



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03812040.2

[43] 公开日 2005 年 8 月 17 日

[11] 公开号 CN 1655675A

[22] 申请日 2003.3.26 [21] 申请号 03812040.2
[30] 优先权
[32] 2002. 3. 26 [33] US [31] 60/367,574
[32] 2002. 10. 31 [33] US [31] 60/422,708
[86] 国际申请 PCT/US2003/009195 2003.3.26
[87] 国际公布 WO2003/082196 英 2003.10.9
[85] 进入国家阶段日期 2004.11.26
[71] 申请人 综合医院公司
地址 美国马萨诸塞州
[72] 发明人 D·K·波多尔斯基

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 温宏艳 王景朝

权利要求书 2 页 说明书 9 页 序列表 4 页
附图 4 页

[54] 发明名称 利用三叶肽的联合治疗
[57] 摘要

本发明涉及适用于治疗和预防上皮损害的联合治疗方法和组合物。通过将三叶肽治疗与另一种医学上有效的治疗剂联合来治疗或预防损害。用于与三叶肽联合治疗的合适的治疗剂包括化疗药物，特别是口服的化疗药物，止痛剂、抗生素和消炎剂。有用的三叶肽包括天然存在的三叶肽肠三叶因子、解痉多肽(SP)和 pS2，以及包含三叶结构域的非天然存在的肽。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种药物组合物, 所述组合物包含 (i) 三叶肽, 和 (ii) 治疗剂。

2. 权利要求 1 的组合物, 其中所述的三叶肽是解痉多肽、pS2、肠
5 三叶因子, 或其生物学活性片段。

3. 权利要求 1 的组合物, 其中所述的三叶肽是 ITF₁₋₇₃、ITF₁₅₋₇₃ 或 ITF₂₁₋₇₃。

4. 权利要求 1 的组合物, 其中所述的三叶肽包括具有基本上与 SEQ
ID NOs : 7-10 相同的序列的多肽。

10 5. 权利要求 1-4 的组合物, 其中所述的治疗剂是化疗剂。

6. 权利要求 5 的组合物, 其中所述的化疗剂选自: 白消安、替莫唑胺、依托泊苷、苯丙氨酸氮芥、5-氟尿嘧啶、卡培他滨、环磷酰胺、氨甲蝶呤和甲磺酸伊马替尼。

7. 权利要求 6 的组合物, 其中所述的化疗剂是甲磺酸伊马替尼。

15 8. 权利要求 1-7 的组合物, 其中所述的组合物适合于口服或静脉内给药。

9. 权利要求 1-4 的组合物, 其中所述的治疗剂是消炎剂。

10. 权利要求 1-4 的组合物, 其中所述的治疗剂是抗细菌剂、抗病毒剂或抗真菌剂。

20 11. 权利要求 1-4 的组合物, 其中所述的治疗剂是止痛剂。

12. 用于在被施用化疗剂的患者中减轻副作用的方法, 所述的方法包括在施用所述化疗剂的十四天内将三叶肽以足够减轻所述副作用的量施用于所述的患者。

13. 权利要求 12 的方法, 其中所述的三叶肽是解痉多肽、pS2、肠
25 三叶因子, 或其生物学活性片段。

14. 权利要求 12 的方法, 其中所述的三叶肽是 ITF₁₋₇₃、ITF₁₅₋₇₃ 或 ITF₂₁₋₇₃。

15. 权利要求 12 的方法, 其中所述的三叶肽包括具有基本上与 SEQ
ID NOs : 7-10 相同的序列的多肽。

30 16. 权利要求 12-15 的方法, 其中所述的三叶肽和所述的化疗剂是同时给药的。

17. 权利要求 12 - 16 的方法, 其中所述的三叶肽和所述的化疗剂

存在于一种药理学上可接受的组合物中。

18. 权利要求 12-17 的方法，其中所述的组合物适合于口服或静脉内给药。

19. 权利要求 12-18 的方法，其中所述的副作用是粘膜炎。

5 20. 权利要求 12-18 的方法，其中所述的副作用是肠炎或结肠炎。

21. 权利要求 12-18 的方法，其中所述的副作用是粘膜刺激性。

22. 权利要求 12-18 的方法，其中所述的副作用是静脉炎。

23. 权利要求 12-16 的方法，其中所述的三叶肽和所述的化疗剂在不同的药理学上可接受的组合物中给药。

10 24. 权利要求 23 的方法，其中所述的三叶肽在所述的化疗剂前给药。

25. 权利要求 23 的方法，其中所述的三叶肽在所述的化疗剂后给药。

利用三叶肽的联合治疗

发明背景

- 5 癌症是广义的术语，包括超过一百种的不同疾病状况。癌症的特点在于异常的和/或不受控制的细胞生长，其可能受到大量因素，包括化学、辐射、病毒和不确定的环境因素的触发。另外癌症的发生和发展受每个患者独有的，包括遗传构成、激素水平及营养和免疫状态的生理学和生物因素的影响。
- 10 化学抗肿瘤剂（化疗药物）预防了癌性细胞的发育、成熟和扩散。化疗的方案目前利用各种各样的产品，包括烷化剂、抗代谢物、激素激动剂和拮抗剂、亚硝基脲类和植物生物碱。然而化学疗法经常受到自然的和严重的副作用的限制。因此，当抗癌治疗的焦点从短期的治愈治疗转移到长期的疾病控制时，就需要辅助治疗减少或消除
- 15 副作用。

发明概述

- 本发明涉及减轻上皮损害的治疗方法和组合物。本发明使用包含三叶肽（trefoil peptide）和至少一种其他治疗剂的药物组合物。
- 20 因此，本发明提供了包含（i）三叶肽，和（ii）至少一种治疗剂的药物组合物。该组合物可为通过任何适当的给药途径（例如口服、肠胃外的、透皮的、眼部的或直肠的）递送而配制；然而，适用于口服或静脉内给药的组合物是最优选的。
- 本发明也涉及通过在医药介入 14 天、10 天、7 天、5 天、3 天、
- 25 24 小时、12 小时、1 小时内或与医药介入同时施用三叶肽，而用于减轻由医药介入损害粘膜上皮细胞所产生的副作用的方法。例如抗肿瘤治疗（即，外科肿瘤切除术、化学疗法和放射疗法）是已知的特别损害粘膜上皮细胞的医药介入，其是三叶肽疗法的适应证。当抗肿瘤疗法是化疗时，该化疗剂可在相同或不同的药物组合物中给药。当在不同的组合物中给药时，该组合物不必通过相同的途径、同时或持续相同的时间给药。
- 30

本发明的治疗方法和组合物可以是任何治疗剂与三叶肽的组合。

- 优选地，治疗剂是化疗剂、抗菌剂、抗真菌剂、抗病毒剂、止痛剂或消炎剂。更优选地，该治疗剂是化疗剂，特别是适用于口服的化疗剂，并且选自白消安、替莫唑胺、依托泊苷、苯丙氨酸氮芥、5-氟尿嘧啶、卡培他滨、环磷酰胺、氮甲蝶呤和甲磺酸伊马替尼。最优选地，
- 5 该化疗剂是甲磺酸伊马替尼。

治疗剂递送的优选途径是通过口服（例如，丸剂、胶囊剂、片剂或糖浆剂）或静脉内注射；然而，当临床上指明时，皮下的、肌内的、眼用的、阴道的、直肠的或局部的给药也是适用的。

- 可有效治疗或预防的由医药介入（例如化疗）所引起的副作用包括任何上皮损害，包括消化道上皮和血管上皮的损害。具体地，特别
- 10 受使用本发明方法的治疗作用的上皮损害包括，例如粘膜炎、肠炎、结肠炎、粘膜刺激性和静脉炎。

- 本发明的方法和组合物以已知临床上有效的剂量使用任何治疗剂。然而，由于副作用经常限制许多治疗剂，特别是化疗药物的最大耐
- 15 药量，使用三叶肽的联合治疗可容许比可能在缺乏三叶肽治疗的情况下施用更高的治疗剂量。

- "三叶肽"（TP）指任何具有至少一个三叶结构域（TD）并保持天然存在的三叶肽的生物活性特征的多肽。因此，优选的TP可以是与人解
- 20 痘多肽（hSP；亦称TFF2，GenBank登记号No. NM_005423；SEQ ID NO：5）、人pS2（亦称TFF1，GenBank登记号No. XM_009779；SEQ ID NO：3）、人肠三叶因子（hITF；亦称TFF3，SEQ ID NO：1）基本上相同的任何哺乳动物同源的或人工的多肽，以及其生物学活性片段。如果需要，TP可在三叶结构域外侧包含半胱氨酸残基以适于在形成同型和杂二聚物中的二硫键。最优选地，附加的半胱氨酸是C末端
- 25 相对于三叶结构域。例证性的TP包括ITF₁₅₋₇₃、ITF₁₋₆₂、ITF₁₋₇₀、ITF₁₋₇₂、ITF₂₅₋₇₃、ITF₁₋₇₃和ITF₂₁₋₇₃。优选地，TP是由在高严谨条件下与编码hITF（SEQ ID NO：2）、hSP（SEQ ID NO：6）或hpS2（SEQ ID NO：4）的序列杂交的核酸分子编码的。适用于本发明方法的TP可作
- 30 为单体、二聚体或多聚体存在。例如，TP单体可形成链间的二硫键以形成二聚体。

"三叶结构域"指具有与SEQ ID NOs：7-10中的任一个基本上相同的序列的多肽，SEQ ID NOs：7-10分别相应于hpS2₃₀₋₇₀、hSP₃₀₋₇₁、

hSP₈₀₋₁₂₀和hITF₂₄₋₆₄的三叶结构域,并保持三叶肽的至少一种生物活性特征。4种鉴定的人三叶结构域的多肽序列排列对比显示在图4中。本领域公认6个保守的半胱氨酸残基的一个功能是赋予该蛋白质特征性的3环(三叶)结构。环结构证实了cys₁-cys₅(相应于hITF的氨基酸残基25和51;SEQ ID NO:1)、cys₂-cys₄(相应于hITF的氨基酸残基35和50;SEQ ID NO:1),和cys₃-cys₆(相应于hITF的氨基酸残基45和62;SEQ ID NO:1)的普遍的链内二硫化物构象。

"化疗剂"指施用于患者,优选人类患者,以提供抗肿瘤治疗的任何化学物质。特别有用的化疗药物种类包括烷化剂、抗代谢物、激素激动剂和拮抗剂、亚硝基脲类和植物生物碱。最优选的是口服给药有效的化疗药物,例如白消安、替莫唑胺、依托泊苷、苯丙氨酸氮芥、5-氟尿嘧啶、卡培他滨、环磷酰胺、氮甲蝶呤和甲磺酸伊马替尼。

"副作用"指与医药方法或治疗(例如抗肿瘤化疗)相关的任何并发症、不期望的生物活性或并行毒性。最受本发明的方法和组合物影响的副作用是由上皮细胞,包括但不限于肠胃的、皮肤的、眼部的、泌尿生殖器的、呼吸的和心血管的上皮细胞的破坏所引起的副作用。可通过本发明缓和或消除的一般副作用包括,例如皮肤反应,包括光敏感性、疹、辐射回忆、红斑性掌足红肿疼痛(erythrodysesthesia)(以溶胀、疼痛和红斑为特征的皮肤疹)。肠胃的副作用包括粘膜炎、口炎、结肠炎、出血性肠炎、肠穿孔、便秘、腹泻、恶心和消化不良。其他可减轻的副作用包括肺水肿、慢性阻塞性肺病(COPD)、静脉炎和结膜炎。

"共同配制"指任何单个的药物学上可接受的组合物包含两种或多种治疗剂或生物活性剂,例如三叶肽和化疗剂。最普遍的共同制剂是适用于口服的组合物,例如溶液、悬浮液、丸剂、胶囊剂或片剂,其中每个单位包含多种治疗剂。

"药物制剂"或"药物学上可接受的组合物"指适用于通过任何途径施用于患者的任何组合物,其中该组合物包含至少一种治疗的或生物活性剂和药物学上可接受的赋形剂。一般的药物制剂包括,但不限于用于口服的丸剂、胶囊剂、片剂和糖浆,以及用于静脉内、肌肉或皮下注射的缓冲水溶液。口服的粘稠溶液可以喷雾或雾化合剂的形式施用于口腔。可使用栓剂用于阴道内或直肠给药。喷雾器溶液和多剂量

吸入器制剂适合于吸入给药，而眼用滴液适于眼部的递送。任何这些制剂都可通过本领域公知的和可接受的方法制备。参见例如，Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第 19 版, (AR Gennaro 编辑), Mack 出版公司, Easton, PA, 1995。

5 "生物学活性", 当涉及 TP 时, 是指任何多肽显示为天然存在的三叶肽所共有的活性。为三叶肽家族所共有的生物活性的实例是能够在哺乳动物中改变肠胃的能动性。其他的生物活性包括粘膜多糖的结合、粘膜的维护和创伤中粘膜完整性的修复(参见例如, Taupin 等人, Proc. Natl. Acad. Sci, USA, 97 : 799-804, 1999)。

10 "基本上相同", 当涉及 SEQ ID NOs.: 7-10 的三叶结构域时, 是指氨基酸序列与所参比的氨基酸的序列具有 85%、90%、95%或 99%的序列同一性。本领域公认, 如果氨基酸序列仅仅是由于保守的氨基酸替换而不同, 多肽也可能是基本上相同的, 例如, 替换一个氨基酸为另一个同类的氨基酸(例如, 任何疏水的氨基酸可相互替换, 即, 甲硫氨酸、缬氨酸、丙氨酸、异亮氨酸和亮氨酸; 精氨酸对于赖氨酸等)。
15 对于多肽, 比较序列的长度可一般至少为 30 个氨基酸, 优选至少 40 个氨基酸, 更优选至少 50 个氨基酸, 以及最优选至少 60 个氨基酸。对于核酸, 比较序列的长度可一般为至少 60 个核苷酸, 优选至少 90 个核苷酸, 以及更优选至少 120 个核苷酸。

20 "高严谨条件"指以高温和低离子强度并容许杂交为特征的任何条件组, 其中杂交与利用至少 40 个核苷酸长度的 DNA 探针, 在包含 0.5 M NaHPO₄, pH 7.2, 7% SDS, 1mM EDTA 和 1% BSA (Fraction V) 的缓冲液中, 在 65℃ 的温度下; 或在包含 48% 甲酰胺, 4.8 × SSC, 0.2 M Tris-Cl, pH 7.6, 1 × Denhardt's 溶液, 10% 硫酸葡聚糖和 0.1% SDS
25 的缓冲液中, 在 42℃ 的温度下所得到的结果相当。其他用于高严谨杂交, 例如用于 PCR、Northern、Southern 或原位杂交、DNA 测序等的条件是分子生物学领域的技术人员公知的。参见例如, F. Ausubel 等人, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, 纽约, NY, 1998, 其由此引入作为参考。

30 "分离的 DNA"指摆脱天然存在于衍生 DNA 的生物体的基因组中的, DNA 侧面基因的 DNA。因此, 术语"分离的 DNA"包括例如, cDNA、克隆的基因组 DNA 和合成的 DNA。

本发明的其他特性和优势可从下列的发明详述和权利要求中明显体现出来。

附图简述

5 图 1A-B 分别显示人肠三叶因子 (hITF) 的氨基酸序列 (登记号 BAA95531; SEQ ID NO.: 1) 和 cDNA 序列 (GenBank 登记号 NM-003226; SEQ ID NO.: 2)。

图 2A 和 2B 分别显示人 pS2 (hpS2) 蛋白质的氨基酸序列 (登记号 NP-0032166; SEQ ID NO.: 3) 和 cDNA 序列 (SEQ ID NO.: 4)。

10 图 3A 和 3B 显示人解痉多肽的氨基酸序列 (登记号 1909187A; SEQ ID NO.: 5) 和 cDNA 序列 (SEQ ID NO.: 6)。

图 4 是 hsP2、hSP 和 hITF 的三叶结构域 (SEQ ID NOS.: 7-10) 的多序列对比。X 表示任何氨基酸残基。

15 发明详述

许多抗肿瘤的化疗的目的是破坏快速分裂的癌细胞。化疗的副作用经常是剂量限制的并且经常出现附带损害机体内其他的增殖但非癌性细胞群体增殖的后果。特别敏感的增殖细胞群体包括肠胃的、呼吸的和泌尿道, 以及真皮和表皮的上皮细胞。

20 粘膜炎是与化疗相关的普遍副作用, 其特征为粘膜的炎症, 特别是口腔和肠胃道 (GI) 粘膜的炎症。肠内的隐窝细胞是高度有丝分裂活化的并且对化疗的破坏最敏感。粘膜炎的症状包括溃疡、充血和溶胀, 导致脱水作用和营养不良、疼痛、恶心、呕吐、腹部绞痛和腹泻。在严重的情况下, 粘膜炎可能使患者衰弱到可能需要延长住院治疗、

25 胃肠外给予营养和麻醉疼痛药疗。另外, GI 粘膜的破坏增加了患者对局部和全身感染及败血症的敏感度。屏障功能的破坏容许微生物进入并且微生物的产物一般保留在肠管内腔中。因此, 减少与化疗相关的副作用的药物制剂可能改善患者的生活质量, 自疗的适应性, 以及可容许施用更高的化疗剂量。

30 哺乳动物的三叶肽发现于 1982 年。一种哺乳动物三叶肽, 人肠三叶因子 (ITF) 已经被广泛表征, 并且在美国专利 Nos. 6, 063, 755 和 6, 221, 840 中有描述, 其由此引入作为参考。另 2 种已知的人三叶肽

是解痉多肽 (SP) 和 pS2。广泛描述于文献中的三叶肽 (例如, Sands 等人, Annu. Rev. Physiol. 58 : 253-273 (1996), 由此引入作为参考), 在胃肠道内表达并且具有由保守的半胱氨酸残基之间的链内二硫键形成的 3 环结构。这些肽防止肠道创伤并且可用于治疗例如消化道溃疡和炎症性肠病的肠道紊乱。这些人类的肽的同源物已经在许多非人的动物种属中被发现。这些人类和非人类的蛋白质家族的所有成员, 在此都指三叶肽。人 ITF 在本申请中是最广泛涉及的; 然而, 人 ITF 的活性是为每一种哺乳动物三叶肽所共有的。

10 三叶肽的生产

三叶肽可通过本领域已知的用于表达重组蛋白质的任何方法生产。例如, 可将编码三叶肽或其片段的分离核酸克隆到哺乳动物表达载体中。合适的载体包括 pMAMneo (Clontech, Palo Alto, Calif), 其提供连接到地塞米松-诱导的 MMTV-LTR 启动子上的 RSV-LTR 增强子, SV40 复制原点 (容许在 COS 细胞中复制), 新霉素基因和 SV40 剪接和多聚腺苷酸位点。该载体可用于在 COS 细胞、CHO 细胞或小鼠成纤维细胞中表达蛋白质。该基因也可克隆到在果蝇细胞中使用杆状病毒表达系统表达的载体中。这些生产方法是本领域中已知的技术的例证性说明, 而并不是意图加以限制。

20

剂型

本发明涉及使用三叶肽和抗肿瘤化疗剂的联合治疗。任选地, 可包括其他治疗剂, 例如抗生素 (抗细菌剂、抗真菌剂或抗病毒剂), 抗炎剂或止痛剂。对于所有治疗剂的优选给药途径是口服; 然而, 一种或多种治疗剂可通过其他途径给药包括, 例如肠胃外注射 (即静脉内、肌内的或皮下的)、直肠的或阴道的栓剂、局部施用或眼用制剂。当需要进行自疗时, 为了便于递送并且最大化患者的适应性, 优选地, 施用包含每个活性治疗剂的单个剂型。备选地, 治疗剂可以分开的剂型, 使用相同或不同的给药途径施用, 以容许精确控制时机和每种治疗剂成分的剂量。例如, 化疗剂通过每 2 周 1 次的静脉内注射递送并且每天摄取包含三叶肽的胶囊剂。

30

口服

因此，最优选的剂型是适用于摄取的单个剂型，其同时包含化疗剂和三叶肽。该剂型可以是例如丸剂、胶囊剂、片剂、乳剂、溶液、悬浮液、糖浆或软胶胶囊。本领域用于制备剂型的公知方法可在，例如
5 如 Remington's Pharmaceutical Sciences (第 19 版)，A. Gennaro 编辑，1995，Mack 出版公司，Easton, PA 中得到。

本领域的技术人员将认识到三叶肽和化疗剂可在持续释放的组合物中口服施用，例如在如美国专利 No. 5,672,659 和美国专利 No. 5,595,760 中所描述的组合物。直接的或持续释放的组合物的使用取
10 决于待治疗的病症的类型，待治疗或预防的副作用，以及该治疗剂的药物动力学特性。

在其他的实施方案中，可制备将治疗剂定向释放到胃肠道特定区域的剂型。例如，可将该治疗剂配制在具有持续释放特性的纤维素支架或其他的递送载体中，并且保持在胃中以延长时间期限（参见例如，
15 美国专利 Nos. 4,946,685 和 6,261,601）。备选地，化疗剂和三叶肽可包封在预防在胃中发生释放降解和释放，但在小肠的适度酸性或中性 pH 的环境中轻易溶解的肠溶衣中。还可利用例如时间依赖或 pH、酶促侵蚀的聚合母体或包衣，渗透泵、磁性或无线电频-诱导释放的技术，而使用将释放药物导向结肠的剂型。

对于特殊的治疗，化疗剂和三叶肽可在胃肠道的不同区域释放。可制备在层之间具有不同释放特性的多层剂型。例如，制备包含化疗剂的内核并包封在肠溶衣内。然后增加包含三叶肽的外层。该剂型具有在胃中释放酸稳定的三叶肽以提供胃粘膜病变的加强治疗，同时保
20 存在小肠或大肠释放的化疗剂内核的完整性的优势。三叶肽可以与另一种属通过包涵、离子缔合、氢键合、疏水键合或共价键合而复合，以改变其定向递送的特性。此外，对酶促敏感的聚合体或复合物或微生物的裂解物也可用作递送药物的方式。备选地，两级释放剂型可由包封治疗剂、以在较低的胃肠道稍后释放的酸稳定微球体，与另一种
25 治疗剂的立即释放剂型混合组成。微球体可通过任何合适的方法或从任何药理学上可接受的物质生产。特别有效的是类蛋白微球体（参见例如，美国专利 Nos. 5,601,846，或 5,792,451）和包含 PLGA 的微球体（参见例如，美国专利 No. 6,235,224）。

- 例如如上所述的，物理上分开的三叶肽和另一种治疗剂的多层或其他的药物剂型，可用于预防治疗剂之间的化学反应。例如，三叶肽由于保守的半胱氨酸残基之间的分子内二硫键，形成特征性的3环结构。因此，需要保持含硫的氨基酸处在还原态。因此，当共同剂型需要三叶肽和氧化剂时，优选保持2种治疗剂在物理上分开，以保持每种治疗剂的效价。

肠胃外给药

- 在另一个特别合乎需要的实施方案中，化疗剂和三叶肽共同配制在适用于肠胃外递送，例如静脉内注射的单一制剂中。除增加便利外，化疗制剂中三叶肽的存在减少了在化疗注射位点的静脉炎的发生和严重度。备选地，对于化疗剂的静脉内给药，少量的三叶肽剂型是为了防止注入位点的静脉炎，但是大剂量的三叶肽治疗是口服施用的。

15 剂量

- 本发明的方法和组合物中所使用的三叶肽应该以治疗有效量提供。优选地，每天对患者施用1次、2次或3次1、10、50、100、250或500毫克的三叶肽。三叶肽治疗将延续直到治愈上皮损害，或在化疗期间持续使用。一般地，治疗的持续时间可以是1周至1个月；然而，治疗可能需要差不多1年，乃至患者的终生。

- 本发明的药物制剂和治疗中使用的化疗剂可以目前已知的和用于该试剂的剂量范围使用。然而，由于使用三叶肽所治疗的副作用经常限制化疗剂的最大耐药量，本发明的联合治疗可容许化疗剂比另外使用时是更高剂量的。三叶肽和化疗剂的剂量可根据患者的临床状况、癌症的类型和副作用的预期严重度而改变。剂量选择中的辅助考虑事项包括：疾病病原学、患者年龄（儿科的、成人的、老年的），综合健康和复合病变。表1提供了公知的口服施用有效的例证性的化疗剂；然而，任何有效的化疗剂可根据本发明的方法，不考虑给药途径而与三叶肽联合使用。

表 1-例证性的口服化疗剂	
化疗剂	内服量
白消安	1.0 -12.0 mg/m ² /天
替莫唑胺	100-200 mg/m ² /天
依托泊苷	50-200 mg/m ² /天
苯丙氨酸氮芥	4.0 -12.0 mg/m ² /天
卡培他滨	625-2500 mg/m ² /天
环磷酰胺	1.0 -5.0 mg/kg/天
氮甲蝶呤	0.625 -2.5mg/kg/天
甲磺酸伊马替尼	400-600 mg/天

其他的实施方案

- 本领域的技术人员可以认识到，当与抗肿瘤的化疗联合使用时，
- 5 在此所描述的方法和组合物可如临床上所指明的，任选地包括一种或多种辅助的治疗剂。本发明的方法和组合物可使用的其他有效的治疗剂包括，例如抗生素，包括抗细菌剂、抗病毒剂和抗真菌剂、抗炎剂，以及止痛剂。辅助的治疗剂可以分开的剂型或可与在此所描述的任何一种或多种治疗剂组合物的共同剂型给药。
- 10 进一步地，适用于口服给药的、包含三叶肽和除了化疗剂的治疗剂的剂型对于治疗不接受抗肿瘤治疗的患者的胃肠道损害和其他病症是有效的。

<110> The General Hospital Corporation

<120> 利用三叶肽的联合治疗

<130> 50206/010W02

<150> US 60/422,708

<151> 2002-10-31

<150> US 60/367,574

<151> 2002-03-26

<160> 10

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 73

<212> PRT

<213> 人类

<400> 1

```
Met Leu Gly Leu Val Leu Ala Leu Leu Ser Ser Ser Ser Ala Glu Glu
 1             5             10             15
Tyr Val Gly Leu Ser Ala Asn Gln Cys Ala Val Pro Ala Lys Asp Arg
      20             25             30
Val Asp Cys Gly Tyr Pro His Val Thr Pro Lys Glu Cys Asn Asn Arg
      35             40             45
Gly Cys Cys Phe Asp Ser Arg Ile Pro Gly Val Pro Trp Cys Phe Lys
 50             55             60
Pro Leu Gln Glu Ala Glu Cys Thr Phe
65             70
```

<210> 2

<211> 222

<212> DNA

<213> 人类

<400> 2

```
atgctggggc tggctcctggc cttgctgtcc tccagctctg ctgaggagta cgtgggcctg 60
tctgcaaacc agtgtgccgt gccagccaag gacaggggtg actgcggcta ccccatgtc 120
acccccaagg agtgcaacaa ccggggctgc tgctttgact ccaggatccc tggagtgcct 180
tgggtgtttca agccctgca ggaagcagaa tgcaccttct ga 222
```

<210> 3

<211> 84

<212> PRT

<213> 人类

<400> 3

```
Met Ala Thr Met Glu Asn Lys Val Ile Cys Ala Leu Val Leu Val Ser
 1             5             10             15
Met Leu Ala Leu Gly Thr Leu Ala Glu Ala Gln Thr Glu Thr Cys Thr
      20             25             30
Val Ala Pro Arg Glu Arg Gln Asn Cys Gly Phe Pro Gly Val Thr Pro
      35             40             45
Ser Gln Cys Ala Asn Lys Gly Cys Cys Phe Asp Asp Thr Val Arg Gly
50             55             60
```

Val Pro Trp Cys Phe Tyr Pro Asn Thr Ile Asp Val Pro Pro Glu Glu
 65 70 75 80
 Glu Cys Glu Phe

<210> 4
 <211> 255
 <212> DNA
 <213> 人类

<400> 4
 atggccacca tggagaacaa ggtgatctgc gccctgggtcc tgggtgtccat gctggccctc 60
 ggcaccctgg ccgaggccca gacagagacg tgtacagtgg cccccgtga aagacagaat 120
 tgttggttttc ctggtgtcac gccctcccag tgtgcaaata agggctgctg ttccgacgac 180
 accgttcgtg ggggtcccctg gtgcttctat cctaatacca tcgacgtccc tccagaagag 240
 gagtgtgaat ttttag 255

<210> 5
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人类

<400> 5
 Glu Lys Pro Ser Pro Cys Gln Cys Ser Arg Leu Ser Pro His Asn Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Cys Gly Phe Pro Gly Ile Thr Ser Asp Gln Cys Phe Asp Asn
 20 25 30
 Gly Cys Cys Phe Asp Ser Ser Val Thr Gly Val Pro Trp Cys Phe His
 35 40 45
 Pro Leu Pro Lys Gln Glu Ser Asp Gln Cys Val Met Glu Val Ser Asp
 50 55 60
 Arg Arg Asn Cys Gly Tyr Pro Gly Ile Ser Pro Glu Glu Cys Ala Ser
 65 70 75 80
 Arg Lys Cys Cys Phe Ser Asn Phe Ile Phe Glu Val Pro Trp Cys Phe
 85 90 95
 Phe Pro Asn Ser Val Glu Asp Cys His Tyr
 100 105

<210> 6
 <211> 390
 <212> DNA
 <213> 人类

<400> 6
 atgggacggc gagacgcca gctcctggca gcgctcctcg tcctggggct atgtgccctg 60
 gcggggagtg agaaaccctc cccctgccag tgctccaggc tgagcccca taacaggacg 120
 aactgcggct tccctggaat caccagtgc cagtgttttg acaatggatg ctgtttcgac 180
 tccagtgtca ctgggggtccc ctggtgtttc caccacctcc caaagcaaga gtcggatcag 240
 tgcgtcatgg aggtctcaga ccgaagaaac tgtggctacc cgggcatcag ccccgaggaa 300
 tgcgcctctc ggaagtgcgt cttctccaac ttcattcttg aagtgcctg gtgcttcttc 360
 ccgaagtctg tggaagactg ccattactaa 390

<210> 7
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的
 <221> 变体

<222> 1, 41

<223> Xaa = 任何氨基酸

<400> 7

Xaa	Cys	Thr	Val	Ala	Pro	Arg	Glu	Arg	Gln	Asn	Cys	Gly	Phe	Pro	Gly
1				5					10					15	
Val	Thr	Pro	Ser	Gln	Cys	Ala	Asn	Lys	Gly	Cys	Cys	Phe	Asp	Asp	Thr
			20					25					30		
Val	Arg	Gly	Val	Pro	Trp	Cys	Phe	Xaa							
		35					40								

<210> 8

<211> 42

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<221> 变体

<222> 1, 42

<223> Xaa = 任何氨基酸

<400> 8

Xaa	Cys	Ser	Arg	Leu	Ser	Pro	His	Asn	Arg	Thr	Asn	Cys	Gly	Phe	Pro
1				5					10					15	
Gly	Ile	Thr	Ser	Asp	Gln	Cys	Phe	Asp	Asn	Gly	Cys	Cys	Phe	Asp	Ser
			20					25					30		
Ser	Val	Thr	Gly	Val	Pro	Trp	Cys	Phe	Xaa						
		35					40								

<210> 9

<211> 41

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<221> 变体

<222> 1, 41

<223> Xaa = 任何氨基酸

<400> 9

Xaa	Cys	Val	Met	Glu	Val	Ser	Asp	Arg	Arg	Asn	Cys	Gly	Tyr	Pro	Gly
1				5					10					15	
Ile	Ser	Pro	Glu	Glu	Cys	Ala	Ser	Arg	Lys	Cys	Cys	Phe	Ser	Asn	Phe
			20					25					30		
Ile	Phe	Glu	Val	Pro	Trp	Cys	Phe	Xaa							
		35					40								

<210> 10

<211> 41

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<221> 变体

<222> 1, 41

<223> Xaa = 任何氨基酸

<400> 10

Xaa	Cys	Ala	Val	Pro	Ala	Lys	Asp	Arg	Val	Asp	Cys	Gly	Tyr	Pro	His
1					5				10					15	
Val	Thr	Pro	Lys	Glu	Cys	Asn	Asn	Arg	Gly	Cys	Cys	Phe	Asp	Ser	Arg
			20					25					30		
Ile	Pro	Gly	Val	Pro	Trp	Cys	Phe	Xaa							
		35					40								

```
1  MLGLVLALLS SSSAEYVGL SANQCAVPAK DRVDCGYPHV
41 TPKECNRGC CFDSRIPGVP WCFKPLQEAE CTF
```

(SEQ ID NO.:1)

图 1A

```
1  atgctggggc tggtectggc cttgctgtcc tccagctctg ctgaggagta cgtgggcctg
61 tctgcaaacc agtgtgccgt gccagccaag gacaggggtg actgcggcta ccccatgtc
121 accccaagg agtgcaacaa ccggggctgc tgctttgact ccaggatccc tggagtgcct
181 tggtgtttca agccctgca ggaagcagaa tgcaccttct ga
```

(SEQ ID NO.:2)

图 1B

```
1  MATMENKVIC ALVLVSMLAL GTLAEAQTET CTVAPRERQN
41  CGFPGVTPSQ CANKGCCFDD TVRGVPWCFY PNTIDVPPEE
81  ECEF
```

(SEQ ID NO.:3)

图 2A

```
1  atggccacca tggagaacaa ggtgatctgc gccctggtec tgggtgccat gctggccctc
61  ggcaccctgg ccgaggccca gacagagacg tgtacagtgg ccccccgtga aagacagaat
121  tgtgggttttc ctgggtgtcac gccctcccag tgtgcaaata agggctgctg ttctgacgac
181  accgttcgtg gggccccctg gtgcttctat cctaatacca tcgacgtccc tccagaagag
241  gagtgtgaat tttag
```

(SEQ ID NO.:4)

图 2B

```
1   EKPSPCQCSR LSPHNRTNCG FPGITSDQCF DNGCCFDSSV
41  TGVPWCFHPL PKQESDQCVN EVSDRRNCGY PGISPEECAS
81  RKCCFSNFIF EVPWCFFPNS VEDCHY
```

(SEQ ID NO.:5)

图 3A

```
1   atgggacggc gagacgcca gctcctggca gcgctcctcg tcctggggct atgtgccctg
61  gcggggagtg agaaaccctc cccctgccag tgctccagge tgagcccca taacaggacg
121 aactgcggct tccctggaat caccagtga cagtgttttg acaatggatg ctgtttcgac
181 tccagtgtca ctgggggtccc ctggtgtttc cccccctcc caaagcaaga gtcggatcag
241 tgcgtcatgg aggtctcaga ccgaagaaac tgtggctacc cgggcatcag ccccgaggaa
301 tgcgcctctc ggaagtgtcg cttctccaac ttcattcttg aagtgcctg gtgcttcttc
361 ccgaagtctg tggaagactg ccattactaa
```

(SEQ ID NO.:6)

图 3B

hpS2 (30-70)	xct-vaprerqncgfpvgvtpsqcankgccfddtvrgvpwcfx	SEQ ID NO.:7
hSP-1 (30-71)	xcsrlsphnrtnegfpgitdqcfdngccfdsevtgvpwcfx	SEQ ID NO.:8
hSP-2 (80-120)	xcv-mevsdrnecgypgispeecasrkccfsnfifevpwcfx	SEQ ID NO.:9
ITF (24-64)	xca-vpakdrvdcgyphvtpkecnrsgccfdr ipgvpwcfx	SEQ ID NO.:10

图 4