(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111867599 A
(43)申请公布日 2020.10.30

(21)申请号 201880082136.8
(22)申请日 2018.11.19
(30)优先权数据
62/589,155 2017.11.21 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2020.06.18
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2018/061888 2018.11.19
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2019/103983 EN 2019.05.31
(71)申请人 威廉马歇莱思大学
地址 美国德克萨斯州
申请人 小利兰·斯坦福大学托管委员会
德克萨斯大学体系董事会
(72)发明人 詹姆斯·图尔 卡伦·泰尼古奇
凯西·马松
(74)专利代理机构 成都超凡明远知识产权代理有限公司 51258
代理人 王晖 刘书芝
(51)Int.Cl.
A61K 31/661(2006.01)
A61K 45/06(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61P 35/04(2006.01)

权利要求书2页 说明书13页 附图6页

(54)发明名称

放射敏感性组织中细胞保护剂的选择性积聚及其用途

(57)摘要

本公开涉及使用放射治疗原发性和转移性癌症。具体地，本公开涉及提供在对肿瘤以一定剂量进行放射之前在与恶性肿瘤相邻的对放射敏感的组织和/或器官中选择性积聚细胞保护剂的方法，该剂量否则会对组织和/或器官有毒性，但对于在肿瘤上取得消融效果是必不可少的。

CN 111867599 A

1.一种用联合疗法治疗癌症患者的方法,包括:

a.在暴露于放射之前的预定时间向所述患者施用治疗有效的口服给药的细胞保护性前药,所述患者在与对放射敏感的其他组织和其他器官中的至少一个相邻的组织和器官中的至少一个中具有原发性和转移性癌症中的至少一种,其中所述细胞保护性前药的代谢产物被配置成在对治疗有效放射剂量敏感的所述其他组织和其他器官中的至少一个中选择性积聚;以及

b.将所述至少一个组织和一个器官暴露于治疗有效的放射剂量。

2.根据权利要求1所述的方法,其中,所述细胞保护性前药是S-2-(3-氨基丙基氨基)乙基二氢硫代磷酸酯。

3.根据权利要求2所述的方法,其中,所述原发性癌症和所述转移性癌症中的至少一种是胰腺癌、前列腺癌、肝胆肿瘤和腹膜后肉瘤中的至少一种。

4.根据权利要求3所述的方法,其中,所述对放射敏感的其他组织是十二指肠。

5.根据权利要求3所述的方法,其中,所述对放射敏感的其他组织是空肠。

6.根据权利要求2所述的方法,其中,所述细胞保护性前药为硫醇形式。

7.根据权利要求4或5所述的方法,其中,将所述至少一个组织和一个器官暴露于治疗有效放射剂量的步骤包括使用立体定向体部放射疗法,向所述患者施用约37.5格雷(Gy)至约208Gy之间的总放射剂量。

8.根据权利要求7所述的方法,其中,所述施用步骤包括使用立体定向分次放射。

9.根据权利要求8所述的方法,其中,施用放射1个至约5个之间的分次。

10.根据权利要求1所述的方法,其中,所述暴露于放射之前的预定时间是约15分钟至约30分钟之间。

11.根据权利要求1所述的方法,其中,所述治疗有效的口服剂量包括约250mg/kg至约1000mg/kg之间。

12.根据权利要求9所述的方法,其中,施用所述放射3个至5个之间的分次,每个分次5Gy至16Gy。

13.根据权利要求10所述的方法,其中,所述暴露于放射之前的预定时间为约25分钟。

14.一种保护第一组织和第一器官中的至少一个免受对相邻的第二器官和相邻的第二组织中至少一个进行的高剂量放射的影响的方法,在需要高剂量放射的患者内所述第一组织和/或器官对放射敏感,所述方法包括向所述患者施用口服组合物的步骤,所述口服组合物包括药学上有效浓度的细胞保护剂,所述细胞保护剂的代谢产物适于在至少所述第一组织和所述第一器官中选择性积聚,其中在放射之前的预定时间施用所述口服组合物。

15.根据权利要求14所述的方法,其中,所述第一组织和/或第一器官是胃肠道、十二指肠、空肠、小肠、大肠、直肠、食道、胃、膀胱和尿道中的至少一个。

16.根据权利要求14所述的方法,其中,所述第二组织和所述第二器官中的至少一个是胰腺、前列腺、肝脏、胆囊和肾上腺、肾脏、腹膜后腔、淋巴结、子宫、睾丸、卵巢。

17.根据权利要求14所述的方法,其中,所述高剂量放射为至少15Gy的总剂量。

18.根据权利要求14所述的方法,其中,所述细胞保护剂是S-2-(3-氨基丙基氨基)乙基二氢硫代磷酸酯。

19.根据权利要求18所述的方法,其中,放射还包括使用分次立体定向体部放射疗法的

步骤,将所述第二组织和所述第二器官中的至少一个暴露于1个至约5个之间的放射分次。

20.根据权利要求19所述的方法,其中,将至少一个组织和一个器官暴露于治疗有效的放射剂量的步骤包括向所述患者施用约15Gy至约208Gy之间的总放射剂量。

21.根据权利要求20所述的方法,其中,所述第二器官是胰腺,并且所述第一组织是十二指肠。

22.根据权利要求21所述的方法,其中,所述口服组合物在暴露于放射之前约15min.至约30min.之间施用。

23.根据权利要求22所述的方法,其中,施用所述放射3个至5个之间的分次,每个分次1.8Gy至16Gy。

24.根据权利要求23所述的方法,其中,所述细胞保护剂的治疗有效口服剂量为约20mg/kg至约81mg/kg之间。

放射敏感性组织中细胞保护剂的选择性积聚及其用途

背景技术

[0001] 本公开涉及使用放射治疗原发性和转移性癌症。具体地，本公开涉及提供在放射肿瘤之前在对放射敏感并且还与恶性肿瘤相邻的组织和/或器官中选择性积聚(accretion)细胞保护剂的方法。

[0002] 递送适当的杀肿瘤剂量的放射的主要限制因素是对相邻器官中正常组织的毒性。腹部和骨盆实体瘤(例如胰腺和前列腺腺癌)突显了这个问题，通常无法在不对胃肠(GI)道造成明显病状的情况下达到杀肿瘤剂量。例如，胰腺癌经常发生在与十二指肠共享血液供应的胰头，而十二指肠是肠道的放射敏感性部分。胰头肿瘤需要超过77Gy的剂量才能实现局部控制，由于相邻的十二指肠最多只能耐受50Gy而不会引起出血性溃疡或穿孔，因此通常无法安全地进行控制。不幸的是，对于不可切除的胰腺癌患者，没有有效的治疗方法可以特异性地保护GI道免受这种放射毒性，因此目前无法在不可切除的胰腺癌中进行消融放疗。

[0003] WR-2721(S-2-[3-氨基丙基氨基]-乙基硫代磷酸)，也称为氨磷汀(在本文中可互换使用)，是一种公认的正常组织的放射防护剂，并经FDA批准用于静脉内(IV)施用。当静脉内给予氨磷汀时，会引起严重的恶心和低血压，这就是为什么要在患者饮用大量液体后以及在平躺并不断监测血压的情况下向患者施用氨磷汀的原因。WR-2721作为前药存在，可被正常(换句话说，非恶性)组织中富含的非特异性组织碱性磷酸酶水解为活性的细胞保护性游离硫醇代谢产物WR-1065。不幸的是，存在于内皮中的这些普遍存在的细胞酶可能介导自主神经系统的不良副作用。

[0004] 配制用于口服递送的WR-2721(参见，例如，美国专利号5,167,947)，由于显著的肠内新陈代谢(这将阻止治疗水平在血清中积聚并阻止治疗水平到达靶器官)而被重新配制以增加血浆浓度。

[0005] 本公开内容解决了上述缺点，从而证明口服WR-2721是针对放射敏感性组织和/或器官的否则是致死剂量的放射的有效的放射防护剂，其中它可以选择性地在试图保护的器官和/或组织中以相对于附近的癌组织显著更高的水平积聚其活性代谢产物WR-1065。

发明内容

[0006] 在一种实施方式中，提供了用联合疗法治疗癌症患者的方法，其包括：在暴露于放射之前的预定时间向患者施用治疗有效的口服给药的细胞保护性前药，该患者在与对放射敏感的其他组织和其他器官中的至少一个相邻的组织和器官中的至少一个中具有原发性和转移性癌症中的至少一种；以及将至少一个组织和一个器官暴露于治疗有效的放射剂量。

[0007] 在另一种实施方式中，本文提供了保护第一组织和第一器官中的至少一个免受对相邻的第二器官和相邻的第二组织中至少一个进行的高剂量放射的影响的方法，在需要该高剂量放射的患者内该第一组织和/或器官对放射敏感，该方法包括向患者施用口服组合物的步骤，该口服组合物包括药学上有效浓度的细胞保护剂，该细胞保护剂的代谢产物适

于在至少第一组织和第一器官中选择性积聚,其中在放射之前的预定时间施用该口服组合物。

[0008] 在又一种实施方式中,本文提供了口服给药的细胞保护性前药在制备用于治疗在与对放射敏感的其他组织和其他器官中的至少一个相邻的组织和器官中的至少一个中具有原发性和转移性癌症中的至少一种的癌症患者的药物中的用途,其中该药物被配置成在将其他组织和其他器官中的至少一个暴露于放射之前的预定时间口服施用。

附图说明

[0009] 基于结合附图阅读的下文的详细描述,在使相邻的组织和/或器官暴露于否则是毒性的放射之前,在放射敏感性健康组织和/或器官中选择性地积聚放射防护剂的方法的特征将变得显而易见,附图是示例性的而非限制性的,其中在若干图中相似的要素用相似的标号表示,且其中:

[0010] 图1示出了口服WR-2721在致死性放射后能够提高肠隐窝存活率。对以下组进行Withers-Elkind微集落测定,并对治疗后每个十二指肠和空肠截面的存活隐窝进行定量:十二指肠:(A)在12Gy WBI之前15分钟PO给予WR-2721(n=6-20/组)或(B)在12Gy WBI之前30分钟PO给予WR-2721(n=6-20/组)。空肠:(C)在12Gy WBI之前15分钟PO给予WR-2721(n=6-20/组)或(D)在12Gy WBI之前30分钟PO给予WR-2721(n=6-42/组)。(E)在(C)和(D)中使用的代表性H&E,用箭头突出显示存活隐窝;

[0011] 图2A示出了以体重衡量WR-2721的口服施用耐受性比全身注射耐受性更好,以及在图2B中示出了以食物摄入衡量WR-2721的口服施用耐受性比全身注射耐受性更好,二者均在通过口服灌胃(三角,n=6)、IP注射(红色方框,n=5)或媒介物对照(圆圈,n=5)施用WR-2721连续5天之后每天测量;

[0012] 图3示出了口服WR-2721提高了致死性分次放射后的存活率:(A)刚好在10mm放射场定位处叠加的辐照之前,对小鼠进行锥形束CT。标线内的刻度线表示5mm间隔。(B)用亚甲基蓝灌胃老鼠,然后在25分钟后解剖。在按一定剂量的WR-2721辐照时,在空肠(箭头G)内蓝色染料明显,但在远端肠道(箭头W)则不明显。(C)使用直径为10mm的圆形放射场(n=5/组)连续5天给予5分次放射治疗小鼠。(D)在使用直径为10mm的圆形放射场(n=5/组)每分次12.5Gy连续5天之前25分钟,通过口服灌胃用500mg/kg的WR-2721治疗小鼠。

[0013] 图4示出了通过口服灌胃在用于LC/MS-MS分析的血液和组织收集之前25分钟用WR-2721以500mg/kg PO或250mg/kg IP治疗的C57BL/6小鼠来选择性富集(积聚)放射防护性代谢产物WR-1065(A)示意图。C57BL/6血浆浓度(B)和C57BL/6十二指肠、空肠和肝脏浓度(C)。(D)中示出了KPC动物中WR-1065测定的示意图。口服和IP注射后(E)KPC血浆浓度和(F)KPC十二指肠、空肠、肝脏和胰腺肿瘤浓度。(G-H)将来自(F)的数据重新格式化,以显示在所述组织相比于自发肿瘤中WR-1065的比率;

[0014] 图5示出了口服施用亚甲基蓝后的GI转运时间。(A-E)示出了在(A)5min(B)10min(C)15min(D)25min和(E)30min时间点口服灌胃后亚甲基蓝染料在GI道中的原位定位。(F)来自AE中显示的相同小鼠的切除的从胃到结肠的GI道的比较。箭头指示染料前;以及

[0015] 图6示出了用WR-2721在KPC小鼠上治疗后的存活率:单独用媒介物,用SBRT和媒介物,或者SBRT和口服WR 2721。SBRT场为10mm给定AP/PA至肿瘤,并且剂量为每天12.5Gy,连

续5天，总剂量为62.5Gy(EQD2＝117.2Gy；α/β_{10}＝140.6)。每天通过微型CT和超声检查肿瘤，无基准点。对于每个分次，在辐照之前25分钟给予媒介物的WR-2721。

[0016] 尽管本公开可以进行各种修改和替代形式，但是其细节已经通过示例在附图中示出并且将在下文中进一步详细描述。

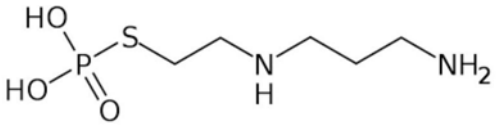
[0017] 然而，应当理解，其意图不是将本公开限制为所描述的特定实施方式。相反，其意图是涵盖所有修改、等同形式和替代形式。

具体实施方式

[0018] 在一种实施方式中，本公开涉及使用放射治疗癌症的方法，其中肿瘤位置与放射敏感性组织相邻，并且适当的杀肿瘤作用所需的放射剂量对相邻的组织和/或器官有毒。

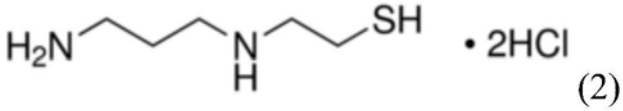
[0019] 胰腺癌需要超过77Gy的生物学等效剂量才能产生临床益处。目前，对于大多数胰腺肿瘤来说，这是无法实现的，除非它们位于离肠至少1cm的位置。除了使用口服WR-2721改善胰腺癌患者的预后外，类似策略Gy可能适用于其他因GI毒性而明确地无法接受放射治疗的腹部或盆腔癌，诸如肝胆肿瘤、腹膜后肉瘤或腹部内的转移性疾病。

[0020] 整个肠道富含肠道碱性磷酸酶，其在十二指肠和空肠中表达水平最高。因此，可以认为在放射之前预定时间口服给予的一定剂量的具有以下化学式的S-2-(3-氨基丙基氨基)乙基二氢硫代磷酸酯(以下称为WR-2721)：

[0021] 

(1)

[0022] 可以被十二指肠和空肠中的内源性消化酶快速活化成具有以下化学式的其活性的2-[(3-氨基丙基)氨基]乙硫醇二盐酸盐(以下称WR-1065)(或缺乏相应的HCl的其游离单碱或二碱缀合物，以及任何其他药学上可接受的盐，一旦进入或穿过十二指肠则形成)代谢产物：

[0023] 

(2)

[0024] 由于肠内非组织特异性碱性磷酸酶表达的增加，肠内激活形式的WR-2721将在肠内高浓度积聚，并提供选择性的局部放射防护，且全身性副作用较小。这在胰腺癌的放射中可能有用，因为十二指肠和空肠是妨碍消融治疗的剂量限制性器官。本公开表明口服WR-2721是针对上腹部的否则是致命剂量的放射的有效的放射防护剂。此外，本文证明了该药物具有良好的耐受性，并且与血清、肝脏或自发性胰腺肿瘤相比，其能在GI道中显著积聚更高水平的其活性代谢产物WR-1065。WR-2721的IV施用无法获得这种局部化效果。

[0025] 相对于本发明的治疗方法，对象化合物的“有效量”是指制剂中的细胞保护性前药的量，当其作为所需给药方案的一部分(剂量、时间、频率)使用时，根据待治疗疾患的临床上可接受的标准预防引起例如细胞存活率改变。同样，如本文所用，术语“积聚”及其语法衍生，例如“积聚的”或“积聚地”，在实施方式中指的是待受放射防护的目标组织和/或器官中活性代谢产物的浓度逐渐增加。

[0026] 因此，在一种实施方式中，本文提供了用联合疗法治疗有需要的癌症患者的方法，

包括:在暴露于放射之前的预定时间向患者施用治疗有效的口服给药的细胞保护性前药,该患者在与对放射敏感的其他组织和其他器官中的至少一个相邻的组织和器官中的至少一个中具有原发性和转移性癌症中的至少一种,其中前药被配置成在对治疗有效放射剂量敏感的其他组织和其他器官中的至少一个中选择性积聚;以及将至少一个组织和一个器官暴露于治疗有效的放射剂量。

[0027] 在一种实施方式中,细胞保护性前药是WR-2721。如本文所用,术语"前药"是指经历生物转化后表现出一种或多种其药理作用的化合物的药理学非活性形式。前药是一种在施用后被受试者体内代谢为化合物的药理活性形式以产生所需药理作用的药物。向受试者施用后,该化合物的药理学非活性形式在生物流体和/或酶的影响下在体内转化为该化合物的药理活性形式。尽管许多化合物的代谢主要发生在肝脏和/或肾脏,但几乎所有其他组织和器官,特别是肺,都能够进行不同程度的代谢。可以使用化合物的前药形式来例如改善生物利用度、掩盖令人不快的特点如苦味、改变静脉内使用的溶解度或提供化合物的部位特异性递送。本文提及的化合物包括化合物的前药形式和药物缀合物(活性形式)。

[0028] WR-2721的口服剂型也可以是包含螯合剂的盐的组合物的一部分,该螯合剂的盐选自由EDTA、EGTA、柠檬酸盐及其治疗上可接受的盐组成的组。对于口服施用,制剂可以制备成液体、溶液、混悬剂、胶囊、片剂、包衣片剂和本领域已知的其他标准程序。对于直肠应用,可以将制剂制备为液体灌肠剂、微灌肠剂、栓剂、直肠片剂和本领域已知的其他标准程序。可以以在约150mg/kg至约1000mg/kg之间,例如在约250mg/kg至约750mg/kg之间或约500mg/kg的WR-2721的药理学所需剂量,制备优选的制剂,以及对于直肠应用,足够的栓剂基质用于配制可接受的组合物。赋形剂和栓剂基质的方法和选择对本领域技术人员而言是众所周知的,并且所述制剂的组合物不限于本发明的明胶胶囊剂、压制片剂或固体栓剂。

[0029] 在实施方式中,原发性癌症和转移性癌症中的至少一种是胰腺癌和前列腺癌中的至少一种。如本文所用,"原发性癌症"是指癌症起源的原始部位(器官和/或组织)。示例性原发性癌症可能位于头部、颈部、鼻腔、鼻旁窦、鼻咽、口腔、口咽、喉、下咽,唾液腺、副神经节瘤、胰腺、胃、皮肤、食道、肝和胆道系统、骨、肠、结肠、直肠、卵巢、前列腺、肺、乳房、淋巴系统、血液、骨髓中枢神经系统或脑。相反,术语"转移性癌症"是指其中癌细胞已经转移的癌症,例如,该癌症的特点在于癌细胞的转移。转移可以是区域转移或远处转移。另外,术语"转移的"旨在表示当通过用于评估细胞的转移能力的方法进行测定时观察到转移。例如,在将细胞移植到实验动物中的情况下,该术语是指细胞形成远处转移的状态。同样,术语"转移性癌细胞"是指具有转移潜能的癌细胞。

[0030] 在实施方式中,对放射敏感的组织是十二指肠和/或空肠。例如,在常规分次疗法情况下,十二指肠的最大放射剂量的典型极限被认为是器官的三分之一约50格雷(Gy)或整个器官约40Gy,最近的指南建议仅195cm^3的小肠接收>45Gy。与之不同,如本文所公开的,可能有必要达到(大量)超过55Gy的生物学有效剂量,以实现高概率的肿瘤控制。因此,且在实施方式中,将至少一个组织和一个器官暴露于治疗有效放射剂量的步骤包括使用立体定向体部放射疗法(SBRT),向患者施用的总放射剂量为每分次约5Gy至约16Gy之间,总共一至五之间的分次(25-80Gy),其在三至五分次中的总BED10为37.5Gy-208Gy,或在三至五分次中的D2EQ为31.25Gy至173.3Gy。

[0031] 在立体定向体部放射疗法(SBRT)中,单个或有限数量的聚焦高剂量放射分次配置

为被递送至肿瘤，这使得能够将消融剂量递送至肿瘤以及紧邻的组织。在实施方式中，当存在妨碍其外科手术切除的关键结构时，SBRT可以作为切除的替代。此外，在另一实施方式中，所公开的方法还包括使用例如呼吸相关的锥形束计算机断层摄影术(4D-CT)的治疗计划，通过腹部压缩来限制在递送分次放射的步骤中肿瘤与呼吸相关的运动。在某些实施方式中，在治疗过程中使用基准标记物来主动示踪肿瘤运动。

[0032] 放射可在施用约250mg/kg至约1000mg/kg的包含WR-2721的口服组合物的口服剂量后15分钟至约30分钟之间开始。例如，可以选择25分钟，其中将放射分次(因此利用癌细胞与健康细胞相比的DNA修复机制不足)。分次的数目可以例如在1-5之间，例如5个放射分次，每个在施用包含WR-2721的口服(和/或直肠)组合物后约15分钟至约30分钟之间给予。每分次(假设为五个分次)递送的剂量可以在约11Gy至约15Gy之间，例如，每分次约12Gy至约15Gy之间，或约12.5Gy至约13Gy之间。总放射剂量可以例如在55Gy至约130Gy之间，并且将取决于例如肿瘤位置、肿瘤分类以及与肿瘤相关的癌症类型中的至少一项。

[0033] 因此，且在另一实施方式中，本文提供了保护第一组织和第一器官中的至少一个免受对相邻的第二器官和相邻的第二组织中至少一个进行的高剂量放射的影响的方法，在需要该高剂量放射的患者内该第一组织和/或器官对放射敏感，该方法包括向患者施用口服组合物的步骤，该口服组合物包括药学上有效浓度的细胞保护剂，该细胞保护剂的代谢产物适于在至少第一组织和第一器官中选择性积聚，其中在放射之前的预定时间施用该口服组合物。

[0034] 在某些实施方式中，本文公开的口服剂量包括药学上可接受的组合物，其包含与一种或多种药学上可接受的载体(添加剂)和/或稀释剂一起配制的治疗有效量的一种或多种上述化合物，即WR-2721、其类似物及其药学上可接受的盐。本文提供的药物组合物可以被特别配制为以固体或液体形式施用，包括适合于以下中的至少一种的那些：(a)口服施用，例如，药水(水性或非水性溶液或悬浮液)、片剂(例如，针对颊、舌下和全身吸收的那些)、胶囊、大丸剂、散剂、颗粒剂、应用于舌头的糊剂；(b)阴道内或直肠内，例如子宫托、乳膏或泡沫；以及(c)舌下。

[0035] 可用于本文提供的药物组合物中的合适的水性和非水性载体的实例可包括水、乙醇、多元醇(诸如甘油、丙二醇、聚乙二醇等)及其合适的混合物、植物油如橄榄油，以及可注射的有机酯，如油酸乙酯。例如，通过使用包衣材料如卵磷脂，通过在混悬剂的情况下保持所需的粒径，以及通过使用表面活性剂，可以保持适当的流动性。

[0036] 这些组合物还可包含佐剂，诸如防腐剂、湿润剂、乳化剂、分散剂、润滑剂和/或抗氧化剂。可以通过包含各种抗细菌剂和抗真菌剂，例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚山梨酸等，来确保防止微生物对本发明化合物的作用。还可能需要在组合物中包括等张剂，诸如糖、氯化钠等。此外，可通过包含延迟吸收的剂如单硬脂酸铝和明胶来延长可注射药物形式的吸收。另外，本文提供的口服组合物还可包含可接受的缓冲剂混合物(例如，tris缓冲剂、磷酸盐缓冲剂等)；甜味剂；和/或至少一种调味剂。

[0037] 可以改变本文提供的药物组合物中的活性成分的实际剂量水平，以获得针对特定患者、组合物和施用方式有效实现期望的治疗反应的且对患者无毒性的活性成分(例如，WR-2721)的量。选择的剂量水平将取决于多种因素，包括可以使用的本文提供的特定化合物或其酯、盐或酰胺的活性、施用途径、施用时间、使用的特定化合物的排泄或代谢速率、吸

收的速率和程度、治疗的持续时间、其他药物化合物(例如,在转移性胰腺癌的情况下,奥沙利铂、伊立替康、氟尿嘧啶、亚叶酸、吉西他滨)和/或与使用的特定化合物组合使用的材料、所治疗患者的年龄、性别、体重、状况、一般健康情况和既往病史,以及类似因素及其组合。

[0038] 如本文所使用的,术语“治疗”和“预防”以及由此衍生的词并不一定意味着100%或完全的治疗或预防(例如,防止对相邻组织的损害)。而是,存在不同程度的治疗或预防,本领域普通技术人员认识到其具有潜在的益处或治疗效果。在这方面,本文公开和要求保护的方法可以提供任何数量的任何水平的诊断、分期、筛查或其他患者管理,包括治疗或预防哺乳动物中的癌症。此外,本文公开和要求保护的方法提供的治疗或预防可以包括治疗或预防正在治疗或预防的疾病(例如癌症)的一种或多种病症或症状。同样,出于本文的目的,“预防”可以包括延迟疾病或其症状或病症的发作。

[0039] 此外,术语“第一”、“第二”等在本文中不表示任何顺序、数量或重要程度,而是用于表示一个要素与另一个要素。术语“一个”、“一种”和“所述”在本文中不表示数量的限制,并且应被解释为涵盖单数和复数,除非在本文中另有说明或与上下文明显矛盾。本文所用的后缀“(s)”旨在包括其所修饰的术语的单数和复数,从而包括一个或多个该术语(例如,带后缀“(s)”的肿瘤包括一种或多种肿瘤)。整个说明书中对“一种实施方式”、“另一实施方式”、“一个实施方式”等的提及意味着结合该实施方式描述的特定要素(例如特征、结构和/或特性)包含在本文所描述的至少一种实施方式中,而且可能在其它实施方式中出现或不出现。另外,应当理解,所描述的要素可以以任何合适的方式组合在各种实施方式中。

[0040] 实施例

[0041] 材料和方法

[0042] 小鼠

[0043] C57BL/6JLaw和C3Hf/KamLaw小鼠购自MD Anderson癌症中心的实验放射肿瘤学系(Department of Experimental Radiation Oncology)的无特定病原体动物设施。$Kras^{LSL/+}$;$Trp53^{FL/+}$;$Ptf1a^{Cre/+}$小鼠进行了十代回交,得到如上述基因分型的纯C57BL/6背景[28]。根据实验室动物护理评估和鉴定协会(Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care)以及机构动物护理和使用委员会(Institutional Animal Care and Use Committee)的指导原则,采集并养护所有小鼠,并在谷口(Taniguchi)实验室的机构认可的规程下进行实验。将雌性C3Hf/KamLaw小鼠用于微集落测定[13]并且在治疗开始时为12-14周龄。荷瘤KPC小鼠用于WR-1065浓度的LC/MS-MS组织分析。其余研究使用在所有研究开始时为8周龄的雄性C57BL/6JLaw小鼠。

[0044] WR-2721

[0045] 将WR-2721三水合物(多伦多研究化学公司;加拿大安大略省北约克)稀释于PBS中(用0.2转换因子调节三水合物),并通过以25或250或500mg/kg的IP注射或通过在0.1ml体积中从5、从150至1000mg/kg的剂量经口灌胃来施用。

[0046] 辐照

[0047] 为了进行生存研究,在施用媒介物或WR-2721后25min,连续5天使用装有适形准直仪的XRAD 225Cx小动物辐照器(Precision X-Ray;North Branford,CT)给予SBRT,以产生直径10mm的圆形放射场。用异氟烷气体麻醉小鼠以进行CT成像和辐照。在辐照之前,使用XRAD 225Cx锥形束CT对每只小鼠进行成像,以对准放射场,使得该场的颅缘(cranial

edge)位于小鼠的等深点的隔膜下方5mm处。该场使胰腺、十二指肠、空肠和肝脏暴露于放射。放射以前-后-后-前(AP-PA)施用。

[0048] 对于微集落测定,在WR-2721治疗后15min或30min使用Pantak 300 X射线装置(Pantak;East Haven,CT)施用单剂量12Gy全身辐照(WBI),300kVp X射线剂量速率为1.84Gy/min。在WBI期间,将未麻醉的小鼠松散地约束在通风良好的15x 15x 2cm Lucite盒子中。

[0049] 亚甲基蓝肠测定

[0050] 为了确定口服灌胃后口服溶液如WR-2721穿过8周龄C57BL/6小鼠消化道的速率,将1%(w/v)亚甲基蓝的PBS溶液以总体积0.1ml灌胃。在施用染料后的5、10、15、25和30min将小鼠安乐死,并检查亚甲基蓝染色剂通过肠的进程。安乐死前8min,用异氟烷麻醉小鼠,遵循与辐照前使用的相同的程序(在3%异氟烷中8min,且氧气流速为2L/min),以考察其对GI转运时间的任何潜在改变。原位检查了亚甲基蓝染料的进展,以与我们标准放射场的位置进行比较,然后切除肠道,从而可以确定行进的距离。

[0051] 生存率研究

[0052] 将小鼠用WR-2721或媒介物通过腹膜内(IP)注射或口服灌胃处理,随后进行SBRT,并每天进行监测。一旦小鼠垂死(表现出褶皱毛皮、弓背的姿势、持续的腹泻和体重减轻超过20%),就对它们实施安乐死。评估了安乐死的时间和百分比存活率。

[0053] 微集落测定

[0054] 单剂量12Gy WBI+/-在放射前15min或30min给予单口服剂量的WR-2721后,使用微集落测定来定量活的空肠隐窝。在接受WBI后3天和14小时,对小鼠实施安乐死,将空肠和十二指肠段切除并固定在10%中性福尔马林缓冲液中。然后将组织包埋在石蜡中,并用苏木精和曙红对每个小鼠的空肠和十二指肠的四个横向切片进行染色。用显微镜对每个横切面的再生隐窝数进行计分,并针对每种组织类型的每只动物的4个切片计算平均值。所有玻片均由对治疗组不知情的一名观察员计分。

[0055] WR-1065组织浓度的LC/MS-MS分析

[0056] 用500mg/kg的WR-2721通过口服灌胃或用250mg/kg通过IP注射来治疗小鼠。经过17min后,用异氟烷气体(3%异氟烷,氧气流速为2L/min)麻醉小鼠。麻醉8min后,收集全血和组织。从治疗到收集组织之间的总时间为25min。

[0057] 在异氟烷麻醉下,通过心脏穿刺收集全血样品,并立即转移到含有K_2-EDTA的BD Microtainer®血液采集管(美国贝迪(Becton Dickinson);Franklin Lakes,NJ)中。然后将K_2-EDTA全血通过以3,000g离心4min处理成血浆。处理后,除去一定体积的血浆上清液(通常为200μL),并立即转移到含有10%三氯乙酸(TCA)的50μL等分试样的新的1.4mL Matrix聚丙烯(PP)管(赛默飞世尔科技(Thermo Fisher Scientific);Waltham,MA)中。涡旋后,将经TCA处理的血浆样品存储在冰上,从饲养所运送到实验室进行进一步处理。然后将经TCA处理的血浆样品以17,000g离心5min,然后将上清液转移至新的1.4mL Matrix管中,立即提取样品并进行分析,或封盖于-80℃储存直至分析。

[0058] 血液收集后,对小鼠实施安乐死,收集十二指肠、空肠、肝脏和肿瘤组织样本,并将每个组织样本放入单独标记的PP管中并称重。称重后,将2%TCA的等分试样添加到每个试管中(对于所有样品,每mL溶液中200mg组织的组织密度或更低),并使用Polytron PT

1200E手持式均质器将组织均质化。均质化后，将经TCA处理的组织样品存储在冰上，以从饲养所运输到实验室进行进一步处理。然后将经TCA处理的组织样品以4,500g离心5min，并将上清液转移至新的2mL Simport管(Simport;加拿大蒙特利尔)中，然后立即提取样品并进行分析，或封盖于-80℃储存直至分析。

[0059] 2％TCA(w/v)处理的C57BL/6小鼠K_2-EDTA血浆基质的制备

[0060] 通过将0.400mg TCA与20mL的C57BL/6小鼠K2-EDTA血浆(BioreclamationIVT;纽约,NY)在50mL Falcon PP锥形管(赛默飞世尔科技)中合并来制备2％TCA(w/v)处理的血浆基质溶液。将混合物涡旋2min，并以4,500g离心5min以沉降所有沉淀的蛋白质。将2％TCA处理的血浆基质上清液转移到两个15mL PP管中以进行长期保存。2％TCA血浆基质在使用时保持冰冷，且不使用时保存在-80℃。

[0061] 2％TCA(w/v)处理的C57BL/6小鼠十二指肠组织基质的制备

[0062] 在硬质均质管(Bertin Instruments;Bretonneux,法国)中，将单独称重的十二指肠组织样品(BioreclamationIVT)与1.6mL的2％TCA水溶液合并，制备2％TCA处理的十二指肠组织基质溶液，并使用预编程的两个周期的硬组织样品设置，使用Precellys®Evolution组织匀浆器(Bertin Instruments)进行均质化。之后，将均质化的组织基质以17,000g离心5min，以沉淀组织碎片。将每管中经2％TCA处理的十二指肠组织基质上清液转移至15mL PP管中，以长期保存基质。使用时将2％TCA十二指肠基质保持冰冷，且不使用时保存在-80℃。

[0063] WR-2721和WR-1065储备液和中间溶液的制备

[0064] 分别在10mM醋酸铵水溶液(pH 9.2)或2％TCA水溶液中制备WR-2721参考标准品(美国药典USP;Rockville,MD)和WR-1065(西格玛奥德里奇(Sigma-Aldrich);St.Louis,MO)储备液。使用与乙腈1:1混合的一致的溶剂，以100μg/mL制备每种化合物的中间浓度溶液。

[0065] 制备WR-1065校准标准品

[0066] 通过使用2％TCA处理的血浆基质或2％TCA处理的十二指肠基质作为稀释剂的系列稀释，制备了两个单独组的WR-1065校准标准品(校准品)。在准备好每组中的每个校准品后，将标准品涡旋至少30s，以确保在进行后续稀释之前适当的混合。在每种基质中分别以1.00、2.00、10.0、100、250、500、900和1,000ng/mL制备校准品。制备校准品，并各自保存在带有标签的2mL Simport管中，使用时保持冰冷，且不使用时保存在-80℃。

[0067] 2％TCA处理的血浆和组织样品的提取方法

[0068] 将所有校准品，2％TCA空白血浆基质和研究样品融化，并在提取程序期间保存在冰上。将冰冷的10％TCA(w/v)水溶液的2μL等分试样添加到每个1.4mL PP Matrix样品管中。将每种校准品、空白样品基质和研究样品的10μL等分试样添加到适当的试管中。然后，将90μL冰冷乙腈的等分试样添加到每个试管中，并将样品加盖并涡旋2min。最后，将样品以17,000g离心5min，然后将上清液转移到PP注射小瓶中进行样品分析。用于分析的典型进样体积为10μL。

[0069] 2％TCA处理的组织样品的提取过程与上述血浆提取程序相似，但有以下例外-组织样品未接受冰冷的10％TCA水溶液的2μL等分试样。在如上所述进行蛋白质沉淀和离心步骤之后，将组织样品上清液转移至PP注射小瓶中以进行样品分析。用于分析的典型进样体

积为10μL。

[0070] LC/MS-MS方法

[0071] 使用Ultimate 3000RSLC超高效液相色谱(UHPLC)系统联合TSQ Quantiva串联质谱仪(赛默飞世尔科技)进行LC/MS-MS分析。使用两性离子ZIC-pHILIC(150x 2.1mm,5μm粒径)分析柱(MillaporeSigma;Billerica,MA),使用流动相A(MPA)和流动相B(MPB)实现WR-2721和WR-1065的基线分离,流动相A(MPA)和流动相B(MPB)的组成分别是具有2%甲酸的95/5乙腈/200mM甲酸铵,以及具有2%甲酸的85/10/5水/乙腈/200mM甲酸铵。色谱方法包括:柱温为40℃,自动进样器托盘冷却至4℃,流动相流速为300μL/min,且梯度洗脱程序规定如下:0-5min,50%MPB;5-5.5min,50-80%MPB;5.5-11min,80%MPB;11-11.5min,80-50%MPB;11.5-15min,50%MPB。色谱梯度程序的总循环时间为每个样品15.5分钟。当使用具有0.1%甲酸的1:1乙腈:水的溶液作为洗针液时,最高校准品(1,000ng/mL)之后的空白血浆样品没有残留。

[0072] TSQ Quantiva以阳离子模式运行,并具有以下源参数:源:H-ESI;源电压:+3,200V;鞘气:50;辅助气体:20;扫气:1;离子转移管温度:370℃;蒸发器管温度:250℃。监测WR-1065的以下SRM转换:i)m/z:135.1->118(量化器),CE:10.3V;ii)m/z:135.1->58(确认),CE:16V;和iii)m/z:135.1->61(确认),CE:22.5V。MS-MS系统以单位/单位分辨率运行,RF镜头电压为59V,且每个SRM转换的保压时间为200ms。

[0073] 统计分析

[0074] 对数秩分析用于生存率研究,且中位生存率以95%置信区间(CI)确定。方差不等的两个尾部t检验用于比较PO与IP的WR-1065的血浆和组织浓度。小于0.05的值被认为是显著的。

[0075] 剂量转换

[0076] 根据FDA的建议,使用以下公式,使用身体表面积(BSA)将小鼠获得的结果转化为人等效剂量(HED):

[0077] HED=动物剂量(mg/kg)x[(动物K_m)/(人K_m)]

[0078] 其中:-HED是人等效剂量,单位mg/kg

[0079] -动物K_m=3(小鼠)

[0080] -人K_m=37

[0081] (参见例如(药物评估和研究中心(Center for Drug Evaluation and Research),生物制品评估和研究中心(Center for Biologics Evaluation and Research).(2002)在成人健康志愿者的治疗剂的临床试验中估计安全起始剂量(Estimating the safe starting dose in clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers),美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration),Rockville,Maryland,美国。

[0082] 实施例I:口服WR-2721促进放射后肠隐窝的存活率

[0083] 已经显示通过腹膜内(IP)注射全身给药WR-2721可有效辐射防护接受全身辐照的C3Hf/KamLaw小鼠的肠道,但是试图确定是否口服(PO)施用WR-2721同样有效。测试了口服WR-2721的0至1000mg/kg剂量范围,然后在15或30分钟后进行了病态剂量的全身放照(WBI)。然后对所有小鼠进行微集落测定。实际上,与媒介物对照相比,口服WR-2721在WBI之

前15或30min施用时改善了十二指肠的隐窝存活率(图1A和1B)。同样,口服WR-2721还可在药物治疗后15min(图1C)和30min(图1D)促进空肠中的隐窝存活率。与PBS对照相比,口服WR-2721在所有剂量和时间点都保护十二指肠和空肠,但在15min时十二指肠中的最低剂量除外。对在12Gy的WBI之前的30min给予的WR-2721,在空肠中进行了更广泛的剂量反应,且得出的结论是,放射防护在500mg/kg(HED=41mg/kg)时达到最大,将剂量加倍至1000mg/kg没有进一步获益(图1D,HED=81mg/kg)。来自微集落测定的代表性H&E染色的空肠切片如图1E所示。

[0084] 实施例II:口服施用的WR-2721比腹膜内WR-2721具有更好的耐受性

[0085] 严重恶心是全身性WR-2721的常见且令人担忧的副作用,因此对口服施用药物可能加剧这种副作用的担忧进行了研究。尽管小鼠不会对有害刺激产生催吐反应,但恶心可表现为体重和食物摄入减少。因此,作为小鼠恶心的模型,密切监测体重和食物消耗。根据微集落测定的结果(图1),将500mg/kg用作毒性试验的剂量。用IP或Per os(PO)施用的媒介物或WR-2721连续5天每天治疗小鼠,并每天监测体重和食物消耗(分别为图2A和2B)。只有一个媒介物对照组接受了灌胃和腹膜内注射,以更严格地对由IP或PO途径的药物施用的应激进行对照。尽管进行了这种强烈的干预,但在整个研究中,媒介物对照动物仍保持了其初始体重和食物消耗(图2A和2B)。然而,接受腹膜内500mg/kg的WR-2721的小鼠表现出食物消耗和体重的显著减少,到第4天需要安乐死(图2A和2B)。相比之下,接受口服WR-2721的小鼠的体重和食物摄入量最初有适度的下降,但在停止治疗的2天内体重迅速回升并完全恢复(图2A和2B)。这些数据表明,WR-2721的PO施用比全身施用耐受性更好,此外,口服500mg/kg是短期放射防护的有效治疗剂量。

[0086] 实施例III:WR-2721保护免受高剂量分次放射的影响

[0087] 为了用电离放射消融胰腺癌,需要对附近的十二指肠和空肠进行放射防护。有理由认为口服施用的WR-2721会在肠道中被直接活化,在不全身吸收药物的情况下给予放射可使功效最大化。口服WR-2721的转运时间以亚甲基蓝大丸剂为模型,且染料前段通过GI道的进程以5min为间隔进行评估(图5)。发现亚甲基蓝在10min内到达十二指肠,并在15-30min内进入空肠(图5)。值得注意的是,在30min内,染料尚未到达盲肠或大肠。因此,有理由认为,辐照前25min对WR-2721进行口服灌胃可用于将来的放射防护。

[0088] 立体定向体部放射疗法(SBRT)使用先进的影像指导,可以在1-5次治疗过程中将更高和更多的适形放射剂量递送至较小的体积。然而,SBRT仍然受到胰腺解剖结构的限制,在胰腺的解剖结构中,胰腺肿瘤经常抵接或侵入附近的十二指肠和空肠。设计了SBRT治疗,其使用可用于治疗小鼠胰腺癌的10mm.放射场(图3A)。放射影像与亚甲基蓝灌胃后的大体解剖结构相关,表明即使在该聚焦放射场中,高剂量也被证明会影响整个胰腺、十二指肠和空肠以及胃窦和肝脏左叶的一部分,它们在胰腺之前(图3B)。

[0089] 进行了标准的放射剂量递增研究,以确定该聚焦放射模型的LD50/10(在10天或更短时间内产生50%致死率所需的剂量)。每天分次范围为每个分次10到13Gy,并且连续5天每天给予。发现13Gy x 5(65Gy,D2EQ=124.6Gy)在治疗后10天导致100%死亡,而10Gy x 5(50Gy,D2EQ=83.3Gy)在治疗后30天时显示100%存活率(图3C)。所有其他剂量均表现出中等表型,在12Gy x 5(60Gy;D2EQ=110Gy)时有20%的30天存活率,而接受11Gy x 5(55Gy,D2EQ=96.3Gy)的组有60%的30天存活率。

[0090] 重申：

[0091] D2等效(D2EQ)＝D1(α/β+d1)/(α/β+d2)(等式1)

[0092] 其中D2＝等效总剂量,D1＝初始总剂量,d1＝初始剂量/分次,以及d2＝所需剂量/分次

[0093] 据推测,放射防护的最大益处可能发生在12.5Gy x 5分次(62.5Gy;D2Eq＝117.2Gy)的12至13Gy之间。因此,新的一组小鼠被如下处理:在如图3A所示的类似的场中,用5天每日12.5Gy的分次处理上腹部,在每次放射处理前25分钟通过口服施用WR-2721或媒介物对照提供放射防护。值得注意的是,100％的接受口服WR-2721的小鼠的寿命超过30天,而所有媒介物对照均在少于10天内死亡,图3D,对数秩p＝0.0035)。

[0094] 在图6中示出了进一步的确认。诊断后不久,将KPC小鼠纳入研究,并单独接受媒介物、媒介物与SBRT或者口服WR-2721与SBRT。SBRT场为10mm,AP/PA给予至肿瘤,且剂量为每天12.5Gy,连续5天,总剂量为62.5Gy(EQD2＝117.2Gy;α/β_{10}＝140.6)。每天通过微型CT和超声检查肿瘤,无基准点。对于每个分次,在照射前25分钟给予媒介物的氨磷汀。

[0095] 如图6所示,VEH的中位生存期为15天(N＝11),SBRT+VEH的为15天(N＝7),而SBRT+WR-2721的为40天(N＝5)。卡普兰-梅尔(Kaplan-Meier)分析表明,与SBRT+VEH(对数秩P＝0.03)或单独VEH(对数秩＝0.03)相比,SBRT+WR-2721显著提高了生存率。

[0096] 实施例IV:口服WR-2721在肠内选择性富集WR-1065

[0097] 假设口服WR-2721借由被十二指肠和空肠中的肠碱性磷酸酶局部转化为WR-1065起作用。这将使活性代谢产物WR-1065仅集中在放射期间肠的剂量限制区域,并可能减少脱靶效应。为了了解这是否确实是生理作用机理,使用质谱分析法测量了血清和组织二者中WR-1065(WR-2721的活性代谢产物)的浓度。首先,评估了在C57BL/6小鼠中口服灌胃500mg/kg或IP注射250mg/kg(HED＝20mg/kg)的WR-2721后,在血浆和其他组织中WR-1065出现的药代动力学(参见图4A中的示意图)。灌胃后25min收集血清和组织,这近似于放射时WR-1065在组织中的分布(图3C、3D)。与口服施用相比,IP注射WR-2721导致活性代谢产物WR-1065的血浆浓度增加近5倍(119.1±17.3相比27.0±7.0,IP相比口服,p＝0.001,图4B)。口服灌胃或IP施用WR-2721后25min,收获组织并立即处理以收集代谢产物。发现IP注射会在肝脏(254.3±34.1pmol WR-1065/mg组织)、十二指肠(237.7±22.7pmol WR-1065/mg组织)和空肠(203.7±2.9pmol WR-1065/mg组织,图4C)中引起活性代谢产物WR-1065的接近均一的浓度。相反,口服WR-2721显示出与肝(89.0±22.4pmol WR-1065/mg组织)相比,在十二指肠(586.2±97.0pmol WR-1065/mg组织)和空肠(1141±104.8pmol WR-1065/mg组织)中WR-1065六至十二倍的增加,通过在组织中积聚口服WR-2721代谢产物WR-1065表明了组织保护的特异性。

[0098] 接下来,在基因工程小鼠模型中确定了WR-1065在肠道中富集的特异性。饲养发展为自发性胰腺癌的$Kras^{LSL/+}$;$Trp53^{FL/+}$;$Ptf1a^{Cre/+}$(KPC)小鼠,并然后经过10代回交至C57BL/6背景以消除近交小鼠遗传变异的混杂问题。人们认为这些自发性肿瘤可以重现人类肿瘤中所观察到的结缔组织形成,这可能会使这些肿瘤更具侵略性。为了作为有效的临床放射防护剂,WR-1065不应在肿瘤中积聚。因此,在口服施用500mg/kg(HED＝41mg/kg)或IP施用250mg/kg WR-2721(HED＝20mg/kg)后25min,收集血浆、肝脏、十二指肠、空肠和胰腺肿瘤,以确定WR-1065的浓度(参见图4D中的示意图)。与野生型C57BL/6小鼠的结果相似,与口服

WR-2721相比，在KPC小鼠中IP注射WR-2721导致血清中WR-1065 30倍的富集，这没有达到统计学意义(图4E，p＝0.07)。IP注射WR-2721可在所有测量的组织中产生相似浓度的放射防护性代谢产物WR-1065(图4F)，换句话说，是非选择性积聚。WR-1065的浓度在肝中为420±69.8pmol WR-1065/mg组织，在十二指肠中为236.2±8.6pmol WR-1065/mg组织，在空肠中为275.5±5.0pmol WR-1065/mg组织，以及在胰腺肿瘤中为248±30.2pmol WR-1065/mg组织。

[0099] 口服施用WR-2721显示出WR-1065在肠中高度选择性积聚(图4F)。WR-1065的浓度在十二指肠中为200.6±23.3pmol WR-1065/mg组织，在空肠中为757.7±26.8pmol WR-1065/mg组织，与之相比，在肝脏中仅为59.9±26.8pmol WR-1065/mg组织，以及在肿瘤组织中为24.5±1.9pmol WR-1065/mg组织。因此，口服WR-2721可使与肿瘤中相比肠中的药物富集10到40倍(图4G)，而通过IP注射全身性施用导致在正常组织和肿瘤二者中等量分布放射防护药物。

[0100] 因此，口服施用WR-2721被证明具有良好的耐受性，并且有效地放射防护肠道免受烧蚀剂量的分次放射的影响。利用十二指肠和空肠内肠碱性磷酸酶的自然梯度在肠道内迅速将WR-2721代谢为放射防护性WR-1065，同时限制暴露于不需要防护的身体其他部位，且在肿瘤的情况下，将起到反作用。这在基因工程小鼠中得到了说明，该小鼠显示WR-1065在肠中以较高浓度显著积聚，但在胰腺肿瘤中则不会。

[0101] 此外，先前已对WR-2721施用的替代途径进行了测试，得出的结果大多是负面的。例如，在I期研究中发现直肠内输注氨磷汀可改善盆腔放射后的毒性概况，但在较大的随机研究中未能最终实现。这些可能部分归因于对大多数细胞中存在的普遍且非特异性碱性磷酸酶的依赖。此外，直肠粘膜的粘膜内层很厚，且表达的肠碱性磷酸酶的水平低，肠碱性磷酸酶是激活WR-2721所必需的。因此，且在另一种实施方式中，WER-2721可以在媒介物中与碱性磷酸酶缀合或共同施用，配置为使其代谢产物WR-1065在直肠粘膜上积聚，从而促进将WR-2721代谢成有效浓度的WR-1065。

[0102] 因此，在一种实施方式中，本文提供了用联合疗法治疗癌症患者的方法，包括：在暴露于放射之前的预定时间向患者施用治疗有效的口服给药的细胞保护性前药，该患者在与对放射敏感的其他组织和其他器官中的至少一个相邻的组织和器官中的至少一个中具有原发性和转移性癌症中的至少一种，其中细胞保护性前药代谢产物被配置成在对治疗有效放射剂量敏感的其他组织和其他器官中的至少一个中选择性积聚；以及将至少一个组织和一个器官暴露于治疗有效的放射剂量，其中(i)细胞保护性前药是S-2-(3-氨基丙基氨基)乙基二氢硫代磷酸酯(可与WR-2721和氨磷汀互换使用)，(ii)原发性癌症和转移性癌症中的至少一种是胰腺癌、前列腺癌、肝胆肿瘤和腹膜后肉瘤中的至少一种，(iii)对放射敏感的其他组织是十二指肠和/或(iv)空肠，其中(v)细胞保护性前药为硫醇形式，其中(vi)将至少一个组织和一个器官暴露于治疗有效放射剂量的步骤包括使用立体定向体部放射疗法，向患者施用约37.5格雷(Gy)至约208Gy之间的总放射剂量，其中(vii)暴露步骤包括使用立体定向分次放射，(viii)以1个至约5个分次之间进行施用，其中(ix)暴露于放射之前的预定时间为约15分钟至约30分钟之间，其中(x)治疗有效的口服剂量包括约250mg/kg至约1000mg/kg之间，并且其中(xi)施用放射3个至5个之间的分次，每分次5Gy至16Gy，其中(xii)暴露于放射前的预定时间为约25分钟。

[0103] 在另一实施方式中，本文提供了保护第一组织和第一器官中的至少一个免受对相邻的第二器官和相邻的第二组织中至少一个进行的高剂量放射的影响的方法，在需要该高剂量放射的患者内该第一组织和/或器官对放射敏感，该方法包括向患者施用口服组合物的步骤，该口服组合物包括药学上有效浓度的细胞保护剂，该细胞保护剂的代谢产物适于在至少第一组织和第一器官中选择性积聚，其中在放射之前的预定时间施用该口服组合物，其中(xiii)第一组织和/或第一器官是胃肠道、十二指肠、空肠、小肠、大肠、直肠、食道、胃、膀胱和泌尿道中的至少一种，其中(xiv)第二组织和第二器官中的至少一个是胰腺、前列腺、肝脏、胆囊和肾上腺、肾脏、腹膜后腔、淋巴结、子宫、睾丸、卵巢，其中(xiv)高剂量放射的总剂量至少为15Gy，其中(xv)细胞保护剂是S-2-(3-氨基丙基氨基)乙基二氢硫代磷酸酯(可与WR-2721和氨磷汀互换)，其中(xvi)放射还包括使用分次立体定向体部放射治疗的步骤，将第二组织和第二组织中的至少一个暴露于1个至约5个之间的放射分次，其中(xvii)将至少一个组织和一个器官暴露于治疗有效放射剂量的步骤包括向患者施用约15Gy至约208Gy之间的总放射剂量，其中(xviii)第二器官是胰腺，而第一组织是十二指肠和空肠中的至少一个，其中(xix)口服组合物在暴露于放射之前约15min至约30min之间施用，其中(xx)施用放射3个至5个之间的分次，每分次1.8Gy至16Gy，并且其中(xxi)细胞保护剂的治疗有效口服剂量为约20mg/kg至约81mg/kg之间。

[0104] 在又一种实施方式中，本文提供了口服给药的细胞保护性前药在制备用于治疗在与对放射敏感的其他组织和其他器官中的至少一个相邻的组织和器官中的至少一个中具有原发性和转移性癌症中的至少一种的癌症患者的药物中的用途，其中该药物被配置成在将其他组织和其他器官中的至少一个暴露于放射之前的预定时间口服施用。

[0105] 尽管在前述说明书中，已经相对于某些优选实施方式描述了本文描述的用于调制和/或监测TEP的设备及其使用方法，并且出于说明的目的阐述了许多细节，但是对于本领域技术人员而言显而易见的是，本文所描述的用于调制和/或监视TEP的设备及其使用方法的公开内容易受其他实施方式的影响，并且本说明书中所描述以及如所附权利要求书中更全面地描述的某些细节可以在不背离本发明的基本原理的情况下有相当大的变化。

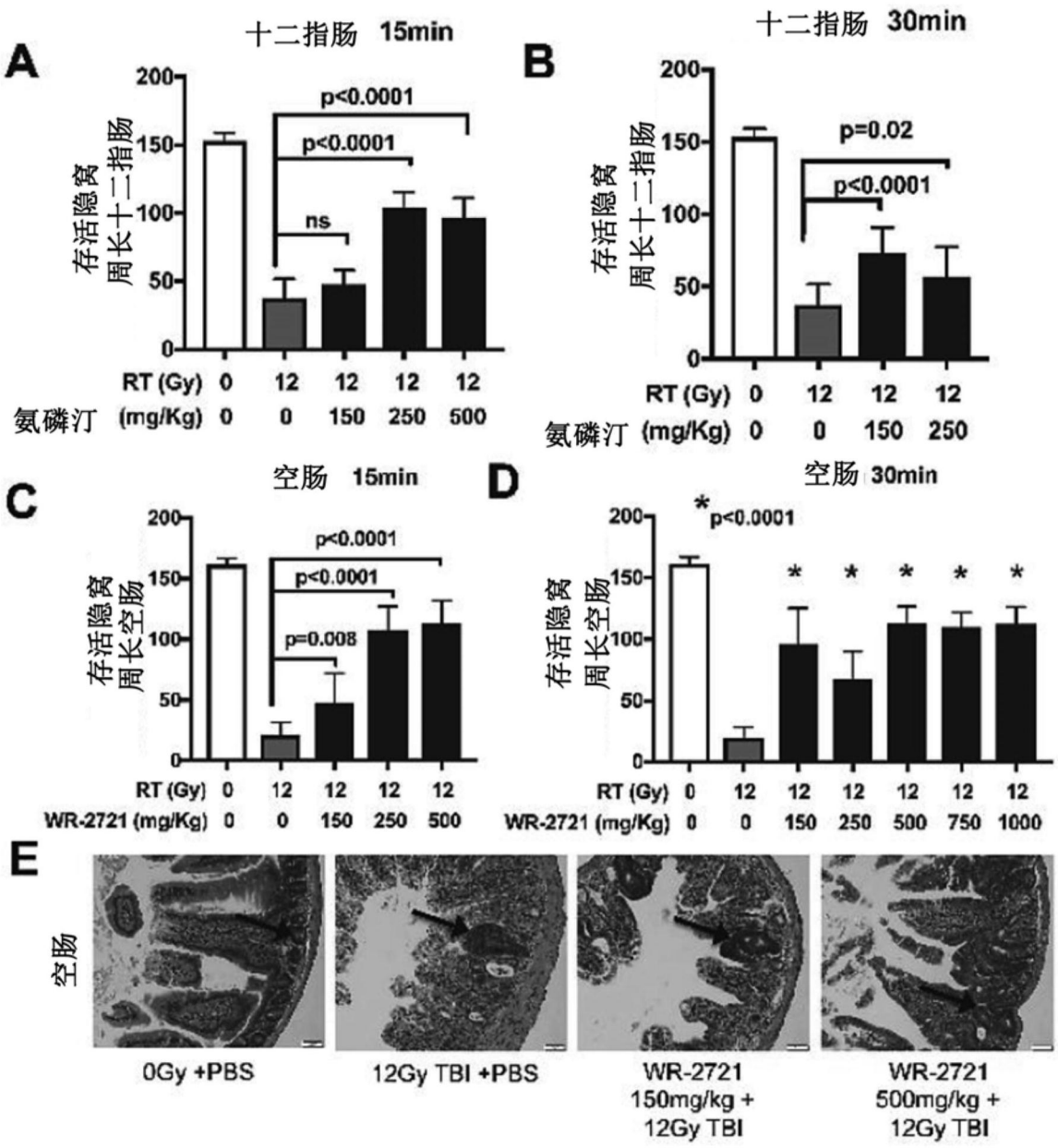

A
十二指肠 15min
存活隐窝周长十二指肠
p<0.0001
p<0.0001
ns
RT (Gy) 0 12 12 12 12
氨磷汀 (mg/Kg) 0 0 150 250 500
B
十二指肠 30min
存活隐窝周长十二指肠
p=0.02
p<0.0001
RT (Gy) 0 12 12 12
氨磷汀 (mg/Kg) 0 0 150 250
C
空肠 15min
存活隐窝周长空肠
p<0.0001
p<0.0001
p=0.008
RT (Gy) 0 12 12 12 12
WR-2721 (mg/Kg) 0 0 150 250 500
D
空肠 30min
*p<0.0001
存活隐窝周长空肠
RT (Gy) 0 12 12 12 12 12 12
WR-2721 (mg/Kg) 0 0 150 250 500 750 1000
E
空肠
0Gy +PBS
12Gy TBI +PBS
WR-2721 150mg/kg + 12Gy TBI
WR-2721 500mg/kg + 12Gy TBI

图1

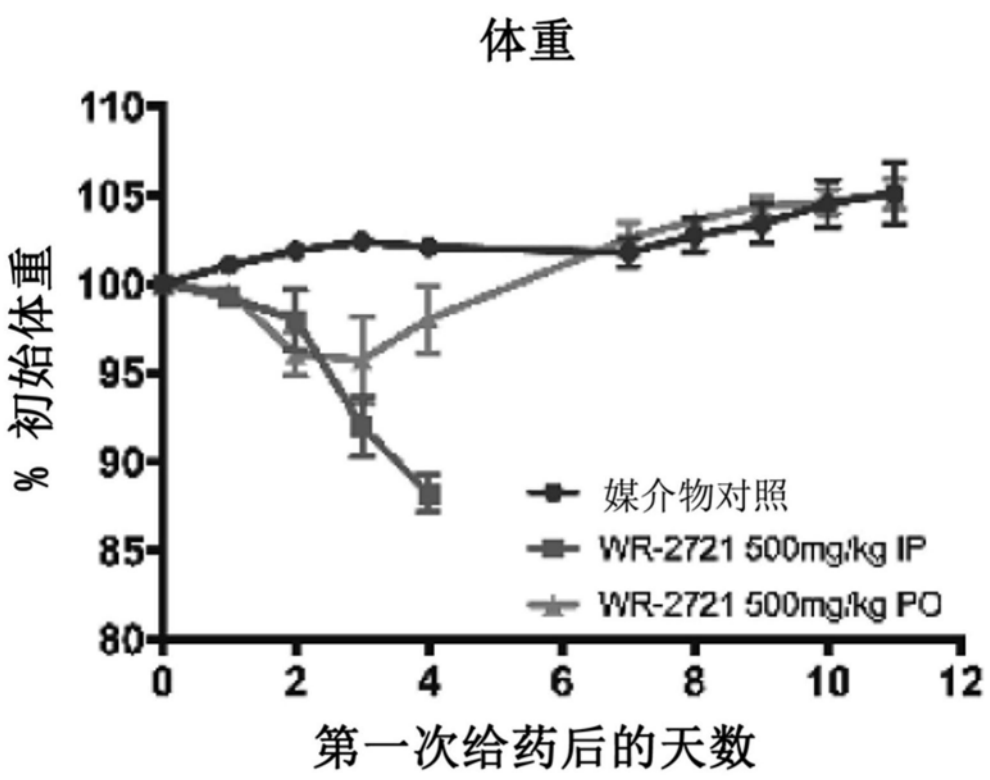

体重
% 初始体重
110
105
100
95
90
85
80
0
2
4
6
8
10
12
第一次给药后的天数
媒介物对照
WR-2721 500mg/kg IP
WR-2721 500mg/kg PO

图2A

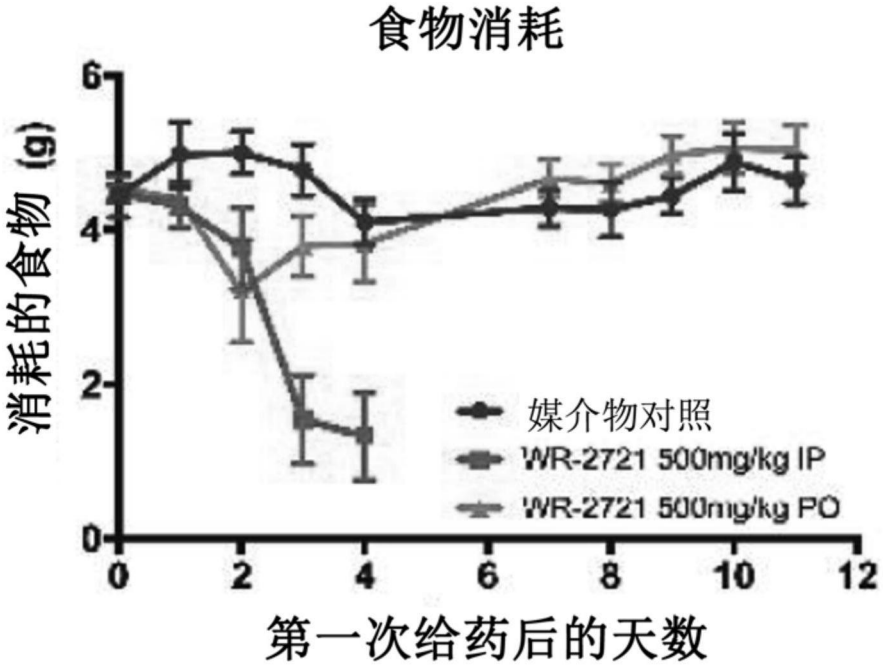

食物消耗
消耗的食物 (g)
6
4
2
0
0
2
4
6
8
10
12
第一次给药后的天数
媒介物对照
WR-2721 500mg/kg IP
WR-2721 500mg/kg PO

图2B

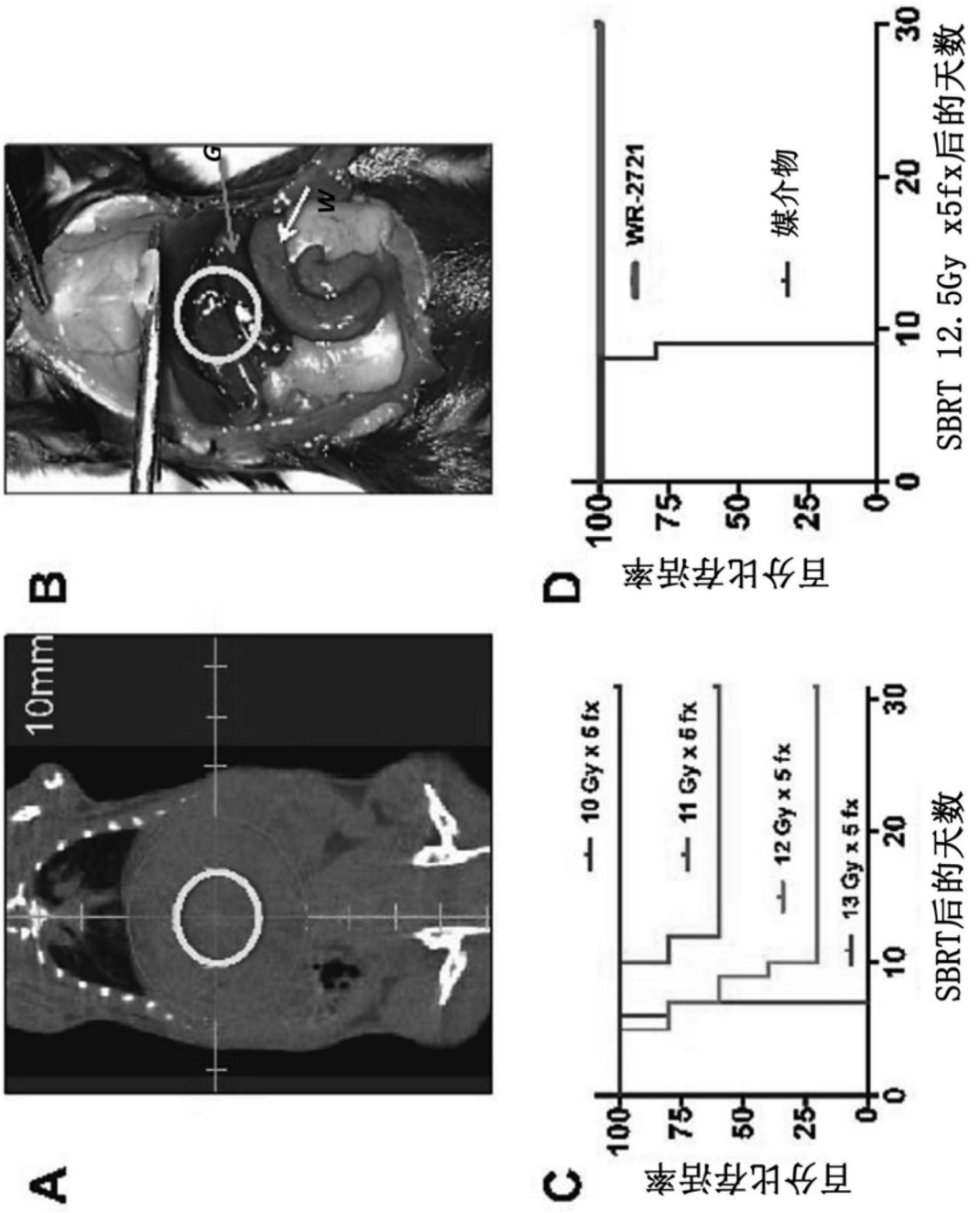

A
10mm
B
G
W
C
10 Gy x 6 fx
11 Gy x 6 fx
12 Gy x 5 fx
13 Gy x 5 fx
百分比存活率
SBRT后的天数
D
WR-2721
媒介物
百分比存活率
SBRT 12.5Gy x5fx后的天数

图3

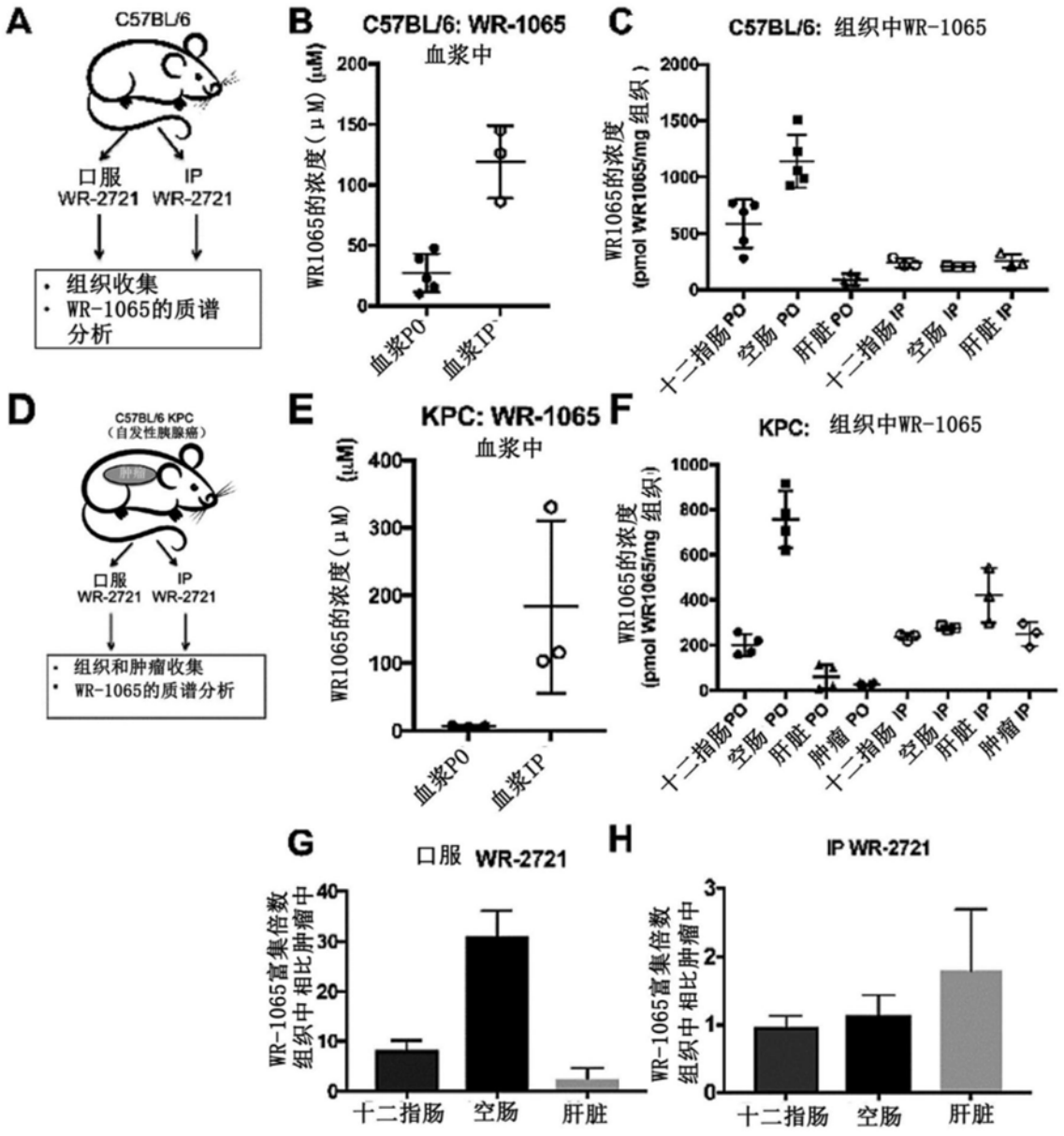

A
C57BL/6
口服 WR-2721
IP WR-2721
• 组织收集
• WR-1065的质谱分析
B
C57BL/6: WR-1065
血浆中
WR1065的浓度（μM）(μM)
血浆PO
血浆IP
C
C57BL/6: 组织中WR-1065
WR1065的浓度 (pmol WR1065/mg 组织)
十二指肠 PO
空肠 PO
肝脏 PO
十二指肠 IP
空肠 IP
肝脏 IP
D
C57BL/6 KPC
（自发性胰腺癌）
肿瘤
口服 WR-2721
IP WR-2721
• 组织和肿瘤收集
• WR-1065的质谱分析
E
KPC: WR-1065
血浆中
WR1065的浓度（μM）(μM)
血浆PO
血浆IP
F
KPC: 组织中WR-1065
WR1065的浓度 (pmol WR1065/mg 组织)
十二指肠 PO
空肠 PO
肝脏 PO
肿瘤 PO
十二指肠 IP
空肠 IP
肝脏 IP
肿瘤 IP
G
口服 WR-2721
WR-1065富集倍数 组织中 相比肿瘤中
十二指肠
空肠
肝脏
H
IP WR-2721
WR-1065富集倍数 组织中 相比肿瘤中
十二指肠
空肠
肝脏

图4

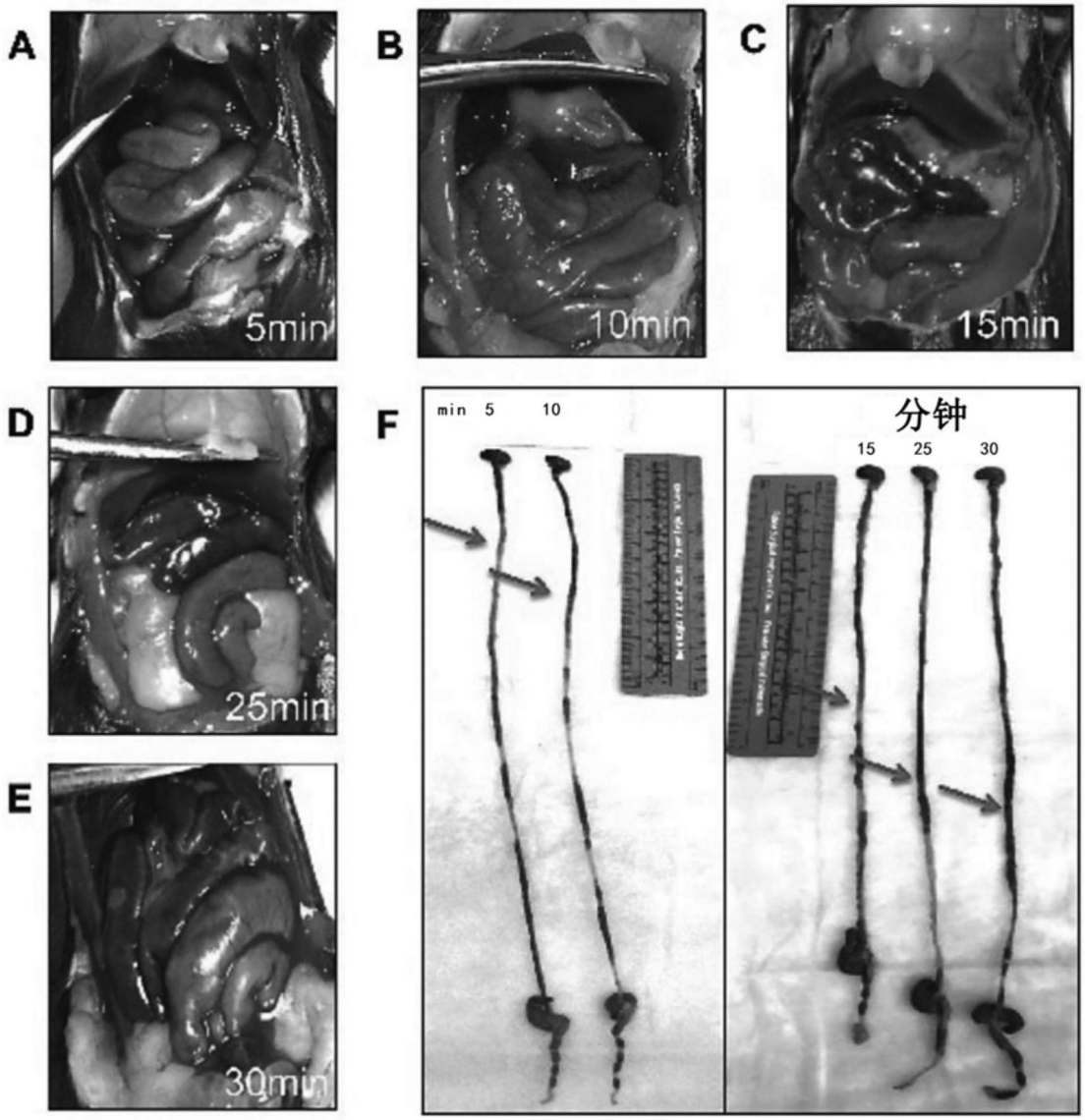


图5

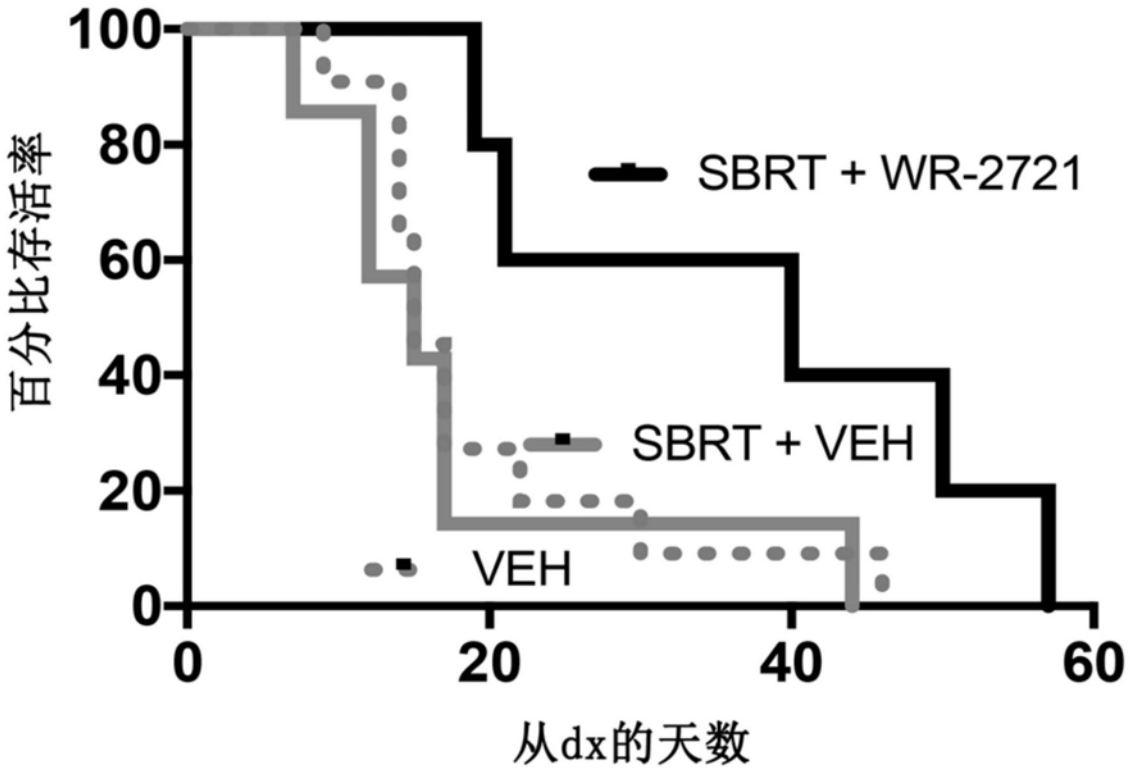

100
80
60
40
20
0
百分比存活率
SBRT + WR-2721
SBRT + VEH
VEH
0
20
40
60
从dx的天数

图6