

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl⁶

A61K 31/70



[12] 发明专利申请公开说明书

A61K 31/505 C07H 19/067

C07D239/00 C07D237/02

[21] 申请号 96195929.0

[43]公开日 1998 年 9 月 2 日

[11] 公开号 CN 1192149A

[22]申请日 96.6.6

[30]优先权

[32]95.6.7 [33]US[31]08/472,210

[86]国际申请 PCT/US96/10067 96.6.6

[87]国际公布 WO96/40165 英 96.12.19

[85]进入国家阶段日期 98.1.26

[71]申请人 普罗神经细胞有限公司

地址 美国马利兰州

[72]发明人 R·W·范波尔斯特尔

M·K·巴马特

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 魏金玺 谭明胜

权利要求书 4 页 说明书 70 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 用酰化嘧啶核苷降低化疗剂和抗病毒剂的毒性的方法

[57]摘要

本发明公开了用于化疗剂和抗病毒剂所致的毒性的治疗和预防的化合物、组合物及方法。所公开的是非甲基化嘧啶核苷的酰化衍生物。这些化合物能缓解接受了抗病毒或抗肿瘤化疗的动物的造血系统受到的损害。

权 利 要 求 书

1. 一种治疗癌症的方法，该方法包括：

(a) 以大于正常最大耐受剂量的至少 1.5 倍使用嘧啶核苷类似物，
和

5 (b) 使用药理学上有效量的非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物。

2. 权利要求 1 所述的方法，其中所述嘧啶核苷类似物选自 5-氟尿嘧啶 (5-FU)、5-FU 药物前体，包括喃氟啶和 5'-脱氧氟尿苷、氟尿苷、2'-脱氧氟尿苷、氟尿苷的药物前体衍生物或 2'-脱氧氟尿苷的药物前体衍生物、氟胞嘧啶、三氟-甲基-2'-脱氧尿苷、阿糖胞嘧啶、阿糖胞嘧啶药物前体、环胞苷、5-氮杂-2'-脱氧胞苷、阿糖 5-氮杂胞嘧啶、6-氮杂胞苷、N-膦酰基乙酰基-L-天冬氨酸 (PALA)、吡唑呋喃菌素、6-氮杂尿苷、阿扎利宾、胸苷以及 3-脱氮杂尿苷。

3. 权利要求 1 所述的方法，其中所述嘧啶核苷类似物是 5-氟嘧啶或 5-氟嘧啶核苷类似物，而所述非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物是尿苷、胞苷或脱氧尿苷的酰基衍生物。

4. 权利要求 3 所述的方法，其中所述 5-氟嘧啶或 5-氟嘧啶核苷类似物选自 5-氟尿嘧啶、5-氟尿嘧啶药物前体，包括喃氟啶和 5'-脱氧氟尿苷、氟尿苷、2'-脱氧氟尿苷、氟尿苷的药物前体衍生物、2'-脱氧氟尿苷的药物前体衍生物、5-氟胞嘧啶，5-氟胞苷或 5-氟胞苷的药物前体衍生物。

5. 权利要求 3 所述的方法，其中所述 5-氟嘧啶或 5-氟嘧啶核苷类似物是 5-氟尿嘧啶。

6. 权利要求 5 所述的方法，其中所述给药步骤 (a) 包括使用大剂量即 900 至 2400mg/m² 的 5-氟尿嘧啶，而所述给药步骤 (b) 包括在步骤 (a) 2 至 24 小时后，使用 1 至 10g 的非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物，其中步骤 (a) 和 (b) 重复 3-6 次。

7. 权利要求 6 所述的方法，其中步骤 (a) 每次重复的时间间隔是 4 至 14 天。

8. 权利要求 5 所述的方法，其中所述给药步骤 (a) 包括连续 4 至 5 天内每天使用大剂量即 600 至 1000mg/m² 的 5-氟尿嘧啶，而所述给药步骤 (b) 包括在每个步骤 (a) 2 至 12 小时后使用 1 至 10g 的非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物。

9. 权利要求 1 所述的方法, 其中所述嘧啶核苷类似物为 N-磷酰基乙酰基-L-天冬氨酸(PALA)、吡唑呋喃菌素、6-氮杂尿苷、阿扎利宾、三氟甲基-2'-脱氧尿苷或 3-脱氮杂尿苷, 并且所述非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物是尿苷或胞苷的酰基衍生物。

5 10. 权利要求 1 所述的方法, 其中所述非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物是尿苷、胞苷、脱氧胞苷或脱氧尿苷的酰基衍生物。

11. 权利要求 1 所述的方法, 其中所述非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物是三乙酰尿苷。

10 12. 权利要求 1 所述的方法, 其中所述非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物是乙氧羰基尿苷。

13. 权利要求 1 所述的方法, 其中所述非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物是三乙酰基胞苷。

14. 权利要求 1 所述的方法, 其中所述非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物是二乙酰基脱氧胞苷。

15 15. 权利要求 1 所述的方法, 其中所述嘧啶核苷类似物是胞苷的抗肿瘤类似物, 而且所述非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物是脱氧胞苷的酰基衍生物。

16. 权利要求 15 所述的方法, 其中所述胞苷的抗肿瘤类似物是阿糖胞嘧啶或其药物前体、环胞苷、5-氮杂-2'-脱氧胞苷、阿糖 5-氮杂胞嘧啶或 6-氮杂胞苷。

17. 权利要求 1 所述的方法, 其中所述嘧啶核苷类似物是尿苷类似物, 所述非甲基化嘧啶核苷的酰化衍生物是尿苷、脱氧尿苷或胞苷的酰化衍生物, 而所述给药步骤(b)也包括使用一种尿苷磷酸化酶的抑制剂。

25 18. 权利要求 17 所述的方法, 其中所述磷酸化酶抑制剂选自苄基无环尿苷、苄氧基苄基无环尿苷、氨甲基-苄基无环尿苷、氨甲基-苄氧基苄基无环尿苷、羟甲基-苄基无环尿苷、羟甲基-苄氧基苄基无环尿苷、2,2'-脱水-5-乙基尿苷、5-苄基巴比妥酸酯、5-苄氧基苄基巴比妥酸酯、5-苄氧基苄基-1-[(1-羟基-2-乙氧基)甲基]巴比妥酸酯、5-苄氧基苄基乙酰基-1-[(1-羟基-2-乙氧基)甲基]巴比妥酸酯及 5-甲氧苄基乙酰基无环巴比妥酸酯。

19. 权利要求 1 所述的方法, 其中所述非甲基化嘧啶核苷的酰化衍

生物是胞苷或脱氧胞苷的酰化衍生物，而所述给药步骤（b）也包括使用胞苷脱氨基酶的抑制剂。

20. 权利要求 19 所述的方法，其中所述胞苷脱氨基酶的抑制剂选自四氢尿苷或四氢-2'-脱氧尿苷。

5 21. 权利要求 1 所述的方法，其中所述非甲基化嘧啶核苷的酰化衍生物是尿苷、胞苷或脱氧胞苷的酰化衍生物，而所述给药步骤（b）也包括使用核苷转移的抑制剂。

22. 权利要求 21 所述的方法，其中所述核苷转移的抑制剂选自双醋嗪、潘生丁、丙磺舒、利多氟嗪或硝基苄基硫肌苷。

10 23. 权利要求 1 所述的方法，其中所述给药步骤（b）也包括使用增强造血作用的试剂。

24. 权利要求 1 所述的方法，其中所述给药步骤（b）也包括使用能提高细胞对核苷的摄入及磷酸化的化合物。

15 25. 权利要求 1 所述的方法，其中所述给药步骤（a）也包括使用 AZT。

26. 权利要求 1 所述的方法，其中氟化嘧啶与一种 5-氟尿嘧啶效力的生化调节剂联合给药。

27. 权利要求 26 所述的方法，其中所述调节剂是嘌呤生物合成的抑制剂，抗叶酸剂、嘧啶生物合成的抑制剂或 5-氟尿嘧啶的降解抑制剂。

20 28. 权利要求 27 所述的方法，其中所述嘌呤生物合成的抑制剂是甲基巯基嘌呤核糖核苷。

29. 权利要求 27 所述的方法，其中所述抗叶酸剂是氨甲喋呤或曲美沙特。

25 30. 权利要求 27 所述的方法，其中所述嘧啶生物合成的抑制剂是 PALA、brequinar、阿西维辛或 6-氮杂尿苷。

31. 权利要求 27 所述的方法，其中所述 5-氟尿嘧啶降解的抑制剂是二氢嘧啶脱氢酶的抑制剂。

30 32. 权利要求 31 所述的方法，其中所述二氢嘧啶脱氢酶的抑制剂是 5-乙炔基尿嘧啶、溴乙烯基尿嘧啶、CDHP、尿嘧啶、胸苷、胸腺嘧啶或苄氧基苄基尿嘧啶。

33. 一种治疗癌症的方法，该方法包括：
（a）使用二氢嘧啶脱氢酶的抑制剂；

(b) 使用 5-氟嘧啶或 5-氟嘧啶核苷类似物；

(c) 使用药学上有效量的非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物。

34. 权利要求 33 所述的方法，其中所述 5-氟嘧啶或 5-氟嘧啶核苷类似物选自 5-氟尿嘧啶、5-氟尿嘧啶药物前体包括喃氟啶和 5'-脱氧氟尿苷、氟尿苷、2'-脱氧氟尿苷、氟尿苷的药物前体衍生物、2'-脱氧氟尿苷的药物前体衍生物、5-氟胞嘧啶、5-氟胞苷或 5-氟胞苷的药物前体衍生物。

35. 权利要求 33 所述的方法，其中所述二氢嘧啶脱氢酶的抑制剂是 5-乙炔基尿嘧啶、溴乙烯基尿嘧啶、氰基二氢吡啶、尿嘧啶、胸苷、胸腺嘧啶或苄氧基苄基尿嘧啶。

36. 权利要求 33 所述的方法，其中所述给药步骤(a)在给药步骤(b)之前或与其同时进行。

说明书

用酰化嘧啶核苷降低化疗剂和抗病毒剂的毒性的方法

本申请是共同未决的美国专利申请系列号 No.08/176/485 (1993 年 12 月 30 日申请) 的部分继续申请, 后者是共同未决的美国专利申请系列号 No.08/061,381 (1993 年 5 月 14 日申请) 的部分继续申请; 后者是共同未决的美国专利申请系列号 No.903,107 (1992 年 6 月 25 日申请) 的部分继续申请; 后者是共同未决的美国专利申请系列号 No.724,340 (1991 年 7 月 5 日申请) 的部分继续申请; 后者是美国专利申请系列号 No.438,493 (1990 年 6 月 26 日) 的部分继续申请; 后者是美国专利申请系列号 No.115,929 (1987 年 10 月 28 日申请) 的部分继续申请; 而系列号 No.724,340 又是共同未决的美国专利申请系列号 No.487,984 (1990 年 2 月 5 日申请) 的部分继续申请; 后者是美国专利申请系列号 No.115,923 (1987 年 10 月 28 日申请) 的部分继续申请。将所有这些申请引入本文中作为参考。

发明领域

本发明一般涉及用非甲基化的嘧啶核苷的酰化衍生物处理化疗剂和抗病毒剂的毒性。这些化合物能够减轻对正接受抗病毒或抗肿瘤化疗的动物的造血系统的损害。本发明还涉及保护其它受抗病毒或抗肿瘤化疗影响的组织, 这些组织包括胃肠上皮。

发明背景

癌症化疗和抗病毒化疗的一个主要的麻烦是损伤骨髓细胞或抑制它们的功能。特别是, 化疗会损伤主要存在于骨髓和脾脏中的造血前体细胞, 妨碍新的血细胞(粒细胞、淋巴细胞、红细胞、单核细胞、血小板等) 的生成。比如, 用 5-氟尿嘧啶治疗癌症患者会减少他们的白细胞(淋巴细胞和/或粒细胞) 的数目, 并且会提高病人对感染的敏感性。很多患者死于化疗后感染或造血失效所造成的其它后果。化疗剂还会使血小板的生成低于正常水平, 由此又会出现出血的倾向。红细胞生成的抑制会导致贫血。损害造血系统或其它主要组织的危险性在于它会妨碍化疗剂的使用剂量大到足以发挥好的抗肿瘤或抗病毒效力的程度。

许多抗肿瘤或抗病毒的化疗剂靠抑制核苷酸的生物合成、代谢或其功能来发挥作用, 或者说实际上它们是核苷类似物, 它们取代了核酸中

的正常核苷，产生有缺陷的 RNA 或 DNA。

5-氟尿嘧啶是一种临床上非常重要的细胞还原抗肿瘤化疗剂，它部分地是通过进入 RNA，产生有缺陷的 RNA 而发挥作用；用氟代脱氧尿苷的一磷酸盐来抑制胸苷酸合成酶还可能提高 5-FU 的细胞毒性。5-FU 的临床应用受其毒性（尤其是用在骨髓上）的限制。特别是，其临床应用受到治疗比低的限制；治疗比就是毒性剂量与有效剂量之比，高治疗比意味着药物具有低毒性的治疗效力。

5-FU 和许多其它化疗剂还影响其它组织，特别是影响胃肠粘膜，造成粘膜炎、腹泻和溃疡。口炎（口腔粘膜的溃疡）对患者来说特别麻烦，会使进食和吞咽非常痛苦。

D.S.Martin 等在 Cancer Res.42:3964-70[1982]上报导，如果在施用 5-FU 几小时后开始给小鼠施用大剂量的尿苷，则以毒性剂量给小鼠施用 5-FU（具有强抗肿瘤活性）可以是无害的。现已证明这种“补救”策略能增加 5-FU 在动物抗肿瘤模型中的治疗指数，能容许使用大剂量、有毒性的 5-FU，这样大剂量的 5-FU 是使肿瘤消退或防止肿瘤生长所必须的，与此同时通过随后施用尿苷以优先保护正常组织（特别重要的是骨髓）（D.S.Martin 等，Cancer Res.43:4653-61[1983]）。

由于尿苷自身生物学性质的原因，包括施用尿苷在内的临床试验非常复杂。口服后尿苷吸收得很差；腹泻是人体中的剂量限制因素（Van Groeningen 等，Proceedings of the AACR 28:195[1987]）。结果，为在临床上显著改变 5-FU 的毒性，需要非肠道使用尿苷，这需要使用一根静脉内导管，后来的早期临床试验表明，当通过一根小的静脉内导管注入尿苷时，静脉炎已成为一个问题（Van Groeningen 等，Cancer Treat Rep. 70:745-50[1986]）。由于通过静脉内导管输注需要很长时间，患者需要住院治疗。另外，还存在使患者感到很不舒适和不方便的一些问题。

已研制出 5FU 的口服活性前体药物，一般从肠道被吸收入血液后，它们会被酶或自动转变为 5FU。这就容许病人自己用药，没有静脉给药的不舒适感。此外，在一些化疗方案中，尝试了例如几天或几周内恒定静脉输液，使肿瘤持续接触 5FU。口服 5FU 前体药物原则上可以使 5FU 持续接触肿瘤。

5-氟-1-(四氢-2-呋喃基)尿嘧啶（FT）是 5-氟尿嘧啶的口服有活性

的前体药物。主要在肝脏中，它被酶转化为 5-氟尿嘧啶。但是，肝脏中二氢嘧啶脱氢酶的相对浓度较高，它降解 5FU，产生的代谢产物不能用于癌症的化疗，此外却提高了 5-FU 的毒性。

据信 FT 的活性代谢产物 5FU 的细胞毒性是它掺入核苷酸集中处的结果，其中某种合成代谢物具有毒性作用，例如 5-氟脱氧尿苷一磷酸盐抑制胸苷酸合成酶，从而减少细胞中用于 DNA 合成的胸苷，而 5-氟尿苷三磷酸盐掺入 RNA 会减弱它翻译遗传信息的正常功能。

为了抑制 FT 产生的 5FU 的分解代谢，与 FT 一起使用其它化合物。特别是，嘧啶尿嘧啶可抑制 5FU 的分解代谢而不抑制它的细胞毒性。最广泛使用的 FT 临床制剂含 1：4 摩尔比的尿嘧啶。这可显著降低达到治疗效果所需 FT 的剂量。在不产生无法接受的毒性增加的前提下，其它嘧啶，包括尿苷、胸苷、胸腺嘧啶及胞嘧啶或是比尿嘧啶的作用弱或是不能更好地增强其抗肿瘤效果。二氢嘧啶脱氢酶（DHPDHase）的强力合成抑制剂也与 FT 或 5FU 一起使用。5-氯-2,6-二羟基吡啶（CDHP）是比尿嘧啶更强的 DHPDHase 抑制剂。但是，此化合物也提高了 5FU 的毒性，于是为了临床使用，共同使用第三中组分 1,4,5,6-四氢-4,6-二氧-1,3,5-三嗪-2-羧酸来降低肠毒性。

一些研究者把 5FU 和嘧啶一起使用，试图改善此抗肿瘤剂的治疗指数。在体内，当与 5FU 同时使用尿苷和胸苷时，同时增加了 5FU 的抗肿瘤效果和毒性，故治疗指数无净增长（Hartman 和 Bollag, Med. Oncol. & Tumor Pharmacother., 3:111-118[1986]）。Burchenal 等（Cancer Chemother. Rep., 6:1-5[1960]）全面总结了有关 5FU 和 5-氟脱氧尿苷（FUDR）及嘧啶化合物的相互作用方面的研究。他们指出尽管实际上单独的嘧啶和嘧啶核苷的使用剂量无活性，它们却明显增加了小剂量 FUDR 和 FU 的抗白血病作用，但是以其任何组合、以任何规律来显著改善 FU 或 FUDR 单独使用的最大耐受剂量所得到的结果是不可能的。同样，Jato 等（J. Pharm. Sci., 64:943-945[1975]）研究了脱氧尿苷与 5FU 和 FUDR 的结合形式，指出结合治疗的任何治疗优点可以通过使用高剂量的 5FU 或 FUDR 来重现。虽然脱氧尿苷通过抑制氟嘧啶的分解代谢降低氟嘧啶的使用剂量，但是与脱氧尿苷结合使用与 FU 或 FUDR 单独使用相比，其抗肿瘤活性没有改进。

就尿苷而言，药物口服后生物利用度很差这样的问题限制了施用脱

氧胞苷、胞苷和脱氧尿苷这几种药物来调节化疗剂毒性的临床使用价值。

阿糖胞嘧啶(**Ara-C**)是一种治疗白血病的重要试剂,同时作为一种免疫抑制剂使用效果也很好。可以通过使用脱氧胞苷来部分地预防使用 **Ara-C** 对骨髓(髓细胞和红细胞) 的毒性(**Belyanchikova** 等, **Bull. Exp. Biol. Med.**, 91:83-85[1981]) , 而脱氧胞苷对 **Ara-C** 对淋巴细胞毒性的减弱没有那么强。在细胞培养物中, 与白血细胞相比, 正常的髓样祖细胞可以更好地受到脱氧胞苷的保护, 使其免受 **Ara-C** 的损害。(**K. Bhalla** 等, **Blood** 70:568-571[1987]) 。脱氧胞苷还会缓解细胞培养液中 5-氮杂-2'-脱氧胞苷和阿糖 5-氮杂胞苷的毒性(**K. Bhalla** 等, **Leukmia** 1:814-819[1987]) 。建议用一根静脉内导管进行长时间(5 天) 大剂量脱氧胞苷的输注来作为临床上实现用脱氧胞苷减轻 **Ara-C** 毒性的一种手段(**K. Bhalla** 等, **Leukmia** 2:709-710[1988]) 。

N-磷酰基乙酰基-**L**-天冬氨酸(**PALA**) 是一种抗肿瘤剂, 它抑制天冬氨酸氨甲酰基转移酶, 这种酶间接参与嘧啶核苷酸的生物合成。**PALA** 的副作用主要是对胃肠的毒性损伤和粘膜炎。吡唑呋喃菌素(一种碳连接的嘧啶类似物)、 6-氮杂尿苷和 6-氮杂胞苷都会妨碍嘧啶核苷酸的合成和代谢。

3'-叠氮脱氧胸苷(**AZT**) 在临床上用于受人免疫缺陷病毒(**HIV** , **AIDS** 的传染媒介) 感染的病人。**AZT** 延长了受 **HIV** 感染患者的寿命, 但也损害了造血, 造成白细胞减少和贫血。在细胞培养物中, 尿苷降低了 **AZT** 对粒细胞/巨噬细胞的祖细胞的毒性, 同时并没有降低 **AZT** 的抗病毒作用(**Sommadossi** 等, **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 32:997-1001[1988]) ; 而胸苷同时降低了 **AZT** 的毒性和抗病毒活性。对小鼠以非肠道方式使用大剂量的尿苷可以在一定程度上缓解 **AZT** 导致的贫血, 但研究中发现只有当尿苷剂量达到死亡率增加的程度才会有这样的效果; 较低的、无毒剂量的尿苷(**500mg/kg/d**) 不会降低 **AZT** 所致的血液学毒性(**A. Falcone** 等, **Blood** 76:2216-21[1990]) 。**Sommadossi** 和 **el Kouni** 在美国专利 5077280 中提出了用周期性静脉注射的方法使用尿苷来降低 **AZT** 毒性。据 **Bhalla** 等报道, 脱氧胞苷能保护活体外部的正常的人骨髓祖细胞免不受 **AZT** 细胞毒性的损害, 同时又能保留其抗逆转录病毒的活性(**Blood** 74:1923-

1928[1989])。

5-氟乳清酸酯是嘧啶核苷酸前体乳清酸的一种类似物，它对人类细胞具有抗增生的作用，不过它特别适用于治疗疟疾寄生虫的感染，这些疟疾寄生虫比如约氏疟原虫或恶性疟原虫，这些疟原虫依赖于新的嘧啶生物合成。对用 5-氟乳清酸治疗过的小鼠使用尿苷会降低 5-氟乳清酸酯的宿主毒性，这是由于后者不会破坏其抗疟疾的活性(ZM Gomez and PK Rathod, *Antimicrob. Agents Chemother*, 34:1371-1375[1990])。

二脱氧胞苷(ddC)还可用于抗包括 HIV 在内的逆转录病毒的感染，ddC 的副作用包括引发周围神经病、口腔溃疡、降低血小板计数。用脱氧胞苷可以缓解 ddC 对培养物中的人髓样祖细胞的毒性，而且不会相应损害 ddC 抗逆转录病毒的效力(K Bhalla 等, *AIDS* 4:427-31[1990])。

上述现有技术中已公开的、使用这些嘧啶核苷改善临床处置中化疗方法或者实用性差(通过一静脉内导管输注脱氧胞苷或尿苷需要时间太长以至需要住院治疗，存在被感染的危险性，患者感到不舒适)，或者不能令人满意(口服尿苷吸收得很差，口服尿苷达到治疗所需剂量时会出现腹泻)。

共同拥有的美国专利申请流水号 No.438,493 说明了如何用胞苷和尿苷的酰基衍生物来提高血液中胞苷或尿苷的含量。

现已合成出一些嘧啶核苷的酰基衍生物，用作寡核苷酸或核苷类似物合成过程中受保护的中间产物，例如，5'-O-苯甲酰尿苷、三乙酰胞苷和三乙酰尿苷。见 Sigma 化学公司 1991 年产品索引，第 155、980 和 981 页。

发明目的

本发明的一个主要目的是提供一种能有效预防或治疗抗病毒或抗肿瘤化疗的中毒症状的方法，这些症状包括但不限于对造血系统和对胃肠粘膜的损害。

本发明的一个进一步的目的是提供一些能允许使用大剂量化疗剂的化合物和方法。

本发明的一个进一步的目的是提供一些通过口服一种或几种化合物以提高尿苷和胞苷及它们相应的脱氧核苷脱氧胞苷及脱氧尿苷在血液和组织中的含量的方法。

本发明的一个进一步的目的是提供一种防止或缓解细胞毒性化疗剂对胃肠上皮的损害的方法。

发明概述

本发明的这些目的和其它目的的实现是通过对动物，包括哺乳动物例如人等，口服或非肠道使用非甲基化的嘧啶核苷的酰化衍生物，如尿苷、脱氧尿苷、胞苷或脱氧胞苷的酰化衍生物获得的。单独或一同使用这些化合物有助于防止或缓解细胞破坏性化疗对动物的毒性作用。

于是本发明的化合物，单独或一同使用，有助于治疗化疗剂所致的造血失常；有助于配合癌症和抗病毒化疗；和有助于治疗其它病理学症状。

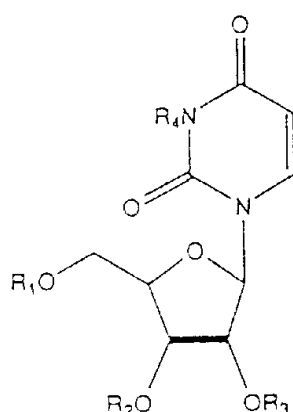
本发明的一个重要方面是发现了非甲基化的嘧啶核苷的酰基衍生物有出人意料的治疗性能。

本发明的化合物

除专门指定以外的所有情形中，在本发明化合物的化学结构中代表变化的取代基的字母和带下标的字母只能加在就位于该符号所述的位置之前的那个结构上。

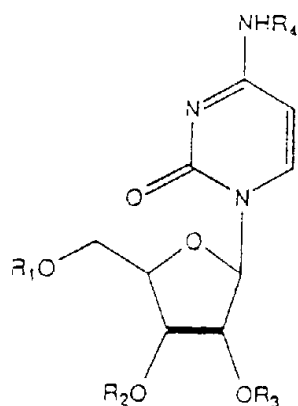
用于缓解抗癌或抗病毒试剂所致毒性的化合物的通用结构如下：

(1) 尿苷的酰基衍生物或其药用盐，前者的结构式为：



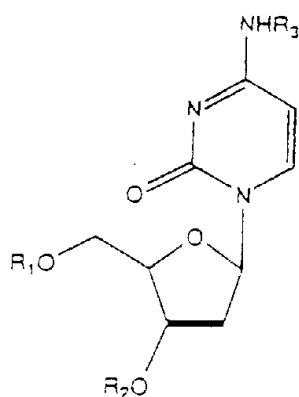
其中 R₁、R₂、R₃ 和 R₄ 可以相同或不同，和分别是氢原子或代谢产物的酰基，附加条件是所述的 R 取代基中至少一个不是氢原子。

(2) 胞苷的酰基衍生物或其药用盐，前者的结构式为：



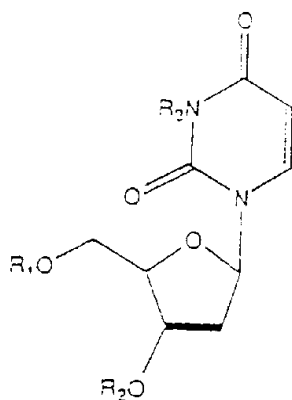
其中 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 可以相同或不同，和分别是氢原子或代谢产物的酰基，附加条件是所述的 R 取代基中至少一个不是氢原子。

(3) 脱氧胞苷的酰基衍生物或其药用盐，前者的结构式为：



其中 R_1 、 R_2 和 R_3 可以相同或不同，和分别是氢原子或代谢产物的酰基，附加条件是所述的 R 取代基中至少一个不是氢原子。

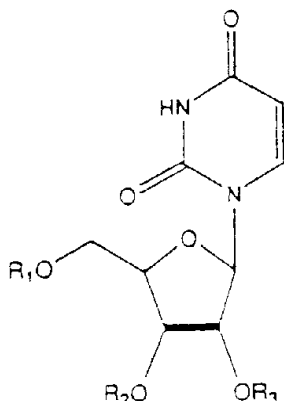
(4) 脱氧尿苷的酰基衍生物或其药用盐，前者的结构式为：



其中 R_1 、 R_2 和 R_3 可以相同或不同,和分别是氢原子或代谢产物的酰基,附加条件是所述的 R 取代基中至少一个不是氢原子。

本发明用于缓解抗癌或抗病毒化疗剂毒性的化合物包括下列化合物:

(5) 尿苷的酰基衍生物, 结构式为:



其中 R_1 、 R_2 和 R_3 可相同或不同,和分别是氢原子或下列物质的酰基, 这些物质为:

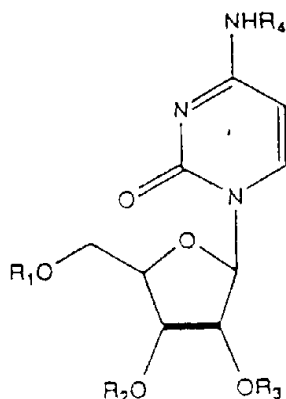
a.一种含 5 至 22 个碳原子的无支链脂肪酸,

b.一种氨基酸, 选自由下列物质组成的一组氨基酸: 甘氨酸、L 丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、酪氨酸、脯氨酸、羟基脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、胱氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、精氨酸、赖氨酸、组氨酸、肉碱和鸟氨酸,

c.一种含 3 至 22 个碳原子的二元羧酸,

d.一种羧酸, 选自由下列物质组成的一组物质中的一种或多种, 这些物质为: 乙醇酸、丙酮酸、乳酸、烯醇丙酮酸、硫辛酸、泛酸、乙酰乙酸、对氨基苯甲酸、 β -羟丁酸、乳清酸以及肌酸。

(6) 一种胞苷的酰基衍生物, 结构式为:



其中 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 可相同或不同，和分别是氢原子或下列物质的酰基，这些物质为：

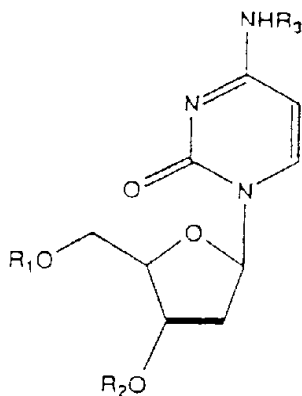
a. 一种含 5 至 22 个碳原子的无支链脂肪酸，

b. 一种氨基酸，选自由下列物质组成的一组氨基酸：甘氨酸、L-苯丙氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、酪氨酸、脯氨酸、羟基脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、胱氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、精氨酸、赖氨酸、组氨酸、肉碱和鸟氨酸，

c. 一种含 3 至 22 个碳原子的二元羧酸，

d. 一种羧酸，选自由下列物质组成的一组物质中的一种或多种，这些物质为：乙醇酸、丙酮酸、乳酸、烯醇丙酮酸、硫辛酸、泛酸、乙酰乙酸、对氨基苯甲酸、 β -羟丁酸、乳清酸以及肌酸。

(7) 一种脱氧胞苷的酰基衍生物或其药用盐，前者结构式为：



其中 R_1 、 R_2 和 R_3 可相同或不同，和分别是氢原子或源自下列物质的酰基，这些物质为：

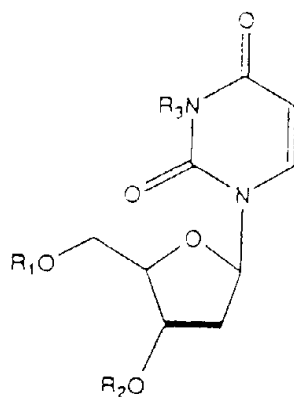
a. 一种含 3 至 22 个碳原子的无支链脂肪酸,

b. 一种氨基酸, 选自由下列物质组成的一组氨基酸: 甘氨酸、L-丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、酪氨酸、脯氨酸、羟基脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、胱氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、精氨酸、赖氨酸、组氨酸、肉碱和鸟氨酸,

c. 烟酸,

d. 一种含 3 至 22 个碳原子的二元羧酸, 附加条件是 R_1 、 R_2 和 R_3 不全是氢, 并且当 R_3 不是氢时, R_1 和/或 R_2 也可以是乙酰基。

(8) 一种脱氧尿苷的酰基衍生物或其药用盐, 前者结构式为:



其中 R_1 、 R_2 和 R_3 可相同或不同, 和分别是氢原子或下列物质的一个酰基, 这些物质为:

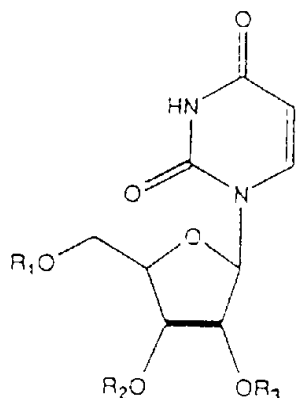
a. 一种含 3 至 22 个碳原子的直链脂肪酸,

b. 一种氨基酸, 选自由下列物质组成的一组氨基酸: 甘氨酸、L-丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、酪氨酸、脯氨酸、羟基脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、胱氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、精氨酸、赖氨酸、组氨酸、肉碱和鸟氨酸,

c. 烟酸,

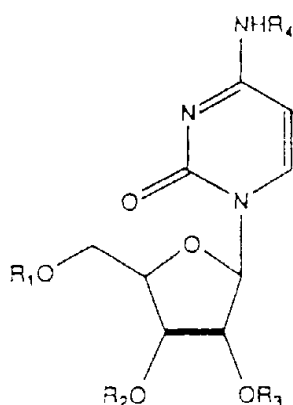
d. 一种含 3 至 22 个碳原子的二元羧酸, 附加条件是 R_1 、 R_2 和 R_3 不全是氢, 并且当 R_3 不是氢时, R_1 和/或 R_2 也可以是乙酰基。

(9) 一种尿苷的酰基衍生物, 结构式为:



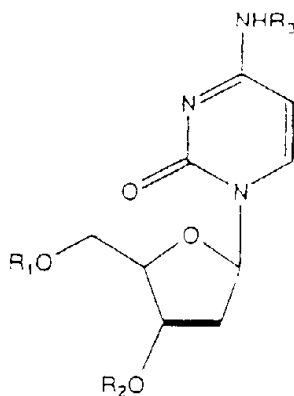
其中 R_1 、 R_2 或 R_3 至少有一个是含 2-26 个碳原子的烃氧羰基部分, 并且其余的 R 取代基彼此独立地是烃氧羰基部分或烃基羰基部分或 H 或磷酸盐。

(10) 一种胞苷的酰基衍生物, 结构式为:



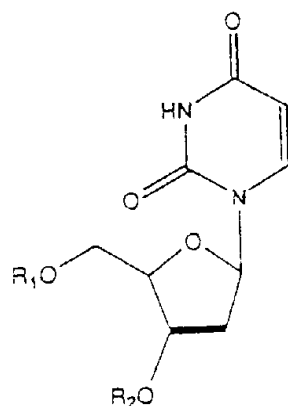
其中 R_1 、 R_2 、 R_3 或 R_4 至少有一个是含 2-26 个碳原子的烃氧羰基部分, 并且其余的 R 取代基彼此独立地是烃氧羰基部分或烃基羰基部分或 H 或磷酸盐。

(11) 一种脱氧胞苷的酰基衍生物, 结构式为:



其中 R_1 、 R_2 或 R_3 至少有一个是含 2-26 个碳原子的烃氧羰基部分, 并且其余的 R 取代基彼此独立地是烃氧羰基部分或烃基羰基部分或 H 或磷酸盐。

(12) 一种脱氧尿苷的酰基衍生物, 结构式为:



其中 R_1 或 R_2 至少有一个是含 2-26 个碳原子的烃氧羰基部分, 并且其余的 R 取代基彼此独立地是烃氧羰基部分或烃基羰基部分或 H 或磷酸盐。

阅读下列的详细叙述部分并参考下列实施例中所述实验的所附结果, 可以更清楚、全面地理解本发明及其它目的、特点和优点。

发明详述

本发明涉及使用非甲基化的嘧啶核苷的酰化衍生物-即尿苷、脱氧尿苷、胞苷或脱氧胞苷的酰化衍生物(如三乙酰尿苷, TAU)来缓解体内化疗和抗病毒剂的毒性。本发明还涉及对动物单独或一同使用这些嘧啶核苷化合物, 同时使用或不使用其它试剂。

对许多抗肿瘤或抗病毒剂的情形而言, 受它们作用的细胞当暴露于适当的天然核苷时可以避免或缓解上述试剂对那些细胞的损害。本发明的化合物和方法使在维持抗病毒或当肿瘤剂治疗效力不变的同时降低其毒性成为可能。反过来, 也使把毒性维持在一可接受水平的同时增大化疗剂的剂量成为可能。

本发明提供了通过口服或非肠道使用非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物来治疗或预防抗病毒或抗癌化疗的中毒症状的化合物及方法。

A. 定义:

本文中所用术语“非甲基化的嘧啶核苷”表示天然存在的核苷, 而不是指胸苷(5-甲基脱氧尿苷)或5-甲基胞苷, 及其它类似的天然存在

的甲基化的核苷。非甲基化的嘧啶核苷的例子包括尿苷、胞苷、脱氧尿苷和脱氧胞苷。

本文中的术语“酰基衍生物”指一种非甲基化的嘧啶核苷的衍生物，其中由羧酸衍生出的一个基本无毒的有机酰化取代基通过酯键连接到一非甲基化的嘧啶核苷中的核糖部分的一个或多个自由羟基上，和/或这样一个取代基通过一个酰胺键连接到胞苷或脱氧胞苷的嘧啶环的胺取代基上。这样的酰取代基是从以下羧酸衍生的。这些羧酸包括但不限于选自下列物质组成的一组化合物，这些物质是脂肪酸、氨基酸、烟酸、二元羧酸、乳酸、对氨基苯甲酸和乳清酸，比较好的酰基取代基为存在于体内的羧酸，它们或者作为食物构成成分或者作为中间代谢产物。

术语“类似物”在本文中指通过不同于酰化或连接其它生物不稳定的取代基（如糖上羟基的磷酸化）的方法在嘧啶环或核糖（脱氧核糖）部分上经过化学改性的一种核苷。本发明范围中的核苷类似物特别指那些结构与天然存在的核苷类似，但具有抗病毒、抗肿瘤或细胞毒性作用的药物。抗肿瘤核苷类似物的例子包括但不限于下列物质：5-氟尿嘧啶（5-FU）、5-FU 药物前体（如喃氟啉、5'-脱氧氟尿苷、卡莫氟）、氟尿苷、2'-脱氧氟尿苷、氟尿苷或 2'-脱氧氟尿苷的药物前体衍生物、氟胞嘧啶、阿糖胞嘧啶、阿糖胞嘧啶药物前体、环胞苷、5-氮杂-2'-脱氧胞苷、阿糖 5-氮杂胞嘧啶、6-氮杂尿苷、阿扎利宾、6-氮杂胞苷、三氟-甲基-2'-脱氧尿苷、胸苷、以及 3-脱氮杂尿苷。抗病毒核苷类似物的例子包括但不限于下列物质：5-乙基-2'-脱氧尿苷、5-碘代-2'-脱氧尿苷、5-溴代-2'-脱氧尿苷、5-甲氨基-2'-脱氧尿苷、阿糖尿嘧啶、二脱氧尿苷、二脱氧胞苷、2',3'-二脱氧胞苷-2'-烯、3'-脱氧胸苷-2'-烯、3'-叠氨基-2',3'-二脱氧尿苷以及 3'-叠氮脱氧胸苷（AZT）。本术语还包括了嘧啶核苷前体的类似物，如 N-磷酰乙酰基-L-天冬氨酸（PALA）。

据认为一些核苷类似物的结构与特定的天然存在的核苷的结构相似。在本发明化合物的范围内，如果核苷类似物在嘧啶环的 4 位有一个环外氨基（在该位置有一个氨基表明了胞苷和尿苷之间的区别），则可以把这些核苷类似物细分为胞苷类似物。专指胞苷类似物的那些核苷类似物包括但不限于：氟胞嘧啶、阿糖胞嘧啶、阿糖胞嘧啶的药物前体、环胞苷、5-氮杂 2'-脱氧胞苷、阿糖 5-氮杂胞嘧啶、6-氮杂胞苷和二脱氧

胞苷。特指尿苷类似物的那些核苷类似物包括但不限于：5-氟尿嘧啶（5-FU）、5-FU 的药物前体（如喃氟啶、5'-脱氧氟尿苷、卡莫氟）、2'-脱氧氟尿苷、氟尿苷的药物前体衍生物、2'-脱氧氟尿苷的药物前体衍生物、三氟-甲基-2'-脱氧尿苷、6-氮杂尿苷、阿扎利宾、3-脱氮杂尿苷、5-乙基-2'-脱氧尿苷、5-碘代-2'-脱氧尿苷、5-溴代-2'-脱氧尿苷、5-甲氨基-2'-脱氧尿苷、阿糖尿嘧啶和二脱氧尿苷。一些细胞毒性核苷类似物也是特定的胸苷类似物，如 AZT。

术语“药用盐”在本文中指该衍生物的药用酸加成盐，那些酸包括但不限于硫酸、盐酸或磷酸。

术语“一同使用”在本文中指在一时间段内至少使用两种本发明的化合物，在这一段时间内各药物相应的药物活性期间相重叠。

术语“烃基羰基”在本文中指羧酸的一个酰基，其中与羰基碳原子相连的原子是另一个碳原子。母体羧酸比如可以是脂肪酸、芳香酸（如苯甲酸、烟酸或同类物）、氨基酸、环烷基羧酸或二元羧酸。

术语“烃氧羰基”在本文中指羧酸中的一个酰基，其中与羰基碳原子相邻的是氧原子，该氧原子又与另一个碳原子共价连接。也可把该基团看作是醇的碳酸酯的基团。当使用后从一种非甲基化的嘧啶核苷上断裂开时进一步降解为二氧化碳和一种醇。比较合适的醇应是一些低毒性，特别是那些很容易进入正常代谢或消除途径的醇。

术语“脂肪酸”在本文中指含 2-22 个碳原子的脂族羧酸。这样的脂肪酸可以是饱和的、部分饱和的或多不饱和的。

术语“氨基酸”在本文中指但不限于甘氨酸、L-丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、脯氨酸、羟基脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、胱氨酸、甲硫氨酸、色氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、精氨酸、赖氨酸、组氨酸、鸟氨酸、羟基赖氨酸、肉碱以及其它天然存在的氨基酸。

术语“二元羧酸”在本文中指带有第二个羧酸取代基的脂肪酸。

术语“治疗有效量”在本文中指对一特定的条件和使用方法能达到治疗效果的量。

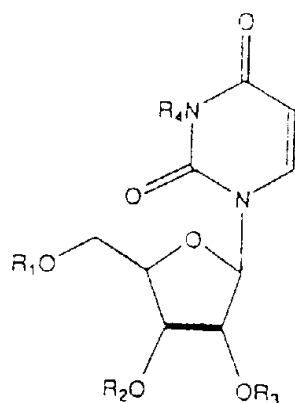
B. 本发明的化合物

除专门指定以外的所有情形中，在本发明化合物的化学结构中代表变化的取代基的字母和带下标的那些字母只能加在就位于该符号所述

的位置之前的那个结构上。

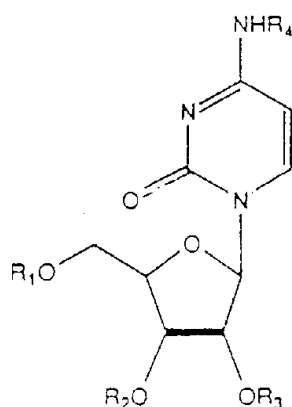
用于缓解抗癌或抗病毒剂所致毒性的化合物的通用结构如下：

(1) 尿苷的酰基衍生物或其药用盐，前者的结构式为：



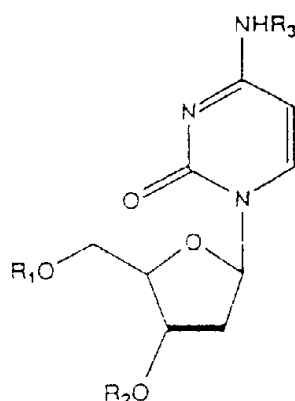
其中 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 可以相同或不同，分别是氢原子或代谢产物的酰基，附加条件是所述的 R 取代基中至少有一个不是氢原子。

(2) 胞苷的酰基衍生物或其药用盐，前者的结构式为：



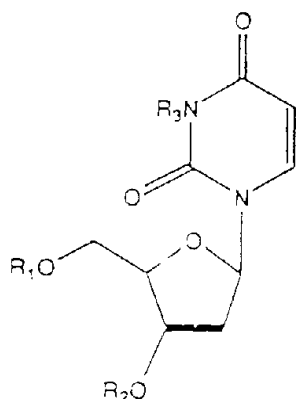
其中 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 可以相同或不同，分别是氢原子或代谢产物的酰基，附加条件是所述的 R 取代基中至少有一个不是氢原子。

(3) 脱氧胞苷的酰基衍生物或其药用盐，前者的结构式为：



其中 R_1 、 R_2 和 R_3 可以相同或不同,和分别是氢原子或代谢产物的酰基,附加条件是所述的 R 取代基中至少有一个不是氢原子。

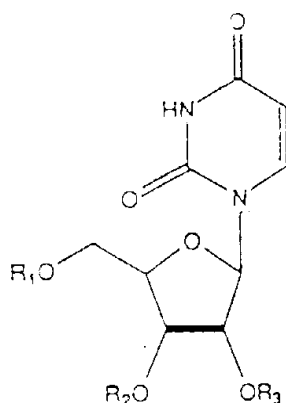
(4) 脱氧尿苷的酰基衍生物或其药用盐,前者的结构式为:



其中 R_1 、 R_2 和 R_3 可以相同或不同,而且分别是氢原子或代谢产物的酰基,附加条件是所述的 R 取代基中至少有一个不是氢原子。

本发明用于缓解抗癌或抗病毒化疗剂毒性的化合物包括下列化合物:

(5) 尿苷的酰基衍生物,结构式为:



其中 R_1 、 R_2 和 R_3 可相同或不同,而且分别是氢原子或下列物质的酰基,这些物质为:

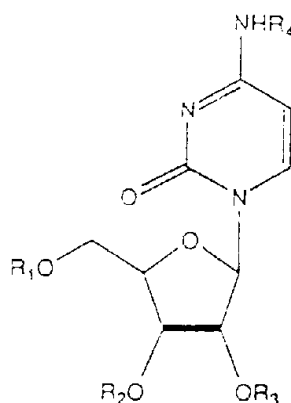
a.一种含 5 至 22 个碳原子的无支链脂肪酸,

b.一种氨基酸,选自由下列物质组成的一组氨基酸:甘氨酸、L-丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、酪氨酸、脯氨酸、羟基脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、胱氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、精氨酸、赖氨酸、组氨酸、肉碱和鸟氨酸,

c.一种含 3 至 22 个碳原子的二元羧酸,

d.一种羧酸,选自由下列物质组成的一组物质中的一种或多种,这些物质为:乙醇酸、丙酮酸、乳酸、烯醇丙酮酸、硫辛酸、泛酸、乙酰乙酸、对氨基苯甲酸、 β -羟丁酸、乳清酸以及肌酸。

(6) 一种胞苷的酰基衍生物,结构式为:



其中 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 可相同或不同,而且分别是氢原子或下列物质的酰基,这些物质为:

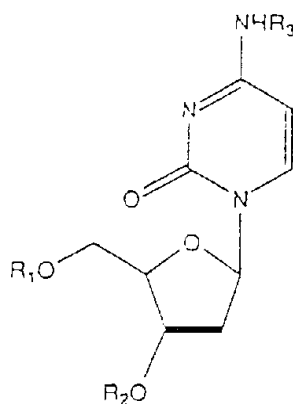
a.一种含 5 至 22 个碳原子的无支链脂肪酸,

b.一种氨基酸,选自由下列物质组成的一组氨基酸:甘氨酸、L-苯丙氨酸、丙氨酸缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、酪氨酸、脯氨酸、羟基脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、胱氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、精氨酸、赖氨酸、组氨酸、肉碱和鸟氨酸,

c.一种含 3 至 22 个碳原子的二元羧酸,

d.一种羧酸,选自由下列物质组成的一组物质中的一种或多种,这些物质为:乙醇酸、丙酮酸、乳酸、烯醇丙酮酸、硫辛酸、泛酸、乙酰乙酸、对氨基苯甲酸、 β -羟丁酸、乳清酸以及肌酸。

(7) 一种脱氧胞苷的酰基衍生物或其药用盐, 前者结构式为:



其中 R_1 、 R_2 和 R_3 可相同或不同, 而且分别是氢原子或源自下列物质的酰基, 这些物质为:

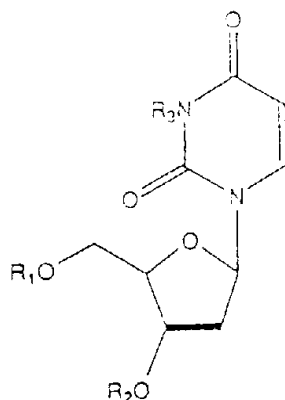
a. 一种含 3 至 22 个碳原子的无支链脂肪酸,

b. 一种氨基酸, 选自由下列物质组成的一组氨基酸: 甘氨酸、L-丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、酪氨酸、脯氨酸、羟基脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、胱氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、精氨酸、赖氨酸、组氨酸、肉碱和鸟氨酸,

c. 烟酸,

d. 一种含 3 至 22 个碳原子的二元羧酸, 附加条件是 R_1 、 R_2 和 R_3 不全是氢, 并且当 R_3 不是氢时, R_1 和/或 R_2 也可以是酰基。

(8) 一种脱氧尿苷的酰基衍生物或其药用盐, 前者结构式为:



其中 R_1 、 R_2 和 R_3 可相同或不同, 可以分别是氢原子或源自下列物质的酰基, 这些物质为:

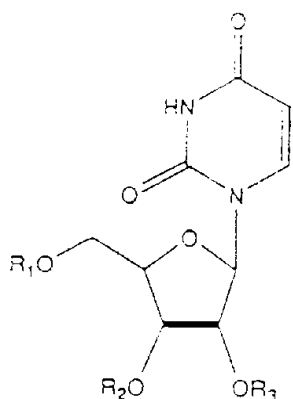
a.一种含 3 至 22 个碳原子的无支链脂肪酸，

b.一种氨基酸，选自由下列物质组成的一组氨基酸：甘氨酸、L-丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、酪氨酸、脯氨酸、羟基脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、胱氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、精氨酸、赖氨酸、组氨酸、肉碱和鸟氨酸，

c.烟酸，

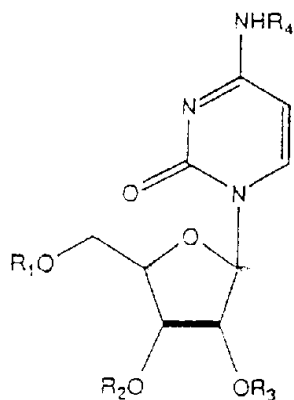
d.一种含 3 至 22 个碳原子的二元羧酸，附加条件是 R_1 、 R_2 和 R_3 不全是氢，并且当 R_3 不是氢时， R_1 和/或 R_2 也可以是酰基。

(9) 一种尿苷的酰基衍生物，结构式为：



其中 R_1 、 R_2 或 R_3 至少有一个是含 2-26 个碳原子的烃氧羰基部分，并且其余的 R 取代基彼此独立地是烃氧羰基部分或烃基羰基部分或 H 或磷酸盐。

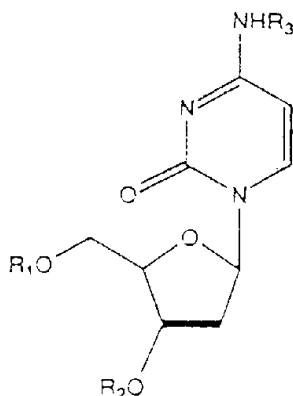
(10) 一种胞苷的酰基衍生物，结构式为：



其中 R_1 、 R_2 、 R_3 或 R_4 至少有一个是含 2-26 个碳原子的烃氧羰基

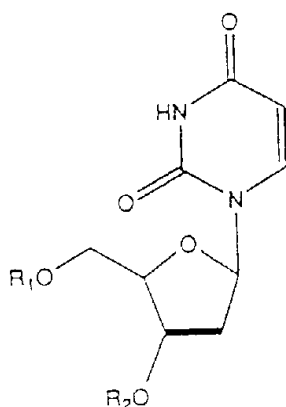
部分,并且其余的 R 取代基彼此独立地是烃氧羰基部分或烃基羰基部分或 H 或磷酸盐。

(11) 一种脱氧胞苷的酰基衍生物, 结构式为:



其中 R_1 、 R_2 或 R_3 至少有一个是含 2-26 个碳原子的烃氧羰基部分,并且其余的 R 取代基彼此独立地是烃氧羰基部分或烃基羰基部分或 H 或磷酸盐。

(12) 一种脱氧尿苷的酰基衍生物, 结构式为:



其中 R_1 或 R_2 至少有一个是含 2-26 个碳原子的烃氧羰基部分,并且其余的 R 取代基彼此独立地是烃氧羰基部分或烃基羰基部分或 H 或磷酸盐。

本发明还包括上述化合物的药用盐。

本发明有益的化合物为尿苷和脱氧胞苷的脂肪酸酯,特别是那些在酰基取代基中含 4 个或更少的碳原子的脂肪酸酯。特别有益的化合物是酰基取代基中含 2 个或 3 个碳原子的尿苷或脱氧胞苷的脂肪酸酯。

本发明中其它有益的化合物为尿苷和脱氧胞苷的烃氧羰基衍生物，特别是那些烃氧羰基部分含 3-6 个碳原子的衍生物。

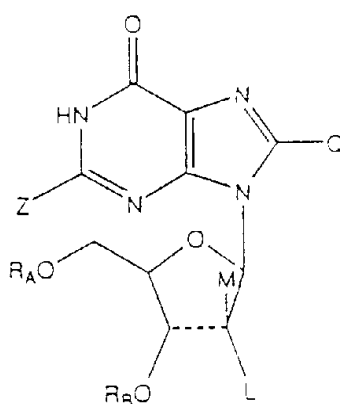
在本发明的一个实施例中，通过把磷酸盐连接到酰化了的非甲基化嘧啶核苷的醛糖部分上的游离羟基上，制备出了水溶性提高了的本发明化合物的药物前体。

C. 本发明的组合物

本发明的组合物包括与药用载体结合在一起的一种或多种上述化合物。

在另一个实施例中，除本发明的一种或多种化合物外，本发明的组合物还包括下列至少一种能增强造血作用的试剂：羟基嘌呤核苷、羟基嘌呤核苷的同类物、羟基嘌呤核苷的酰基衍生物及其同类物，如鸟苷或脱氧鸟苷的脂肪酸酯（见 1991 年 2 月 8 日申请的，流水号为 653,882 的美国专利申请，在此引入以供参考），非离子表面活性剂、白细胞介素如 IL-1、-2、-3、-4、-5、-6、-7、-8（较好的为 IL-1、3 或 6），集落刺激因子例如粒细胞集落刺激因子（G-CSF）、粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子（GM-CSF）、干细胞因子（SCF）、促红细胞生成素（EPO）、葡聚糖、聚肌苷-聚胞苷或其它任何对造血有积极作用的试剂。

能提高造血作用并可任意与本发明的化合物一同使用的羟基嘌呤核苷的酰基衍生物的结构通式如下：



$R_A = \text{H}$ 或含 2 至 30 个碳原子的羧酸的酰基，且

$R_B = \text{H}$ 或含 2 至 30 个碳原子的羧酸的酰基，且

$Z = \text{H}$ 、 OH 、 $=\text{O}$ 或者 NHR_C ，其中 $R_C = \text{H}$ 或含 2 至 30 个碳

原子的羧酸的酰基，且

$L = H$ 或 OR_D ，其中 $R_D = H$ 或含 2 至 30 个碳原子的羧酸的酰基，且

$M = H$ 或 OR_E ，其中 $R_E = H$ 或含 2 至 30 个碳原子的羧酸的酰基，
5 附加条件是 L 和 M 至少一个是 H ，且

$Q = H$ 、卤素、 NHR_F ，其中 R_F 为 H 或含 1 至 10 个碳原子的酰基或烷基、 S （ S 以二价键连接在碳上，在这种情况下，相邻的碳氮双键是单键并且 H 随后接在那个 N 上）、 SR_G （其中 R_G 是 H 或含 1 至 10 个碳原子的酰基或烷基）、 O （ O 与 C 二价键合，在这种情况下相
10 邻的碳氮双键为单键并且 H 随后连接在那个 N 上）或者 OR_H （其中 R_H 是 H 或含 1 至 10 个碳原子的酰基或烷基），并且

醛糖部分的 2' 和 3' 位置之间的 $C-C$ 键可任选地存在。

在本发明的另一个实施例中，酰化了的非甲基化嘧啶核苷与一种能促进核苷向细胞内摄入和磷酸化的化合物如胰岛素或一种能生成胰岛素的碳水化合物配制在一起。
15

在本发明的另一个实施例中，所述组合物含有至少一种本发明的化合物和抗病毒或抗肿瘤剂（见下文中题为“本发明化合物和组合物的治疗用途”部分中对这些试剂的详细讨论）。

在另一个实施例中，本发明的组合物含有尿苷或脱氧尿苷的酰基衍生物和能抑制尿苷磷酸化酶的化合物。尿苷磷酸化酶是一种初级酶，参与尿苷的分解代谢，生成尿嘧啶和核糖磷酸酯。使用抑制尿苷磷酸化酶的化合物将提高尿苷或脱氧尿苷的药物动力学和生物学活性，所述的尿苷和脱氧尿苷是通过对这两种非甲基化的嘧啶核苷的酰化衍生物进行脱酰作用而生成的。尿苷磷酸化酶的合适的抑制剂的例子包括但不限于
20 5-苄基巴比妥酸酯或 5-亚苄基巴比妥酸酯衍生物包括 5-苄基巴比妥酸酯、5-苄氧基苄基巴比妥酸酯、5-苄氧基苄基-1-[(1-羟基-2-乙氧基)甲基]巴比妥酸酯、5-苄氧基苄基乙酰基-1-[(1-羟基-2-乙氧基)甲基]巴比妥酸酯和 5-甲氧苄基乙酰基无环巴比妥酸酯、2',2'-脱水-5-乙基尿苷以及无环尿苷类化合物，特别是被 5-苄基取代的无环尿苷同类物包括
25 但不限于苄基无环尿苷、苄氧基苄基无环尿苷、氮甲基-苄基无环尿苷、氮甲基-苄氧基苄基无环尿苷、羟甲基-苄基无环尿苷以及羟甲基-苄氧基苄基无环尿苷。另见 WO89/09603 和 WO91/16315，在此引入以供参考。
30

在本发明的另一个实施例中，该组合物含有非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物及另一种化合物，该化合物能抑制细胞摄入或外泌非甲基化嘧啶核苷，进而有助于在所使用的一定剂量的非甲基化嘧啶核苷酰基衍生物发生酶促脱酰作用后，维持血液中核苷的含量。这样的尿苷输送或外泌调节剂包括但不限于潘生丁、双醋嗪(**dilazep**)、丙磺舒、利多氟嗪(**lidoflazine**) 或硝基苄基硫肌苷(**nitrobenzylthioinosine**)。

在本发明的另一个实施例中，该组合物中含有胞苷的酰基衍生物及能抑制尿苷磷酸化酶的化合物。因为当胞苷的酰基衍生物经脱酰作用后胞苷在血液中被部分脱氨，所以此酶的抑制有助于组织结合胞苷。

本发明的另一个实施例中，该组合物含有胞苷或脱氧胞苷的酰基衍生物和能抑制脱氧胞苷脱氨基酶的化合物。通过抑制脱氧胞苷或胞苷的脱氨基作用，胞苷脱氨基酶或脱氧胞苷脱氨基酶的抑制剂(如四氢尿苷或四氢-2'-脱氧尿苷)，提高了胞苷或脱氧胞苷的酰基衍生物的效力。在本发明的另一个实施例中，使用一种胞苷脱氨基酶或脱氧胞苷脱氨基酶的抑制剂来减轻抗病毒或抗癌核苷类似物的毒性(见实施例 11)。

在本发明的另一个实施例中，特别是为预防或治疗对胃肠粘膜的损害，该组合物含有非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物和一种或多种用于帮助粘膜恢复或降低不舒适程度的试剂。这样的试剂的例子包括但不限于硫酸铝、两种或多种 1989 年 4 月 21 日申请的、流水号为 341,925 的美国专利申请(在此引入以供参考)中所公开的脱氧核糖核苷组成的混合物、别嘌呤醇、抗菌素(如洗必泰葡萄糖酸盐)或局部麻醉剂如苯佐卡因。

在本发明的另一个实施例中，该组合物含有非甲基化嘧啶核苷酰基衍生物和口服有效的抗肿瘤核苷类似物的组合形式。有利的组合是尿苷的酰基衍生物与口服有效的氟化嘧啶特别是 5-氟尿嘧啶的药物前体的组合。在这些组合物中，非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物与抗肿瘤核苷类似物混合(或者一同用药)，其摩尔比为 1 : 1 至 12 : 1。摩尔比为 2 : 1 至 8 : 1 是有利的。适宜的口服有效氟化嘧啶包括喃氟啶、5'-脱氧氟尿苷、5-氟尿嘧啶、5-氟尿苷、2'-脱氧-5-氟尿苷，N⁴-三甲氧基苯甲酰基-5'-脱氧-5-氟胸苷或它们的酰基衍生物。

根据所需的用途，可以把组合物制成液体、混悬液、片剂、胶囊、糖衣药丸、注射溶液、局部使用的溶液或者栓剂等多种形式(见下文中控剂的讨论)。

作为对含本发明的一种化合物和另一种活性试剂(如上所述)的组合物制剂的一种替换物,在另一个实施例中,本发明的化合物与其它活性试剂一同使用。

D.本发明化合物和组合物的治疗用途

5 本发明的化合物可用于防止或治疗对动物体内造血过程和免疫系统功能的损坏。这些化合物在抗病毒或抗肿瘤剂引起对骨髓的损伤或抑制之后通过将血细胞数的损失降至最低的方式来减小对造血过程的损害,所述抗病毒或抗肿瘤剂影响核苷酸的生物合成、代谢和利用。本发明的化合物可用于对人的治疗;不过,本发明并不打算仅限于此,本发
10 明期望能用来治疗所有使用了本发明的活性化合物后效果良好的动物。

本发明还进一步体现在分别或一同使用本发明的药物化合物或组合物,以达到预防,减弱或减轻与使用能影响核苷酸的生物合成、代谢或利用的抗病毒或抗肿瘤剂有关的毒性的目的。

15 使用本发明的化合物,组合物和方法而获益的特定情况包括造血系统已受到或很可能受到化学疗法(特别是能影响核苷酸的生物合成,代谢或利用的化学疗法)损害的情况。这样的情况包括治疗受到细胞减少性癌症化学疗法或抗病毒化学疗法影响的动物如人类患者,此外,还特别包括需要保持血细胞数的兽药上的应用。

20 化合物和组合物还可用于预防或治疗抗癌或抗病毒化疗剂对其它组织包括-但不限于-胃肠上皮造成的损害。用于该目的时,可以任选口服、栓剂或非肠道方式使用这些化合物和组合物。

通过减轻抗癌或抗病毒化学疗法对造血系统和免疫系统的损害,本发明的化合物和方法可降低对机会感染或二次感染(细菌,病毒或真菌
25 感染)敏感度的危险。

通过与能促进嘧啶核苷被细胞摄入和磷酸化的试剂一同使用,可以提高本发明化合物的效力。这样的试剂包括造血生长因子(如 G-CSF, GM-CSF, SCF, 酰化羟基嘌呤核苷及其同类物,促红细胞生成素,及白细胞介素)、胰岛素,以及能生成胰岛素的碳水化合物(如葡萄糖
30 或葡萄糖聚合物)。

与抗癌化学疗法有关的并发症的治疗

用标准的抗肿瘤化疗剂[如 5-氟尿嘧啶、氟脱氧尿苷、长春花生物

碱，环磷酰胺和其它氮芥子气的烷化试剂、道诺红霉素、道克红霉素、阿霉素、氨甲喋呤、阿糖胞苷、6-巯基嘌呤、硫代鸟嘌呤、鬼臼毒、顺铂或者这些细胞减少剂的组合物]治疗的病人的白细胞数（特别是嗜中性白细胞数）经常会急剧减少。对靠影响核苷酸的生物合成、代谢或利用而发挥这种作用的细胞毒性剂的情形来说，每天使用（口服或非肠道给药）有效剂量（如 0.1-10.0 克）的本发明的化合物如三乙酰尿苷（或尿苷、胞苷、脱氧胞苷或脱氧尿苷的其它酰基衍生物），连续使用几天，可以降低嗜中性白细胞减少症的严重程度，而这种病经常在开始化学疗法后几天至几周内出现。这样就减少了整个疗程中病人受感染的可能性，使病人可能接受更大剂量的化疗剂和/或接受比没有使用尿苷衍生物的对照组的病人更频繁的重复剂量药物的治疗。与此类似，通过使用本发明的化合物和组合物，可以弥补化疗所致的其它类型血细胞（淋巴细胞、血小板、红细胞等）数目的变化。

与本发明的化合物和方法一起使用特别有用的抗肿瘤剂包括：5-氟尿嘧啶（5-FU）、5-FU 的药物前体（如喃氟啶、5'-脱氧氟尿苷、卡莫氟）、氟尿苷、2'-脱氧氟尿苷、氟尿苷或 2'-脱氧氟尿苷的药物前体衍生物、氟胞嘧啶（它还具有抗真菌活性）、阿糖胞嘧啶、阿糖胞嘧啶的药物前体、环胞苷、5-氮杂-2'-脱氧胞苷、阿糖 5-氮杂胞嘧啶、N-膦酰乙酰-L-天冬氨酸（PALA）、吡唑呋喃菌素、6-氮杂尿苷、阿扎利宾、6-氮杂胞苷、三氟-甲基-2'-脱氧尿苷、胸苷，以及 3-脱氮杂尿苷。这样的抗肿瘤剂以及各种其它治疗用的核苷类似物通过影响核苷或核苷酸的生物合成，利用或代谢起作用，于是，可通过使用本发明的嘧啶化合物来降低它们的毒副作用。

除降低抗肿瘤核苷类似物的毒性外，非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物也被用来降低抗肿瘤剂的毒性，该抗肿瘤剂通过葡糖醛酸化作用从体内清除。通过葡糖醛酸化作用清除的抗肿瘤剂包括但不限于表柔比星和喜树碱如 irinotecan 及托泊替堪。在此过程中，葡糖醛酸与毒性化合物连接以利于将它们排除。葡糖醛酸与其它分子连接时需要尿苷二磷酸葡糖醛酸（UDPGA）。使用尿苷或胞苷的酰基衍生物提高了细胞中 UDPGA 的浓度并由此提高了毒性化合物的葡糖醛酸化作用。在这种情况下，在抗肿瘤剂给药前或同时使用胞苷或尿苷的酰基衍生物。在典型的临床情况下，在抗肿瘤化合物给药前或给药期间一次或分四次使用 1

至 10g 尿苷酰基衍生物。

可在使用抗肿瘤或抗病毒试剂过程之前,之中和/或之后使用本发明的化合物。典型的情况是,在使用了一定剂量的癌症化疗剂之后使用本发明的化合物,作为使用了有效剂量的抗肿瘤剂之后对正常组织的一个“补救”措施。

胃肠上皮对癌症化疗剂如氟尿嘧啶很敏感。胃肠粘膜的粘膜炎、口炎或溃疡是癌症化疗的常见副作用,能导致不适、腹泻、电解质不平衡和消瘦。本发明的化合物和组合物可用于防止或治疗由癌症化疗剂引起的对胃肠通道(包括口腔)的损害。为这种目的使用本发明的化合物和组合物时可以任选地把它们制成流体形态的溶液或悬浮液(作为漱口水、作为一种吞咽的组合物、或作为灌肠剂),胶囊、糖衣药丸、药片、注射溶液或栓剂。系统使用本发明的化合物和组合物也能减轻抗癌或抗病毒核苷类似物对胃肠粘膜造成的损害。

局部使用本发明的化合物(如对头皮)可用来预防化疗所致的脱发症。

尿苷的酰基衍生物有助于防止或治疗由于氟尿嘧啶或尿苷的有关的氟化类似物(如氟尿苷或其药物前体、氟脱氧尿苷或其药物前体、喃氟啶、5'-脱氧氟尿苷)引起的毒性反应。对于口服,有益的尿苷酰基衍生物是那些用短链脂肪酸(特别是醋酸)取代的衍生物,或者用短链二价碳基氧碳酸酯(如乙氧基碳酸酯)取代的衍生物。胞苷或脱氧胞苷的酰基衍生物也有助于治疗氟尿嘧啶或有关的氟化嘧啶类似物引起的毒性反应。

在典型的治疗过程中,患者接受一定剂量的氟尿嘧啶,氟尿嘧啶可以作为一种单独用的治疗剂,或作为还包括使用其它抗肿瘤药物(如氮甲喋呤、甲酰四氢叶酸、PALA 或环磷酰胺)的治疗方法中的一部分。使用 5-FU 几小时至一天(即 2-24 小时)后,患者口服 1 至 10g 三乙酰尿苷。在随后的 1 至 4 天的疗程中患者每隔 6 至 8 小时口服一次同样剂量的 TUA。患者还可每周或在更长时间间隔内另外接受 5-FU 加 TAU 的治疗。

为了治疗人体肿瘤,在六周内经常每周快速浓注 5FU。在这种治疗方案中,5FU 的正常最大耐受剂量为 500 至 600mg/m²。随后(5FU 给药后 2 至 24 小时)使用非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物可将每周 5FU

的剂量逐步提高到正常最大耐受剂量的 1.5 倍以上(即大于 $900\text{mg}/\text{m}^2$), 优选 900 至 $2000\text{mg}/\text{m}^2$, 更优选 1000 至 $1600\text{mg}/\text{m}^2$ 。临床上使用 5FU 的另一种方法是连续 4 或 5 天内每天注射 400 至 $500\text{mg}/\text{m}^2$ 。这种给药方案每三至四周重复一次。这种情况下, 随后使用非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物同样使 5FU 的剂量至少提高至正常耐受剂量的 1.5 倍, 优选 600 至 $1000\text{mg}/\text{m}^2$, 更优选 700 至 $900\text{mg}/\text{m}^2$ 。每天使用 5FU 的情况下, 在每次 5FU 给药后 2 至 12 小时接着使用非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物。另一种给药方案包括在 24 小时内输注总剂量为 1800 至 $2600\text{mg}/\text{m}^2$ 的 5FU, 每周至每三至四周重复一次。当输注与快速浓注相比) 5FU 时, 要使用高累积剂量, 因为 5FU 被大量降解。5FU 输液 24 小时的情况下, 在输毕 2 至 24 小时后使用非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物, 使 5FU 的剂量比正常耐受剂量提高至少 1.5 倍, 优选 2800 至 $4000\text{mg}/\text{m}^2/24\text{h}$ 。

使用高剂量 5FU, 随后使用非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物的另一
种方案是三周内每周快速浓注 5FU, 随后停药一周至数周。这种方案与普通的每周注射, 注射六周的上述方案相比, 每周可使用更高剂量的 5FU。在每周注射, 注射 3 周的方案中, 用非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物来降低 5FU 的毒性, 优选浓注 5FU 剂量为 1000 至 $2400\text{mg}/\text{m}^2$ 。

在所有方案中, 用随后使用非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物的方法提高抗肿瘤核苷类似物的剂量, 抗肿瘤核苷类似物的最大剂量是对患者的毒性达到最大临床接受程度的剂量。

对 5FU 的临床反应是每周剂量强度的函数(Hryniuk 等, Seminars in oncology, 14(No.4;Suppl 4): 3-11[1987])。与非甲基化嘧啶核苷酰基衍生物合用使 5FU 剂量的提高增强了 5FU 的抗肿瘤效果。5FU 药效的其它调节剂包括但不限于氨甲喋呤、曲美沙特、甲基巯基嘌呤核糖甙, PALA、甲酰四氢叶酸、5FU 分解代谢的抑制剂, 左旋噻咪唑、干扰素或顺铂可任选地与 5FU 和非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物合用。当与 5FU 和非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物合用时, 这样的调节剂使用剂量和方案类似或等同于它们与 5FU 合用而不随后使用非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物时确定的适宜的剂量和方案。一些这样的调节剂也增加 5FU 的毒性, 因此降低了可以给患者使用的最大耐受剂量。但在
这种情况下, 随后使用非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物与不使用时相

比，5FU 的剂量提高了 1.5 倍以上。随后使用非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物同样使其它氟化嘧啶、5FU 药物前体或其它细胞毒性核苷类似物的正常最大耐受剂量提高。

5 患者对 5FU 的敏感性存在个体差异。但是，对于任何个别患者，与 5FU 合用非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物使氟化嘧啶的剂量至少比正常最大耐受剂量提高了 1.5 倍。对于任何个别患者来说，5FU 的正常最大耐受剂量，可以通过 5FU 免疫实验、由医生根据经验判断，或者通过对参与 5FU 降解或合成代谢的酶的检测来估计。

10 5FU 本身可以与抑制 5FU 被二氢嘧啶脱氢酶（DPD）降解的化合物合用。DPD 是 5FU 降解的初始酶，在肝脏中的浓度高。对此酶的抑制降低了 5FU 通过肝脏和其它组织从血流中的清除速率，于是可口服使用 5FU。DPD 抑制也降低了 5FU 代谢产物的形成，而代谢产物可能加强其毒性或可能降低其抗肿瘤效果。DPD 抑制剂的例子包括但不限于 5-乙炔基尿嘧啶、溴代乙烯基尿嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶或苄氧苄基尿嘧啶（BBU）。

在本发明的一个实施例中，5FU 或 5FU 药物前体与酶 DPD 的抑制剂合用。在此实施例中，DPD 的抑制剂在 5FU 或其它细胞毒性氟化嘧啶使用前或同时使用。尿苷或胞苷的酰基衍生物在 5FU 使用后 2 至 24 小时给药。尿苷或胞苷的酰基衍生物的随后给药，使合用比正常耐受剂
20 量高的 5FU 安全可靠，结果改善了其抗肿瘤效果。

尿苷其次是胞苷的酰基衍生物也有益于治疗或预防由 N-磷酰基乙酰-L-天冬氨酸（PALA）、吡唑呋喃菌素、6-氮杂尿苷、阿扎利宾、三氟-甲基-2'-脱氧尿苷和 3-脱氮杂尿苷引起的毒性反应。

25 为了调节口服有效的抗肿瘤药物，特别是口服有效的氟化嘧啶或氟化嘧啶的药物前体（如 5'-脱氧氟尿苷衍生物，例如喃氟啉（5-氟-1-（四氢-2-糠基）尿嘧啶）、5'-脱氧氟尿苷或相关衍生物）的毒性和药效，可用几种方式使用非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物。在本发明的一个实施例中，在氟尿嘧啶药物前体如喃氟啉给药几小时或一天后使用非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物，与上述氟尿嘧啶非肠道给药的情况相似。在
30 本文中，非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物的随后给药导致氟化嘧啶对正常组织毒性的降低。在本发明的另一个实施例中，在口服有效的抗肿瘤试剂使用的同时或使用后约 1 小时内进行非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生

物的给药。

5 喃氟啉是一种口服有效的 5-氟尿嘧啶药物前体，通常临床上使用含摩尔比为 4：1 的尿嘧啶和喃氟啉的制剂。在本文中，尿嘧啶提高了喃氟啉降解（在由肠道吸收进血液中或之后）产生的 5-氟尿嘧啶的抗肿瘤效果，原因是尿嘧啶与 5-氟尿嘧啶竞争降解这两种嘧啶分子的酶，即二氢嘧啶脱氢酶。但是，尿嘧啶也提高了 5-氟尿嘧啶对正常组织（特别是肠道）的毒性。胃肠损害是喃氟啉和尿嘧啶混合物的主要限制剂量的毒性。与喃氟啉（或其它口服有效的抗肿瘤嘧啶类似物）一同使用非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物导致使如喃氟啉产生的 5-氟尿嘧啶等的系统毒性所希望地提高，而不象尿嘧啶本身那样急剧增强了对肠粘膜的毒性。非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物和口服有效的抗肿瘤核苷类似物给药的方
10 式、剂量及其摩尔比一般与尿嘧啶和口服有效抗肿瘤剂的相同。见美国专利 4328229，在此引入以供参考。使用本发明的酰基衍生物也使使用较高剂量的口服有效的抗肿瘤剂成为可能。本发明的这个方案用
15 试验说明于下文中的实施例 13 和 14。

脱氧胞苷的酰基衍生物有助于治疗或预防由抗肿瘤核苷类似物引起的毒性反应，上述类似物特指胞苷的类似物，如阿糖胞嘧啶或其药物前体、环胞苷、5-氮杂-2'-脱氧胞苷，阿糖 5-氮杂胞嘧啶或 6-氮杂胞苷。对口服的情形，脱氧胞苷有益的酰基衍生物为那些被短链脂肪酸特别是乙酸酯取代的衍生物。
20

在一个涉及使用阿糖胞嘧啶或有关的胞苷的抗肿瘤类似物（主要用它们治疗白血病）的典型临床过程中，在使用一定剂量 Ara-C 之前或之后或与其同时口服 0.5-10 克剂量的脱氧胞苷的酰基衍生物。此后每隔 6 至 8 小时继续服用该剂量的脱氧胞苷的酰基衍生物 1 至 4 天。根据临床
25 反应，每星期或在更长的时间间隔内重复这种治疗方法。

我们的意图是用该抗肿瘤剂来治疗它们常用来治疗的那些类型的肿瘤，比如，Ara-C 及其有关的胞苷类似物对白血病有效，而氟尿嘧啶及其有关的氟化尿苷类似物则用于治疗结肠，胃，胰腺，胸部以及头颈部的肿瘤。在一个实施例中，用通常的剂量使用这些抗肿瘤剂，在这种情况下，本发明的化合物主要是缓解了毒副作用的程度。在另一个实施例中，服用高于通常剂量的抗肿瘤剂，在这种情况下非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物能保证使用这样剂量较高的，疗效积极的剂量抗癌药物的
30

安全。此外，由于使用本发明的化合物和组合物提高了抗癌剂的治疗指数，可以使用一些特定的抗肿瘤试剂来治疗目前的标准疗法中不用它们来治疗的那些肿瘤，包括但不限于黑素瘤、前列腺癌、肾癌、卵巢癌或肺癌。

5 一种鉴定肿瘤类型或鉴定对高剂量氟化嘧啶与非甲基化嘧啶核苷合用反应概率高的个体肿瘤患者的方法，包括检测血清或肿瘤活组织切片中脂肪酸合成酶(FAS)。FAS 在很多癌症中的表达较高，它可能的作用是为快速细胞分裂提供所需的脂(Kuhajda 等,Proc. Nat. Acad. Sci. 91:6379-6383[1994])。FAS 需要 NADPH 作辅助因子。用于脂肪酸合成的大部分 NADPH 由 NADP 通过葡萄糖代谢的己糖一磷酸酶分路 (shunt) (HMP 分路)途径再生。HMP 旁路由于细胞 NADPH 缺失而活化。NADPH 通过 HMP 旁路产生的产物是核糖和多种磷酸核糖。为了细胞快速合成代谢高浓度的 5FU ，需要供应磷酸核糖焦磷酸(PRPP)或核糖-1-磷酸(R-1-P)，具体依 5FU 是通过乳清酸磷酸核糖转移酶还是
10 通过尿苷磷酸化酶转化为细胞内氟尿苷一磷酸而定。血清或肿瘤活组织检查中 FAS 的高浓度是肿瘤的标记，它们有效地产生 5FU 有效的合成代谢所需的核糖，并对高剂量的 5FU 有特别的反应性。

病毒感染引起的并发症的治疗

受 HIV 感染的病人，特别是那些感染已经发展到“获得性免疫缺陷综合征”(AIDS) 的病人，会出现多种免疫系统严重受损引起的症状和疾病，而这些症状和疾病在一些情况下又进一步加重了免疫系统严重受损的程度。这些病人中有很多都使用了抗病毒化疗剂如 AZT ，这些试剂同时对人体的免疫功能和造血有不利影响，会进一步降低人体对所有形式感染的抵抗力。使用本发明的化合物--口服、静脉注射或非肠道注射--能提高因抗病毒化疗剂特别是那些改变核苷酸的合成、代谢或利用的试剂，如 AZT 或二脱氧胞苷而降低的血细胞数。因为在 AIDS 病人的化疗中贫血和对感染较高敏感度是限制剂量和限制速率的因素，所有用这些化合物治疗病人会降低化学治疗的副作用(进而提高人的健康程度) ，并且如果适合，允许采用强度更大的化学治疗方法。
25 AZT 和二脱氧胞苷对骨髓以外的组织包括肌肉和周围神经系统有不利的作用。本发明的化合物和组合物也可用于治疗或预防这样的副作用。

AZT 和二脱氧胞苷以外的多种抗病毒核苷类似物都用于治疗病毒感染，包括但不限于 HIV、疱疹或肝炎。这样的试剂的例子包括：5-乙基-2'-脱氧尿苷、5-碘代-2'-脱氧尿苷、5-溴代-2'-脱氧尿苷、5-甲氨基-2'-脱氧尿苷、2', 3'-二脱氧胞苷-2'-烯、3'-脱氧胸苷-2'-烯、3'-叠氨基-2',3'-二脱氧尿苷、阿糖尿嘧啶、二脱氧尿苷、2',3'-二脱氧-3'-氟胸苷以及(S)-1-(3-羟基-2-磷酸基甲氧基丙基)胞嘧啶(HPMPC)；参见 WO89/09603，在此引入以供参考。本发明的化合物可用来治疗或预防这些和有关的其它抗病毒核苷类似物的有害副作用。

在治疗或预防抗病毒化学疗法引起的毒性反应过程中，可以在使用
10 抗病毒剂过程之前、之中和/或之后使用这些化合物和组合物。常用的抗
病毒化学疗法特别是用于治疗慢性病毒感染如 HIV 感染的疗法涉及每
天(经常是每天数次)使用一种或多种抗病毒剂。根据观察到的临床效
果，本发明化合物的使用可以每天几次，每天一次或次数更少。在所有
的情形中，按通常的治疗方法，用这些抗病毒药物类来治疗在临床上已
15 证实上述药物对它们有效的那些类型的病毒感染。用抗病毒核苷类似物
来治疗病人，或者可以降低标准剂量药物的副作用，或者可允许使用高
于常规容许的或使用的剂量的抗病毒试剂。

为治疗 AZT 引起的毒性反应，可以使用尿苷和/或胞苷的酰基衍生物
或者脱氧胞苷的酰基衍生物。脱氧胞苷的酰基衍生物特别有益。对口服
20 使用方法来说，用短链脂肪酸(特别是乙酸酯)，或用短链二价碳基
氧基碳酸酯(如乙氧碳酸酯)取代的脱氧胞苷、尿苷和胞苷的酰基衍生物
较是有利的。

在通常的临床条件下，患者每天需接受 AZT 2 至 4 次，而且一般须
无限期地使用下去。根据临床反应，可以每周一次直至每天经 4 次口服
25 1-10 克剂量的尿苷、胞苷或脱氧胞苷(或者两种或全部上述核苷混合
物)的酰基衍生物。

脱氧胞苷的酰基衍生物有益于治疗或防止二脱氧胞苷引起的毒性
反应。

与疟疾感染有关的并发症的治疗

30 疟疾寄生物如约氏疟原虫或恶性疟原虫，依赖于嘧啶核苷酸生物合
成的从头合成途径；哺乳动物细胞一般能利用从头合成途径或“补救”
途径，通过这些途径高级的核苷酸前体(如尿苷或胞苷)被结合进细胞

内的核苷酸集中处。

5-氟乳清酸酯，一种嘧啶核苷酸前体乳清酸的类似物，对依赖于从头嘧啶生物合成的疟疾寄生物有毒。其它从头嘧啶生物合成的抑制剂如PALA、吡唑呋喃菌素或6-氮杂尿苷也对疟疾寄生物有类似的毒性。嘧啶生物合成的抑制剂特别包括氟乳清酸酯也对哺乳动物有毒。不过对用5-氟乳清酸酯（或其它嘧啶生物合成的抑制剂）治疗过的哺乳动物使用尿苷会减弱前者的宿主毒性而不会降低其抗疟疾的活性。口服用的能提高血液中的尿苷含量的活性试剂是本文中尿苷的有益的来源。这样的试剂包括本发明的尿苷或胞苷的酰基衍生物。在治疗疟疾过程中，使用了有效抗疟疾剂量的氟乳清酸酯。在使用氟乳清酸酯之前、之后或与此同时，使用了尿苷或胞苷的酰基衍生物（三乙酰尿苷特别有益），其使用剂量足以减轻氟乳清酸酯的毒性。酰化尿苷或胞苷衍生物如三乙酰尿苷的常用剂量为1-10克，使用次数应满足使氟乳清酸酯的毒性降至最低的要求，如每天1至4次。根据需要还可以重复使用上述剂量的氟乳清酸酯或尿苷，以分别克服疟疾感染和降低宿主毒性。

E. 本发明化合物和组合物的使用和组成

根据治疗情况，可以采用口服，非肠道注射、静脉注射、局部使用或其它方式使用本发明的化合物和组合物。

通过监视治疗效果，本领域的技术人员可以很容易地确定三乙酰尿苷（或尿苷、胞苷、脱氧胞苷或脱氧尿苷的其它酰基衍生物）的最佳剂量和服药次数安排。

可以长期或间歇地使用本发明的化合物和组合物。根据化疗剂的毒性特征，可以选择在使用细胞减少性或抗病毒化疗剂之前，之中或之后使用这些化合物和组合物。

用于口服的尿苷、胞苷、脱氧胞苷或脱氧尿苷的有益的酰基衍生物是那些核糖或脱氧核糖环上的羟基被短链（2-6个碳原子）脂肪酸取代的衍生物。用于口服的、有益的衍生物还有羟基被含3-7个碳原子的烃氧羰基取代的嘧啶核苷。

口服尿苷、胞苷、脱氧胞苷或脱氧尿苷的酰基衍生物的剂量一般在每天0.5-20克之间，最常见的是在每天2-10克之间。

粉末状的尿苷、胞苷、脱氧胞苷或脱氧尿苷的酰基衍生物是以胶囊或药片形式口服，尽管溶液、乳剂或悬浮液形式也可用于口服。

本发明的化合物可任选地在可生物降解、可生物腐蚀或其它逐渐释放的基质中配制而成，以便在口服或皮下注入后持续释放这些化合物。对静脉内或肌内注射的情形，可任选地在脂质体中配制上述化合物。

5 将具有药理学活性的化合物与适当的在药物学上可接受的载体任选地结合到一起，上述载体包括使上述活性的化合物便于处理的赋形剂和助剂。可以把它们制成药片，糖衣药丸，胶囊和栓剂来使用。组合物比如可以口服，经直肠或阴道的方式使用，或通过口腔的颊囊释放，并且可选地以溶液的形态注射、口服或局部使用。组合物可以含约 0.1-99 %（最好约 50-90 %）的活性化合物，并使它（们）与赋形剂（一种或
10 多种）结合在一起。

对注射或静脉内输注这样的非肠道使用方法，活性化合物悬浮或溶解在水溶介质（如无菌水或盐水溶液）之中。可注射的溶液或悬浮液可任选地含表面活性剂，如聚氧乙烯脱水山梨醇酯、脱水山梨醇酯、聚氧
15 乙烯醚或溶剂如丙二醇或乙醇。溶液通常含 0.01-5 % 的活性化合物。活性化合物可任选地溶解在药用级植物油中供肌肉内注射。这样的制剂在油中含约 1-50 % 的活性化合物（一种或多种）。

合适的赋形剂包括填充剂以及粘合剂，填充剂比如可以是糖如乳糖、蔗糖、甘露糖醇或山梨醇、纤维素制剂和/或酸钙如磷酸三钙或磷酸
20 氢钙，以及粘合剂如淀粉糊如用玉米淀粉、小麦淀粉、水稻淀粉或马铃薯淀粉、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。

助剂包括流动调节剂和润滑剂，比如硅石、滑石、硬脂酸及其盐（比如硬脂酸镁或硬脂酸钙）和/或聚乙二醇。糖衣药丸的核心外有一适当的包衣，需要的话它应能抗胃液的腐蚀。为此，采用了浓缩的糖溶液，溶
25 液可随意含有阿拉伯树胶、滑石、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙二醇和/或二氧化钛，漆溶液和适当的有机溶剂或溶剂混合物。为制备抗胃液腐蚀的包层，采用了适当的纤维素制剂（如邻苯二甲酸乙酰纤维素或邻苯二甲酸羟基丙基甲基纤维素）的溶液。比如，也可任选地把染料或色素加入药片或糖衣药丸的包层中，用来区别或表征不同剂量化合物的特性。

30 制备本发明的药物制剂的方法本身是众所周知的，比如，可通过通常的混合、造粒、制造糖衣、溶解或冻干工艺来完成。于是，生产口服药物制剂的方法是，使活性化合物（一种或多种）与固态赋形剂结合，

并且如果想要或需要的话，在加入合适的助剂后可以任选地粉碎所得的混合物并加工粒状的混合物，最后得到药片或糖衣丸。

其它用于口服的药物制剂包括明胶做的挤压成形胶囊，以及用明胶和增塑剂例如甘油或山梨醇做的软胶囊。挤压成形的胶囊含有粒状的活性化合物（一种或多种），这些化合物可任选地与填充剂如乳糖、粘合剂如淀粉和/或润滑剂如滑石或硬脂酸镁以及还可以有稳定剂相混合。在软胶囊中，活性化合物优选溶解或悬浮在适当的液体如脂肪油、液态石蜡或聚乙二醇中。此外，也可任选地加入稳定剂。

非肠道使用合适的试剂包括水溶性活性化合物如水溶性盐的水溶液。此外，也可使用适于与油溶性注射悬浮液共容的活性化合物的悬浮液。适用的亲油溶剂或媒介包括脂肪油如芝麻油或者合成的脂肪酸酯比如油酸乙酯或甘油三酯。水溶性注射悬浮液可任选地包括能提高悬浮液粘度的物质，这些物质比如可以包括羧甲基纤维素钠，山梨醇和/或葡聚糖。悬浮液可任选地含有稳定剂。

在另一个实施例中，活性化合物可以配制成皮肤洗剂的一部分，用于局部使用。适用的亲油溶剂或媒介包括脂肪油如芝麻油或椰子油或者合成的脂肪酸酯比如油酸乙酯或甘油三酯。

在另一个实施例中，把活性化合物配在适用于直接治疗胃肠粘膜疾病的载体中。这样的例子包括漱口液，吞咽液体（溶液或悬浮液），或粘性液体（如甲基纤维素、羧甲基纤维素、黄耆胶等的溶液。这些液体是通过口服或通过直肠给药的。

直肠给药的其它药物制剂特别是用于治疗结肠和直肠的制剂包括如由活性化合物与一种栓剂的基质结合而成的栓剂。适用的栓剂基质比如可以是天然的或合成的甘油三酯、链烷烃、聚乙二醇或高级链烷醇。此外，也可用由活性化合物与一种基质结合而成的明胶直肠胶囊。基质材料比如可包括液体甘油三酯、聚乙二醇或链烷烃。

F. 本发明化合物的合成

通过使一种嘧啶核苷与一种被活化的羧酸反应，可以合成非甲基化嘧啶核苷的酰化衍生物，被活化的羧酸是已用适当的试剂处理过的羧酸，处理后其羧酸盐的 C 比原羧酸中的 C 对亲核的侵袭更加敏感。用于合成本发明化合物的活性羧酸的例子为酰氯、酸酐、N-羟基丁二酰胺酯或者用 BOP-DC 活化的羧酸。作为另一种选择，羧酸也可通过偶合剂

如二环己基碳二亚胺(DCC) 与嘧啶核苷相连接。

在制备本发明的酰基化合物的过程中, 当所需的酰基衍生物的酸来源带有影响酰化反应的基团如羟基或氨基时, 这些基团在制备酰之前分别被保护基团如叔丁基二甲基甲硅烷醚或 t-BOC 基团保护。比如乳酸用叔丁基二甲基氯硅烷转化成的 2-叔丁基二甲基甲硅烷氧丙酸, 然后所生成的甲硅烷酯被含水基质水解。通过被保护酸与 DCC 反应可以生成酰。采用标准工艺, 用氨基酸制备出 N-t-BOC 或 N-CBZ 衍生物, 然后 N-t-BOC 或 N-CBZ 又被 DCC 转化为酰。在含有多于一个羧酸盐基团的酸(琥珀酸、富马酸或己二酸) 的参与下, 所需的二元羧酸的酸酐与嘧啶核苷在嘧啶中或在嘧啶加二甲基甲酰胺或二甲基乙酰胺中反应。

按照标准方法, 在一适当的溶剂, 特别是在(i) 二氯甲烷以及(ii) 在二甲基乙酰胺或二甲基甲酰胺的混合物中使用 DCC , 使氨基酸与胞苷和脱氧胞苷的外向环氨基, 及嘧啶核苷的醛糖部分上的羟基相偶合。

通过使核苷在溶剂例如嘧啶或嘧啶加二甲基甲酰胺中在无水条件下与适当的二价碳基氯甲酸酯反应, 可以制备出非甲基化嘧啶核苷的二价碳基氧化羰基衍生物。在真空环境下排除溶剂, 用柱色谱法提纯残余物。

对本领域普通技术人员来说显然清楚, 用其它合成方法也可制备出本发明的化合物。

下列实施例说明了而不是限定本发明的方法和组合物。对本领域技术人员显而易见的, 在临床治疗中经常遇到的多项条件和参数的其它适当改进及变化也应包括在本发明的精神和保护范围之内。

实施例

实施例 1 : 口服三乙酰尿苷缓解 5-氟尿嘧啶的血液学毒性

目的:

进行这项研究的目的是想确定口服 TAU 以使小鼠摆脱 5-FU 毒性影响的效果是否比口服尿苷本身更好。用骨髓细胞数和外周血细胞数作为 5-FU 毒性的指数。

方法:

在试验开始那天的中午 12 时对 45 只雌性 Balb/C 小鼠(每只重 20g) 使用 5-FU (150mg/kg , 腹膜内注射(i.P.)), 然后将这些动物分为 5 组: 对照组(水, 口服(P.O.)), 口服尿苷 400mg/kg/剂量,

口服尿苷 800mg/kg/剂量，非肠道使用（腹膜内注射）尿苷 400mg/kg/剂量以及口服 TAU500mg/kg/剂量。

使用 5-FU 两小时后，开始用尿苷或三乙酰尿苷进行补救治疗。各组在使用 5-FU 当天下午 2 时、4 时、6 时以及次日上午 9 时、11 时、下午 1 时、3 时、和 5 时接受指定的治疗。根据情况，每剂量的尿苷或 TAU 溶解在 0.2ml 水中用管饲法使用，或溶解在 0.2ml 盐水中用腹膜内注射法使用。

使用 5-FU 7 天后，从每组 5 个小鼠的眼眶之下的窦中采集 0.2-0.3ml 血，注入到 EDTA 中，供随后血细胞分类计数用。用颈部脱位法处死小鼠，取下股骨，排出其中的细胞供计数用；取出脾并进行称重。使用 5-FU 13 天后，对每组剩下的 4 只小鼠进行放血、处死取出它们的脾脏。

结果：

第 7 天

使用 5-FU 致使所有检测到的类型血细胞数都下降。使用 5-FU 7 天后，通过口服 TAU 治疗过的动物的嗜中性白细胞、淋巴细胞和血小板数都显著地高于对照组的动物（表 1）。特别值得注意的是接受了 TAU 的小鼠的白细胞数比腹膜内注射同等摩尔数剂量的尿苷的小鼠高。口服 TAU 的小鼠的细胞数也比口服同样摩尔数（400mg/Kg/剂量）或两倍摩尔数（800 mg/Kg/剂量）剂量的尿苷的小鼠高。

口服 TAU 及腹膜内注射尿苷的小鼠中的血小板数在正常范围内（700-800K/ μ l）。血小板数在其它组中低于正常水平，在对照组小鼠中最低（表 1）。

用口服 TAU 及非肠道使用尿苷法治疗过的小鼠中的骨髓细胞数显著高于其它组中的任何一个（表 2）。

第 11 天

一个重要的结果是，接受 TAU 的组中小鼠的嗜中性白细胞和 RBC 的含量高于用其它方法治疗过的组，包括腹膜内注射等摩尔数剂量尿苷的那些小鼠（表 3）。

脾重是从骨髓损伤中恢复的小鼠造血活性的一个指数。使用 5-FU11 天后，口服 TAU 的小鼠的脾重显著大于其它治疗组，对照组中的脾重最小（表 4）。

结论：

这项研究的结果表明,口服 TAU 使小鼠从 5-FU 毒性中解救出来的效果好于口服同等摩尔数或两倍摩尔数的尿苷,并且好于腹膜内注射同等摩尔数剂量尿苷的效果。

5 表 1. 使用 5-FU 7 天后的血细胞数

	<u>WBC</u>	<u>嗜中性白细胞</u>	<u>淋巴细胞</u>	<u>血小板</u>	<u>RBC</u>
对照	3.4±.1	0.24±.05	3.18±.07	387±72K/ μ l	8.05±.11
Urd 400 口服	4.4±.5*	0.48±.23	3.01±.77	434±114	7.66±.12
Urd 800 口服	4.6±.4*	0.88±.22*	3.76±.27	646±108	8.24±.26
Urd 400 腹膜内注射	4.6±.4*	0.83±.24*	3.80±.30	773±54**	8.06±.05
TAU 500 口服	5.9±.4*	1.20±.23**	4.72±.36**	723±57**	8.27±.16

除 RBC 的血细胞计数单位为 M/ μ l 外,其余皆为 K/ μ l。

*= 大于对照值, P<0.05

10 **= 大于对照值, P<0.01

表 2. 使用 5-FU 7 天后髓细胞数和脾重

	<u>髓细胞数</u>	<u>脾重</u>
对照	1.5±.2×10 ⁶ /股骨	71±2.6 mg
urd400 口服	1.6±.2×10 ⁶	74±2.4
urd 800 口服	2.9±.9×10 ⁶	74±6.4
urd 400 i.p.	5.0±.7×10 ⁶ **	78±5.5
TAU500 口服	3.0±.5×10 ⁶ *	78±3.5

15 *= 大于对照值, P<0.05

**= 大于对照值, P<0.01

表 3. 使用 5-FU 11 天后的血细胞数

	<u>WBC</u>	<u>嗜中性白细胞</u>	<u>淋巴细胞</u>	<u>血小板</u>	<u>RBC</u>
对照	5.2±.3	0.48±.12	4.68±.11	2280±193	7.31±.05
urd 400 口服	4.6±.5	0.84±.19	3.65±.27	1940±177	7.44±.14
urd 800 口服	4.9±.4	0.82±.19	4.07±.38	2127±143	7.33±.16
urd 400 i.p.	5.1±.5	1.20±.21*	3.84±.38	1706±88	7.78±.22
TAU500 口服	5.4±.5	1.89±.12**	3.29±.36	1446±160	8.05±.16**

除 RBC 的血细胞计数单位为 M/ μ l 外，其余皆为 K/ μ l。

*= 大于对照值，P<0.05

**= 大于对照值，P<0.01

5

表 4. 使用 5-FU 11 天后脾重

	<u>脾重</u>
对照	76±7mg
urd 400 口服	103±15
urd 800 口服	99±6*
urd 400 i.p.	104±6*
TAU500 口服	143±11**

*= 大于对照值，P<0.05

**= 大于对照值，P<0.01

10

实施例 2：TAU 按一种剂量依赖关系加速用 5-FU 治疗过的动物的造血系统的恢复

目的：

这项试验的目的是为了证实和发展以前的一些发现，即口服 TAU 能加速用 5-氟尿嘧啶（5-FU）治疗过的小鼠中造血系统的恢复，以及观察 TAU 剂量的增加与这些用 5-UF 治疗过的小鼠的造血系统的响应之间的关系。

15

方法：

在试验开始的那天下午 1 时，对 70 只各重约 20g 的雌性 Balb/C 小鼠中的每一只腹膜内（i.p.）注射 5-FU（150mg/kg）。然后把这些动

20

物分成 5 个不同的治疗组：对照组（水）以及剂量分别为 100、250、500 和 1000mg/kg/治疗的口服 TAU 组。在使用 5-FU 当天下午 3 时、5 时、7 时 30 分、10 时以及第二天的上午 9 时、11 时、下午 1 时、3 时、6 时和 10 时使用试验化合物；最后一次使用试验化合物是在一次注射 5-FU 两天后的上午 11 时。每次治疗都是用管饲法与 0.2ml 体积的水同时口服，只有最大剂量的 TAU 和 0.4ml 水一次使用。

使用 5-FU 后的第 7 天和第 11 天，用眼眶后放血法从每组 7 只小鼠中采集 0.2-0.3ml 血并注入 EDTA，供随后血细胞分类计数用。用颈部脱位法处死小鼠，取出它们的右股骨，排出骨内物质供细胞计数用；取出它们的脾进行称重。

结果：

第 7 天

随着 TAU 剂量增加，骨髓中有核细胞的数量也增加。接受 TAU100 这一组中这样的细胞数近似等于对照组中的细胞数，而与对照组相比，TAU500 和 TAU1000 组中骨髓细胞构成的差别显然更大（表 5）。

TAU 剂量为 500 和 1000mg/kg/治疗的治疗过程使其白细胞数显著大于对照组。

总的嗜中性白细胞数也显示出随剂量的增加而增加，TAU1000 组中的上述数量约达到对照组的 3 倍。

与对照组相比，TAU500 和 TAU1000 组中的淋巴细胞数都显著提高。

TAU250、500 和 1000 组中的血小板数显著提高。剂量响应曲线在 500mg/kg/治疗处达到平直部分（表 6）。

表 5. TAU 剂量增加对使用 5-FU 7 天后小鼠的造血的影响。所有的血小板计数单位为 $K/\mu l$ 。

	<u>髓细胞</u>	<u>WBC</u>	<u>嗜中性白细胞</u>	<u>淋巴细胞</u>
对照	1.70±.35	2.46±.13	.026±.011	2.43±.13
TAU100	1.77±.18	2.47±.04	.014±.008	2.46±.04
TAU250	2.91±.48	2.76±.20	.027±.012	2.71±.20
TAU500	3.93±.39*	4.06±.14*	.037±.020	3.99±.15*
TAU1000	4.42±.34*	3.57±.25*	.071±.027	3.44±.23*

*表示不同于对照组， $P<0.01$

5 表 6. TAU 剂量增加对使用 5-FU 7 天后小鼠的红细胞(RBC) 和血小板(PLT) 的影响

	<u>RBC (M/μ l)</u>	<u>PLT (K/μ l)</u>
对照	8.38 $\pm$.18	308 $\pm$ 52
TAU 100	8.20 $\pm$.07	440 $\pm$ 46
TAU 250	8.51 $\pm$.06	601 $\pm$ 46**
TAU 500	8.43 $\pm$.16	712 $\pm$ 42**
TAU 1000	8.65 $\pm$.15	715 $\pm$ 35**

**表示不同于对照组， $P<0.01$

第 11 天

10 与对照组比较，每种剂量的 TAU 都使脾重有些增加，但仅在 TAU250 组中达到统计学上的显著性(104.2 $\pm$ 3.5mg 比 79.7 $\pm$ 3.1; $P<0.05$) 。

与对照组相比，TAU250、500 和 1000 组中的总的嗜中性白细胞数显著提高。

15 对红细胞数来说，与对照组(每微升 7.90 $\pm$ 0.09 $\times 10^6$) 相比，在 TAU500 组(每微升 8.72 $\pm$ 0.18 $\times 10^6$) 和 TAU1000 组(每微升 8.63 $\pm$ 0.16 $\times 10^6$) 中显著增加了。血细胞比容遵循一种类似的模式 表 7) 。

20 表 7. TAU 剂量对使用 50FU 后第 7 天和第 11 天的小鼠中血细胞比容(HCT) 的影响

	<u>对照</u>	<u>T100</u>	<u>T250</u>	<u>T500</u>	<u>T1000</u>
HCT	38.50 $\pm$.88	37.77 $\pm$.37	40.04 $\pm$.38	39.50 $\pm$.61	40.84 $\pm$.68
(7 天)					
HCT	36.94 $\pm$ 0.51	36.80 $\pm$.88	37.47 $\pm$.83	41.16 $\pm$.88	41.55 $\pm$.77
(11 天)				P<.01	P<.001

结论：

本试验的结果证实和发展了以前发现，即用 TAU 治疗接受了 5-FU 化疗剂的动物可以迅速扭转 5-FU 对造血系统的有害作用，并且 TAU 的效果与使用的剂量有关。

实施例 3：尿苷的酰基衍生物减轻了 5-FU 对骨髓的毒性

目的：

本试验的目的是试验和比较尿苷和尿苷的衍生物对缓解化疗剂 5-氟尿嘧啶（5-FU）对小鼠造血系统损害的效力。

方法：

在研究开始的那天下午 1 时，对 98 只重约 20g 的雌性 Balb/C 小鼠中的每只进行一次腹膜内注射 5-FU150mg/Kg。然后把这些动物分为 7 组：对照（盐水）、尿苷（300 mg/Kg/治疗）、三乙酰尿苷（TAU；455 mg/Kg/治疗）、苯甲酰尿苷（BU；428 mg/Kg/治疗）、乙氧羰基（ECU，389 mg/Kg/治疗）、辛酰尿苷（OU，455mg/kg/治疗）和戊酰尿苷（VU，403 mg/Kg/治疗）。所有这些剂量都是等摩尔数的，并且药物溶于 0.4ml 水中通过腹膜内注射使用。在开始日的下午 3：30、6：00 和 8：30，用与其各自相应的试剂治疗这些组中的小鼠。次日上午 9：30、中午 12：00、下午 2：30 和 5：00 使用这些化合物。再次日的上午 10：00 进行最后一次治疗。

使用 5-FU 后的第 7 天和 11 天，用眼窝后放血法从每组 7 只小鼠中采集 0.2-0.3ml 血并注入 EDTA，供随后血细胞分类计数用。用颈部脱位法处死小鼠，取出它们的右股骨，排出骨内物质供细胞计数用；取出它们的脾进行称重。

结果：

第 7 天

即使在这个第一时间点处，每一种尿苷衍生物都能加速造血系统的一方面或多方面从 5-FU 损伤中的恢复。这样，与盐水对照组相比，所有组中的脾重都提高了。尿苷（ $80.4 \pm 7.8\text{mg}$ ）、ECU（ $75.7 \pm 5.0\text{mg}$ ）和 VU（ $69.1 \pm 1.7\text{mg}$ ）组与对照（ 62.7 ± 1.8 ）的差别达到了统计学上的显著水平（ $P < 0.05$ ）。

TAU 的骨髓细胞数比对照值提高了 40 %（分别为每微升

4.50±0.77×10³ 和每微升 2.78±0.45×10³) 。

对白细胞数而言,用 ECU(每微升 7.26±0.31×10³ , P<.01)和 VU (每微升 6.57±.49×10³ , P<.05) 治疗过的组显著高于盐水对照组(每微升 4.60±0.70×10³) 的。

5 对血小板而言,与盐水对照组(每微升 523.2±71.4×10³)相比,用尿苷(每微升 785.3±57.5×10³ , P<0.02)、BU(每微升 829.6±×10³ , P<0.01)和 VU(每微升 825.7±26.7×10³ , P<.002)治疗过的组要显著地高。

与盐水对照组(每微升 0.013±0.009×10³) 相比,差不多所有的治疗中的总的嗜中性白细胞数都有升高的趋势,但只有 VU 组(每微升 10 0.141±0.027×10³) 的提高确实在统计学上显著较大(P<.002) 。

对淋巴细胞数而言,用 ECU (每微升 7.19±0.32×10³ , P<.01) 和 VU 每微升 6.42±0.49×10³)治疗过的组显著大于盐水治疗的对照组(每微升 4.59±0.70×10³) 。

15 仅就本试验中所用的剂量而言,和任何其它衍生物相比碳链最长的辛酰尿苷被证明略带毒性。本组中动物数量不足,无法提供第 11 天的数据。不过剂量最优化研究(见例 3A) 表明使用较低剂量的辛酰尿苷对使用 5-FU 后造血的恢复具有非常有益的效果。

第 11 天

20 通过利用本实验中所用的尿苷衍生物的治疗,事实上造血功能的每一个指数都得到显著改善,这些指数包括脾重、白血细胞数、红血细胞数、血细胞比容、嗜中性白细胞数和淋巴细胞数(表 8) 。每个治疗组的脾重都高于对照组(94.7±7.4) , 其中尿苷组(121.6±9.7) , BU 组(126.9±12.3) 和 VU 组(139.4±8.0) 与对照组的差别达到统计学上的显著水平(P<.05) 。

25 结论

本发明种类繁多的尿苷衍生物都有助于减轻使用化疗剂 5-FU 所造成的损害。

表 8.尿苷和尿苷衍生物对使用 5-FU 11 天后的小鼠造血的影响

30 白血细胞数(WBC) 、嗜中性白细胞数(Neut) 和淋巴细胞数(lym) 的单位是 K/ μ l;红血细胞数(RBC) 的单位是 M/ μ l.

	<u>WBC</u>	<u>RBC</u>	<u>HCT %</u>	<u>Neut</u>	<u>Lym</u>
Con	3.37±.68	7.11±.1	32.97±0.4	.09±.047	3.3±.7
Urd	5.20±.47*	7.32±.2	34.67±0.9	.60±.180**	4.6±.4
TAU	6.23±.55**	7.35±.2	35.01±1.2	.55±.164**	5.6±.4*
BU	6.20±.49**	7.62±.1**	36.87±0.6**	1.04±.295**	5.1±.4*
ECU	5.51±.64*	7.65±.2*	37.54±1.0**	.66±.166**	4.8±.5*
VU	6.31±.42**	7.83±.1**	38.31±0.8**	.97±.136**	5.2±.4*

*表明不同于对照组， P<.05

**表明不同于对照组， P<.01

Con=对照， Urd = 尿苷； TAU = 三乙酰尿苷； BU = 本甲酰尿苷； ECU = 乙氧羰基尿苷； VU = 戊酰尿苷

实施例 3A： 辛酰尿苷缓解了 5-FU 的血液学毒性目的：

本试验的目的在于检验辛酰尿苷（ Oct-U ）缓解 5-氟尿嘧啶（ 5-FU ）对造血的毒性作用的效力。

方法

在研究开始的当天上午 11： 00， 对重约 20g 的 14 只 Balb/C 雌性小鼠中的每一只进行一次腹膜内注射 5-FU 75mg/kg。随后对这些动物中的一半进行 Oct-U 治疗（ 100mg/kg/治疗， 腹膜内注射），同时对另一半（对照）注射生理盐水。在开始日的下午 2： 30、4： 30 和 7： 00 以及次日上午 9： 30、中午 12 时、下午 2： 30 和 5： 00 使用 Oct-U 和盐水。另外一组 7 只小鼠（基础）不接受 5-FU， 也不接受治疗。

结果：

正如利用本研究中所采取的每一项和所有各项指数所测量的那样， 使用 5-FU 造成对造血系统具有统计学上显著的损害， 这些指数包括脾重、骨髓细胞数、 WBC 数、总嗜中性白细胞数、淋巴细胞数、 RBC 数、血细胞比容百分比和血小板数（表 9 和 10）。随后用 Oct-U 治疗接受了 5-FU 的小鼠， 结果使得造血功能的每一项以及各项参数都得到显著的改善（表 9 和 10）。

结论：

用辛酰尿苷治疗接受了 5-FU 的小鼠可以缓解 5-FU 对造血的毒性作

用。

表 9. 辛酰尿苷对使用 5-FU 7 天后的小鼠中骨髓细胞含量和骨髓细胞生成作用的影响

5

	<u>骨髓细胞</u>	<u>白细胞</u> (WBC)	<u>嗜中性白细胞</u> (neut)	<u>淋巴细胞</u> (Lym)
基础	8.96±.32	6.89±.25	1.85±.24	4.78±.23
对照	4.16±.40*	4.04±.19*	0.26±.03*	3.74±.19*
Oct-U	7.73±.68**	5.96±.47**	1.19±.22**	4.62±.29**

*表明对基础组 P<.01

**表明对对照组 P<.01

10 表 10. 辛酰尿苷对使用 5-FU 7 天后的小鼠红细胞(RBC)、血小板(PLT) 和脾重的影响

	<u>RBC</u> (M/ μ l)	<u>PLT</u> (K/ μ l)	<u>脾重</u> (mg)
基础	8.56±.17	897±21	83.6±1.7
对照	7.98±.13*	963±13*	75.4±2.4*
Oct-U	8.13±.14	1243±59**	87.2±3.7**

*表明对基础组 P<.05

15

**表明对对照组 P<.05

实施例 4： 使用尿苷的酰基衍生物后血浆尿苷含量

方法：

20 在使用实施例 3 中用来减轻 5-FU 所致毒性的尿苷的酰基衍生物后的多个时间点(15 分钟、 30 分钟、 1 小时和 2 小时)测定小鼠血浆的尿苷含量。小鼠分成(每种化合物每个时间点的 n=3) 接受下列化合物的腹膜内注射的组：尿苷(300mg/kg)、三乙酰尿苷(TAU, 455mg/kg/治疗)、本甲酰尿苷(BU, 428mg/kg/治疗)、乙氧基羰基尿苷(ECU；



389mg/kg/治疗)、辛酰尿苷(OU , 455mg/kg/治疗)以及戊酰尿苷 (VU , 403mg/kg/治疗)。尿苷的酰基衍生物的剂量与 300mg/kg 尿苷的摩尔数相等。在适当的时间点,从小鼠的眼窝后的窦处取出血样(200 μ l)并立刻进行离心处理。离心处理后用 2 倍体积的甲醇对 75 μ l 所得的血浆进行去蛋白,然后离心分离。对上清液进行冷冻干燥和用 50mM 磷酸钠缓冲液(pH6.0)重建,并且在反相(C13)柱上通过 HPLC 分析尿苷含量。用甲醇梯度法(15 分钟内从 2 % 至 35 %)将 50mM 磷酸钾缓冲液(pH6.0)中的尿苷从其它血浆成分中分离出来。用 260nm 的 UV 吸收检测并定量尿苷。

结果:

如表 11 所示,所有试验的尿苷酰基衍生物都能提高血浆尿苷含量。对照动物(没有接受任何外来的尿苷和胞苷衍生物的小鼠)中的血浆尿苷含量为 $1.1 \pm 0.1 \mu\text{m}$ 。

表 11. 使用尿苷的酰基衍生物后小鼠的血浆尿苷浓度

时间	15 分钟	30 分钟	1 小时	2 小时
化合物	血浆尿苷浓度(μM)			
尿苷	911 ± 35	415 ± 86	185 ± 21	5.3 ± 1.5
三乙酰尿苷	666 ± 70	348 ± 28	24.5 ± 7.5	15.1 ± 1.6
苯甲酰尿苷	1160 ± 45	353 ± 87	178 ± 54	8.6 ± 1.7
戊酰尿苷	1001 ± 113	347 ± 117	266 ± 41	7.4 ± 0.4
辛酰尿苷	56 ± 22	14 ± 7.4	17 ± 2.9	2.2 ± 0.04
乙氧羰基尿苷	250 ± 18	83 ± 0.1	44 ± 12	2.0 ± 1.6

使用所有尿苷的酰基衍生物都能提高血浆尿苷含量,通过逐渐地脱

酰作用，由酰基衍生物持续不断地形成尿苷。这也许不能从血浆尿苷含量中反映出来，因为当通过酰化尿苷衍生物的脱酰作用而生成尿苷时，尿苷的细胞吸收能从循环中除去尿苷。重要的是应注意到，酰化尿苷衍生物对缓解 5-FU 毒性的作用通常比等摩尔量的尿苷更好（见实施例 3 中的表 8）。

实施例 5：提高了 5-FU 的治疗指数（I）：TAU 对单独将 5-FU 用于带肿瘤小鼠的补救作用。

目的：

本试验的目的在于评价和比较尿苷和 TAU 提高带肿瘤小鼠模型中 5-FU 治疗指数的能力。

方法：

对 60 只 CD8F1（BALB/C×DBA/8）移植了第一代 CD8F1 自发乳腺癌雌性小鼠进行每周一次化疗，治疗包括一次使用 150mg/kg 5-FU，然后采取各种补救措施。化疗开始时平均肿瘤大小是 157mg。将这样的每周一次化疗过程重复三次。

为评价各种补救疗法，将这些动物分成 6 组，每组 10 只，每一组的处理如下：

- | | | |
|----|-------------|--|
| 1. | 盐水 | 盐水（没有 5-FU） |
| 2. | 单独用 5-FU | 5-FU（150mg/kg i.p.） |
| 3. | 5-FU+载体 | 5-FU（150mg/kg i.p.）+载体 ¹ |
| 4. | 5-FU+i.p.尿苷 | 5-FU（150mg/kg i.p.）+尿苷
（3500mg/kg i.p.） |
| 5. | 5-FU+口服尿苷 | 5-FU（150mg/kg i.p.）+尿苷
（5000mg/kg 口服） ² |
| 6. | 5-FU+口服 TAU | 5-FU（150mg/kg i.p.）+TAU
（7582mg/kg 口服） ² |

¹.1：1 油水乳剂+2.5%土温-80

².7582mg TAU 和 5000mg 尿苷为等摩尔数。

结果：

在这三周化疗结束时，比较了每个组的死亡率，并且对足够数量的存活动物，比较它们的体重和肿瘤大小。结果归纳在下面的表 12 中。

表 12. 组合使用 5-FU 和 TAU 或尿苷的作用

组别	死亡率	平均最终肿瘤重量 (mg)
1. 盐水	3/10	7,391
2. 只用 5-FU	9/10	*
3. 5-FU+载体	10/10	*
4. 5-FU+ i.p. 尿苷	1/10	1,604
5. 5-FU+口服尿苷	0/10	896
6. 5-FU+口服 TAU	1/10	1,013

5 * 由于死亡率高而变得没有意义。

只接受盐水的组中的死亡是由于疾病的发展，接受了 5-FU 但不接受补救措施的死亡是由于 5-FU 本身的毒性。

结论：

10 TAU 和尿苷有补救带肿瘤小鼠脱离 5-FU 毒害的作用。两种试剂都提高了 5-FU 对带肿瘤小鼠的治疗指数，并容许使用更大剂量的药物，抗癌效果相应地提高。

实施例 6： 5-FU 治疗指数的提高（ II ）： 用 TAU 结合化疗抢救带肿瘤的小鼠

目的：

15 本试验的目的在于评价和比较 TAU 和尿苷在与磷酰基乙酰基-L-天冬氨酸（ PALA ）、氨甲喋呤（ MTX ）和甲酸四氢叶酸（ LV ）一起使用时提高 5-FU 的治疗指数的能力，采用的是一种能提高 5-FU 的细胞毒性潜力的药物剂量投配方式。

方法：

20 对 40 只移植了 CD8F1 自发胸部肿瘤（ 初始肿瘤重量为 155mg ）的雄性 CD8F1 小鼠进行下列方案的每周一次的治疗：

PALA-19 小时	→MTX-2.5 小时	→5-FU-2 小时	→LV-19 小时	→LV
100mg/kg	300mg/kg	150mg/kg	300mg/kg	300mg/kg

为评价和比较 TAU 和尿苷的效力，将小鼠分成四组，每组 10 只。

- | | |
|---------------|---------------------------------|
| 1.对照 | 盐水 |
| 2.尿苷(腹膜内注射)： | 尿苷(3,500mg/kg) |
| 3.尿苷(口服)： | 尿苷(4,000mg/kg) |
| 4.TAU (口服)： | TAU (6,066mg/kg ¹) |

¹ 与 4000mg/kg 尿苷同等摩尔数剂量

在每周开始使用一定剂量的 5-FU 两小时之后，每隔 8 小时使用一次盐水、尿苷或 TAU，共进行 5 次这样的治疗。这样每周一次的治疗共连续进行三周。在化疗的第三个疗程的一周之后，检查每组的死亡率，对足够数量的存活动物，测量它们的体重和肿瘤的重量。

结果：

表 13. TAU 对接受组合化疗的带肿瘤小鼠死亡率的影响

组别	死亡率	平均最终肿瘤重量(mg)
对照	10/10	**
尿苷(腹膜内注射)	0/10	110
尿苷(口服)	5/10	**
TAU (口服)	1/10	162

** 由于死亡率高而变得无意义

对照组的死亡是由于 5-FU 的毒性。未治疗小鼠在这个时间点的肿瘤重量平均约为 3000mg。

结论：

TAU 和尿苷提高了使用这样的临床相关组合的试剂的 5-FU 的治疗指数。口服 TAU 与腹膜内注射尿苷同样有效，并且比口服同等摩尔数剂量的尿苷效果更好。

实施例 7：口服二乙酰脱氧胞苷缓解了阿糖胞嘧啶对造血系统的毒性目的：

本试验的目的是试验二乙酰脱氧胞苷 (DAdC) 和棕榈酰脱氧胞苷 (PdC) 对缓解化疗剂阿糖胞嘧啶 (Ara-C) 对造血系统的毒性作

用的效力。

方法：

21 只重约 20g 的 Balb/C 雌性小鼠中的每一只每天腹膜内注射 Ara-C 100mg/kg，共注射 5 天。将这些小鼠分成三个治疗组：口服水（对照组）；口服 DAdC（411mg/kg/治疗）以及腹膜内注射 PdC（200mg/kg/治疗，在 0.2% 的土温-80 中使用）。在每天上午 9 时和下午 6 时两次用水、DAdC 或 PdC 治疗小鼠。在每种情况下治疗容量为 0.2ml。另外 7 只小鼠不接受 Ara-C，也根本不接受治疗（基础组）。

在使用 5-FU 后的第 7 天和第 11 天，用眼窝后放血法从每组 7 只小鼠中采集 0.2-0.3ml 血并注入 EDTA，供随后血细胞分类计数用。用颈部脱位法处死小鼠，取出它们的脾进行称重。

结果：

与基础组小鼠相比，使用 Ara-C 显著抑制了对照组小鼠的脾重、WBC 数、总嗜中性白细胞数、淋巴细胞数和血小板数（表 14）。没有发现 Ara-C 对促红细胞生成作用本身（RBC 数、血红蛋白和血细胞比容）有任何毒性。

口服 DAdC 和腹膜内注射 PdC 对小鼠进行治疗显著扭转了 Ara-C 对造血的毒害。其脾重、WBC 数、总嗜中性白细胞数和血小板数都显著高于对照组小鼠（表 14）。

结论：

对接受 Ara-C 的小鼠使用 DAdC 或 PdC 缓解了 Ara-C 对造血系统的毒性作用。

表 14. 二乙酰脱氧胞苷（DAdC）或棕榈酰脱氧胞苷（PdC）对接受阿糖胞嘧啶（Ara-C）达 5 天之久的小鼠的造血作用的治疗效果。脾重以 mg 计，WBC、嗜中性白细胞数和血小板数以 K/ μ l 计。

	<u>脾重</u>	<u>WBC</u>	<u>Neut</u>	<u>PLT</u>
基础	93.0 $\pm$ 2.5	8.66 $\pm$.53	1.84 $\pm$.12	854 $\pm$ 30
对照	37.1 $\pm$ 1.3	3.60 $\pm$.55	0.04 $\pm$.02	230 $\pm$ 21
DAdC	87.8 $\pm$ 3.5**	5.00 $\pm$.42	0.42 $\pm$.05**	728 $\pm$ 64**
PdC	126.0 $\pm$ 5.3**	5.20 $\pm$.35*	1.22 $\pm$.27**	327 $\pm$ 30*

* 表示相对于对照组 $P<0.05$

**表示相对于对照组 $P<0.001$

实施例 8: 口服 TAU 缓解了饮用水中的抗病毒化疗剂叠氮胸苷 (AZT) 对造血系统的有害作用

目的:

本试验的目的是检验口服三乙酰尿苷 (TAU) 对缓解抗病毒化疗剂叠氮胸苷 (AZT) 对造血系统的损害的效力。

方法:

将每只重约 19g 的 42 只 Balb/C 雌性小鼠分成三个不同的组, 每组 14 只。这三组分别为基础组 (不服用 AZT , 不接受治疗)、对照组 (AZT、水) 以及 TAU 组 (AZT、TAU 的剂量为 460mg/kg/治疗)。在整个试验过程中把 AZT 随意放入饮用水中使用, 浓度为 1.5mg/ml。在所有治疗组中所用的 AZT 溶液的量相似, 平均每只小鼠每天 2.25ml, AZT 每天的剂量为每天约 170mg/kg。在试验的前 24 天里, 水和 TAU 每天使用 3 次, 每次用量 0.2ml, 以后改为每天两次。

在试验开始那天, 每周一次以及就在处死前对所有的动物进行称重。在第 24 天和第 35 天对小鼠称重后, 用眼窝后放血法从每组 7 只小鼠中采集 0.2-0.3ml 血并注入 EDTA, 供随后血细胞包括网织红细胞分类计数用。用颈部脱位法处死小鼠, 取出它们的右股骨, 排出骨内物质供细胞计数用; 取出它们的脾进行称重。

结果:

与基础组动物 (重 19.78 ± 0.38) 相比, 在第 7 天只接受了 AZT 的小鼠的体重显著减少 ($17.55\pm0.47, P<0.002$), 而在同一时间点, 用 TAU 治疗过的小鼠的体重 (19.51 ± 0.38) 却与基础组基本相同, 并且显著大于 ($P<0.005$) 对照组。在第 13 天, 虽然各组之间的数据无统计学上的显著差别, 仍可发现这种趋势。在本试验的第 24 天, AZT 对照组的体重同样在统计学上都低于基础组 ($P<0.001$) 和用 TAU 治疗过的小鼠 ($P<0.05$)。在这一时间点, 用 TAU 治疗过的动物的体重也低于基础组动物。

第 24 天

只接受 AZT 的小鼠的 RBC (8.49 ± 0.16) 显著低于 ($P<0.01$) 基

基础组的(9.07 ± 0.11)。用 TAU 治疗过的动物的 RBC 数(9.01 ± 0.09)与基础组没有明显区别, 并且显著高于($P<0.02$) 对照组。

只接受 AZT 的小鼠的总嗜中性白细胞数(0.67 ± 0.09)也显著低于($P<0.02$) 基础组的(1.02 ± 0.08)。用 TAU 治疗过的那些动物的嗜中性白细胞的量(0.91 ± 0.06)与基础组没有显著区别, 并且显著大于($P<0.05$) 只接受 AZT 的组。

第 35 天

基本上从这一时间点上所测得的每一参数中都可以看出 AZT 有明显的有害作用。就象 RBC 数、血红蛋白以及血细胞比容一样, 与基础小鼠相比, 骨髓细胞含量、WBC 数和淋巴细胞数也显著减少(表 15)。与基础组小鼠相比, 对照组小鼠的平均细胞体积、平均细胞血细胞比容和血小板数都显著提高(表 14)。所有这些参数都表明 AZT 造成了对造血系统的损害。

正象平均细胞体积、平均细胞血细胞比容和血小板数显著低于对照组的值(表 16) 一样, 口服 TAU 的疗法还使 RBC 数、血红蛋白和血细胞比容显著高于 AZT 对照组(表 15)。

在对照组的网织红细胞数(每微升 0.256×10^6 , $P<0.001$) 比基础组数(每微升 0.129×10^6) 显著提高的同时, 用 TAU 治疗过的那些小鼠的网织红细胞数(每微升 0.371×10^6) 显著高于基础组($P<0.001$) 和对照组($P<0.01$)。

结论:

从这些数据看出, 口服 TAU 对 AZT 对动物的造血系统造成的损害有有益的治疗效果。

表 15. TAU 缓解了 AZT 对小鼠红细胞生成作用的有害作用。红细胞(RBC) 数的单位为 $M/\mu l$ 、血细胞比容(HCT) 用百分比表示、血红蛋白(HGB) 的单位为 gm/dl 。

	<u>RBC</u>	<u>HCT</u>	<u>HGB</u>
基础	9.04 ± 0.08	$42.52\pm.34$	$15.57\pm.09$
对照	$7.53\pm.13$	$39.29\pm.59$	$14.57\pm.26$
TAU	$8.20\pm.20^{**}$	$41.26\pm.62^*$	$15.14\pm.12^*$

* 表示相对于对照组 $P<0.05$

** 表示相对于对照组 $P<0.01$

表 16. TAU 缓解了 AZT 所致的细胞损害。血小板数(PLT) 单位为 K/μ l、平均细胞体积(MCV) 的单位为 fl、平均细胞血细胞比容(MCH) 的单位为微微克($10^{-12}g$) 。

	<u>PLT</u>	<u>MCV</u>	<u>MCH</u>
基础	736±24	47.03±.16	17.23±.13
对照	903±18	52.16±.37	19.37±.20
TAU	809±06**	50.41±.48*	18.49±.28*

* 表示相对于对照组 $P<0.05$

** 表示相对于对照组 $P<0.01$

实施例 9: 口服 TAU 缓解了腹膜内注射 AZT 对造血系统的有害作用

目的:

本试验的目的在于检验口服 TAU 对扭转非肠道使用叠氮胸苷 (AZT) 对造血系统造成的损害的效力。

方法

在每天上午 9 时, 下午 4 时和 10 时, 对 56 个每只重约 19 克的雌性 Balb/C 小鼠使用 AZT (100mg/Kg 腹膜内注射) 三次。每天三次: 上午 9 时、下午 4 时和 10 时用口服剂量为 230、460、或 920mg/Kg/ 治疗的水(对照) 或 TAU 的方式治疗这些动物。治疗药量为: 对于对照组和 TAU460 组 0.2ml, 对 TAU230 组 0.1ml, 对 TAU920 组 0.4ml。另一组 14 只小鼠没有接受 AZT 或任何治疗(基础组)。

在试验开始日, 第 6 天和第 13 天对小鼠称重。在第 6 天和第 13 天称重后, 用眼窝后放血法从每组 7 只小鼠中采集 0.2-0.3ml 血并注入 EDTA, 供随后血细胞包括网织红细胞分类计数用。用颈部脱位法处死小鼠, 取出它们的右股骨, 排出骨内物质供细胞计数用; 取出它们的脾进行称重。

结果:

第 6 天

用 230mg/kg TAU 治疗过的组中的骨髓细胞含量(8.89 ± 0.46) 显著高于($P<.05$) 只接受 AZT 的组(7.54 ± 0.23) 。

基础组中的白细胞数为每微升 $8.23\pm0.38\times10^3$ 。AZT 使 WBC 数降低至每微升 $6.8\pm0.66\times10^3$ ，但如果除接受 AZT 外，还用 TAU (920mg/kg) 治疗，则 WBC 的量恢复至基础水平(每微升 $8.46\pm0.63\times10^3$) 。

使用 AZT 使 RBC 水平从每微升 $9.14\pm0.10\times10^6$ (基础组) 降低到每微升 $8.80\pm0.31\times10^6$ (对照组)。在接受 TAU (460mg/kg/治疗) 和接受 AZT 的小鼠(每微升 $9.15\pm0.07\times10^6$) 中没有发现这样幅度的下降。

第 13 天

在这项研究中所用的每一个参数都可以成为那些只用 AZT 13 天的小鼠的造血系统受到损害的有统计学意义的证据。于是，WBC 数、RBC 数、血红蛋白、血细胞比容、网织红细胞数、总嗜中性白细胞数和淋巴细胞数都显著降低。同时，平均细胞血球容量和血小板数都显著提高。对接受 AZT 和 TAU 的伴随治疗(460mg/kg/治疗) 的小鼠使所有这些测量值的每一个都出现统计学上显著水平的提高(表 17 和 18) 。

结论：

用 AZT 和 TAU 对小鼠进行的伴随治疗显著改善了造血功能。这对白细胞和红细胞都是如此。

表 17. 口服 TAU 缓解了 AZT 对小鼠中骨髓生成系统的损害。这些数据是在试验的第 13 天得到的。

	<u>WBC</u>	<u>嗜中性白细胞</u>	<u>淋巴细胞</u>	<u>血小板</u>
	K/ μ l	K/ μ l	K/ μ l	K/ μ l
基础	6.8	1.27	5.14	680
	±0.6	±0.11	±0.33	±30
对照	5.1*	0.49*	4.02*	1025*
	±0.28	±0.07	±0.27	±44
TAU	7.0**	0.62	6.06**	863**
	±0.37	±0.03	±0.38	±26

* 不同于基础组， $P<.05$

** 不同于对照组， $P<.05$

5 表 18. 口服 TAU 缓解了 AZT 对小鼠中骨髓生成系统的损害。这些数据是在试验的第 13 天得到的。

	<u>RBC</u> M/ μ l	<u>HGB</u> G/dL	<u>HCT</u> %	<u>网织红细胞</u> M/ μ l
基础	9.16 ± 0.06	15.32 ± 0.18	43.18 ± 0.54	0.298 ± 0.028
对照	8.15* ± 0.07	14.08* ± 0.13	38.90* ± 0.43	0.086* ± 0.007
TAU	8.58** ± 0.08	14.54** ± 0.13	40.83** ± 0.37	0.162** ± 0.014

* 不同于基础组， $P<.05$

10 ** 不同于对照组， $P<.05$

实施例 10： 口服二乙酰脱氧胞苷(DAdC) 缓解了腹膜内使用 AZT 对 DBA 小鼠造血系统所造成的毒性目的：

本试验的目的在于试验口服 DAdC 对扭转非肠道使用抗病毒化疗剂叠氮胸苷(AZT) 对造血系统所造成的损害的作用方法：

在每天上午 9 时、下午 4 时和 10 时，对 28 只每只重约 20g 的雌性小鼠使用 AZT (100mg/kg , i.P.) 三次。每天上午 9 时、下午 4 时和 10 时，用管饲法对动物进行三次水(对照) 或者 DAdC (411mg/kg/ 治疗) 的治疗。治疗药量为 0.2ml 。另一组 14 只小鼠不接受 AZT 或任何治疗(基础) 。

在开始几天治疗过程中，共有 8 只小鼠死于口服水和 DAdC 过程中的意外情况。于是，在处死日时对照组和 DAdC 中的动物数目减少如下：在第 6 天，在对照组中有 4 只小鼠， DAdC 组中有 5 只小鼠；在第

13 天，在对照组中有 7 只小鼠，在 DAdC 组中有 3 只小鼠。在这两个时间点，基础组动物的数目都是 7 只。

在第 6 天和第 13 天，用眼窝后放血法从每组小鼠中采集 0.2-0.3ml 血并注入 EDTA，供随后血细胞包括网织红细胞分类计数用。用颈部脱位法处死小鼠，取出它们的右股骨，排出骨内物质供细胞计数用；取出它们的脾进行称重。

结果：

第 6 天

在第 6 天，使用 AZT 造成对造血系统的统计学上显著的损害，特别是对那些没有接受 DAdC 的小鼠（对照组）更是如此。这样，就象 RBC 数、血红蛋白（HGB）、血细胞比容（HCT）和网织红细胞数一样，对照组的 WBC 和淋巴细胞数也显著低于基础组（表 17）。这些对照组小鼠中的血小板数显著提高。与基础组相比，对照组的骨髓细胞数还降低了 23 %。

与此相反，那些接受了 AZT 但也接受了 DAdC 治疗的小鼠的骨髓细胞含量只略微（2.5%）降低，并且与基础组相比没有统计学上的区别。DAdC 组中的 RBC 数、HGB、HCT 和网织红细胞数与基础组相比无区别，但显著高于对照组（表 19）。

第 13 天

与基础组动物相比，只接受 AZT 13 天的小鼠几乎在每个方面的数据都成为 AZT 对造血系统损害的在统计学意义上显著的证据。正如在第 6 天数据中所看到的那样，用 DAdC 对小鼠进行的伴随治疗显著缓解或扭转了 AZT 所致的对促红细胞生成作用的损害（表 20）。用 DAdC 治疗过的小鼠中的血小板数（ 769 ± 32 ， $P < .02$ ）相对于对照组动物（ 950 ± 34 ）也显著改善。

结论：

用 DAdC 治疗接受了 AZT 的小鼠可以显著改善其造血功能，特别是红细胞生成作用。

表 19：二乙酰脱氧胞苷（DAdC）对接受了 AZT 达 6 天的小鼠的促红细胞生成作用的治疗作用

	<u>RBC</u>	<u>HGB</u>	<u>HCT</u>	<u>网织红细胞</u>
基础	9.47±.18	13.93±.20	40.83±0.83	.326±.039
对照	8.53±.33*	12.60±.40*	36.32±1.54*	.017±.004*
DAdC	9.49±.32**	13.96±.40**	40.84±1.35**	.205±.075**

* 不同于基础组， P<.05

** 不同于对照组， P<.05

5 表 20. 二乙酰脱氧胞苷(DAdC) 对接受了 AZT 达 13 天的小鼠
中促红细胞生成作用的治疗作用

	<u>RBC</u>	<u>HGB</u>	<u>HCT</u>	<u>网织红细胞</u>
基础	9.95±.13	14.83±.19	42.83±0.41	.637±.044
对照	8.51±.05*	13.06±.07*	37.21±0.13*	.365±.022*
DAdC	9.16±.32**	13.97±.39**	41.53±1.17**	.814±.069**

* 不同于基础组， P<.05

10 ** 不同于对照组， P<.05

实施例 11: 口服二乙酰脱氧胞苷(DAdC) 或四氢尿苷(THU)
缓解了腹膜内注射 AZT 对 Balb/C 小鼠造血系统所造成的有害作用
目的:

本试验的目的在于检验口服 DAdC 或非肠道使用 THU 对扭转非肠
15 道使用抗病毒化疗剂叠氮胸苷(AZT) 对造血系统所造成的损害的效力。

方法:

在每天上午 9 时、下午 4 时和 10 时，对 21 只每只重约 20g 的雌性
小鼠使用 AZT (100mg/kg , i.P.) 三次。每天上午 9 时、下午 4 时和
20 10 时，对 7 只动物进行三次水(对照，口服) 或者 DAdC (300mg/kg/
口服) 或 THU (12.5mg/kg/治疗，在 0.2% 土温-80 中，腹膜内注射)
的治疗。治疗药量为 0.2ml 。另一组 7 只小鼠不接受 AZT 及任何治疗 基
础) 。

在第 13 天，用眼窝后放血法从每组小鼠中采集 0.2-0.3ml 血并注入

EDTA，供随后血细胞包括网织红细胞分类计数用。用颈部脱位法处死小鼠，取出它们的右股骨，排出骨内物质供细胞计数用；取出它们的脾进行称重。

结果：

用 DAdC 对小鼠进行的伴随治疗显著缓解或扭转了 AZT 所致的对促红细胞生成作用的损害（表 21）。用 DAdC 治疗过的小鼠中的嗜中性白细胞数（ 1.39 ± 0.14 ， $P < .01$ ）也显著高于对照组动物（ 0.74 ± 0.10 ）。

象红细胞生成作用一样，接受 AZT 并接受 THU 治疗的小鼠的骨髓生成作用也比对照组有显著改善。THU 组中的总嗜中性白细胞数（ 6.06 ± 0.35 ， $P < 0.05$ ）也显著高于对照组（ 4.73 ± 0.36 ）。此外还观察到，用 THU 治疗过的组中的总嗜中性白细胞数（ 1.16 ± 0.15 ）与对照组（ 0.74 ± 0.10 ）相比有显著差别（ $P < 0.05$ ）。淋巴细胞数也有增加，但在本试验中其差别未达到统计学上的显著水平。此外，THU 治疗过的组中的网织红细胞数（百分比和 $M/\mu l$ ）也显著高于（ $P < 0.05$ ）对照组的。

结论：

用 DAdC 或 THU 治疗接受 AZT 的 Balb/C 小鼠可以显著改善其造血系统的功能。

表 21. 二乙酰脱氧胞苷（DAdC）对接受 AZT 13 天的小鼠促红细胞生成作用的治疗作用

	<u>RBC</u>	<u>HGB</u>	<u>HCT</u>	<u>网织红细胞</u>
基础	$8.63 \pm .11$	$15.37 \pm .08$	41.01 ± 0.52	$.089 \pm .009$
对照	$7.55 \pm .11^*$	$13.71 \pm .22^*$	$35.96 \pm 0.46^*$	$.039 \pm .004^*$
DAdC	$8.26 \pm .13^{**}$	$14.97 \pm .15^{**}$	$39.51 \pm 0.61^{**}$	$.059 \pm .006^{**}$

* 不同于基础组， $P < .05$

** 不同于对照组， $P < .05$

实施例 12：在有或没有潘生丁参与的情况下口服尿苷或二乙酰脱氧尿苷（TAU）后的血浆尿苷水平

目的:

本试验的目的在于证明 TAU 是一种比尿苷本身更有效的提高血浆尿苷水平的口服有效试剂, 并且还证明潘生丁(DPM), 一种核苷的摄入阻断剂, 还具有抗病毒活性, 对使用 TAU 或尿苷后血浆尿苷水平的影响。

方法:

将重 20g 的雌性 Balb/C 小鼠分成 4 组, 每组 8 只:

1. 尿苷 (1000mg/kg) 口服
 2. TAU (1500mg/kg) 口服
 3. 尿苷 (1000mg/kg) 口服+DPM (25mg/kg 腹膜内注射)
 4. TAU (1500mg/kg) 口服+DPM (25mg/kg 腹膜内注射)
- (1500mg/kg TAU 与 1000mg/kg 尿苷为等摩尔数的剂量)

在使用尿苷或 TAU 之前 30 分钟用腹膜内注射的方式使用潘生丁。

用管饲法口服尿苷的 0.4ml 水溶液。

用管饲法把 TAU 配制在一种乳剂载体(1 : 1 玉米油/水含 2.5% 吐温-80) 中服用。

从每组取 2 只小鼠从眼眶下部血管网放血: 在使用 TAU 或尿苷后在效力每个时间点: 0 (在 TAU 或尿苷使用前的基础尿苷水平)、0.5、1、2 和 4 小时。

加入 0.2ml 甲醇, 对血浆样品(0.1ml) 进行脱蛋白, 然后进行离心分离。对样品进行冷冻干燥并用 HPLC 缓冲溶液(100mM 醋酸铵, pH6.5 , 供随后借助 254nm 处的 UV 吸收测定通过反向 HPLC 来测定尿苷) 进行重建。

数据点为每个时间点处两个样品的平均值。

结果:

口服尿苷后, 血浆中尿苷达到 6 微摩尔的峰值浓度。相反, 口服等摩尔剂量的 TAU 使峰值血浆尿苷水平达到 260 微摩尔, 这样就证明了 TAU 作为一种提高血浆尿苷水平的口服有效试剂比尿苷出色得多。

潘生丁进一步提高了(约 2 倍) 口服 TAU 后血液中尿苷水平的幅度(峰值尿苷水平达 460 微摩尔) 和作用时间。

类似地, 潘生丁也提高了口服尿苷后血液尿苷水平的持久性, 虽然

水平比接受了 TAU 的相应的小鼠低得多(峰值血浆尿苷水平为 20 微摩尔) 。

这些结果归纳于表 22 中。

表 22. 在有或没有潘生丁参与的情况下口服尿苷或 TAU 后的血浆尿苷浓度 (μM)

治疗	口服 TAU 或尿苷之后的血浆尿苷水平(μM)				
	0 小时	0.5 小时	1 小时	2 小时	4 小时
尿苷	2	4	6	4	2
TAU	2	240	260	110	12
尿苷+DPM	2	10	20	10	4
TAU+DPM	2	280	460	440	32

结论:

口服 TAU 后的血浆尿苷水平比口服尿苷后所观察到的水平高得多。这样 TAU 口服后就是一个比尿苷本身好得多的血浆尿苷源。潘生丁抑制了尿苷被摄入进某些类型的细胞，这样就提高了口服 TAU 或尿苷后其血浆浓度的幅度和作用时间。

实施例 13：用 TAU 和尿嘧啶调节口服喃氟啶的毒性

目的：

喃氟啶(5-氟-1-(四氢-2-呋喃基)尿嘧啶)是口服有效的 5-氟尿嘧啶的药物前体；从肠道吸收进血液期间或之后，它被酶转化为 5-FU 。为了治疗癌症，喃氟啶一般以制剂的形式口服给药，该制剂中也含有尿嘧啶，其中喃氟啶和尿嘧啶的摩尔比是 1： 4；配有尿嘧啶的喃氟啶常用于人类的临床治疗。通过竞争性抑制降解 5-FU 的二氢尿嘧啶脱氢酶，尿嘧啶提高了由喃氟啶形成 5-FU 的活性。

高剂量的喃氟啶+尿嘧啶给药后，小鼠的体重明显降低，证明了胃肠道毒性。口服给药后，可以相信在喃氟啶通过肠道细胞进入血流时，尿嘧啶提高了在肠道细胞中形成的 5-FU 的局部毒性。因此，需要与喃氟啶或其它口服有效的 5-FU 药物前体一起使用抑制 5-FU 断裂(换言之提高它的活性)的试剂，这种作用主要发生于循环中(吸收后)，而不是局

限于消化道。

三乙酰尿苷(TAU)，如同本发明的其它尿苷和胸苷的酰基衍生物一样，在吸收进入血液时或之后转化为尿苷和尿嘧啶；当它们与 5-FU 同时存在时，尿苷和尿嘧啶两者都可以提高 5-FU 的细胞毒性。因此，对口服喃氟啉+尿嘧啶与喃氟啉+TAU 的细胞毒性进行评价。将血细胞计数作为在循环中 5-FU 的细胞毒性(且引伸为抗肿瘤效果)的指标，体重降低用来作为胃肠道毒性的指标。

方法：

三组小鼠通过口腔插管接收喃氟啉，剂量为 400mg/kg/鼠。起初每组小鼠的体重为 $19.0 \pm 0.6g$ 。这些组中的一组也接收尿嘧啶，它与喃氟啉的摩尔比是 4 : 1；另一组接收 TAU，它与喃氟啉所摩尔比也是 4 : 1。监测体重变化。喃氟啉给药后第 6 天，采集血样进行细胞分类计数。

结果：

单独以 400mg/kg 的剂量使用喃氟啉使嗜中性白细胞数明显下降，但并不明显影响血小板计数；体重与未治疗(基础)动物比较只有轻微降低(7 %)。与单独使用喃氟啉相比喃氟啉+尿嘧啶使嗜中性白细胞数更严重降低，也降低血小板计数并引起体重的显著降低(29 %)。喃氟啉+TAU 使血细胞计数的变化与喃氟啉+尿嘧啶的相近，但不引起体重的变化。口服喃氟啉+TAU 或喃氟啉+尿嘧啶后血细胞计数的变化与有效量的 5-氟尿嘧啶(如 150mg/kg)系统给药的相近。但是，在本文中的癌症治疗中喃氟啉+尿嘧啶引起的体重降低是不能接受的。口服喃氟啉+TAU 的优异的系统细胞毒性(比单独使用喃氟啉好并至少与喃氟啉+尿嘧啶相同)及体重不降低(特别是与接受喃氟啉+尿嘧啶引起的动物体重明显降低相比)说明 TAU 有助于提高口服有效的氟尿嘧啶药物前体的系统细胞毒性(即抗肿瘤效果)，而不相应增加胃肠道毒性。口服有效的氟尿嘧啶药物前体与用非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物合用与用常规方法和组合物能获得的相比，能允许更好地口服给药有效治疗量的抗肿瘤主药氟尿嘧啶。

表 23.尿嘧啶与 TAU 用于提高喃氟啉的细胞毒性的比较

	体重(g)	嗜中性白细胞 (K/ μ l)	血小板(K/ μ l)
基础	19.6 $\pm$ 0.5	2.60 $\pm$ 0.510	984 $\pm$ 25
喃氟啉-400	18.2 $\pm$ 0.7	0.40 $\pm$ 0.085*	956 $\pm$ 30
喃氟啉-400+尿嘧啶	14.0 $\pm$ 0.3*	0.02 $\pm$ 0.002*	448 $\pm$ 31*
FT-400+TAU	19.8 $\pm$ 0.4	0.02 $\pm$ 0.003*	334 $\pm$ 33*

*与基础值的差异， $P < .01$

所有药物以单一剂量口服给药。给药 6 天后采集血样用于细胞计数；同时称量体重。

5 实施例 14：喃氟啉和 TAU 与喃氟啉和尿嘧啶抗肿瘤效果的比较目的：

喃氟啉(FT)是口服有效的氟尿嘧啶药物前体。适当摩尔比 4：1 的尿嘧啶提高了 FT 的抗肿瘤效果。FT-尿嘧啶合剂剂量限定的毒性是对肠粘膜的损害。FT-尿嘧啶的加大剂量也导致对造血的破坏。

10 本试验的目的是比较 FT 与尿嘧啶或 TAU 合用时对患有 Walder 256 癌肉瘤大鼠的抗肿瘤效果。本试验基本的问题是 FT+TAU 是否象 FT+尿嘧啶那样抑制肿瘤生长，同时造成的肠道毒性(体重的变化)较低。也评价并比较了血细胞的损伤。

方法：

15 动物

雄性 Sprague-Dawley 大鼠，起初体重约 120g。

肿瘤

20 从三个供体大鼠中收集含 Walker 256 细胞的浓腹水，密度为 2.47×10^8 细胞/毫升。在抗肿瘤效果试验中，将含 4.94×10^7 个细胞的试样在每只大鼠的右肋进行皮下注射。这导致实体皮下肿瘤的形成。

治疗

25 以 40、60 及 80mg/kg/天的剂量，与尿嘧啶或 TAU 摩尔比为 1：4，使用 FT。使用的载体是 1% 羟丙基甲基纤维素。在肿瘤植入后 5 天开始治疗(第一天)。通过管饲法，在 7 天(第一至 7 天)内，每天口服载体和载体+药物，用量为 1.2 毫升/100g 体重。第 8 天原位测量肿瘤的大小。第 10 天采集血样，将动物宰杀后，测定肿瘤的大小和重量。

治疗组

1. 载体(对照组)
2. FT 40mg/kg+尿嘧啶
3. FT 60mg/kg+尿嘧啶
4. FT 80mg/kg+尿嘧啶
5. FT 40mg/kg+TAU
6. FT 60mg/kg+TAU
7. FT 80mg/kg+TAU

n=7 只动物/组

检测

治疗前在第 1、3、5 及 7 天称量体重。在第 10 天，在取样并宰杀前称量动物体重。体重以试验过程中体重变化的百分数来表示。

在第 8 天原位测量肿瘤的大小，然后用下列公式计算肿瘤体积：

$$\frac{\text{长度} \times \text{宽度}^2}{2}$$

第 10 天宰杀后，将肿瘤暴露，原位测量大小，并用上式计算肿瘤体积。然后将肿瘤取出并确定其重量。肿瘤数据也用 T/C % 表示。T/C % 为：

$$\frac{\text{药物治疗大鼠的平均肿瘤大小}}{\text{对照组大鼠的平均肿瘤大小}} \times 100$$

用第 10 天宰杀前使用通过立即进行心脏穿刺采集的血样测定分类的完全血细胞数。

结果

第 8 天评价 FT+尿嘧啶及 FT+TAU 对肿瘤及体重的影响，见表 24。数据表明，每次 FT 给药时，FT+TAU 较等量的 FT+尿嘧啶具有较好的抗肿瘤效果，并能更好地保持体重。例如，对 FT 60 的剂量，FT-TAU 治疗组的肿瘤体积和 T/C 百分数比尿嘧啶治疗组的一半还小。在同样的剂量水平(FT 60)，FT-TAU 组的体重变化是 52.1 %，而 FT-尿嘧啶组是 7.8%。较高剂量的 FT 比低剂量的 FT 能更有效地阻止肿瘤的生长。

第 10 天获得的肿瘤和体重的数据见表 25。用 FT-TAU 治疗比用 FT-尿嘧啶治疗的大鼠的肿瘤值--T/C 百分数，肿瘤体积和肿瘤重量，明显低而体重的增加明显大。

表 26 记录了 FT 治疗的造血效果。FT-TAU 治疗的动物，在 FT 所有的剂量水平，血小板计数不变，而 FT-尿嘧啶治疗组中随 FT 剂量的增加血小板计数迅速下降。在 FT-TAU 组，对较高的、更有效的 FT 剂量，总白细胞数和淋巴细胞数也保持得较好。对 FT 40 剂量，FT-TUA 组与等量的 FT-尿嘧啶组比较，中性白细胞数的减少并不比其严重。事实上，在每 FT - TAU 剂量水平中性白细胞数约是相应的 FT-尿嘧啶组观察到的两倍。

此试验的结果表明使用口服 TAU 与 FT 合用比 FT-尿嘧啶合用有更显著的优点。FT-TAU 比等剂量的 FT-尿嘧啶具有更大的抗肿瘤活性，同时引起的肠道和造血机能的破坏较小。

表 24.对患有 Walker 256 癌肉瘤的大鼠，FT 加尿嘧啶或 TAU 的抗肿瘤效果：第 8 天

组别	肿瘤体积 (mm ³ ±SE)	T/C (%)	体重 (%)
对照组	3098±372	100.0	100.0
FT 40+尿嘧啶	1651±135	53.3	51.0
FT 60+尿嘧啶	1051±123	30.8	- 1.7
FT 80+尿嘧啶	848±124	27.4	- 26.0
FT 40+TAU	1244±209	40.2	78.0
FT 60+TAU	1006±114	32.5	52.0
FT 80+TAU	557±49	18.0	23.7

FT 剂量= mg/kg/天(共 7 天)

FT/尿嘧啶= 1 : 4(摩尔比)

FT/TAU = 1 : 4(摩尔比)

表 25

对患有 Walker 256 癌肉瘤的大鼠，FT 加尿嘧啶或 TAU 的抗肿瘤效果：第 10 天

组别	肿瘤重量 (g±SE)	T/C (%)	体重 (%)
对照组	4.16±0.55	100.0	100.0
FT 40+尿嘧啶	3.62±0.35	87.0	62.2
FT 60+尿嘧啶	2.80±0.28	67.3	39.0
FT 80+尿嘧啶	1.50±0.58	36.1	- 7.5
FT 40+TAU	2.14±0.31	51.4	93.2
FT 60+TAU	2.18±0.42	52.4	58.9
FT 80+TAU	1.77±0.25	42.5	30.3

5 FT 剂量= mg/kg/天(共 7 天)
FT/尿嘧啶= 1 : 4(摩尔比)
FT/TAU = 1 : 4(摩尔比)

表 26

10 FT+尿嘧啶和 FT+TAU 给药后血细胞计数：第 10 天

	WBC	嗜中性白细胞	淋巴细胞	血小板
对照组	11.8±0.8	1.84±.24	9.9±0.8	844±44
FT 40+尿嘧啶	9.7±1.8	0.68±.18	8.5±1.5	866±117
FT 60+尿嘧啶	5.9±1.1	0.27±.11	5.6±1.0	602±147
FT 80+尿嘧啶	3.6±1.0	0.14±.12	4.3±1.1	171±49
FT 40+TAU	8.2±0.9	0.91±.21	7.0±0.8	913±117
FT 60+TAU	5.3±0.9	0.27±.05	5.0±0.9	830±83
FT 80+TAU	5.6±0.8	0.12±.07	5.4±0.7	534±136

所有的血细胞计数单位为 K/ μ l

FT 剂量= mg/kg/天(共 7 天)

15 FT/尿嘧啶= 1 : 4(摩尔比)

FT/PN401 = 1 : 4(摩尔比)

实施例 15 : 5FU 剂量逐步加大并随后使用三乙酰尿苷改善了治疗鼠结肠癌的效果

5 鼠肿瘤 Colon 26 是一种结肠癌, 它对 5FU 有较强的抵抗力。单独用 5FU 或 5FU 加甲酰四氢叶酸的最大耐受剂量能延缓 Colon 26 的生长, 但不能使已长成的肿瘤消退, 并且也不能完全防止宿主动物的与肿瘤有关的死亡。

小鼠:

10 用于所有试验的雌性 Balb/C 小鼠鼠龄约 8 周, 重约 20g。在每周一次大量剂给药×3 的方案中, 这些小鼠对 5FU 的最大耐受剂量为 100mg/kg。

肿瘤:

15 Colon 26 得自 Frederick Cancer Research and Development Center(Frederick 癌症研究开发中心), 并通过以皮下实质肿瘤的形式系列移植得以保持。为了研究抗肿瘤效果, 将 0.3ml 的 5% 糊状物皮下注射于左肋。用游标卡尺测量肿瘤的长和宽, 并按照以下公式计算肿瘤的体积:

体积 = $L(\text{mm}) \times W^2(\text{mm}^2)/2$

20 肿瘤生长 10 天长至 100 至 200mm², 然后将小鼠分成每组 10 只小鼠, 每只含肿瘤的大小的分布约相等。治疗期间至少每周检测一次肿瘤的体积; 同时记录体重。小鼠接收三周大剂量 5FU(含或不含 TAU), 在 5FU 最后一次给药后, 对肿瘤大小和体重的最终评价记录进行 7 天。

药物:

25 将 5-氟尿嘧啶溶解于盐水中并通过腹膜内注射给药, 给药体积 0.2ml。

用组织匀浆器, 将 TAU 悬浮于 0.75%羟丙基甲基纤维素中, 浓度为 200mg/ml。5FU 给药后两小时, 每隔 8 小时 TAU 以 5 个剂量给药。

5FU 剂量-反应: 对于小鼠的进展性结肠肿瘤, TAU 对 5FU 剂量逐步增加的解毒作用。

组别	肿瘤体积	体重	死亡	消退*	
	(mm ³)	(变化率%)		PR	CR
A.对照组(不用 5FU)	3406±263	- 5%	3/10	...	...

B.5FU 100mg/kg	1503±267	- 7%	4/10	...	...
C.5FU 150mg/kg+TAU	691±256	- 1%	0/10	1/10	...
D.5FU 175mg/kg+TAU	19±15	+ 2%	0/10	9/10	4/10
E.5FU 200mg/kg+TAU	12±10	- 1%	0/10	10/10	8/10

*PR = 部分反应；肿瘤大小的降低(包括 CR)>50%

*CR = 完全反应；未检查到肿瘤

肿瘤： Colon 26 癌，起始大小 $198 \pm 14 \text{mm}^3$

5FU：腹膜内注射，每周 1 次，共 3 次

TAU：5FU 给药后 2 小时，每隔 8 小时口服 4000mg/kg，共服 5 次

评价：5FU 最后一次给药后 7 天内

讨论：

当 5FU 剂量提高到 175mg/kg/周时，其抗肿瘤效果有很大的改进。进一步将剂量增加到 200mg/kg 增加了完全反应的机率。重要的是注意到获得消退的高发生率而无显著毒性，毒性通过体重的降低衡量。5FU 在正常最大耐受剂量下(100mg/kg)不能产生消退作用，只能抑制肿瘤生长的 50 %。

用 175 或 200mg/kg 的 5FU 治疗，动物的寿命有实质性的延长。肿瘤移植 40 天内，A 组和 B 组的所有动物都死于肿瘤恶化。甚至 50 天后，D 和 E 组的动物依然存活并保持正常的体重。通过不存在可触摸的肿瘤组织而确定的完全消退是持久的。在超过 90 天的随后观察中，这些动物的肿瘤不再复发。

实施例 16：用高剂量 5-氟尿嘧啶和三乙酰尿苷治疗 B16 黑素瘤小鼠：

用于本试验的雌性 C57BL/6 小鼠鼠龄约 8 周，重约 20g。在每周一次大剂量给药×3 的方案中，这些小鼠对 5FU 的最大耐受剂量为 100mg/kg。

肿瘤：

鼠 B16 黑素瘤得自 Frederick Cancer Research and Development Center(Frederick 癌症研究开发中心)，并通过以皮下实质肿瘤的形式系列移植得以保持。为了研究抗肿瘤效果，将 0.3ml 的 5 % 糊状物皮下注

射于左肋。用游标卡尺测量肿瘤的长和宽，并按照以下公式计算肿瘤的体积：

$$\text{体积} = L(\text{mm}) \times W^2(\text{mm}^2)/2$$

- 5 肿瘤生长 10 天长至约 300mm^2 ，然后将小鼠分成每组 8 只小鼠，每只含肿瘤的大小的分布约相等。治疗期间至少每周检测一次肿瘤的体积；同时记录体重。小鼠接收三周大剂量 5FU(含或不含 TAU)，在 5FU 最后一次给药后，对肿瘤大小和体重的最终评价记录进行 7 天。

药物：

- 10 将 5-氟尿嘧啶溶解于盐水中并通过腹膜内注射给药，给药体积 0.4ml 。

用组织匀浆器，将 TAU 悬浮于 0.75%羟丙基甲基纤维素中，浓度为 200mg/ml 。5FU 给药后两小时，每隔 8 小时 TAU 以 5 个剂量给药。

TAU 和剂量逐步增加的 5FU 对 B16 黑素瘤的生长和转移的治疗

组别	肿瘤重量 (g)	癌转移的小鼠	每个肺上的转移灶
对照组(无 5FU)	5.8 ± 1.1	100 %	7.9
5FU 100mg/kg(MTD)	4.7 ± 1.4	86 %	5.6
5FU 225mg/kg+TAU	0.9 ± 0.3	12 %	0.38

15

肿瘤：皮下 B16 黑素瘤，初始大小 $344 \pm 58\text{mg}$

讨论：

- 20 与人黑素瘤一样，B16 黑素瘤一般对化疗有相当的抵抗力。5FU 的正常最大耐受剂量 100mg/kg 对肿瘤的生长和向肺部的自发转移几乎不起作用。将每周 5FU 的剂量逐步提高到 225mg/kg ，在随后用 TAU 降低了 5FU 的毒性，使肿瘤的生长得到了显著的抑制，肿瘤向肺部的转移也大大降低。因为黑素瘤一般对氟尿嘧啶无反应，观察到的 5FU 升高剂量加 TAU 的显著活性表明本试验对 5FU 不是正选药物的肿瘤类型是有效的。

25

实施例 17：三乙酰尿苷改善了口服 5FU 和 5FU 降解抑制剂合用的疗效

口服 5-氟尿嘧啶(5FU)的生物利用度低而不稳定，因为 5FU 被二氢嘧啶脱氢酶(DPD)降解。此酶抑制剂的使用保证了 5FU 的口服给药

(Baccanari 等, Proc. Nat. Acad. Sci. 90:11064-11068,1994)。因为非甲基化嘧啶核苷的酰基衍生物口服有效,它们与口服 5FU 合用导致了疗效和治疗指数的提高。对某些癌症的完全口服治疗有降低医疗费用和方便的优点。

口服 5FU 结合 DPD 的抑制剂的目的之一是提供类似连续静脉输液的 5FU 给药方式。这包括每天(或更频繁)使用 5FU 加 DPD 抑制剂。或者,低频率(如每周)使用大剂量的 5FU。下面的试验的设计目的是为了确定每周口服高剂量 5FU 并随后口服 TAU 对抗肿瘤效果的影响。5-乙炔基尿嘧啶,一种强的、不可逆性 DPD 抑制剂,被用来保证 5FU 的口服给药。

小鼠:

雌性 Balb/C 小鼠鼠龄约 8 周,重约 20g。

Colon 26 得自 Frederick Cancer Research and Development Center(Frederick 癌症研究开发中心),并通过以皮下实质肿瘤的形式系列移植得以保持。为了研究抗肿瘤效果,将 0.3ml 的 5% 糊状物皮下注射于左肋。用游标卡尺测量肿瘤的长和宽,并按照以下公式计算肿瘤的体积:

$$\text{体积} = L(\text{mm}) \times W^2(\text{mm}^2)/2$$

肿瘤生长 10 天,长至 100 至 200mm²,然后将小鼠分成每组 10 只小鼠的组,每只含肿瘤的大小的分布约相等。治疗期间至少每周检测一次肿瘤的体积;同时记录体重。小鼠接收三周大剂量 5FU(含或不含 TAU),在 5FU 最后一次给药后,对肿瘤大小和体重的最终评价记录进行 7 天。

药物:

将 5-乙炔基尿嘧啶溶解在盐水中并在 5FU 给药 1 小时前,给小鼠口服 0.2ml。

将 5-氟尿嘧啶溶解于盐水中并通过管饲法给药,给药体积 0.2ml。

用组织匀浆器,将 TAU 悬浮于 0.75%羟丙基甲基纤维素中,浓度为 200mg/ml。5FU 给药后两小时,每隔 8 小时 TAU 以 5 个剂量给药。

用随后使用 TAU 缓解 5FU 的剂量提升:口服 5FU 和 5-乙炔基尿嘧啶

组别	肿瘤体积	体重	消退	
	(mm ³)	(变化率%)	CR	PR

对照组	1230±154	- 14	0/10	0/10
EU+5FU 20mg/kg 周×2	319±79	- 6	0/10	2/10
EU+5FU 50mg/kg+TAU 周×2	15±11	- 3	4/10	5/10
EU+5FU 2mg/kg 天×9	924±98	- 7	0/10	0/10

肿瘤： Colon 26 癌，初始大小 $82 \pm 9 \text{mm}^3$

EU+5FU： 5-乙炔基尿嘧啶(EU)2mg/kg 5FU 给药前 1 小时口服

TAU： 5FU 给药后 2 小时，每隔 8 小时口服 4000mg/kg×5

5 评价：第一次使用治疗剂量后 14 天(肿瘤移植后第 24 天)

消退： CR = 完全消退； PR = 部分(>50%)消退

随后口服 TAU 保证了 5 FU 剂量的逐步提升结合 5FU 降解抑制剂的合用。5FU 的最大耐受剂量在 DPD 抑制剂存在时降低，因为 5FU 的廓清被抑制。一般来说，DPD 降解了 90 % 以上的 5FU，使它们未进入
10 细胞核富集处。因此，5FU 降解的抑制可能大大增加了 5FU 的毒性。每周给药 3 次的方案中，用 5-乙炔基尿嘧啶预处理小鼠对 5FU 的最大耐受剂量约是 20mg/kg。随后使用 TAU 使 5FU 的剂量升高至 50mg/kg/周，而其抗肿瘤疗效也随之升高。每天使用较低剂量的 5FU(9 天内使用 2mg/kg/天)，这类似于 5FU 连续输液，它对肿瘤生长的抑制不如 5FU
15 每周给药方案有效。

实施例 18 乙氧羰基尿苷的合成

将 2.64mmol (1.5 当量) 的氯甲酸乙酯滴加到 0.5g 2',3'-异亚丙基尿苷(1.76mmol) 在 10ml 嘧啶的冰冷溶液中，加入时不断搅拌。可以把反应加热至室温(25 ℃) 下进行，并整夜搅拌(18 小时) 直到 TLC
20 (9 : 1 ; 氯仿/甲醇) 显示出所有的起始物质都转变为一种单一产品。用旋转蒸发法在高真空下除去溶剂，得到一种淡米色浆体，此浆体被用于下面的脱蛋白步骤。

把浆体溶解在 15ml 的 50% 的甲酸中，在 60-70 ℃ 下加热 2 小时，直到 TLC 显示出足量的异亚丙基已完全被除去。在高真空下蒸发除去
25 水和甲酸，得到一种淡米色 - 粉色浆体，然后把它加入硅胶柱中，并用 95:5 的氯仿/甲醇洗脱。收集、合并并蒸发含有产品的组分，得到一种略微粉红色的玻璃状产品。

上述内容意在阐述本发明而不是限制本发明。在不背离本发明真实精神和范围的情况下本发明可以有各种变形和改进。