同一天给予冷的或氚化的 GM（6 或 60mg/kg）或 GM（60mg/kg，冷的或氚化的）和 5-FU（114mg/kg）组合的单次静脉注射。GM 的氚化（具有 300μCi/mg 的所得比活性）如上所述。在盐水中配制冷的 GM，并且氚化的 GM 添加至该溶液以使每只动物接受 10μCi 的放射性。5-FU 溶于包含 GM 的溶液中（以 6mg/mL 的浓度）。

每组 2 只小鼠在注射后 1、6 和 24 小时放血，并且制备血浆。如上所述，动物随后处死；收集肝脏、肾、肺和肿瘤（来自具有肿瘤的动物），称重并快速-冷冻用于进一步分析。

观察到半乳甘露聚糖自由结合至肝脏、肾、肺、肿瘤和血浆，并且没有达到结合的限度，例如没有达到 6mg/kg 和 60mg/kg 剂量之间结合的饱和。当 6mg/kg（具有 1.0 的相对放射性）和 60mg/kg（具有 0.1 的相对放射性）剂量的半乳甘露聚糖给药时，结合的放射性半乳甘露聚糖的量是相同的；也就是说，结合的半乳甘露聚糖的量对于 10-倍高的剂量提高了 10 倍。

对于 6 和 60mg/kg 的 GM，放射性在整个组织以及每重量或体积（在血浆中）中的分布实际上相同，因此汇集相应的数据。此外，对于具有肿瘤和不具有肿瘤的动物（肿瘤的除外，其明显只在具有肿瘤动物

中存在），放射性在整个组织以及每重量或体积（在血浆中）中的分布实际上相同，因此汇集相应的数据。总的说来，数据为 8 只动物的平均，而对于肿瘤的数据，为 4 只动物的平均。

该研究的主要结果如下:

5-FU 存在时肿瘤中 GM 的量提高，并且在 GM 清除期间停止提高;和

5-FU 存在时肝脏中 GM 的量降低，并且在 GM 清除期间停止降低。

也就是说，当递送到肿瘤中时，5-FU 和 GM 协同作用。此可以解释为什么 GM 和 5-FU 的组合提高了针对小鼠所携带的 COLO 205 人结肠肿瘤药物的功效（参见上面）。

同时，当递送到肝脏中时，5-FU 和 GM 作为拮抗剂起作用（显然，对肝脏中相同结合部位相互竞争）。

实施例 7-9

急性毒理学研究

本发明半乳甘露聚糖急性毒理学研究在小鼠、大鼠和狗中进行而亚慢性的毒理学研究在大鼠和狗中进行。以下为这些研究发现的概要:

1500mg/m^2（336mg/m^2）半乳甘露聚糖或 417/222mg/kg（1251/666mg/m^2）5-FU/半乳甘露聚糖的单一 IV 剂量在小鼠中（n=5/组）没有产生毒性、死亡或体重下降的临床病征，而 409mg/kg（1227mg/m^2）5-FU 在 13-16 天后导致 3/5 小鼠死亡。

大鼠中（n=5/性别/组），140mg/kg（840mg/m^2）5-FU、72mg/kg（432mg/m^2）半乳甘露聚糖或 140/72mg/kg 其组合的单一 IV 剂量在任何组中没有产生死亡。对照用 5-FU 单独注射的那些，用其组合注射的大鼠中，在体重、饲料消耗和血液病学方面的毒性变化具有稍微更低的严重程度。单独的半乳甘露聚糖没有产生显著的副作用。

28.5mg/kg（570mg/m^2）5-FU、15mg/kg（300mg/m^2）半乳甘露聚糖或 28.5/15mg/kg5-FU/半乳甘露聚糖的单一 IV 注射导致用 5-FU 注射的 2/2 只狗、用其组合注射的 2/4 只狗和单独接受半乳甘露聚糖的

0/2 只狗的死亡。存活的狗在 21 天的研究期间仍然是临床上正常的并且在体重、饲料消耗、ECG 示踪、临床病理学或总体组织变化方面没有治疗相关的改变。

实施例 7

亚慢性的大鼠研究

在用研究等级的未过滤半乳甘露聚糖进行的 28 天的亚慢性的大鼠研究中，10mL/kg 盐水、48mg/kg(288mg/m^2)5-FU、48mg/kg(288mg/m^2)半乳甘露聚糖或 24/13mg/kg (144/78mg/m^2)、36/19mg/kg (216/114mg/m^2)或 48/25mg/kg (288/150mg/m^2) 5-FU/半乳甘露聚糖组合的单一每日 IV 剂量以 1mL/min 的速度给予 4 个连续日。4 种剂量的 5-FU 引起死亡（用 48mg/kg 5-FU 的 7/8; 分别用 24/13、36/19 和 48/25mg/kg 5-FU/半乳甘露聚糖的 1/8、2/8 和 7/8）。

在接受 5-FU 的所有组中观察到脱发、体重和饲料消耗严重的瞬时降低以及红细胞参数和血小板的瞬时下降。不定期死亡动物中的病变主要是由于 5-FU 对造血和淋巴系统的预期作用，其伴随继发的细菌侵害和由于对凝血影响的弥漫性出血。在研究第 5 天的尸检时，病变包括明显的骨髓细胞减少、胸腺的淋巴退化和小肠不同节段中绒毛的退化（所有的都认为是由于预期的 5-FU 的作用）。除了肺中轻微的肉芽肿病灶，研究的第 29 天在处死的动物中分辨了治疗相关的组织病理学病变（第 2 组和第 6 组中仅一只雌性存活）。

实施例 8

重复剂量的大鼠研究

利用包含 48 或 96mg/kg (288 或 576mg/m^2) 过滤的 GMP 级半乳甘露聚糖材料在大鼠中进行直至 52 天恢复期的重复剂量 I.V. 的研究。每种性别的 5 只动物在第 5、28 和 56 天处死。核查的报告草案表明，第 5 天处死的一只大鼠肺中的组织学发现提示半乳甘露聚糖以 96mg/kg 的静脉内给药与 4 个连续日给药并且在第 5 天处死的大鼠肺

痕量水平的肉芽肿炎症的低发病率相关。以 96mg/kg（大于第一项研究中所用最高剂量 2 倍的剂量)的半乳甘露聚糖给予并且在第 28 天处死的雄性大鼠在肺中具有痕量水平间质性炎症提高的发病率，而没有肉芽肿炎症的组织学证据。以 96mg/kg 的半乳甘露聚糖给予并且在第 56 天处死的雄性大鼠具有痕量水平肺泡巨噬细胞累积的提高的发病率，但再一次没有肉芽肿炎症的组织学证据。

本发明的半乳甘露聚糖仅对用 GMP 半乳甘露聚糖临床溶液以 48mg/kg 剂量注射的、具有肉芽肿炎症的 1/30 大鼠产生最低的组织学影响。用 GMP 半乳甘露聚糖临床溶液以 96mg/kg 剂量注射的 30 只大鼠均未受影响。由此推断半乳甘露聚糖临床溶液，至多 15mg/kg（555mg/m^2；9mg/mL）的剂量，对于人的使用是安全的，并且对健康不会造成过度的风险。

实施例 9

犬科狗的研究

在 28 天狗的研究中，盐水、6mg/kg（120mg/m^2）5-FU 和 500mg/m^2（240mg/m^2）半乳甘露聚糖或 4/2mg/kg（80/40mg/m^2）、6/3.2mg/kg（120/64mg/m^2）或 6/6mg/kg（120/120mg/m^2）5-FU/半乳甘露聚糖的单一每日的 IV 剂量对六组小猎兔犬注射 4 个连续日。在研究的第 2 和第 5 天之间 48 只狗的 13 只发生死亡（5 只濒死的被处死而 8 只发现已死）（分别为 5-FU 的 4/4 雄性；4/2mg/kg 5-FU/半乳甘露聚糖组的 3/4 雄性；6/3.2 和 6/6mg/kg 5-FU/半乳甘露聚糖组的 2/4 雄性和 1/4 雌性）。

5-FU 组中的副作用包括共济失调、虚脱、叫唤、惊厥、颤动、对接触的过敏、攻击行为（仅在以 6/3.25-FU/半乳甘露聚糖给予的三次剂量组中产生）、呕吐、流涎、拉稀和降低的红细胞参数和血小板计数。不定期死亡的动物中总体/显微镜可见的改变包括一种或多种器官的充血（提示心血管功能失调）和胃肠道粘膜层的退化。在第 5 天的尸检时，治疗相关的组织学改变主要限于 5-FU 的雌性。在第 29 天的

尸检时，存活者中没有显著的改变。500mg/m^2 的半乳甘露聚糖没有产生可观察到的副作用。

实施例 10

致突变性研究

进行致突变性研究并且包括 2 个 Ames 细菌回复突变测定法，其中本发明的半乳甘露聚糖通过在第一项研究中自身或在第二项研究中和 5-FU 联合而评估。两项研究中的测试物在利用鼠伤寒沙门氏菌菌株 TA97a、TA98、TA100、TA1535 和大肠杆菌菌株 WP2 uvrA（pKM101）的细菌测定法中，在外源代谢活化系统存在和缺乏的情况下评估。两项研究的任一项中未检测到致突变活性的证据。

总之，迄今为止进行的体内药理学研究表明本发明的半乳甘露聚糖增强了 5-FU 的抗肿瘤作用。细菌回复突变测定法中，无论是单独或与 5-FU 联合，半乳甘露聚糖并不是致突变的。小鼠、大鼠和狗中的毒性研究已经表明半乳甘露聚糖具有非常低可能性的毒性以及改善某些 5-FU 毒副作用的能力。

112mg/kg（336mg/m^2）（（（1，4）-连接的β-D-吡喃甘露糖）$_{17}$-（（1，6）-连接的-β-D-吡喃半乳糖）$_{10}$）$_{12}$）或 417/222mg/kg（1251/666mg/m^2）5-FU/（（（1，4）-连接的β-D-吡喃甘露糖）$_{17}$-（（1，6）-连接的-β-D-吡喃半乳糖）$_{10}$）$_{12}$）的单一 IV 剂量没有产生毒性、死亡或体重降低的临床症征，而 409mg/kg（1227mg/m^2）5-FU 在 13-16 天后导致 3/5 小鼠死亡。

大鼠中，140mg/kg（840mg/m^2）5-FU、72mg/kg（432mg/m^2）（（（1，4）-连接的β-D-吡喃甘露糖）$_{17}$-（（1，6）-连接的-β-D-吡喃半乳糖）$_{10}$）$_{12}$）或 140/72mg/kg 其组合的单一 IV 剂量在任何组中没有产生死亡。对照用 5-FU 单独注射的那些，用其组合注射的大鼠中，在体重、饲料消耗和血液病学方面的毒性变化具有稍微更低的严重程度。单独的（（（1，4）-连接的β-D-吡喃甘露糖）$_{17}$-（（1，6）-连接的-β-D-吡喃半乳糖）$_{10}$）$_{12}$）没有产生显著的副作用。

实施例 11

半乳甘露聚糖对化疗蛋白质的作用

体外研究中已显示细胞因子和趋化因子通过免疫应答提高癌细胞对破坏的敏感性。（细胞因子和趋化因子为本领域技术人员熟知的并且可在任何现代生物学/医学课本中找到这样的目录）。在少数情况中，已显示细胞因子直接抑制肿瘤细胞的生长。细胞因子作为免疫系统的信使通过对淋巴细胞和其它免疫细胞发挥各种作用而调节免疫应答的强度和持续时间来行使功能。细胞因子还控制细胞的增殖和分化。在美国，食品与药物管理局（FDA）已经批准了两种细胞因子-IL-2 和α-干扰素用于癌症治疗的使用。

已证实 IL-2 具有针对肾细胞疾病、黑素瘤、淋巴瘤和白血病的生物活性。干扰素对这些癌症以及卡波西肉瘤、慢性髓细胞白血病和毛细胞白血病是有效的。

然而，由于细胞因子治疗造成的有害副作用，存在在血液中的递送问题和稳定性。聚乙二醇化（Pegilation）已用于稍微提高干扰素的药物有效性，但是仍认为是有毒的。

半乳甘露聚糖对化疗药物的作用还在用这些蛋白质化疗剂，例如细胞因子的治疗中显示。在下面研究中，单独的 IL-12（10μg/kg）和 IL-12（40mg/kg）的组合或与半乳甘露聚糖（120mg/kg）的联合用于治疗植入了人结肠肿瘤 HT-29 的小鼠模型。当肿瘤大小达到 110mg 时开始 IV 注射并且以 4 天的间隔重复 4 次，最后一次注射后一星期（第 26 天）的结果显示已经实现对肿瘤生长抑制的明显改善。

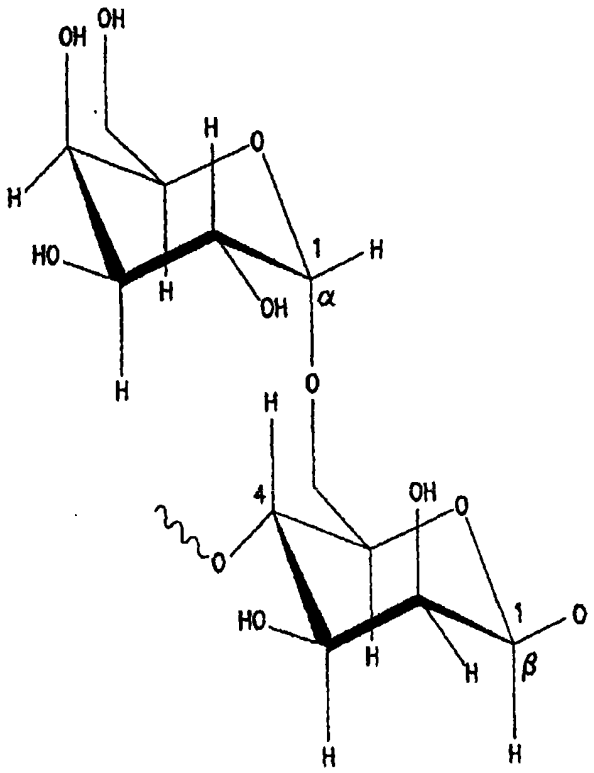


图1

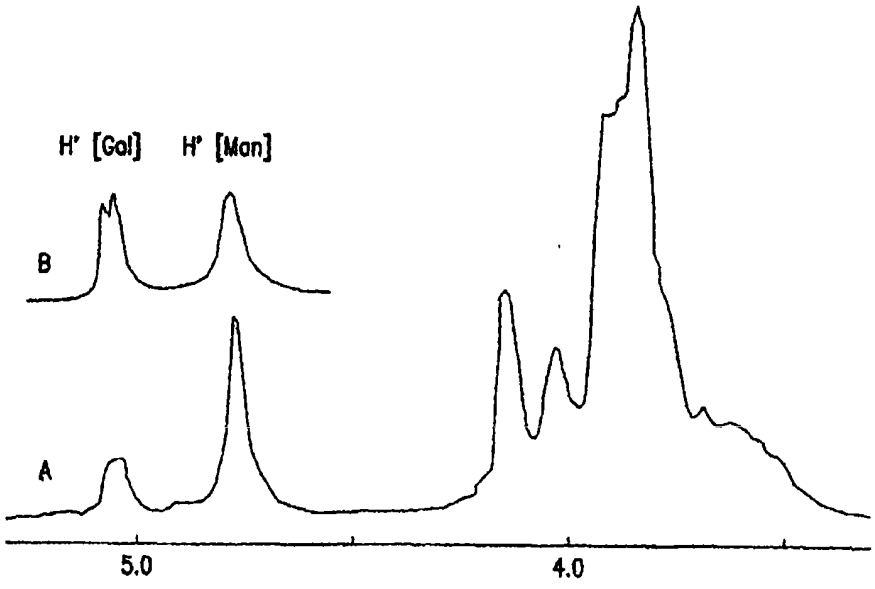


图 2

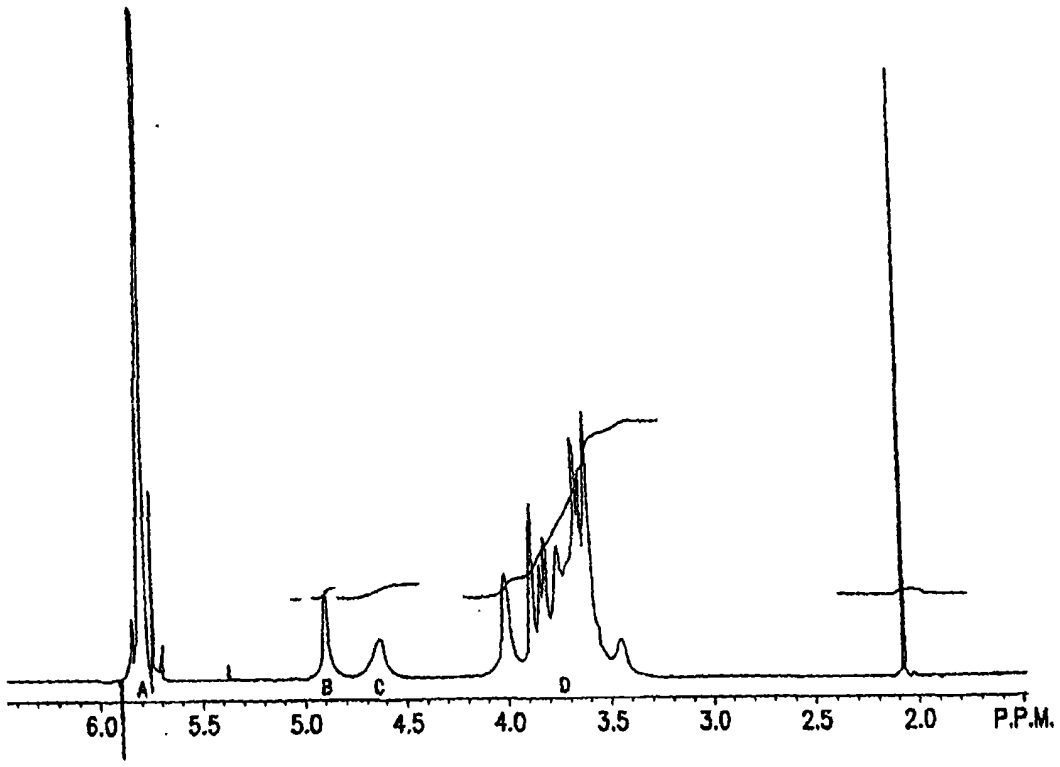


图 3

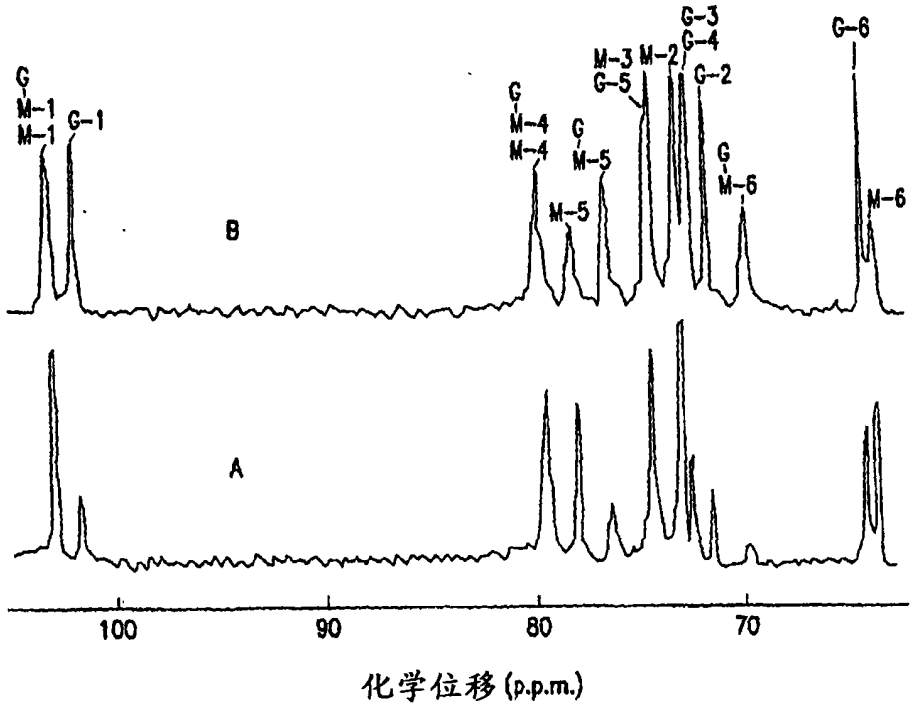

G
M-1
M-1
G-1
B
G
M-4
M-4
M-5
G
M-5
M-3
G-5
M-2
G-3
G-4
G-2
G
M-6
G-6
M-6
A
100
90
80
70
化学位移(p.p.m.)

图4

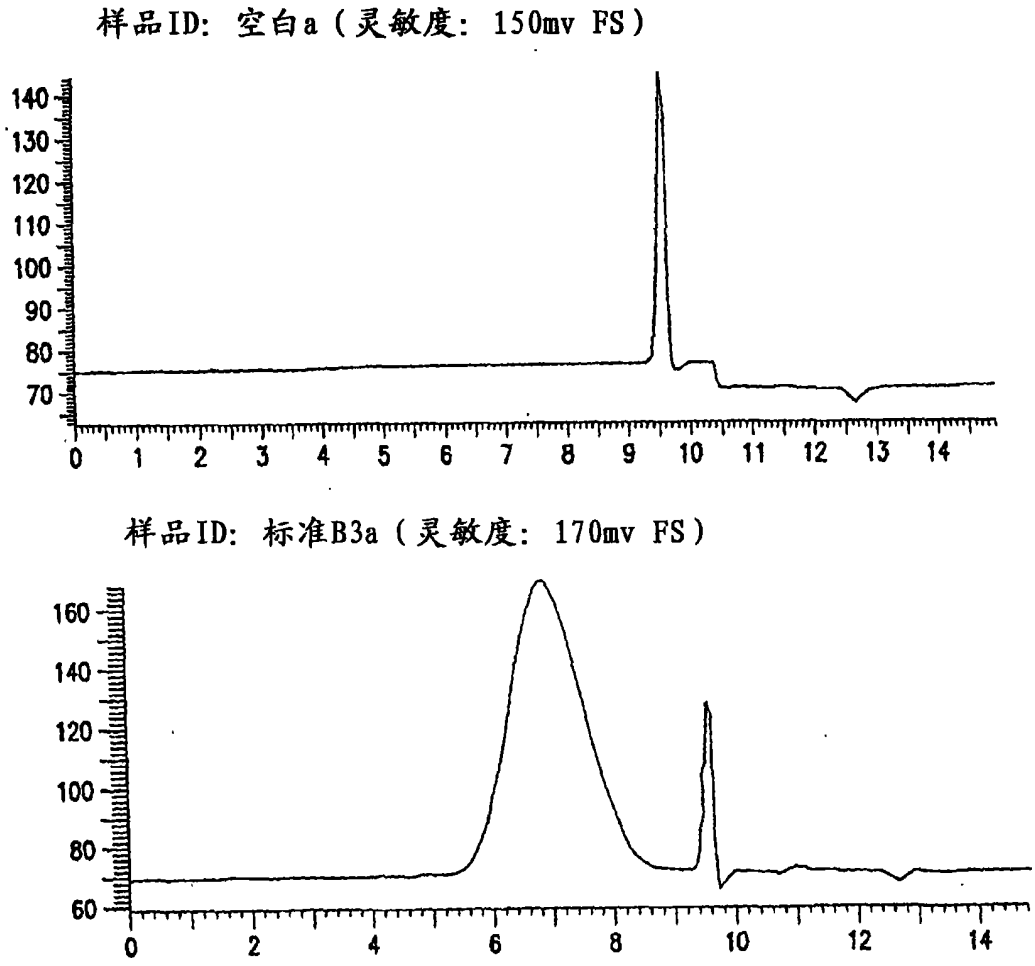

样品ID: 空白a (灵敏度: 150mv FS)
140
130
120
110
100
90
80
70
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
样品ID: 标准B3a (灵敏度: 170mv FS)
160
140
120
100
80
60
0 2 4 6 8 10 12 14

图5

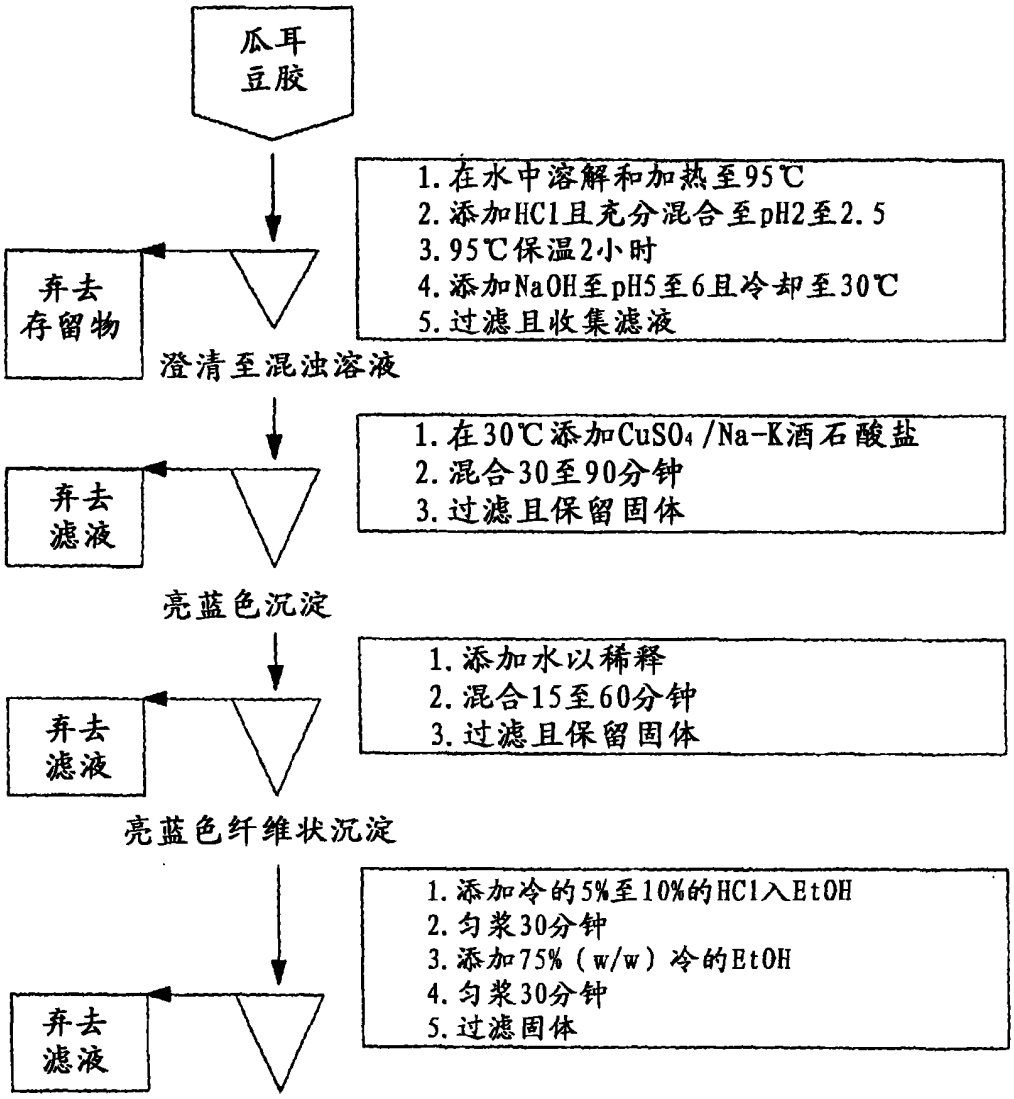

瓜耳
豆胶
1. 在水中溶解和加热至95℃
2. 添加HCl且充分混合至pH2至2.5
3. 95℃保温2小时
4. 添加NaOH至pH5至6且冷却至30℃
5. 过滤且收集滤液
弃去
存留物
澄清至混浊溶液
1. 在30℃添加CuSO4/Na-K酒石酸盐
2. 混合30至90分钟
3. 过滤且保留固体
弃去
滤液
亮蓝色沉淀
1. 添加水以稀释
2. 混合15至60分钟
3. 过滤且保留固体
弃去
滤液
亮蓝色纤维状沉淀
1. 添加冷的5%至10%的HCl入EtOH
2. 匀浆30分钟
3. 添加75%（w/w）冷的EtOH
4. 匀浆30分钟
5. 过滤固体
弃去
滤液

图6A

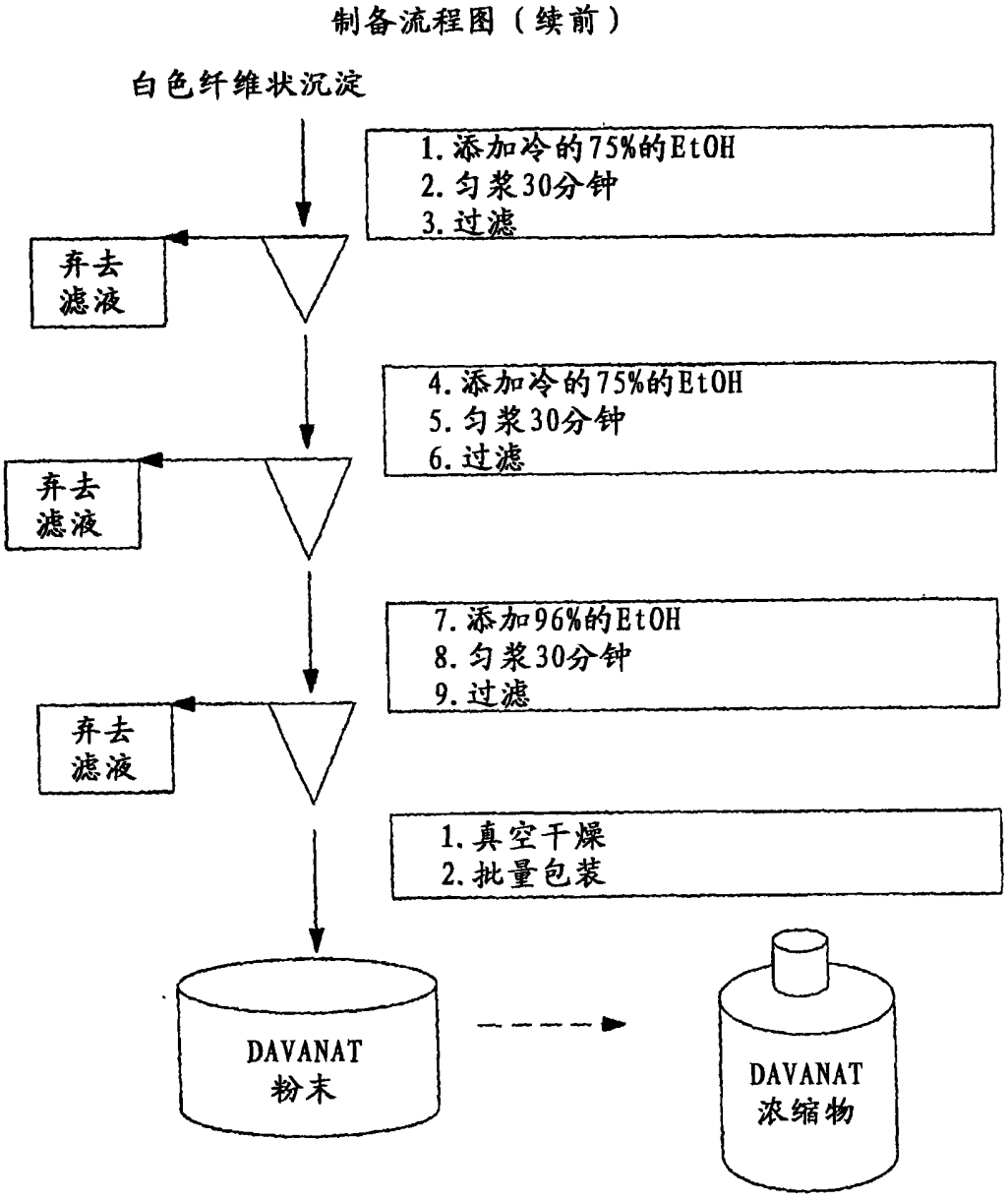

制备流程图（续前）
白色纤维状沉淀
1. 添加冷的75%的EtOH
2. 匀浆30分钟
3. 过滤
弃去
滤液
4. 添加冷的75%的EtOH
5. 匀浆30分钟
6. 过滤
弃去
滤液
7. 添加96%的EtOH
8. 匀浆30分钟
9. 过滤
弃去
滤液
1. 真空干燥
2. 批量包装
DAVANAT
粉末
DAVANAT
浓缩物

图6B

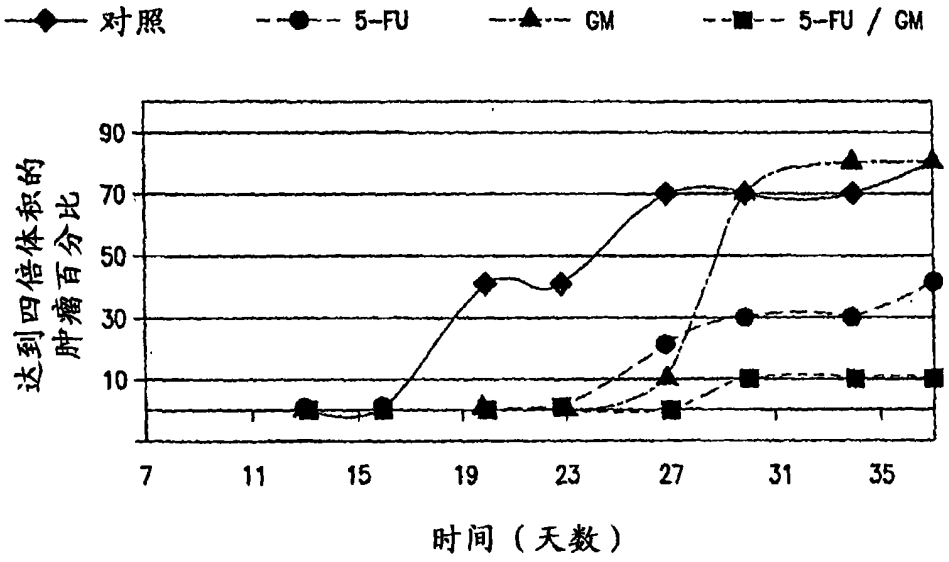

对照
5-FU
GM
5-FU / GM
达到四倍体积的肿瘤百分比
90
70
50
30
10
7
11
15
19
23
27
31
35
时间（天数）

图7

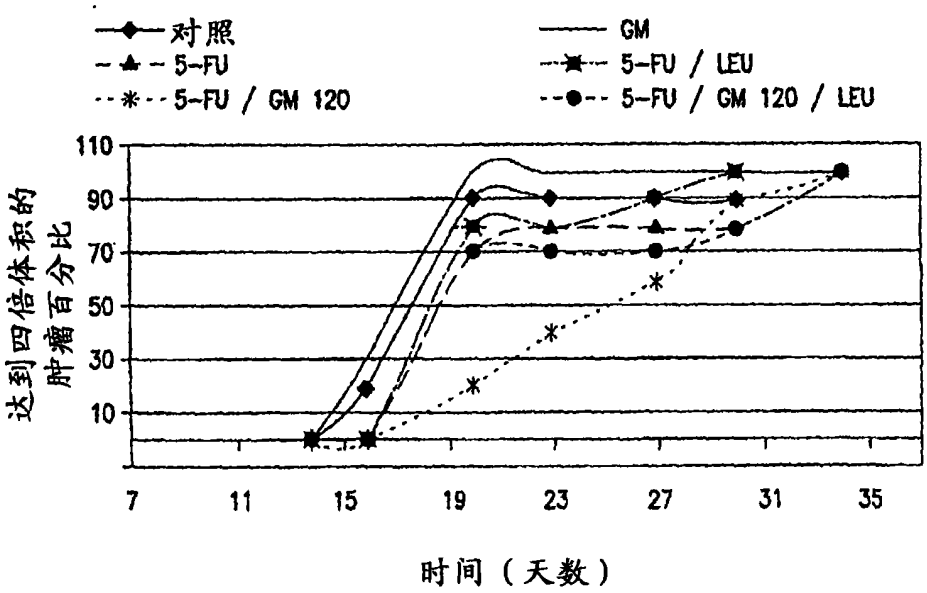

对照
5-FU
5-FU / GM 120
GM
5-FU / LEU
5-FU / GM 120 / LEU
达到四倍体积的肿瘤百分比
110
90
70
50
30
10
7
11
15
19
23
27
31
35
时间（天数）

图8

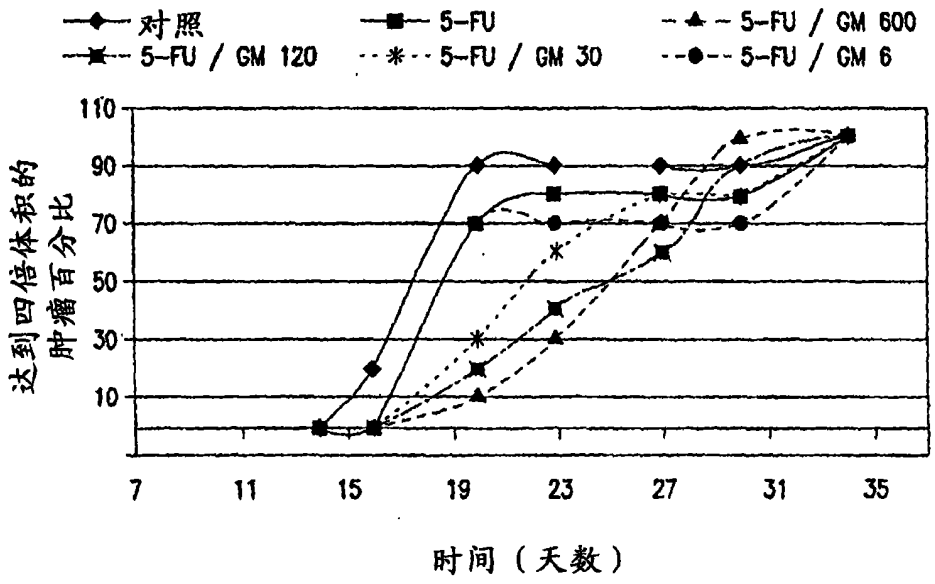

对照
5-FU
5-FU / GM 600
5-FU / GM 120
5-FU / GM 30
5-FU / GM 6
达到四倍体积的肿瘤百分比
110
90
70
50
30
10
7
11
15
19
23
27
31
35
时间（天数）

图9

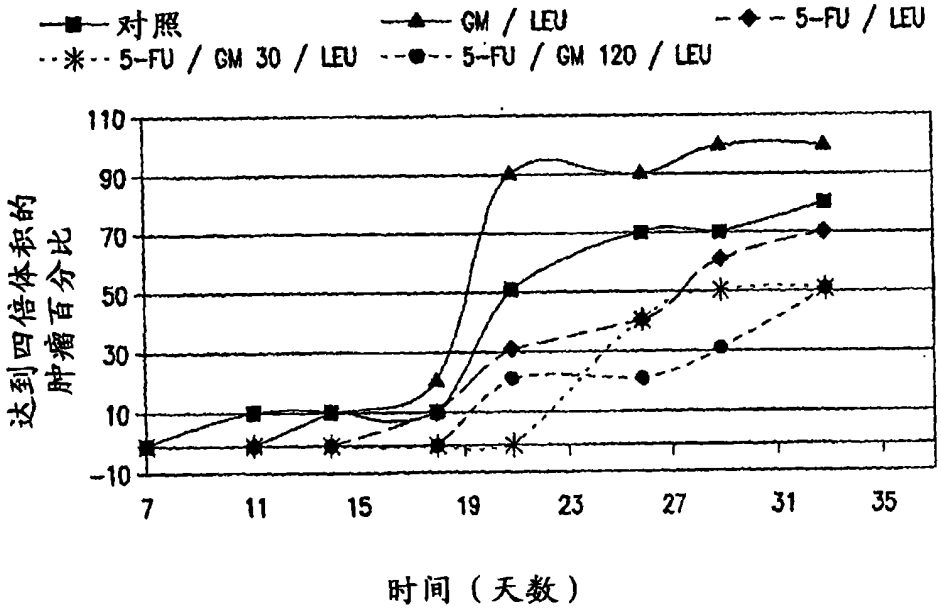

对照
GM / LEU
5-FU / LEU
5-FU / GM 30 / LEU
5-FU / GM 120 / LEU
达到四倍体积的肿瘤百分比
110
90
70
50
30
10
-10
7
11
15
19
23
27
31
35
时间（天数）

图10

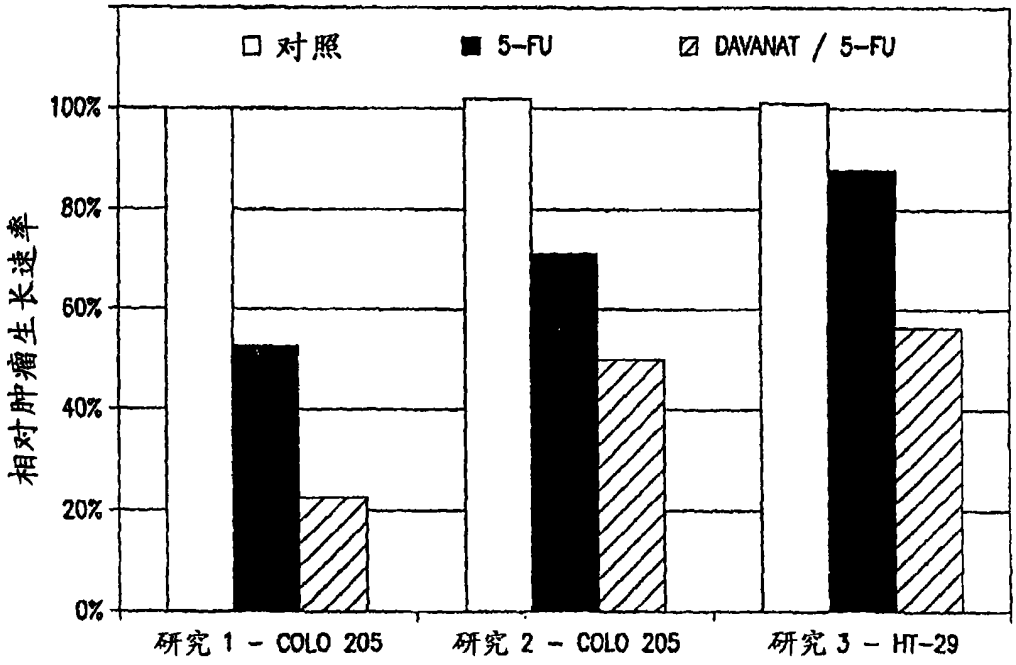

□ 对照
■ 5-FU
☑ DAVANAT / 5-FU
相对肿瘤生长速率
100%
80%
60%
40%
20%
0%
研究 1 - COLO 205
研究 2 - COLO 205
研究 3 - HT-29

图11