

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 93121700.8

[45] 授权公告日 2002 年 8 月 21 日

[11] 授权公告号 CN 1089239C

[22] 申请日 1993. 12. 7

[21] 申请号 93121700.8

[30] 优先权

[32] 1992. 12. 8 [33] US [31] 987730

[32] 1993. 12. 1 [33] US [31] 158799

[73] 专利权人 普罗神经细胞有限公司

地址 美国马利兰州

[72] 发明人 R·W·冯波斯特尔

M·K·巴马特

B·M·希尔特布兰德

[56] 参考文献

US34757139 1988. 7. 12 A61K31/70

US3868451 1975. 2. 25 A61K27/00

US4874602 1989. 10. 17 A61K31/70

JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES, 76 (2) 1987.
2. 1 MARTIN 等人 "SYNTHESIS AND ANTIVIRAL ACTIVITY
OF VARIOUS ESTERS OF 9 - (1, 3 - DIHYDROXY - 2 -
PROPOXYL) METHY

审查员 赵喜元

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 姜建成

权利要求书 3 页 说明书 53 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 治疗或预防动物炎症和组织损害用的嘧啶核苷酸前体

[57] 摘要

本发明公开了包括胞苷、尿苷和乳清酸盐的酰基衍生物的嘧啶核苷酸前体和尿苷磷酸化酶抑制剂及其在增强对脓毒症或全身性炎症抵抗力中的应用。具体地,本发明公开了嘧啶核苷酸前体在制备用于治疗或预防由于全身性炎症反应综合症所致的动物组织损害的药物、在制备用于减小治疗性细胞激活素或炎性刺激物在动物中的毒性的药物、在制备作为辅助剂用于治疗动物癌症的药物、在制备用于治疗或预防动物炎性肝炎的药物、在制备用于治疗或预防接受全肠道外营养和接受肝移植的动物肝损害的药物中的应用。

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

权 利 要 求 书

1. 嘧啶核苷酸前体在制备用于治疗或预防由于全身性炎性反应综合症所致的动物组织损害的药物中的应用。
2. 嘧啶核苷酸前体在制备用于治疗或预防动物的脓毒症的药物中的应用。
3. 如权利要求2的用途, 其中所说嘧啶核苷酸前体是尿苷、胞苷、乳清酸, 或者是尿苷、胞苷或乳清酸的酰基衍生物, 或者是它们的药用盐。
4. 如权利要求3的用途, 其中所说的尿苷酰基衍生物是三乙酰尿苷。
5. 如权利要求2的用途, 其中所说的动物是人。
6. 如权利要求2的用途, 其中的嘧啶核苷酸前体与尿苷磷酸化酶抑制剂一起应用。
7. 嘧啶核苷酸前体在制备用于减小治疗性细胞激活素或炎性刺激物在动物中的毒性的药物中的应用。
8. 如权利要求7的用途, 其中所说嘧啶核苷酸前体是尿苷、胞苷、乳清酸, 或者是尿苷、胞苷或乳清酸的酰基衍生物, 或者是它们的药用盐。
9. 如权利要求8的用途, 其中所说的尿苷酰基衍生物是三乙酰尿苷。
10. 如权利要求7的用途, 其中所说的细胞激活素或所说的刺激物是选自白细胞介素-1、白细胞介素-2、白细胞介素-6、肿瘤坏死因子、内毒素、真菌多糖和双链RNA。
11. 如权利要求7的用途, 其中的嘧啶核苷酸前体是与尿苷磷酸化酶抑制剂一起应用。

12. 嘧啶核苷酸前体在制备作为辅助剂用于治疗动物的癌症的药物中的应用。

13. 如权利要求 12 的用途, 其中所说嘧啶核苷酸前体是尿苷、胞苷、乳清酸、或者是尿苷、胞苷或乳清酸的酰基衍生物, 或者是它们的药用盐。

14. 如权利要求 13 的用途, 其中所说的尿苷酰基衍生物是三乙酰尿苷。

15. 如权利要求 12 的用途, 其中所说的细胞激活素或所说的刺激物是选自白细胞介素-1、白细胞介素-2、白细胞介素-6、肿瘤坏死因子、内毒素、真菌多糖和双链 RNA。

16. 如权利要求 12 的用途, 其中所说的嘧啶核苷酸前体是与尿苷磷酸化酶抑制剂一起应用的。

17. 尿苷、胞苷或乳清酸的酰基衍生物或其药用可接受盐在制备用于治疗或预防动物的炎性肝炎的药物中的应用。

18. 如权利要求 17 的用途, 其中所说的尿苷酰基衍生物是三乙酰尿苷。

19. 如权利要求 17 的用途, 其中的所说的衍生物是与尿苷磷酸化酶抑制剂一起应用的。

20. 尿苷或胞苷在制备用于治疗或预防动物的炎性肝炎的药物中的应用。

21. 如权利要求 20 的用途, 其中每天给予 2-40g 的尿苷或胞苷。

22. 嘧啶核苷酸前体在制备用于治疗或预防接受全肠道外营养的动物中肝损害的药物中的应用。

23. 如权利要求 22 的用途, 其中所说的嘧啶核苷酸前体是尿苷、胞苷、乳清酸, 或者是尿苷、胞苷或乳清酸的酰基衍生物, 或者是它们的药用可接受盐。

24. 如权利要求 22 的用途, 其中每天给予 2 - 40g 所说嘧啶核苷酸前体。

25. 如权利要求 22 的用途, 其中的嘧啶核苷酸前体是与尿苷磷酸化酶抑制剂一起应用的。

26. 嘧啶核苷酸前体在制备用于治疗或预防接受肝移植的动物中肝损害的药物中的应用。

27. 如权利要求 26 的用途, 其中所说嘧啶核苷酸前体是尿苷、胞苷、乳清酸, 或者是尿苷、胞苷或乳清酸的酰基衍生物, 或者是它们的药用可接受盐。

28. 如权利要求 26 的用途, 其中每天给予 2 - 40g 所说嘧啶核苷酸前体。

29. 如权利要求 26 的用途, 其中的嘧啶核苷酸前体是与尿苷磷酸化酶抑制剂一起应用的。

说明书

治疗或预防动物炎症和组织损害用 的嘧啶核苷酸前体

本发明一般地说涉及包括胞苷、尿苷和乳清酸盐的酰基衍生物之嘧啶核苷酸前体以及这些化合物在预防和治疗疾病中的应用。本发明还涉及在有或无其它药剂同时存在的情况下给动物单独或联合施用所说化合物。该化合物能够增强动物对细菌内毒素和其它炎性刺激物以及炎性介质的抵抗力。

脓毒症（也称为脓毒综合症）是由细菌、真菌或病毒引起的严重感染的后果。在美国，脓毒症占每年死亡人数的好几万，是外科渐近性护理单位之病人死亡的主要原因。

脓毒症是一种炎症疾病，在该疾病过程中，生物体应答炎性刺激如细菌内毒素（革兰氏阴性（G⁻）菌细菌壁的一种成分）所产生或释放的内源细胞激活素和其它生物活性分子导致多种症状，包括发热、中性白细胞减少症、凝血紊乱、低血压、休克和脏器损害。

脓毒症（或其重症形式—脓毒症休克）是称为“全身性炎症反应综合症”（SIRS）这一广泛性疾病类型中的一例，SIRS是机体对诸如内毒素这样的炎性刺激物的反应（所说内毒素可以存在于血液中而不伴有菌血症，例如，由于G⁻细菌的内毒素由局部感染或由肠道渗漏入血循环中），也可由革兰氏阳性（G⁺）细菌、真菌或病毒触发，还可以是自身免疫紊乱或施用治疗性炎性细菌激活素的结果。

目前对 S I R S 的治疗包括循环和呼吸的支持疗法，但没有直接致力于改善组织对炎性刺激物（例如内毒素）或炎性介质的抵抗力。

有关能中和内毒素或其生理作用的介质之单克隆抗体正在开发研究中。然而，在内毒素毒性症状发作前将抗体应用于易感人群作为预防措施的代价是昂贵或不切实际的。而且，因为培养和鉴定感染性病源所需的时间往往超过了进行有效治疗的时限，所以很难确定用抗体进行治疗可能会对哪些病人有益。在试图应用特异性炎性介质（如 I L - 1 ）的受体拮抗剂时也遇到了类似的问题。

内毒素的毒性一部分是由对内毒素产生反应的巨噬细胞、枯否氏细胞（肝脏中的固着巨噬细胞）和其它细胞类型释放的内源性细胞激活素和其它生物活性分子所介导。这些介质中最重要的是肿瘤坏死因子（T N F）和白细胞介素-1（I L - 1）。其它的介质包括血小板激活因子（P A F）、I L - 6 和白三烯以及花生四烯酸衍生物。施用这些细胞激活素或介质导致类似于至少一些由内毒素引发的症状。除了细菌内毒素外，药剂或病理条件能够引起 T N F 或 I L - 1 的产生增加或活性（或对两者的敏感性）增高，从而导致组织损害。所说的病例包括由 G⁺ 菌、病毒或真菌引起的感染，或者是肝损害。炎性细胞激活素如果过量存在则能导致组织损害，但当它们被适量诱生时，则在抵抗传染性病原体或病毒方面起重要的作用。例如，T N F 的抗体能够减少所给用剂量的内毒素的毒性（通过阻断由内毒素诱生的 T N F 的负性作用），但在一些细菌感染的情况下 T N F 具有毒性作用，将感染的亚致死状态转变成为完全的致死性感染（Havell, J. Immunol. 1987, 139:4225 - 4231; Echtenacher et al., J. Immunol., 1990 145:3762 - 3766）。因此，在利用直接灭活炎性细胞激活素的

药剂治疗脓毒综合症或 S I R S 的策略上存在固有的问题。

肝脏是内毒素 (Farrar and Corwin, Ann. N. y. Acad. Sci., 1966 133:668-684) 和象 T N F 这样的炎性蛋白清除或解毒的主要部位, 相反, 肝脏易于受到内毒素及其诱生的介质的损害。有着多种起因 (例如四氯化碳、胆碱缺乏、病毒感染、Reye's 综合症、酒精) 的肝损害甚至在全身体脓毒症症状还未出现时就部分地由细菌内毒素诱生的介质所介导 (Nolan, Gastroenterology, 1975, 69:1346-1356; Nolan, Hepatology, 1989, 10:887-891)。在接受有意注射内毒素以可能有效治疗肝癌的病人中, 肝毒性是剂量限制性的 (Engelhardt et al., Cancer Research, 1991, 51:2524-2530)。据报道, 肝脏是脓毒症休克中表现出病理性改变的头等重要器官 (Kang et al., J. Histochem. Cytochem., 1988 36:665-678)。而且, 肝脏功能不良发生于脓毒症的早期, 并可以引发相继的器官衰竭 (Wang et al., Arch. Surg., 1991, 126:219-224)。

肝脏在调节动物对内毒素的敏感性方面很重要。有损于肝功能或代谢的各种治疗 (例如乙酸铅、放线菌酮、放线菌素 D 或半乳糖胺的毒害) 能够提高动物对内毒素或 T N F 的敏感性, 而且在某些情况下能够很大程度地提高。

半乳糖胺诱导的肝损害的独特之处在于它于细胞死亡发生之前的一段时间内易于可塑性回复。通过将尿苷核苷酸固定为不能反转成游离核苷酸的 U D P - 已糖胺, 半乳糖胺因而选择性地消耗肝尿苷核苷酸。如果尿苷核苷酸的消耗被足够的延长的话, 该过程将导致肝损害, 因为 R N A 和蛋白质合成遭到了损害。由半乳糖胺诱导的生化缺陷易于通过施用尿苷而逆转, 它补充了被半乳糖胺困陷的尿苷核苷酸。因

此，在施用半乳糖之前或后随继施用尿苷能减轻半乳糖胺诱导的肝损害，继而朝着对内毒素的正常敏感值恢复（Galanos et al., PNAS, 1979, 76:5939-5943）。

与此相似，在有意用啮齿动物内毒素 T C D D 进行处理的小鼠中，内毒素的超敏性可通过施用尿苷而部分逆转（Rosenthal et al., Toxicology, 1989, 56:239-251）。

然而，与尿苷能部分地恢复在实验中降低的对内毒素抵抗力的情况相反，有文献报道尿苷在受内毒素攻击的正常小鼠中没有保护作用（Markley et al., J. Trauma 1970, 10:598-607），即，尿苷不能产生比正常高的内毒素抵抗力。

已经测试了尿苷、胞苷和乳清酸盐在肝功能障碍患者和模型中对肝功能的影响，给出了混合的结果。据Shafer和Isselbacher报道（Gastroenterology, 1961, 40:782-784），给肝硬化病人每天静脉内输注 25-100 mg 胞苷和尿苷共 3-7 天，对临床状态不产生影响。以 1% 的浓度在大鼠饲料中加入乳清酸引起大鼠肝脏的脂肪浸润（Von Euler et al., J. Biol. Chem., 1963, 238:2464-2469），而通过腹膜内注射给予乳清酸能减轻用四氯化碳、二氯乙烷、D D T 和 9, 10-二甲基-1, 2-苯并蒽处理大鼠所致的肝损害（Pates et al., Farmakol Toksikol., 1968, 31:717-719）。赖氨酸-乳清酸盐可加强菌类植物鹅膏毒伞的肝毒性提取物的毒性，而乳清酸钠和乳清酸对该菌属提取物的毒性没有影响（Halacheva et al., Toxicon, 1988, 26:571-576）。乳清酸已被临床上用于治疗人的新生儿高胆红素血症和改善心肌梗塞的痊愈（O' Sullivan, Aust. N. Z. J. Med., 1973, 3:417-422）。

口服乳清酸盐后不能被很好地吸收，这部分是由于其不良的溶解性。

涉及施用尿苷的临床试验（例如为了减轻抗肿瘤药 5 - 氟尿嘧啶的宿主毒性）由于尿苷本身的生物特性而变得复杂化。尿苷在口服后吸收不良，但腹泻仅限于人类（Van Groeningen et al., Proceedings of the AACR; 1987, 28:195）。非胃肠道施用尿苷需要利用中心静脉导管（会引起不适和感染的危险），但因为静脉炎是通过手臂静脉导管施用尿苷的早期临床试验中存在的问题（Van Groeningen et al., Cancer Treat Rep. 1986,70:745-50）。

施用尿苷和胞苷的酰化衍生物可以克服口服游离核苷酸吸收不良的问题，所说衍生物易于由肠吸收入血，然后在循环中被水解产生游离的尿苷或胞苷（美国专利申请顺序号为 4 3 8, 4 9 3, 1 1 5, 9 2 9 和 9 0 3, 1 0 7, 这些专利文献结合在本文中作为参考）。

本发明的主要目的是提供有效改善全身性炎性反应综合症（包括脓毒症）患者的存活状态和有效防止因此而致的组织损害的治疗剂和预防剂。

本发明的主要目的是提供一族能有效增强对全身性炎症的抵抗力的化合物。在与内毒素或其它炎性刺激物接触之前、之中或之后给动物施用上述化合物以预防或治疗全身性炎症的影响。

本发明的目的还在于提供一族用于治疗病因涉及炎性刺激物或炎性细胞激活素的各种紊乱的化合物。

本发明的目的还在于提供一族改善遭受内毒素毒害或其它全身性炎性紊乱的动物之存活或生理功能的化合物。

本发明的目的还在于提供一族治疗或预防炎性肝炎的化合物。

本发明的目的还在于提供能口服或胃肠道外用药的化合物。

实现本发明的上述及其它目的可以借助于嘧啶核苷酸的前体如乳清酸或其盐、尿苷和胞苷，或者是它们的包括酰基衍生物或磷酸酯的原药衍生物，它们能够被施用于包括哺乳动物（例如人）在内的动物。单独或联合应用这些化合物适用于治疗或预防全身性炎症的后果。全身性炎症是由细菌、真菌或病毒，构成细菌、真菌或病毒的成分，如内毒素、多糖或病毒蛋白分别感染所致，是由炎性介质引起，或者是自身免疫紊乱的结果。

因此，本发明的化合物单独或联合使用适合于治疗和预防脓毒症或炎性细胞激活素的毒性作用；适合于在有脓毒症危险的病人中作预防剂，所说的病人例如进行了外科程序的病人，或是遭受严重烧伤或创伤的病人；还适合于作为对癌症或其它疾病进行化疗后的免疫保障。

本发明的一个重要方面是发现了嘧啶核苷酸前体（如乳清酸、尿苷或胞苷）及这类化合物的酰基衍生物具有意想不到的治疗特性。

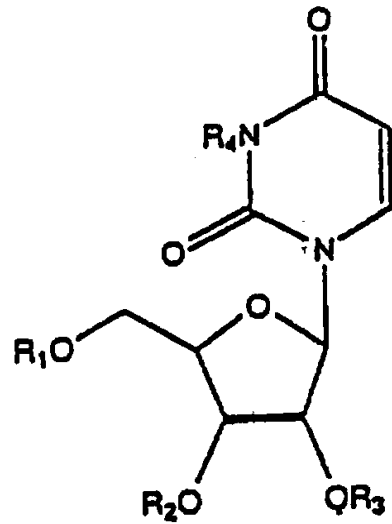
本发明的一个实施方案及本发明的化合物和组合物在治疗和预防因治疗性施用炎性细胞激活素（例如治疗癌症）时所致毒性中的应用。

本发明的另一个实施方案涉及本发明的化合物和组合物在治疗和预防炎性肝炎中的应用。

本发明用于增强对炎性刺激物或炎性介质抵抗力的化合物具有下列结构：

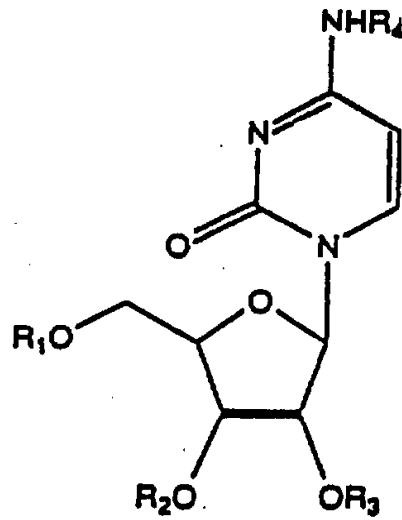
除非有说明，在所有的情况下象征本发明化合物的化学结构中各种取代基的字母和带下标的字母只适用于紧跟符号说明之前的结构。

(1) 具有下列通式的尿苷或胞苷的酰基衍生物：或者药用盐：



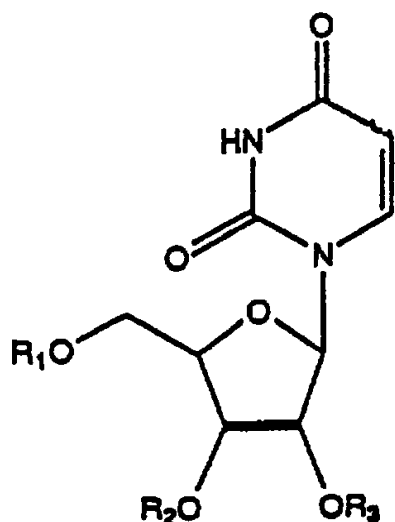
其中， R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 相同或不同，并且各自是氢或是代谢物的 酰基。

(2) 具有下列通式的胞苷或胞苷的 酰基衍生物：或是其药物可接受盐



其中， R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 相同或不同，并各自是氢或是代谢物的 酰基，

(3) 具有下列通式的尿苷酰基衍生物：



其中， R_1 、 R_2 和 R_3 相同或不同，并各自为氢或是下列物质的酰基团：

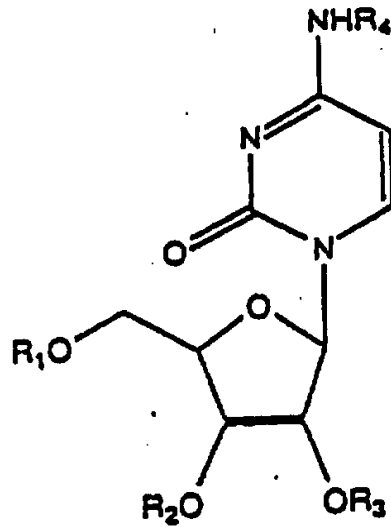
a. 具有 C₅ - 22 的无支链脂肪酸，

b. 一种氨基酸，它选自甘氨酸、L-丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、酪氨酸、脯氨酸、羟脯氨酸、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. 具有 3 - 22 个碳原子的二羧酸，

d. 选自下列的一种或多种的羧酸：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 -羟基丁酸、乳清酸和肌酸。

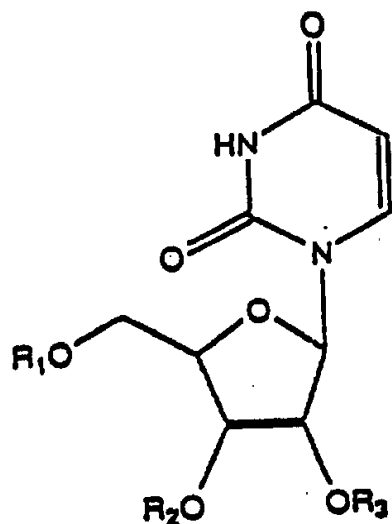
(4) 具有下列通式的胞苷酰基衍生物：



其中 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 相同或不同，并各自为氢，或是下列物质的 酰基团：

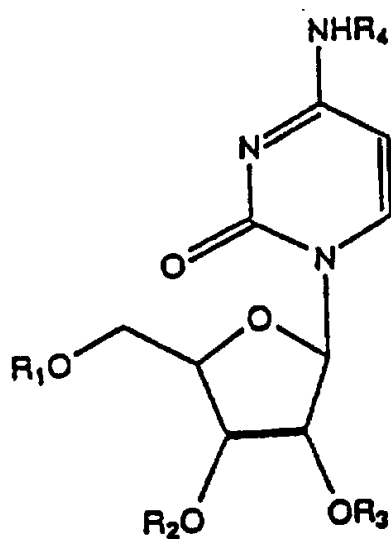
- a. 具有 5 至 22 个碳原子的无支链脂肪酸，
- b. 一种氨基酸，它选自甘氨酸、L-苯丙氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、酪氨酸、脯氨酸、羟脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、胱氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、精氨酸、赖氨酸、组氨酸、肉碱和鸟氨酸，
- c. 具有 3 至 22 个碳原子的二羧酸，
- d. 选自下列的一种或多种的羧酸：乙醇酸、丙酮酸、乳酸、烯醇丙酮酸、硫辛酸、泛酸、乙酰乙酸、对氨基苯甲酸、 β -羟基丁酸、乳清酸和肌酸。

(5) 具有下列通式的尿苷酰基衍生物：



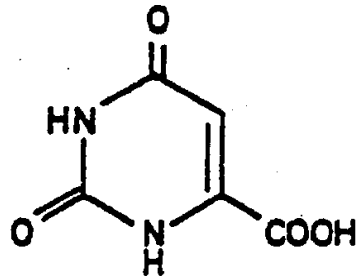
其中， R_1 、 R_2 、或 R_3 中的至少一个是含有2至26个碳原子的羟氧羰基部分，而其余的R取代基各自为羟氧羰基或羟羰基部分或是氢或磷酸根。

(6) 具有下列通式的胞苷酰基衍生物：



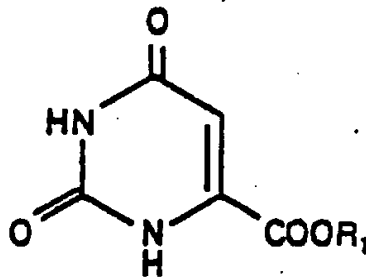
其中， R_1 、 R_2 、 R_3 或 R_4 中至少一种是含 C_{2-26} 的羟氧羰基部分，而其余的R取代基各自是羟氧羰基或羟羰基部分，或是氢或磷酸根。

(7) 乳清酸或其盐 :



乳清酸的药用盐包括那些其中的阳离子成分为钠、钾、碱性氨基酸如精氨酸或赖氨酸、甲基谷氨酸、胆碱或任何其它分子量小于约 1000 道尔顿的基本无毒水溶性阳离子的盐。

(8) 醇取代的乳清酸盐衍生物 :



其中, R_1 是含有 1 至 20 个碳原子的醇的基团, 它们通过酯键与乳清酸相连。

本发明还包括上述化合物的药物可接受盐。

本发明较好的化合物是尿苷或胞苷的短链脂肪酸酯。特别好的化合物是三乙酰尿苷、三乙酰胞苷或乳清酸盐。

尿苷磷酸化酶抑制剂 :

作为上述嘧啶核苷酸前体的替换物或附属物, 下列化合物适用于

本发明。这些化学剂通过抑制内源或外源性尿苷的分解代谢而提高组织中的尿苷水平。将尿苷磷酸化酶抑制剂与嘧啶核苷酸前体共同施用能减少达到治疗效果所需的核苷酸前体的用量。

尿苷磷酸化酶抑制剂的例子包括但不限于5-苄基巴比妥酸盐或5-亚苄基巴比妥酸盐衍生物，包括5-苄基巴比妥酸盐、5-苄氧基苯甲基巴比妥酸盐、5-苄氧基苯甲基-1-[(1-羟基-2-乙氧基) 甲基] 巴比妥酸盐、5-苄氧基苯甲基乙酰基-1-[(1-羟基-2-乙氧基) 甲基] 巴比妥酸盐和5-甲氧基苯甲基乙酰基无环巴比妥酸盐、2,2'-脱水-5-乙基尿苷和无环尿苷化合物，特别是5-苯甲基取代的无环尿苷同系物，包括但不限于苯甲基无环尿苷、苄氧基苯甲基无环尿苷、氨基-苯甲基无环尿苷、氨基苄氧基苯甲基无环尿苷、羟甲基-苯甲基无环尿苷和羟甲基苄氧基苯甲基无环尿苷。可参见WO 89 / 09603和WO 91 / 16315，上述专利文献并入本文作为参考。

本发明涉及包括胞苷、尿苷和乳清酸之酰基衍生物的嘧啶核苷酸前体，以及这些化合物和或尿苷磷酸化酶抑制剂在治疗或预防动物（包括人）体内的内毒素和其它炎性刺激物或介质的病理性后果中的应用。

本文所公开的发明涉及增强动物对炎性刺激物和介质抵抗力的方法。下文所示的实施例表明了对因内毒素和其它炎性刺激物所致毒性的预防和治疗作用，本发明的方法可以与治疗或防止脓毒症或全身性炎症的其它方法结合应用。

A. 定义

本文所用术语“嘧啶核苷酸前体”指的是一种在被施用于动物后

转化为嘧啶核苷酸的化合物。它特别包括胞苷、尿苷或乳清酸或这些化合物的前药（包括酰基衍生物）。

本文所用术语“酰基衍生物”意指嘧啶核苷酸的衍生物，其中有一个基本无毒的来源于羧酸的有机酰基取代基以一个酯键附着于羟基嘌呤核苷的核糖部分的一个或多个游离羟基上，和/或该处所说取代基以一个酰胺键附着于胞苷嘌呤环的胺取代基上。所说的酰基取代基来源于包括但不限于的下列羧酸化合物：脂肪酸、氨基酸、烟酸、二羧酸、乳酸、对氨基苯甲醇和乳清酸。有益的酰基取代基是以饮食成分或是作为中间代谢物正常存在于机体的化合物。

本文所用术语“药用的盐”意指该衍生物的药物可接受的酸加成盐的盐，包括但不限于硫酸、盐酸或磷酸。

术语“共同施用”意指至少有两种本发明的化合物在药理活性重叠的每个时期内的时限中被施用。

本文所用术语“氨基酸”包括但不限于甘氨酸、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、羟赖氨酸、肉碱以及其它天然存在的氨基酸。

本文所用术语“脂肪酸”意指含具有2至22个碳原子的脂肪族羧酸。所说的脂肪酸可以是饱和的、部分饱和的或多不饱和的。

本文所用术语“二羧酸”意指带有第二个羧酸取代基的脂肪酸。

本文所用术语“治疗有效量”指的是对于指定的疾病状态和给药方案提供治疗效果的用量。

本文所用术语“脓毒症”是一种全身性炎性紊乱，其中机体应答

炎性刺激如细菌内毒性（G⁻菌细胞壁的一种成分）所产生或释放的内源性细胞激活素和其它生物活性分子引起各种症状，包括发热、中性粒细胞减少症、凝血紊乱、低血压、休克和脏器损害。

本文所用术语“炎性刺激物”意指一种触发动物体内炎性反应的外源性物质。炎性刺激物的例子包括细菌、真菌、病毒、细菌或真菌或病毒的不能存活片段或成分（如内毒素），引起变态反应或过敏反应的物质，或双链RNA。在自身免疫紊乱的情况下，患体组织的内源成分如特定的细胞蛋白起炎性刺激物的作用。

本文所用术语“介质”意指典型地介导内毒素或其它炎性刺激物（如真菌多糖）的生物作用的内源或外源性（如重组多肽）生物活性化合物、蛋白质或多肽。所说介质的例子包括但不限于肿瘤坏死因子（TNF）、白细胞介素-1（IL-1）、白细胞介素-6（IL-6）、血纤维蛋白溶酶原激活剂抑制剂（PAI）、白三烯、补体级联系统中的成分、氧化氮或血小板激活因子。

B. 本发明的化合物

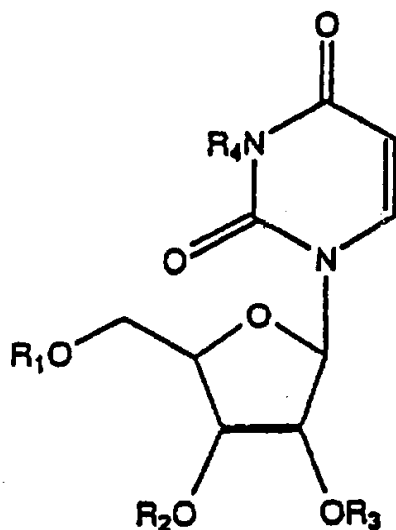
本发明的主要特征是意外地发现尿苷和其它的嘧啶核苷酸前体确实能保护其它方面正常的动物（例如，在动物模型中机体还未接受象半乳糖胺或TCDD这种临床上不相关的肝毒性氧化剂）免受因通过诱生内源性炎性介质产生组织损害的细菌内毒素和其它炎性刺激物的毒害。

组织尿苷酸水平可通过施用数种核苷酸前体而提高。借助于发生在5'位上的磷酸化作用，尿苷和胞苷掺入到细胞的核苷酸库中；胞苷核苷酸和尿苷核苷酸通过酶促胺化作用和脱胺反应可相互转化。乳清酸是嘧啶核苷酸再次生物合成中的关键中间体。乳清酸掺入到

核苷酸库中需要细胞的磷酸核糖焦磷酸 (P R P P)。另外 (或者是除了供给外源性核苷酸前体)，通过施用抑制尿苷磷酸化酶 (尿苷降解途径中的第一种酶) 的化合物提高组织对尿苷的可利用性。用于增强对内毒素或炎性介质抵抗力的本发明化合物包括尿苷、胞苷、乳清酸盐、这些嘧啶核苷酸前体的原药形式，特别是酰基衍生物和磷酸酯，以及尿苷磷酸化酶的抑制剂。

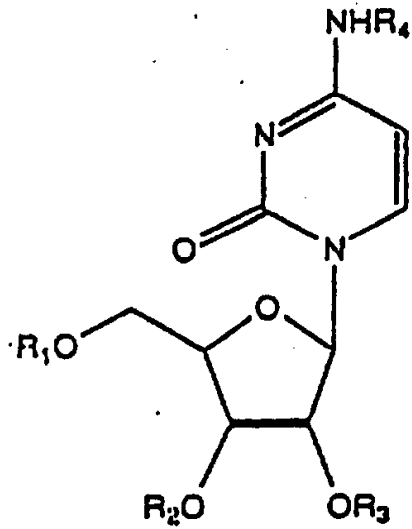
除非有说明，否则在所有的情况下象征本发明化合物化学结构中各种取代基的字母和带下标的字母仅用于紧跟符号说明之前的结构。

(1) 具有下列通式的尿苷酰基衍生物：



其中 R₁、R₂、R₃ 和 R₄ 相同或不同，并且各自是氢或是代谢物的酰基，条件是所说的 R 取代基至少一个不是氢，或者其药物可接受盐。

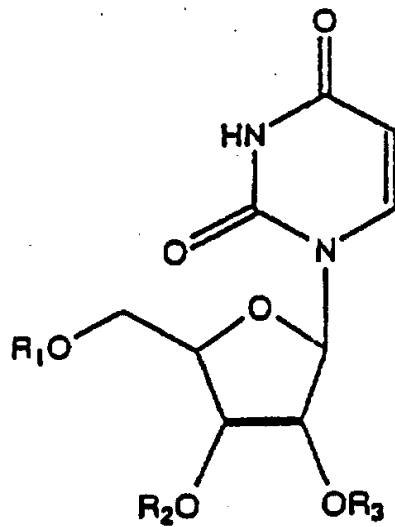
(2) 具有下列通式的胞苷酰基衍生物：



其中 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 相同或不同，并且各自是氢或代谢物的酰基，条件是所说 R 取代基至少一个不是氢，或其药物可接受盐。

用于增强对内毒素抵抗力的本发明化合物包括：

(3) 具有下列通式的尿苷酰基衍生物：



其中， R_1 、 R_2 和 R_3 相同或不同，并且各自为氢或是下列化合物的酰基：

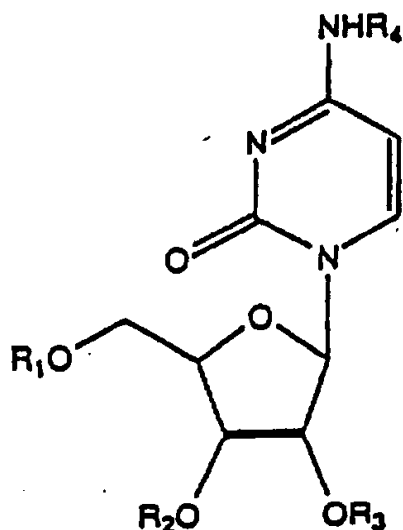
a. 含 5 至 22 个碳原子的无支链脂肪酸，

b. 一种氨基酸，它选自甘氨酸、L-丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、酪氨酸、脯氨酸、羟脯氨酸、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. 具有 3 至 22 个碳原子的二羧酸，

d. 选自下列一种或多种的羧酸、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、乳清酸和肌酸。

(4) 具有下列通式的胞苷酰基衍生物：



其中， R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 相同或不同，并且各自是氢或是下列化合物的酰基：

a. 含 C_5 - C_{22} 的无支链脂肪酸，

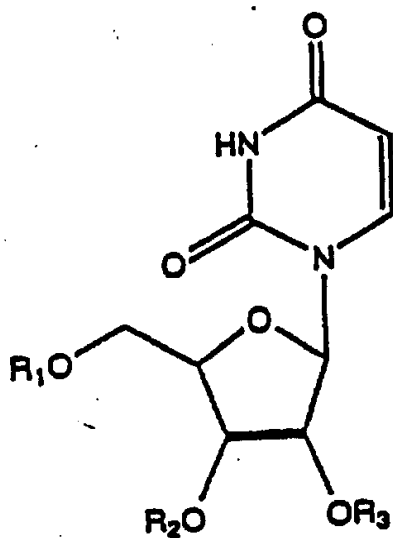
b. 一种氨基酸它选自甘氨酸、L-苯丙氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、酪氨酸、脯氨酸、羟脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、胱氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、精氨酸、赖氨酸、组氨酸、肉碱

和鸟氨酸，

c. 含 3 至 22 个碳原子的二羧酸，

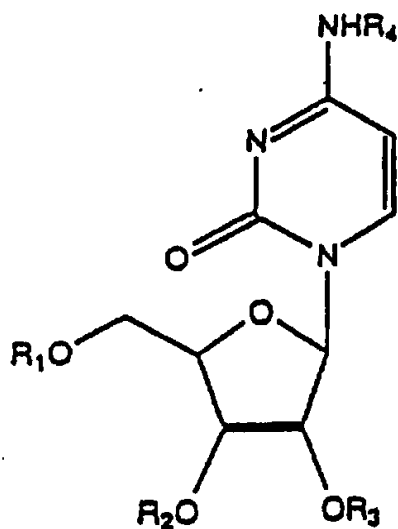
d. 选自下列一种或多种的羧酸、乙醇酸、丙酮酸、乳酸、烯醇丙酮酸、硫辛酸、泛酸、乙酰乙酸、对氨基苯甲酸、 β -羟丁酸、乳酸和肌酸。

(5) 具有下列通式的尿苷酰基衍生物：



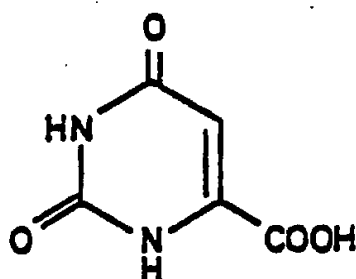
其中， R_1 、 R_2 或 R_3 中的至少一个是含 2 - 26 个碳原子烃氧羰基部分，而其余的 R 取代基各自是烃氧羰基或烃羰基部分或是氢或磷酸根。

(6) 具有下列通式的胞苷酰基衍生物：



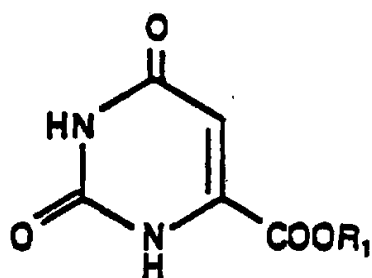
其中， R_1 、 R_2 、和 R_3 或 R_4 中的至少一个是含2—26个碳原子烃氧羰基部分，而其余的R取代基各自是烃氧羰基或烃羰基部分或是氢或磷酸根。

(7) 乳清酸或乳清酸盐：



乳清酸的药用盐包括的盐是其中的阳离子成分为钠、钾、碱性氨基酸（如精氨酸或赖氨酸）、甲基葡糖胺、胆碱或分子量小于约1000道尔顿的任何其它基本无毒的水溶性阳离子。

(8) 醇取代的乳清酸盐衍生物：



其中的 R₁ 是含 1 - 20 个碳原子的醇的基团，它通过酯键与乳糖酸根连接。

本发明还包括上述化合物的药用盐。

本发明的优势化合物是胞苷或尿苷的短链脂肪酸酯。特别优选的化合物是三乙酰尿苷或三乙酰胞苷。

尿苷磷酸化酶抑制剂

尿苷磷酸化酶抑制剂的例子包括但不限于 5 - 苄基巴比妥酸盐或 5 - 亚苄基巴比妥酸盐衍生物，包括 5 - 苄基巴比妥酸盐、5 - 苄氧基苯甲基巴比妥酸盐、5 - 苄氧基苯甲基 - 1 - [(1 - 羟基 - 2 - 乙氧基) 甲基] 巴比妥酸盐、5 - 苄氧基苯甲基乙酰基 - 1 - [(1 - 羟基 - 2 - 乙氧基) 甲基] 巴比妥酸盐和 5 - 甲氧基苯甲基乙酰无环巴比妥酸盐、2, 2' - 脱水 - 5 - 乙基尿苷和无环尿苷化合物，特别是 5 - 苯甲基取代的无环尿苷同系物，包括但不限于苯甲基无环尿苷、苄氧基苯甲基无环尿苷、氮甲基苯甲基无环尿苷、氮甲基苄氧基苯甲基无环尿苷、羟甲基苯甲基无环尿苷和羟甲基苄氧基苯甲基无环尿苷。也可参见 WO 89 / 09603 和 WO 91 / 16315，上述专利文献并入本文作为参考。

本发明的组合物

在本发明的一个实施方案中，新的药物组合物包括作为活性成分

的一种或多种嘧啶核苷酸前体及一种药用可接受载体，所说的活性成分选自尿苷、胞苷或乳清酸或其盐，以及这些嘧啶核苷酸前体的酰基衍生物。

根据药物的用途及用药途径的不同，本发明的组合物可以制备成液体、悬液、片剂、胶囊、糖衣丸、注射液或栓剂等剂型（参见下文的配方讨论部分）。

在本发明的另一个实施方案中，本发明的组合物含有至少一种嘧啶核苷酸前体和一种能抑制尿苷降解的成分，如尿苷磷酸化酶抑制剂。尿苷磷酸化酶抑制剂的例子包括但不限于5-苄基巴比妥酸盐或5-亚苄基巴比妥酸盐衍生物，包括5-苄基巴比妥酸盐、5-苄氧基苯甲基巴比妥酸盐、5-苄氧基苯甲基-1-[(1-羟基-2-乙氧基)甲基]巴比妥酸盐、5-苄氧基苯甲基乙酰基-1-[(1-羟基-2-乙氧基)甲基]巴比妥酸盐和5-甲氧基苯甲基乙酰基无环巴比妥酸盐、2,2'-脱水-5-乙基尿苷和无环尿苷化合物，特别是5-苄甲基取代的无环尿苷同系物，包括但不限于苄甲基无环尿苷、苄氧基苯甲基无环尿苷、氨甲基苯甲基无环尿苷、氨甲基苄氧基苯甲基无环尿苷、羟甲基苯甲基无环尿苷和羟甲基苄氧基苯甲基无环尿苷。也可参见US 5, 077, 280和WO 91/16315，上述文献并入本文作为参考。而且，为了改善组织对内毒素或炎性介质的抵抗力单独就用尿苷磷酸化酶抑制剂而不共同施用嘧啶核苷酸前体也在本发明的范围内。

在其它的实施例中，本发明的化合物除了包括一种或多种本发明的化合物外，至少还包括也用于治疗内毒素毒性或脓毒症的下列化合物：结合内毒素、TNF或IL-1的抗体或其它蛋白质；被结合到

聚合物载体基质上的多粘菌素 B (为了减少在利用多粘菌素 B 结合和灭活内毒素的活力时的毒性) ; I L - 1 或 T N F 受体拮抗剂 ; 抗菌素 ; 花生四烯酸级联成分的抑制剂 ; 精氨酸或鸟氨酸 ; 皮质甾类 ; 葡萄糖 ; A T P ; 包括肌苷、腺苷或其酰基衍生物的嘌呤核苷酸前体 ; c A M P 或其酰基衍生物。

在本发明另一实施方案中, 本发明的组合物包括至于一种本发明的化合物和一种抗菌素、抗真菌或抗病毒化合物。

本发明的化合物和组合物的治疗用途

本发明的化合物、组合物和方法用于增强动物对内毒素或其它炎性刺激物或介质的抵抗力。所说化合物包括嘧啶核苷酸前体以及抑制尿苷被酶降解的化合物。

本发明的化合物用于治疗人类, 然而, 本发明并不打算仅限于此, 对通过施用本发明活性化合物确实获得益处的所有动物进行治疗也包括在本发明的研究考虑范围内。

本发明的主要特征是发现了施用尿苷核苷酸前体在体内产生对内毒素或其它炎性刺激物或介质的毒性作用或致死性作用的超常抵抗力。

而且, 本发明体现在为增强机体对内毒素、其它炎性刺激物或其介质的抵抗力, 口服或全身应用含有嘧啶核苷酸前体 (或其药物前体) 和 / 或抑制尿苷分解代谢的化合物的药物化合物或组合物。

S I R S、脓毒症和脓毒症休克

本发明的化合物、组合物和方法用于减轻由于细菌 (G⁻ 和 G⁺ 细菌)、病毒、真菌或寄生物 (如疟原虫) 触发的全身性炎性反应综合征 (S I R S) (包括脓毒症) 所致的组织损害。所有上述类型的感染性病原刺激内源性炎性介质的形成或释放, 导致组织损害。

本发明化合物所施用的患者具有脓毒症症状，例如发热、中性粒细胞减少症、低血压等，或者是将化合物预防性地给予潜在脓毒症危险的患者，例如外科患者、严重烧伤或创伤的患者或泌尿道插管的患者。

本发明的化合物、组合物和方法比较理想地是与其它用于治疗脓毒症的药剂结合应用，所说的药剂包括但不限于下列的一种或多种：结合内毒症、TNF或IL-1的抗体或其它蛋白质；结合到聚合物载体基质上的多粘菌素B（为了减小利用多粘菌素B结合和灭活内毒素的能力时的毒性）；IL-1或TNF受体的拮抗剂；抗菌素；花生四烯酸级联成分的抑制剂；皮质甾类；葡萄糖；ATP；肌苷；cAMP或其酰基衍生物。本发明的化合物可以在动物或病人接触上述一种或多种其它药剂之前、之后或之中给予。

为了治疗或防止因脓毒症所致的组织损害，根据治疗反应及病人的条件不同，本发明化合物的施用剂量范围是约0.5-40克/天，优选2-40克/天，更优选3-30克/天。对于具有严重脓毒症症状的病人，一般是通过鼻胃管以液体或悬液形式施用本发明的化合物，特别是当病人已被放置了鼻胃管用以输送营养液或其它肠道营养品时。病情不重的病人一般接受液体或胶囊或片剂形式的本发明化合物。对不能耐受口服本发明化合物的病人（例如因胃肠道损伤而依靠全肠道外营养的病人）经静脉输注给予具有足够水溶性的本发明化合物，如尿苷。

在休克、外伤或脓毒症之后的一段时期，病人进入一种高代谢持续状态从而导致通常首先为肝衰的多器官衰竭。所说的高代谢期是由于内毒素及其介质对代谢调节的影响（Cerra et al., in *Molecular and Cellular Mechanisms of Septic Shock*, 265-277, Alan

R. Liss, 1989)。高代谢器官衰竭是外科渐近性护理病人中死亡的主要原因之一。如实施例所示，本发明的化合物能在遭受内毒素或脓毒症及器官衰竭的其它诱因攻击的动物中有效地减轻组织损害和改善存活情况。本发明的化合物、组合物和方法用于治疗处于高代谢性器官衰竭危险之中的病人。

脓毒症的一个严重后果是具有发展为凝血紊乱，特别是播散性血管内凝血（DIC）的倾向。在DIC中，凝血和纤溶过程都被激活，以致于凝血因子被迅速消耗在循环中形成凝血酶聚集。DIC能引起出血，或引起血栓形成，或者两者都引起。肝脏是合成凝血因子和从循环中清除凝血酶微聚物的主要部位。本发明化合物、组合物和方法的预防和治疗作用减弱了脓毒症诱发的凝血改变（参见实施例11）。

减少治疗性细胞激动素的毒性

内毒素和其它炎性刺激物的许多生物作用是通过靶细胞，尤其是巨噬细胞和枯否氏（Kupffer）细胞（肝脏固着的巨噬细胞）释放的内源性生物活性分子（介质）所介导的。上述结论的证据是小鼠C3H/HEJ品系的巨噬细胞对内毒素通常是非反应性的（根据在与内毒素接触时细胞激活素的释放），而且内毒素在上述品系中是相对无毒的。然而，这些小鼠对巨噬细胞正常释放的生物活性肽（如肿瘤坏死因子TNF）敏感，而LPS的毒性通过移植正常巨噬细胞而得以恢复。TNF通常充当内毒素毒性的初级介质，但白细胞介素-1（IL-1）和其它介质也参与内毒素毒性和脓毒症的表现。

因此，本发明的化合物、组合物和方法用于改变炎性细胞激活素的生物作用，无论它们是内源性的（特别是来自巨噬细胞）或是由体外来源引入机体（如利用重组DNA和发酵技术产生的多肽）。

各种炎性细胞激活素以及甚至是内毒素本身都具有潜在的治疗应用价值。肿瘤坏死因子正如其名称所反映的那样，能够破坏肿瘤并在抑制病毒感染方面与 α -干扰素一起发挥协同作用。因此，TNF以及细菌内毒素本身（诱导内源TNF释放）已被用于治疗癌症病人。既具有治疗活性又具有限制其临床应用的炎性细胞激活素的类别包括TNF、白细胞介素和干扰素。本发明的化合物、组合物和方法用于防止和治疗在治疗性应用上述细胞激动素以及炎性刺激物过程中所产生的毒性。

当内毒素通过静脉输注用于癌症病人时，其肝毒性限制了所能施用的内毒素剂量（Engelhardt R et al., *Cancer. Res.* 1991 51:2524-30）。在非肝癌患者中，避免肝脏遭受内毒素毒性损害的保护作用使得可以施用较高剂量的内毒素从而最大限度地发挥抗肿瘤效力。内毒素还具有免疫刺激特性。因此，本发明的化合物可用于改善内毒素、内毒素类似物或衍生物（如类脂A、类脂X、单磷酸基类脂A等）或其介质的治疗指标。在有意给病人用TNF的过程中肝毒性也是剂量限制性的（Kimura et al., *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1987, 20:223-229）。酵母或真菌来源的炎性刺激物，如多糖葡聚糖或蘑菇多糖，作为免疫调节剂也被治疗性地用于治疗感染或癌症（Seljelid, *Scand. J. Immunol.* 1989, 29:181-92; Bowers et al., *J. Surg. Res.* 1989, 47:183-8）。双链RNA（如多聚肌苷-多聚胞苷）作为炎性刺激物在治疗癌症或感染中也具有治疗活性。

介导内毒素的某些作用的炎性肽白细胞介素-1（IL-1）也类似地具有重要的治疗潜力（如恢复因癌症化疗所致的血细胞生成受

损)，但其应用受到了其毒性副作用的限制，而利用本发明的化合物、组合物和方法可以减弱 I L - 1 的毒副作用。

白细胞介质 - 2 (I L - 2) 在临床上被用于治疗多种癌症，作为免疫调节剂它在治疗各种感染和调节对疫苗的反应方面也具有潜在活力。在接受治疗的 I L - 2 用于癌症治疗的病人中应答 I L - 2 所产生的肝毒性并不普遍 (Viens et al., J. Immunother. 1992. 11:218-24)。在通过给小鼠应用伴刀豆球蛋白 A 所诱发的自身免疫性肝炎的动物模型中，据报道肝损害与内源性 I L - 2 产生增加相关 (Tiegs et al., J. Clin. Invest. 1992 90:196-203)。如实施例 10 所示，本发明的化合物、组合物和方法在上述实验模型中能有效地减轻肝损害。当本发明的化合物、组合物和方法在与 I L - 2 一起应用时可减小副作用，而且，本发明的化合物、组合物和方法用于治疗自身免疫性肝炎。

在改善血小板生成方面有治疗潜力的白细胞介素-6诱导肝 T N F 受体，因而增加了组织对 T N F 的敏感性。因此，本发明的化合物、组合物和方法与 I L - 6 或影响组织对 T N F 敏感性或产生 T N F 的类似介质联合应用时有益 (Van Bladel et al., Cytokine, 1991 3:149-54)。

特定的治疗性细胞激活素与一种嘧啶核苷酸前体和 / 或尿苷磷酸化酶抑制剂联合使用对于治疗已知所说的细胞激活素对之有效的功能障碍是有用的。例如，白细胞介素 - 2 用于治疗肾癌、克隆癌、黑癌、淋巴瘤、白血病以及其它赘生物疾病。T N F 对各种类型的癌症具有抗肿瘤效力，但它在治疗中的应用却受限于其毒性 (Kimura et al., Cancer. Chemother. Pharmacol. 1987, 20:223-9)。内毒素已

显示出了重要的抗肿瘤效力 (Engelhardt R et al., *Cancer. Res.* 1991, 51:2524-30)。

为了预防或治疗因施用治疗性细胞激动素所引起的毒性, 根据所用细胞激活素的疗程不同, 每天要用约 0.5 - 40 克的嘧啶核苷酸前体, 总共一至数天。在应用治疗性细胞激动素之前、之中或之后给予嘧啶核苷酸前体。以特定剂量施用嘧啶核苷酸前体, 并已建立起实验性和临床治疗各种类型癌症的方案, 除非当本发明的嘧啶核苷酸前体被施用增加细胞激动素的量可以被忍受, 此时用简单的剂量递增研究确定每种细胞激活素或炎性刺激物的用量。

炎性肝炎: 涉及内毒素或介质的肝功能障碍

肝脏易于受到内毒素或其介质的损害, 尤其是在肝功能被损害时。各种起因的肝损害 (如胆碱缺乏、Reye's 综合症或酒精) 或者提高了对内毒素的敏感性, 或者抑制了内毒素的清除, 它们部分是由细菌内毒素 (由于从肠向血流的小量渗漏而正常存在于门静脉循环中) 或内毒素诱导的介质所介导 (Nolan, *Gastroenterology*, 1975, 69:1346-1356; Nolan, *Hepatology* 1989 10:887-91)。在接受故意注射内毒素可能有效治疗癌症的病人中肝毒性是剂量限制性的 (Engelhardt et al., *Cancer Research*, 1991 51:2524-2530)。

如下文的实施例所示, 本发明的化合物、组合物和方法显著地减轻由内毒素和其它炎性刺激物和介质引起的肝损害。本发明的化合物、组合物和方法在治疗、预防或减弱因内毒素或其它炎性刺激物或介质而使肝毒性成为其病因的大量病理状况中的肝损害是有用的。涉及由内毒素或其介质 (如 TNF) 所致的肝损害的病理状况包括但不限于下列疾病状态:

A. Reye综合症

Reye综合症的特征在于快速的肝衰竭，并且绝大多数是作流感和其它病毒性感染的并发症见于儿童，阿斯匹林是危险因素。据信Reye综合症的病因涉及内毒素或炎性介质。内毒素血症见于大多数或所有Reye综合症患者，Reye综合症的动物模型包括用内毒素和阿斯匹林联合处理大鼠（Kilpatrick et al., *Metabolism*, 1989, 38:73-7）。

B. 酒精性肝损害

内毒素和TNF在与接触酒精相关的肝脏问题方面起作用。

（Nalan JP, *Hepatology* 1989 10:887-91; Arai M, Nakano S, Okuno F, et al., *Hepatology* 1989; 9:846-851; McClain CJ and Cohen DA, *Hepatology* 1989, 9:349-351）。

C. 暴发性肝炎

暴发性肝炎的病因和进程牵涉到肿瘤坏死因子，这种肝炎能迅速地导致肝衰竭和死亡（Aderka et al., *Med Hypotheses*, 1988 27:193-6）。

D. 病毒性肝炎

内毒素有助于在病毒性肝炎过程中发生肝细胞损害。病毒性肝炎降低动物模型中内毒素的LD₅₀，而从实验动物中排除内源性内毒素（通过结肠切除或通过利用无外来污染的啮齿动物）减轻由病毒攻击所致的肝损害（Gut et al., *J. Infect. Disease.*, 1984, 149:621）。在一些肝炎病例中，由T淋巴细胞或巨噬细胞介导的对肝病毒感染的免疫或炎性反应有助于肝损害。在任一情况下，本发明的化合物、组合物和方法用于治疗与病毒感染相关的肝损害。

E. 寄生虫感染

在疟疾感染过程中发生的肝损害和病态部分由 T N F 所介导 (Clark et al., Am. J. Pathol. 1987, 129:192-9)。

F. 全肠道外营养中的肝损害

在接受全肠道外营养 (T P N) 和非潜伏性肝病的病人中普遍存在肝并发症。Pappo 等人 (J. Surg. res., 1991, 51:106-12) 报道, 内毒素 (L P S) 或来自肠道 G⁻ 菌的过渡生长在 T P N 相关的肝脂肪变性中起作用, 并且 polymyxin B 的肠道清除和特异的抗-L P S 活性将减少 T P N 过程中的肝脂肪浸润。结合和灭活 L P S 的 polymyxin B 对人有毒, 但提供了在 T P N 过程中所观察到的肝病实际上是部分由内毒素或 T N F 介导的证明。因而, 在 T P N 溶液中包含本发明的化合物对减小 T P N 诱导的肝损害是有益的。

G. 铅中毒

铅中毒能明显地增加对内毒素的敏感性。铅诱导的对肝代谢的干扰牵涉到铅对内毒素毒性的作用 (Taki et al., Eur. Surg. Res., 1985, 17:140-9)。

H. 部分肝切除术

继部分肝切除术后 (如去除癌组织), 肝衰竭的发病率和死亡率并非罕见。在部分肝切除后的动物中再生的肝组织对内毒素和介质的有害作用高度敏感 (Shirai et al., Acta Pathol. Jpn., 1987, 37:1127-1134)。

I. 麻醉后肝炎

吸收麻醉 (如 乙醚) 能引起肝炎, 尤其是如果肝血流也被破坏, 麻醉后肝炎的病因牵涉到内毒素 (Lomanto et al., Anesth. Analg., 1972, 51:264-270)。因此, 本发明的化合物用于吸收麻醉的病人

以预防和治疗肝炎。外伤本身可致麻醉后肝炎。而且，外伤常引起细菌和内毒素通过血流从肠道位移至其它组织。外科病人是最易受内毒素毒害（由于感染）中的成员。因此，用嘧啶核苷酸前体治疗外科病人（在手术前、中或后）能明显提高对内毒素毒性的抵抗力。

J. 胆汁郁积性肝炎

因胆道阻塞或肝内胆汁郁积所致的肝损伤部分是由于肠道来源的内毒素（Shibayama Y. 1989, J. Pathol. 159:335-9）。

K. 肝移植

在接受肝移植的病人中，外科术前和无肝期未存在的高内毒素水平与移植失败及高死亡率相关。其移植物最初无功能的病人一般有严重的内毒素血症。内毒素血症是外科术前并发症和移植物丧失的原因而非作用结果（Yokoyama et al., 1989, Transplant Proc. 21:3833-41）。在临床案例中，动物（如人）在进行移植后通过肠道或胃肠外给予本发明的化合物的剂量范围是约 2 - 40 克/天，最好分成 1 至约 4 次剂量。供体肝脏在移植至受体前或移植过程中也可以用本发明的化合物进行灌注，最好是用尿苷、胞苷、乳清酸或其盐或其酰基衍生物。

内毒素和炎性介质也涉及到其它的肝脏功能障碍，上文讨论的具体实例的多样性表明了本发明的化合物、组合物和方法在治疗或预防广泛的肝病中的有用性。

为了治疗炎性肝炎，每天应用 0.5 - 40 克（最好是 3 - 30 克）的嘧啶核苷酸前体，最好是分成 1 至约 4 次剂量。疗程依赖于临床症状的改善情况，急性炎性肝功能障碍一般需要的疗程比慢性变性病理状态短。

其它功能障碍

如实施例 2、4 - 6 和 9 所示，本发明的化合物保护除肝脏外的组织（如肌肉），正如由用内毒素或真菌炎性介质酵母多糖处理的动物中血清肌酸磷酸激酶（CPK）水平所反映的那样。血清 CPK 活性的升高是作为骨骼肌或心肌受损的后果。

恶病质（体重减轻的症状）、组织消耗和营养物滥用，是癌症病人的共同并发症。TNF 关系到恶病质状态的发生和持续，

“Cachectin”是 TNF 的象征性名称。本发明的化合物、组合物和方法可用于治疗恶病质病人。

兽医学应用

在马和其它大动物中，存在一种称为蹄叶炎的常见的综合症，它是因内毒素从肠道进入全身循环的一种后果（通常是在动物过多进食富含碳水化合物的食物后，改变了肠道内的菌群）。因为本发明的化合物、组合物和方法能减轻因内毒素所致的组织损伤，所以它们被用于治疗或预防动物的蹄叶炎和其它的内毒素毒性作用。

本发明化合物和组合物的施用和配方

根据待治疗的病人病情和状态不同，本发明的化合物和组合物可经口服、胃肠外注射、静脉内输注或其它途径应用。

根据需要，可以慢性、间歇性或急性应用本发明的化合物和组合物。在包括内毒素毒性或全身性炎性综合症的情况下，在所说情况发生前、发生中或发生后应用本发明的化合物和组合物。

该药用活性化合物最好是与包括易使活性化合物加工的赋形剂和助剂的适宜药用载体相结合。把它们作为片剂、糖衣丸、胶囊和栓剂加以应用。例如，可以通过口服、直肠、阴道给药应用组合物或通过

口腔憩室释放组合物，并可以以溶液的形式通过注射、口服或经局部用药而应用。组合物含有活性化合物和赋形剂，活性化合物约0.1 - 99%，最好是约50 - 90%。

为了通过注射或静脉输注进行非胃肠道给药，活性化合物被悬浮或溶解于水性介质中，如灭菌水或盐溶液中。注射溶液或悬浮最好含有表面活性剂，如聚氧乙烯脱水山梨醇酯类、脱水山梨醇酯类、聚氧乙烯醚类，或增溶剂，如丙二醇或乙醇。溶液一般含1-25%的活性化合物。

适宜的赋形剂包括填充剂如糖，例如乳糖、蔗糖、甘露糖或山梨糖醇、纤维素制剂和/或磷酸钙，如磷酸三钙或磷酸氢钙，以及结合剂如淀粉糊，例如用玉米淀粉、小麦淀粉、大米淀粉或土豆淀粉、明胶、黄耆胶、甲基纤维素、羟丙甲基纤维素、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，如二氧化硅、滑石、硬脂酸或其盐，如硬脂酸镁或硬脂酸钙和/或聚乙二醇。如果需要的话，以适宜的包衣提供给糖衣丸核心以抵抗胃酸。为此，应用最好含有阿拉伯胶、滑石、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙二醇和/或二氧化钛、抛光溶液和适宜有机溶剂或溶剂混合物的浓缩糖溶液。为了形成抗胃液的包衣，应用了适宜的纤维素制剂的溶液，如邻苯二甲酸乙酰纤维素酯或邻苯二甲酸羟丙甲基纤维素酯。最好在片剂或糖衣丸包衣中加入染料或着色剂，例如用于鉴别或为了作为不同化合物剂量的特征。

本发明的药物制剂用已知的方式制备，例如，借助于常规的混合、成粒、制糖衣丸、溶解或冻干的方法。因此，口服用的药物制剂是通过将活性化合物与固相赋形剂相结合而获得，最好是在加入适宜助剂

后碾碎所得混合物，并将混合物制粒，如果需要的话，制得片剂或糖衣丸核心。

用于口服释放的其它药物制剂包括由明胶制成的推进固定 (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封闭胶囊。推进固定的胶囊含有颗粒状的活性化合物，它们最好是与填充剂（如乳糖）、粘合剂（如淀粉）和/或润滑剂（如滑石或硬脂酸镁）以及最好还有稳定剂一起混合。在软胶囊中，活性化合物最好是被溶解或悬浮于适宜的液体如脂肪油类、液体石蜡或聚乙二醇中。此外，最好加入稳定剂。其它口服用制剂包括溶液、悬液或乳液。特别提及的是，适于通过肠内导管，如鼻胃管给药的液体形式是有利的，尤其是对于那些卧床不起或神志不清的病人。

经直肠用药的药物制剂包括如由活性化合物与栓剂基质联合组成的栓剂。适宜的栓剂基质例如有天然或合成的甘油三酯、链烷烃、聚乙二醇或高级链烷醇。此外，由活性化合物与基质联合组成的明胶直肠胶囊也是有用的。基质物质例如包括液体甘油三酯、聚乙二醇或链烷烃。

用于胃肠外给药的适宜制剂包括水溶形式活性化合物的水溶液，如水溶性盐。另外，可该活性化合物适于以悬浮液在油性注射悬液中给予。适宜的亲油溶剂或载体包括脂肪油类（如麻油）、或合成的脂肪酸酯（如油酸乙酯或甘油三酯）。水性注射悬液最好包括提高悬液粘度的物质，例如包括羧甲基纤维素钠、山梨糖醇和/或葡聚糖。悬液最好含有稳定剂。

本发明化合物的合成

借助嘧啶核苷酸或同种类同性质的物质与一种活性的羧酸反应合

成嘧啶核苷酸的酰基化衍生物，所说的活性羧酸已用适当试剂处理过，使其羧酸碳原子较原始状态更易受亲核性进攻。用于合成本发明化合物的活性羧酸的例子有酰基氯、酸酐、N-羟基琥珀酰亚胺酯或用BOP-DC活性的羧酸。也可用偶联剂（如二环乙基碳二亚胺DCC）将羧酸连接到嘧啶核苷 或同类物上。

在制备本发明的酰基化合物过程中，当所需酰基衍生物的酸源具有干扰 酰化反应的基团，如羟基或氨基时，那么在制备酐之前分别用保护基团如叔丁基二甲基甲硅烷基醚或叔BOC基阻断所说的干扰基。例如，乳酸与叔丁基二甲基氯硅烷一起转化为2-叔丁基二甲基硅氧丙酸，继而用碱的水溶液水解所得的甲硅烷基酯。通过被保护的酸与DCC反应形成酐。用氨基酸，通过标准技术制备N-叔-boc衍生物，然后用DCC转化为酐。用含有不止一个羧酸基团的酸（如琥珀酸、富马酸或己二酸）将所需二羧酸的酸酐在吡啶或吡啶加二甲酰胺或二甲基乙酰胺中与嘧啶核苷反应。

借助标准方法，利用DCC溶于适当溶剂，特别是（i）二氯甲烷和（ii）二甲基乙酰胺或二甲基甲酰胺的混合物，将氨基酸偶联到胞苷的外环氨基上，和偶联到嘧啶核苷 或同类物的醛糖部分的羟基上。

通过在水条件下使核苷与溶于溶剂（如吡啶或吡啶加二甲基甲酰胺）中的适宜碳氟甲酸酯反应来制备非甲基化嘧啶核苷的碳氧羰基衍生物。在真空下除去溶剂，用柱层析纯化残余留物。

可以用来制备本发明化合物的其它合成方法对于本领域的技术人员是显而易见的。

下面的实施例是说明而非限制本发明的方法和组合物。在临床治

疗中正常遇到的对各种条件和参数的其它适当变动和修改是本领域技术人员显而易见的，包括在本发明的精神实质和范围内。

实施例 1

三乙酰尿苷和尿苷提高用死的E. Coli 处理的小鼠的存活数

目的：

脓毒症能够由G⁻菌引发，甚至是在G⁻近不存活的情况下，因为主要的触发因素是内毒素（细菌细胞壁的一种成分）。本实施例研究的目的是为了检测口服三乙酰尿苷和胃肠外给予尿苷对经致死量的死的E. Coli 处理的小鼠存活的影响。

方法：

将18只雌性 Balb/c小鼠（8周龄）分成每6只动物一组。所有的小鼠都给予500ug经超声处理悬浮于0.2ml盐水中的E. Coli（血清型O111:B4）的丙酮粉。一个组的小鼠在给予E. Coli 的前2个小时经腹膜内注射尿苷（溶于0.2ml盐水中，2000mg/kg）。另一组小鼠经喉头插管给予三乙酰尿苷（6000mg/kg，溶于含2.5% Tween 80的1:1玉米油/水的载体中）。对存活情况监测一周。

- | | | | | |
|----|-----|---------|------|------------|
| A. | n=6 | E. Coli | (对照) | |
| B. | n=6 | E. Coli | (对照) | + Urd i.p. |
| C. | n=6 | E. Coli | (对照) | + TAU p.o. |

结果：

对照组的动物在给予E. Coli 粉后18小时表现为休克和低热。处理组的动物是活动的并维持体温，尽管在头48小时的整个观察期间处理组动物的皮毛是邋邋的。存活48小时的动物完全恢复。所有

只用E. Coli 处理的小鼠在48小时内全部死亡。所有用尿苷或三乙酰尿苷处理和给予死的E. Coli 的小鼠全部存活。

实施例 2

尿苷在保护组织免受内毒素损害中的剂量-反应研究

目的：

本研究的目的是为了确定尿苷在防止由内毒素(LPS)所致的炎性组织损害中的剂量-反应特征。

方法：

将雌性Balb/c小鼠(8周龄)分成6组,每组6只动物。对一组动物不进行处理以提供指示组织损害的血清化学基值。其余的五组小鼠经腹膜内注射给予在0.2ml盐水中的100 μ g鼠伤寒沙门氏菌内毒素。在给予内毒素前2个小时,该五组小鼠分别经腹膜内注射给予0.500、1000、2000和4000mg/kg(在0.2ml盐水中)的尿苷。给予内毒素18小时后,收集血样以测定组织损害的血清化学指示值。

结果：

尿苷产生了对组织免受内毒素损害的剂量依赖性保护作用。ALT、AST和SDH是肝损害的特异性指示物;CPK是肌肉损害的指示物,而LDH由肌肉和肝脏两者释放。在本实验中,尿苷对小鼠的最有效剂量是2000mg/kg。

表 1 尿苷减弱内毒素诱导的组织损害

	ALT	AST	LDH	CPK	SDH
基值 (无 LPS)	198±124	137±26	708±177	906±211	49±2
对照 (LPS)	3768±482	4176±459	8406±850	11628±2398	1170±157
尿苷 500	2568±678	3090±871	5988±1225	8832±1089	834±192
尿苷 1000	1338±401*	1206±314*	3101±860*	4431±1529*	404±95*
尿苷 2000	605±236*	620±174*	1990±642*	4531±2139*	125±45*
尿苷 4000	1120±970*	744±457*	3441±2378*	8680±6746*	135±75*

* = 与对照组 (L P S i . p .) 的差异, $P < 0 . 0 2$

A L T = 丙氨酸转氨酶

A S T = 天冬氨酸转氨酶

L D H = 乳酸脱氢酶

C P K = 肌酸磷酸激酶

S D H = 山梨糖醇脱氢酶

实施例 3

口服三乙酰尿苷提高经致死量鼠伤寒沙门氏菌内毒素处理的小鼠的存活数

目的:

由 G^- 细菌引起的脓毒症综合症是通过细菌壁的脂多糖成分 - 内毒素所介导的。本实验的目的是确定口服尿苷原药 (三乙酰尿苷; T A U) 对用纯化的鼠伤寒沙门氏菌内毒素 (L P S) 经致死量处理的小鼠存活的影响。

方法:

将 20 只雌性 Balb/c 小鼠 (8 周龄) 分成两组, 每组 10 只。

给所有的小鼠经腹膜内注射 100 μ g 溶于 0.2 ml 盐水中的鼠伤寒沙门氏菌内毒素。其中一组小鼠通过灌胃给予三乙酰尿苷 (6000 mg/kg, 溶于含 2.5% Tween 80 的 1:1 玉米油/水的载体中)。对存活情况监测一周。

结果:

所有只给予内毒素的 10 只动物在 48 小时内全部死亡。10 只口服 TAU 的小鼠中有 9 只在 7 天的观察期间存活, 并且表现为已完全恢复。

实施例 4

口服三乙酰尿苷降低由内毒素所致的组织损害

目的:

细菌内毒素引起肝脏和其它器官的损害, 其结果能够通过测定表明组织完整性和功能的血清酶水平和其它标志物来进行评估和定性。本研究的目的是为了确定口服三乙酰尿苷 (TAU) 在减弱因内毒素所致的组织损害方面的剂量-反应特征。

方法:

雌性 Balb/c 小鼠 (8 周龄) 被分成 6 只一组。对其中的一组动物不进行任何处理以提供表明组织损害的血清化学基值。其它四组小鼠经腹膜内注射给予 100 μ g 在 0.2 ml 盐水中的鼠伤寒沙门氏菌内毒素。经内毒素处理的三组小鼠在给予内毒素前 24, 6 和 2 小时先后经灌胃给予在 0.4 ml 盐水中的 TAU 2000、4000 和 6000 mg/kg, 另外一组小鼠在给予内毒素前 2 小时只给予 6000 mg/kg 单剂量的 TAU。TAU 配制成在水中含 1% 羧甲基纤维素的悬浮液。对照组经口灌胃给予羧甲基纤维素载体。

结果：

口服 T A U 降低了组织损害的血清化学指示物水平。防止内毒素引发的器官损害的有利作用是剂量依赖性的。给予内毒素 2 小时前的 6 0 0 0 m g / k g 单剂 T A U 提供了与给予内毒素前 2 4 , 6 和 2 小时的三剂 T A U 大概相同的保护程度。

表 2 : T A U 减弱内毒素诱发的组织损害

	ALT	AST	LDH	CPK	SDH
基值 (无 LPS)	130±46	148±32	563±132	982±329	41±5
对照 (LPS)	3679±703	4798±927	6998±1064	2263±247	1128±174
TAU 2000	2632±915	3151±1085	5419±1561	1053±80	793±294
TAU 4000	1463±382*	1940±456*	3878±672*	2811±395*	345±106*
TAU 6000	491±199*	484±161*	1448±334*	1820±612*	172±95*
TAU 6000 单剂量	365±91*	403±61*	1221±181*	1183±151*	104±18*

* = 与对照组 (L P S i . p . + 载体 p . o .) 的差异,

P < 0 . 0 2

A L T = 丙氨酸转氨酶

A S T = 天冬氨酸转氨酶

L D H = 乳酸脱氢酶

C P K = 肌酸磷酸激酶

S D H = 山梨糖醇脱氢酶

实施例 5

在用鹿角菜糖作为内毒素毒性的增强剂处理的小鼠中尿苷减轻组织损害

鹿角菜糖 (Carrageenan) 是一种来自海藻的多糖, 它提高巨噬细胞的活性并且是对内毒素产生全身性炎性反应的主要细胞介导体。巨噬细胞在应答内毒素时释放炎性肽和其它化合物。用鹿角菜糖预处理敏化巨噬细胞, 以使需要比正常时少得多的内毒素用以诱发严重的全身性炎性反应。而且, 与单用内毒素相比, 鹿角菜糖加内毒素的联合毒性作用涉及稍微不同的炎性介质谱 (Frank s et al., *Infection and Immunity*, 59:2609-2614, 1991)。该实验的目的是为了确定尿苷对鹿角菜糖和内毒素联合所致的组织损害的影响。

方法:

雌性 Balb/c 小鼠 (8 周龄) 被分成五组, 每组 6 只。对其中一组动物不进行处理以提供指示组织损害的血清化学基值。其它四组小鼠经腹膜内注射给予 2 mg 在 0.2 ml 盐水中的 λ 鹿角菜糖, 一小时后, 这些动物中的三组还是经腹膜内注射给予 2 mg 在 0.2 ml 盐水中的鼠伤寒沙门氏菌内毒素。接受鹿角菜糖和内毒素的两组动物还给予尿苷 (2000 mg/kg i.p. 溶于 0.2 ml 盐水中), 其中一组在给予内毒素 30 分钟后用尿苷处理, 其余一组在给予内毒素 24, 6 和 2 小时前用尿苷进行 3 次预处理 (2000 mg/kg i.p.)。在给予内毒素 18 小时后, 收集血样以测定组织损害指示物的血清化学值。

结果:

正如由血清化学指标所评估的, 鹿角菜糖与低剂量内毒素 (2mg) 的联合导致了显著的组织损害。在给予内毒素前或之后用尿苷进行处理能明显减弱由于鹿角菜糖-内毒素联合所致的组织损害。数据如下所示。

表 3 : 尿苷减弱内毒素在鹿角菜糖敏化的小鼠中诱发的组织损害

	ALT	AST	LDH	CPK	SDH
基值 (无 LPS)	223±77	141±35	700±145	747±278	33±1
对照 (LPS)	1937±235	2072±149	7360±354	11612±1513	107±17
尿苷	817±202*	989±139*	4385±454*	5485±1638*	80±12*
尿苷	770±141*	891±79*	4416±283*	5033±565*	117±9

后处理

* = 与对照组的差异, $P < 0.05$

ALT = 丙氨酸转氨酶

AST = 天冬氨酸转氨酶

LDH = 乳酸脱氢酶

CPK = 肌酸磷酸激酶

SDH = 山梨糖醇脱氢酶

实施例 6

尿苷提高酵母多糖处理的小鼠的存活数

目的:

酵母多糖是一种酵母成分, 酵母的这种主要多糖成分可以诱导全身性炎症和补体的活化。在一般的真菌感染中 (包括但不限于酵母感染), 这类多糖参与诱导脓毒症反应。在啮齿动物中给予酵母多糖被认为是多器官衰竭综合症的适宜模型 (Goris et al., 1986, Arch. Surg. 121:897-901; Steinberg et al., 1989. Arch. Surg. 124:1390-1395)。在用最小致死量酵母多糖时的死亡率部分是由于肠道损害导致细菌和细菌毒素从肠道移位至血流中 (Deitch et al., 1992. J. Trauma 32:141-147)。

方法：

雌性Balb/c小鼠(8周龄)被分成5只一组：

1. 酵母多糖 15mg
2. 酵母多糖 15mg+尿苷
3. 酵母多糖 20mg
4. 酵母多糖 20mg+尿苷
5. 基值

酵母多糖A以50mg/ml的浓度悬于矿物油中，并经腹膜内注射给药。在给予酵母多糖前2小时经腹膜内注射给予尿苷(2000mg/kg，溶于0.2ml中)。

在给予酵母多糖18小时后，从接受20mg酵母多糖的动物组和基值组采集血样，继而检测组织损害的血清化学指标。

结果：

A. 48小时时的存活数

实验组	存活数
酵母多糖 15mg/kg	0/5
酵母多糖 15mg/kg+尿苷	5/5
酵母多糖 20mg/kg	0/5
酵母多糖 20mg/kg+尿苷	3/5

B. 14天时的存活数(完全恢复)

酵母多糖 15mg/kg	0/5
酵母多糖 15mg/kg+尿苷	4/5

尿苷明显提高经酵母多糖处理的小鼠的存活时间和长期存活者的发生率。

C. 组织损害的血清化学指标

表 4：尿苷减弱酵母多糖诱发的组织损害

	ALT	AST	LDH	CPK	SDH
基值	50±22	93±41	899±198	532±731	52±25
酵母多糖	397±140	392±97	1974±392	2107±1172	81±15
酵母多糖 + 尿苷	120±126	273±131	1419±244	754±370	58±22

A L T = 丙氨酸转氨酶

A S T = 天冬氨酸转氨酶

L D H = 乳酸脱氢酶

C P K = 肌酸磷酸激酶

S D H = 山梨糖醇脱氢酶

实施例 7

精氨酸对内毒素处理的小鼠存活影响与尿苷的比较

目的：

据报道氨基酸精氨酸在脓毒症综合症中具有积极的作用 (Leon et al., J. Parenteral and Enteral Nutrition, 1991, 15:503-508)。本研究的目的是为了比较尿苷与精氨酸的效力。精

氨酸在脓毒症综合症中辅助肝功能，并因此而在临床中加以应用。

方法：

重 25 g 的雌性 Balb/c 小鼠被分成五组，每组 5 或 6 只动物。经腹膜内注射给予 5 组小鼠 125 μ g 溶于 0.2 ml 盐水中的鼠伤寒沙门氏菌内毒素 (LPS)。给予内毒素的前 2 个小时，5 组小鼠接受下列注射：

- 1) 盐水 (对照)
- 2) 尿苷 2000mg/kg
- 3) 精氨酸 25mg/kg
- 4) 精氨酸 250mg/kg
- 5) 精氨酸 1250mg/kg

所有的药物都在 0.2 ml 的盐水经腹膜内注射给予。在

16、20 和 24 小时时计算每组中存活小鼠数目。

结果：

仅有一只对照小鼠在给予 LPS 后存活了 16 小时，相反，此时大部分用尿苷或精氨酸处理过的小鼠都存活。然而，给予内毒素 24 小时后，只有用尿苷处理的小鼠存活。所有三种剂量的精氨酸的确提高了存活时间（但未出现长时间的幸存者），并且最低剂量（25 mg/kg）比最高剂量（1250 mg/kg）更有效。很清楚，在促进内毒素处理的动物存活方面，尿苷比精氨酸更有效。

表 5：在给予 L P S 后尿苷相对精氨酸对存活情况的影响

		给予 L P S 后的时间		
<u>组</u>		<u>16</u>	<u>20</u>	<u>24</u>
1.	对照	1/6	0/6	0/6
2.	尿苷	5/5	5/5	5/5
3.	Arg 25	5/5	3/5	0/5
4.	Arg 250	4/5	2/5	0/5
5.	Arg 1250	4/6	1/6	0/6

实施例 8

乳清酸提高经鼠伤寒沙门氏菌内毒素处理的小鼠的存活数

目的：

由 G⁻ 细菌引起的脓毒症综合症主要是通过细菌壁的多糖成分内毒素介导的。本研究的目的是为了确定乳清酸盐对经致死量纯化的鼠伤寒沙门氏菌内毒素处理的小鼠的存活数的影响。

方法：

20 只雌性 Balb/c 小鼠 (8 周龄) 被分成两组, 各 10 只。其中一组小鼠用赖氨酸乳清酸盐处理 4 次 (200 mg/kg/剂; 每天上午 9 点钟和下午 2 点钟各一次, 连续 2 天)。赖氨酸乳清酸盐是乳清酸的水溶性盐, 赖氨酸本身并不提高内毒素处理小鼠的存活数。对照动物按照相同的处理日程接受 0.2 ml 无菌水。所有的小鼠在用最后一剂赖氨酸乳清酸盐处理后立即经腹腔内注射在 0.2 ml 盐水中的 100 ug 鼠伤寒沙门氏菌内毒素 (LPS)。对存活数监测一周。

结果：

对照组中的所有小鼠在 48 小时内死亡。经赖氨酸乳清酸盐处理的 10 只小鼠中有 9 只在个 72 小时的观察期中都存活，并且在给予 L P S 一周后仍然存活，且表现为完全恢复。

表 6：乳清酸盐提高内毒素处理小鼠的存活数

给予 L P S 后的时间 (hr)	内毒素处理后的存活数					
	24	26	28	32	48	72
对照	6/10	4/10	3/10	2/10	0/10	0/10
L O R	10/10	10/10	10/10	10/10	9/10	9/10

实施例 9

乳清酸保护组织不受内毒素损害

目的：

本研究的目的是为了确定乳清酸在防止由内毒素所致的炎性组织损害中的保护作用。

方法：

雌性 Balb/c 小鼠 (8 周龄) 被分成三组，每组 6 只。一组动物不经任何处理以提供组织损害的血清化学指标基值。其余两组动物接受溶于 0.2 ml 盐水中的 100 ug 鼠伤寒沙门氏菌内毒素 (L P S) 的腹膜内注射。在注射内毒素前 2 小时，一组小鼠用相当于 100 mg / kg 游离乳清酸剂量的赖氨酸乳清酸盐处理。给予内毒素 18 小时后，采集血样以测定组织损害指示物的血清化学含量。

结果：

乳清酸盐保护组织不受给予的内毒素损害。

表 7 : 乳清酸盐减弱内毒素诱发的组织损害

	ALT	AST	LDH	CPK	SDH
基值 (无 L P S)	132±14	165±21	681±552	1258±233	42±1
对照 (L P S)	2827±413	2860±506	6833±1167	6820±365	680±142
乳清酸盐 + L P S	252±99*	415±77*	1641±274*	1040±283*	89±7*

* = 与对照组的差异 (L P S i . p .) , P < 0 . 0 2

A L T = 丙氨酸转氨酶

A S T = 天冬氨酸转氨酶

L D H = 乳酸脱氢酶

C P K = 肌酸磷酸激酶

S D H = 山梨糖醇脱氢酶

实施例 1 0

尿苷和三乙酰尿苷减弱由伴刀豆球蛋白A引起肝损害

目的 :

白细胞介素 - 2 (I L - 2) 在临床上用于治疗多种癌症。在接受治疗剂量的 I L - 2 治疗癌症的病人中, 应答 I L - 2 所产生的肝毒性并非罕见 (Viens et al., J. Immunother. 1992 11:218-24)。据报道在通过给予小鼠伴刀豆球蛋白 A (Con A) 诱导的自身免疫性肝炎的实验模型中, 肝损害与内源性 I L - 2 产生的增加有关

(Tiegs et al., J. Clin. Invest. 1992 90:196-203)。

本研究的目的在于证明本发明的化合物和方法在减弱由给予 Con A 所引发的肝损害方面的应用。

方法 :

雌性 Balb / c 小鼠 (8 周龄) 被分成四组, 每组五只。其中一组小鼠不经任何处理以提供组织损害的血清化学指标基值。其余三组小

鼠经尾静脉注射给予在 0.2 ml 盐水中的 10 mg/kg Con A。在注射 Con A 之前 2 小时，其中一组小鼠用尿苷处理 (2000mg/kg, i. p. 于 0.2 ml 盐水中)，而另一组用三乙酰尿苷处理 (6000 mg/kg 口服，于含 2.5% Tween 80 的 0.6 ml 1:1 玉米油/水乳液中)，剩下的 Con A 处理组 (对照) 在给予 Con A 前 2 小时经腹腔内注射 0.2 ml 盐水。给予 Con A 20 小时后，从所有的小鼠中采集血样，以测定组织损害或代谢紊乱的各种指标的血清水平。

结果：

如由 ALT、AST 和 SDH 三种酶的血清水平所确定的，给予 Con A 对肝脏产生了重大的损害。Con A 并不明显升高肌酸磷酸激酶 (CK) 这种最主要见于肌肉中的酶的水平。在该模型中，由 Con A 引起的组织损害比由内毒素引起的损害更加特异地定位于肝脏。尿苷和 TAU 两者都减少由于给予 Con A 所致的肝损害，结果如下表 8 所示。

表 8：尿苷和三乙酰尿苷减弱由 Con A 所致的肝损害

	ALT	AST	LDH	CPK	SDH
基值 (无 Con A)	144±18	217±27	790±90	2392±370	51±2
Con A	2652±847	2765±1030	4335±1385	2572±486	1114±318
Con A+尿苷	289±115*	394±114*	973±202*	1996±317	163±68*
Con A+TAU	575±286*	613±221	1380±270	1951±435	283±143*

*=与对照组的差异 (L P S i. p.), $P < 0.02$

ALT = 丙氨酸转氨酶

AST = 天冬氨酸转氨酶

L D H = 乳酸脱氢酶

C P K = 肌酸磷酸激酶

S D H = 山梨糖醇脱氢酶

用于本研究的Con A模型中的肝损害与升高的I L - 2水平相关，并且是通过T淋巴细胞介导的。因此，本发明的化合物和方法可用于减少由于治疗性给予I L - 2所引起的副作用，而且，本发明的化合物和方法被用于治疗自身免疫性肝炎。

实施例 1 1

尿苷减弱脓毒症在血凝方面引起的改变

目的：

播散性血管内凝血（D I C）是脓毒症的严重后果，其中凝血和纤溶系统都被激活，以致凝血因子被迅速消耗。D I C能引起出血和血栓形成。肝脏是合成凝血因子和从循环中清除凝血酶的微聚物的主要场所。本实验的目的在于确定嘧啶核苷酸前体对脓毒症引起的凝血紊乱的影响。凝血激酶时间用作反映血凝系统状态的一个指标。

方法：

30只雌性Balb/c小鼠（8周龄）被分成三组，每组10只。一组动物不经任何处理而被用于确定部分凝血激酶时间的基值。两组小鼠接受30mg/kg死的E. Coli（0111:B4株）。在给予E. Coli之前2小时，一组小鼠经腹腔内注射给予尿苷（2000mg/kg）。给予E. Coli 2.0小时后，从所有30只小鼠中收集血浆以确定部分凝血激酶时间（P T T）。经眶后丛收集0.27ml血液置入含有0.03ml 3.5%柠檬酸钠（pH4）的试管中。通过离心机分离血浆，并将100μl血浆移至清洁的

1. 5 ml 小离心管中，用商售试剂测定 PTT。

结果：

给予死的 E. Coli 引起正常的部分凝血激酶时间延长。如表 9 所示，尿苷减弱了脓毒症在凝血时间方面引起的改变。

表 9：尿苷减小脓毒症对部分凝血激酶时间所引起的变化

<u>部分凝血激酶时间</u>	
<u>组</u>	<u>PTT (秒)</u>
基值 (正常)	32.3 ± 1.3
E. Coli	69.8 ± 5.4
E. Coli + 尿苷	51.2 ± 2.1*

* = 与对照组 (只有 E. Coli) 的差异, $P < 0.05$

实施例 12

由于 T 细胞和内毒素所致的联合肝损害

几种重要形式的病毒性肝炎以及自身免疫性肝炎是由细胞毒性 T 细胞攻击具有合适病毒抗原或其它抗原的肝细胞而引发的。因为内毒素参予由多种其它因素如四氯化碳、胆碱缺乏、酒精或胆汁郁积引发的肝损害，所以进行研究以确定由 T 细胞引起的肝损害是否诱导对内毒素的肝高敏性。根据本实验，研究了 TAU 对于由 T 淋巴细胞和内毒素两者联合引起的肝损害的影响。

实施例 12A

Con A 增强内毒素诱导的组织损害

向雌性 Balb/c 小鼠 (8 周龄) 组 (n = 6) 给予 Con A (2.5 mg/kg, 静脉注射)、内毒素 (鼠伤寒沙门氏菌, 0.5 mg/kg) 或者联合给予 Con A 和内毒素。在给予内毒素

24 小时前应用 Con A。在注射内毒素（或者在没有给予内毒素的小鼠组中给予其载体）18 小时后采集血样。“基值”小鼠组只给予载体（盐水）而不给 Con A 或内毒素。

表 1：Con A 增强内毒素诱导的组织损害

	ALT	AST	LDH	CPK	SDH
基值	87±15	110±9	656±41	413±87	39±2
Con A 2.5mg/kg	117±19	170±16	915±46	419±132	42±4
LPS 0.5mg/kg	119±23	256±22	881±10	426±82	41±3
Con A+LPS	1130±494	2119±910	4370±1303	1525±450	471±267

ALT = 丙氨酸转氨酶

AST = 天冬氨酸转氨酶

LDH = 乳酸脱氢酶

CPK = 肌酸磷酸激酶

SDH = 山梨糖醇脱氢酶

正如由血清酶水平（ALT、AST、LDH 和 SDH 是肝损害的标志物；CPK 是肌肉损害的指示物）所确定的，仅内毒素或 Con A 本身以本实验中所用剂量只对肝脏和肌肉产生很小的损害。然而，在用 Con A 和内毒素联合处理的小鼠中观察到明显是更大的损害。据信该模型中 Con A 的毒性与 T 淋巴细胞介导的肝损害明显相关

(Tiegs et al., J. Clin. Invest. 90:196-203, 1992)。

因此，这些结果支持了肠道来源的内毒素参与归结于细胞毒性 T 细胞的肝损害（即在病毒性和自身免疫性肝炎中）这一观点，与已由包括四氯化碳、胆碱缺乏、D-半乳糖胺和病毒感染在内引发肝损害的其它主要结果所证实的一样。

实施例 1 2 B

T A U 减小由于细胞毒性 T 淋巴细胞和内毒素联合引起的肝损害。

静脉内给予 Con A 引发的实验性肝炎是由细胞毒性 T 淋巴细胞的激活所介导的。在本模型中，肝损害明显地提高了对细菌内毒素毒性作用的敏感性。相继给予 Con A 和内毒素产生的肝损害比相加性肝损害（参见实施例 1 2 A）大。病毒性肝炎和自身免疫性肝炎中的肝损害涉及相似的机理，伴随着由 T 细胞诱发和由肠道来源的内毒素和其它炎性过程加剧的损害。

T A U 保护实验动物的肝脏免受内毒素或 Con A 诱发的损害。在本实验中，检测 T A U 在因相继给予 Con A 和内毒素联合引起肝损害的小鼠中所具有的肝保护作用。

方法：

雌性 Balb/c 小鼠（8 周龄）被分成三组，每组 7 只。一组小鼠不接受任何处理以提供组织损害的血清化学指标基值。其余两组小鼠经静脉（尾静脉）注射给予在 0.2 ml 盐水中 2 mg/kg Con A，在此之后 24 小时，再给予鼠伤寒内毒素（10 μ g，腹膜内注射 i.p.）。这其中的一组小鼠在给予 Con A 之前的 2 小时和给予内毒素的前 2 小时分别口服 T A U（6000 mg/kg，溶于 0.6 ml 0.5% 的甲基纤维素中）。其余的 Con A/内毒素处理组（对照）只接受载体（甲基纤维素）。给予内毒素 18 小时后，从所有的小鼠中采集血样，以确定组织损害或代谢紊乱的各种指标的血清水平。

结果：

相继给予 Con A 和内毒素产生明显的肝损害，正如肝损害的血清化学指标所确定的那样。口服 T A U 显著减弱这种联合性肝损害。

口服 T A U 减弱由 Con A + L P S 所致的肝损害

	ALT	AST	LDH	CPK	SDH
基值	118±33	162±14	522±80	1521±235	56±3
ConA/LPS	2295±309	3408±389	5696±560	4684±1569	700±69
ConA/LPS + TAU	285±67*	451±87*	1341±236*	2098±465*	122±19*

* = 与对照组 (L P S i . p .) 的差异, $P < 0 . 0 2$

A L T = 丙氨酸转氨酶

A S T = 天冬氨酸转氨酶

L D H = 乳酸脱氢酶

C P K = 肌酸磷酸激酶

S D H = 山梨糖醇脱氢酶

前文所述意在说明而非限制本发明。在不脱离本发明的实质和范围的情况下, 多种变化和修改是有效的。