

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200480010867.X

[51] Int. Cl.

A61K 47/48 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 31/4188 (2006.01)

A61K 51/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

[43] 公开日 2006年5月24日

[11] 公开号 CN 1777446A

[22] 申请日 2004.4.7

[21] 申请号 200480010867.X

[30] 优先权

[32] 2003.4.24 [33] IT [31] RM2003A000196

[86] 国际申请 PCT/IT2004/000184 2004.4.7

[87] 国际公布 WO2004/093916 英 2004.11.4

[85] 进入国家阶段日期 2005.10.24

[71] 申请人 希格马托制药工业公司

地址 意大利罗马

[72] 发明人 G·帕加内利 P·卡尔米纳蒂

U·韦罗内塞

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商
标事务所
代理人 陈轶兰

权利要求书 3 页 说明书 7 页

[54] 发明名称

用于实体肿瘤二步手术期间治疗的药物

[57] 摘要

本发明公开了具有肿瘤趋向性的试剂与具有抗癌活性并对第一试剂具有亲合力的另一试剂相组合在制备药物方面的用途，该药物可用于实体肿瘤的二步手术期间疗法。本发明的优点在于其抗癌活性更大、更有效定位，减少了施用步骤数，并有降低抗癌剂量的可能，达到了在功效不降低的情况下副作用减少的效果。

- 5 1. 具有肿瘤趋向性的第一试剂和对所述第一试剂具有亲合力的第二抗癌剂相组合作为活性成分在制备用于实体肿瘤的二步手术期间疗法的药物中的用途。
2. 根据权利要求1的用途,其中所述的具有肿瘤趋向性的试剂含有一种或多种对肿瘤相关抗原具有特异性的抗体。
3. 根据权利要求2的用途,其中所述的药物中的一种或多种抗体为生物素化的,并且与抗生物素蛋白化合物相组合,所述的第二试剂是载有抗癌剂的生物素化合物。
- 10 4. 根据权利要求2的用途,其中所述药物中的抗体被抗生物素蛋白化,并与载有抗癌剂的生物素化合物相组合。
5. 根据权利要求2-4中任一权利要求的用途,其中所述的一种或多种抗体为单克隆抗体,并任选地为嵌合或重组抗体。
- 15 6. 根据权利要求2-5中任一权利要求的用途,其中所述的抗体为抗腱生蛋白抗体。
7. 根据权利要求2的用途,其中所述的第一试剂为抗生物素蛋白,所述的第二试剂为载有抗癌剂的生物素化合物。
8. 根据上述任一权利要求的用途,其中所述抗癌剂选自放射性同位素、化疗药、毒素和抗癌细胞。
- 20 9. 根据权利要求8的用途,其中所述的放射性同位素选自 Fe-52、Mn-52m、Co-55、Cu-64、Ga-67、Ga-68、Tc-99m、In-111、I-123、I-125、I-131、P-32、Sc-47、Cu-67、Y-90、Pd-109、Ag-111、I-131、Pm-149、Re-186、Re-188、At-211、Pb-212、Bi-212 和 Lu-177。
- 25 10. 根据权利要求9的用途,其中所述的放射性同位素为 Y-90 或 Lu-177。
11. 根据权利要求3的用途,其中所述药物中的生物素化的抗体、抗生物素蛋白化合物和生物素化合物各自装于独立的容器中。
12. 根据权利要求4的用途,其中所述药物中的抗生物素蛋白化的抗体和生物素化合物各自装于独立的容器中。
- 30 13. 根据权利要求7的用途,其中所述药物中的抗生物素蛋白和生物素化

合物各自装于独立的容器中。

14. 根据上述任一权利要求的用途, 其中所述的肿瘤选自乳腺、胰腺、肺、胸膜、腹膜、颈面、脑部和膀胱的肿瘤。

15. 根据权利要求 3-13 中任一权利要求的用途, 其中所述的抗生物素蛋白选自抗生物素蛋白、链霉抗生物素、它们的聚合衍生物以及它们的聚乙二醇衍生物。

16. 根据上述任一权利要求的用途, 其中所述的药物适于注射给药。

17. 根据权利要求 16 的用途, 其中所述抗体的容器为配有一个或多个针头的注射器形式。

18. 根据权利要求 11-13 中任一权利要求的用途, 其中所述抗体的容器适宜进行喷雾给药。

19. 根据权利要求 11 的用途, 其中所述抗体或抗体的混合物以单剂量装于第一独立的容器中。

20. 根据权利要求 11 的用途, 其中所述抗生物素蛋白以单剂量装于第二独立的容器中。

21. 根据权利要求 3 的用途, 其中所述药物中抗生物素蛋白的量与抗体或抗体混合物的量的比为 5: 1 至 10: 1。

22. 根据权利要求 11 的用途, 其中所述抗生物素蛋白的容器为注射器形式, 该注射器适于连续给予精确体积。

23. 根据权利要求 7 的用途, 其中所述抗生物素蛋白以单剂量装于独立的容器中。

24. 根据权利要求 7 的用途, 其中所述抗生物素蛋白的容器为适宜进行喷雾形式给药的容器。

25. 一种用于二步辅助手术中和手术期间局部区域和/或系统治疗的试剂盒, 包括一系列独立的容器, 其中第一容器内是对肿瘤相关抗原特异性的生物素化抗体或抗体的混合物, 第二容器内是抗生物素蛋白化合物, 第三容器内是载有抗癌剂的生物素化合物, 试剂盒中还可任选地包括装有生物素化白蛋白的第四容器。

26. 一种用于二步辅助手术中和手术期间局部区域和/或系统治疗的试剂盒, 包括一系列独立的容器, 其中的第一容器内是对肿瘤相关抗原特异性的抗

生物素蛋白化抗体或抗体的混合物，第二容器内是载有抗癌剂的生物素化合物。

27. 一种用于二步辅助手术中和手术期间局部区域和/或系统治疗的试剂盒，包括一系列独立的容器，其中的第一容器内是抗生物素蛋白化合物，第二容器内是载有抗癌剂的生物素化合物。

- 5 28. 具有肿瘤趋向性的第一试剂和对所述第一试剂具有亲合力的放射性标记的第二试剂相组合在制备用于测定权利要求 1 中所述的药物的治疗前生物分布的诊断组合物中的用途。

用于实体肿瘤二步手术期间治疗的药物

5 本发明涉及试剂在制备用于手术中和术后局部和系统治疗的药物中的用途。

发明背景

对于肿瘤体积小的乳腺癌患者来讲，伴腋窝切除的保守手术并补充放疗是一种可选的治疗方法。目前，临床试验的结果，特别是随机试验的结果(U. Veronesi, et al., New Engl. J. Med., 305: 6-11, 1981 ; U. Veronesi, et al., Ann. Surg Vol. 211, 3 : 250-259, 1990), 已显示出肿瘤的局部复发的危险性

10 危险性与乳腺手术范围、患者的年龄、及存在广泛的导管内组分、肿瘤周围淋巴和/或血管侵犯相关。此外，在进行补充放疗的患者身上证实了局部复发率的下降(5.4%对比对照组的21.6%)。

15 目前四分之一切除术后所采用的补充体外放疗涉及在六周内施以的总量为50-60Gy的放疗，照射部位为术后的乳房的全部残留部分，而且任选的，可对手术床给予过量的剂量。这种治疗方案产生了不可忽视的心理暗示作用，其过长的疗程加深和延长了患者由于疾病所产生的焦虑状态的程度和时间，并使患者认为手术治疗是不成功的。同时，考虑到治疗成本，由于患者长达约2个月不能工作，其所产生的社会影响也是不可忽视的。

20 作为传统的放疗治疗的另一种选择，人们提出了术中放疗(IORT)，该放疗技术可在手术中将单一放射剂量直接送递到手术时暴露的肿瘤上，或者送递到手术切除癌后仍然包含肿瘤的解剖学区域上。本发明的发明人对采用IORT进行T1期乳腺癌的治疗进行了随机研究，得到了满意的结果。但从逻辑角度看，这种治疗只能在很少的中心进行，仅设备本身的费用就超过一百万欧元，这还不包括用来建造使操作人员以及邻近房间的人们免受辐射的隔离操作间的费用及参与治疗的专家的费用。

25 European Journal of Nuclear Medicament Vol. 26, No. 2, February 1999, pp. 110-120 e No. 4, April 1999, pp. 348-357 和欧洲专利 EP0496 074 中公开了一种称为三步放射免疫疗法的放射免疫治疗方法。在该方法中，使用了

30

一种适宜静脉给药形式的试剂盒，所述试剂盒包括：1) 对肿瘤相关抗原特异性的生物素化单克隆抗体，2) 抗生物素蛋白型蛋白，3) 与治疗和/或诊断肿瘤的有效成分结合的生物素或它的一种衍生物。三步放射免疫疗法中还描述了可减少生物素化抗体和抗生物素蛋白家族蛋白循环水平的有用试剂(追踪剂)。这种试剂盒可以采用腔内或全身用药的方式给药，但没有提出包括手术行为和术后系统性治疗的序贯给药。

就其一般描述而言，三步法无疑是一种有效的方法，但如果将大量的抗生物素蛋白导入到肿瘤上或者导入到进行了看似彻底的手术后可能沾染到或已经藏有残留肿瘤细胞的那些身体区域中，那么该方法则需要进一步优化和开拓。标准三步法的两个主要的限制在于以下事实，即仅有少量的抗体和抗生物素蛋白家族蛋白(通常为链霉抗生物素(第一步和第二步))在静脉注射后到达靶部位。对天然的解剖学的体腔，如腹膜、胸膜或膀胱，或手术后的腔，例如脑肿瘤的情况下，可采用局部区域注射。

发明概述

现已发现，包括了手术中的局部区域步骤和第二个术后系统性步骤的一种手术期间(periooperative)型治疗方式对于控制局部复发有特别的优势，而且令人惊奇的是，这种局部疗法的优点还在于其仅需要两步即可完成给药，第一步是手术中进行的局部区域位点治疗，第二步是手术后通过系统性途径治疗。

在手术过程中，具有肿瘤趋向性(指能够局部地浓缩到肿瘤细胞的表面或与其邻近的部位)的试剂的导入可在肿瘤周围的残留组织内立即产生一类我们需要的受体，以上受体已准备好局部并以极高浓度接收随后静脉给予的实际抗癌剂。抗癌剂利用其载体剂对人为产生的受体的亲合性而适宜地定向到肿瘤部位。

因此，本发明的一项最根本的目的是具有肿瘤趋向性的第一试剂与对所述第一试剂有亲合力的第二抗癌剂组合作为活性成分用以制备用于第二步手术期间疗法的药物的用途，该疗法的第一步为手术中局部区域治疗步骤，第二步为手术后系统治疗步骤。在本发明的一个优选的实施方案中，采用的治疗为放疗形式。

本发明的另一目的是提供一种药物组合物，该组合物包括放置在分开的容器中的上述活性成分(试剂盒)，以方便顺序地进行局部区域和系统给药，所述组合物构成用于可手术摘除的或不能全部摘除的实体瘤手术期间辅助治疗的药

物，其中所述的实体瘤例如为乳腺、胰腺、肺、胸膜、腹膜、面部和颈部、膀胱、脑部以及其他部位的癌症。

本发明有效地解决了上述本领域现有技术中存在的问题，其另一优点在于增加了肿瘤趋向性试剂在肿瘤部位的聚集，从而减少抗癌剂的用量。

5 发明详述

本发明的第一优选实施方式采用了免疫疗法，更确切的是放射免疫疗法。在此第一实施方式中，具有肿瘤趋向性的试剂为对肿瘤相关抗原具有特异性的生物素化抗体。

10 根据本发明的内容，在手术中步骤给予生物素化抗体，接着再给予抗生物素蛋白，从而为随后的实际抗癌剂构建“人工受体”。在此情况下，抗癌剂将由生物素携带，其中的生物素可包含在适于与抗癌剂形成复合物的化合物之中，所述复合物在下文中被称为生物素复合物，该复合物用于术后阶段的系统给药。

事实上，生物素仅集中在有抗生物素蛋白存在的地方，而在此情况中，手术医生数小时前（例如，4-72 小时）在手术过程中已将抗生物素蛋白导入，由此
15 可确定其存在于需进行治疗的区域。与普通治疗相比，本发明进一步的优点还在于可明显缩短切除原发性肿瘤与随后的辅助治疗之间的时间。

生物素化的抗体优选单克隆抗体。抗体可以是鼠的、人的或者任选地为嵌合抗体。针对肿瘤相关抗原的特异性抗体是已知的，能够购得或者采用本领域
20 人员所公知的方法制得，例如，Trikha M. et al. Monoclonal antibodies as therapeutics in oncology, Current Opinion Biotechnology 2002 ; 13 : 609-614 中所描述的方法。上文中提到的欧洲专利 EP 0 696 074 也公开了抗体的实例。在最为优选的实施方式中，抗体为抗腱生蛋白单克隆抗体，还可以使用嵌合或重组抗体 (Trikha M. , et al., 同上)。

为了使生物素化的抗体在目标区域实现最高的聚集能力，可以使用生物素
25 化单克隆抗体的混合物，用以针对不同的肿瘤抗原或针对细胞外基质蛋白，如腱生蛋白等。这些蛋白在肿瘤内特别丰富，因此切除主要的肿瘤块后这些蛋白就成为了理想的靶位。

本领域技术人员对于抗体的生物素化是熟知的。

所用的抗生物素蛋白化合物可以是作为直接购得蛋白的抗生物素蛋白本
30 身。除天然存在的抗生物素蛋白外，还可使用相同类型的其他蛋白，如链霉抗

生物素、或者抗生物素蛋白、链霉抗生物素的聚合衍生物、或它们与聚乙二醇的衍生物(PEG 化的抗生物素蛋白, Chinol M., Br. J. Cancer 1998 ; 78: 189-197)。

在此情况中将由生物素化合物携带的抗癌剂可选自本领域中可得到的抗癌剂或可以是任何其他抗癌剂。抗癌剂的例子可以是普通的化疗药物, 毒素, 5 细胞因子如 IL-2, 干扰素、TNF, 淋巴细胞, 以及放射性核素, 以上这些构成了本发明的优选实施例。

放射性生物素可以是其本身通过特殊的接头标记了放射性同位素的生物素。

10 放射性同位素的选择因具体应用而异。适宜的放射性同位素的例子为 Fe-52, Mn-52m, Co-55, Cu-64, Ga-67, Ga-68, Tc-99m, In-111, I-123, I-125, I-131, P-32, Sc-47, Cu-67, Y-90, Pd-109, Ag-111, I-131, Pm-149, Re-186, Re-188, At-211, Pb-212, Bi-212, Lu-177。从以下公开的内容可以看出, 优选 β -发射的放射性同位素, 如钷-90 或镧-177。

15 虽然本发明的方法一般而言可以用于肿瘤的放射免疫治疗, 但优选用于乳腺、肺、胸膜和腹膜的肿瘤。

试剂的剂量是由本领域技术人员来确定的。但是, 将对其进行计算以递送确信对其靶有肿瘤杀伤作用的剂量。

20 装有不同试剂的容器通常应适于注射给药, 容器内应装有足够量的试剂。在一个优选的实施方式中, 抗体的容器为配有一个或多个针头的特殊注射器, 使药物能方便地浸润肿瘤床和其周围的组织。容器还可以是适宜将抗体进行喷雾剂形式给药的形式。

例如, 抗生物素蛋白容器应适宜盛放适量的抗生物素蛋白, 其与抗体的比例一般为 5: 1 (如, 100mg 相对于 20 mg 抗体), 任选地可在盐水中进行稀释。
25 在一个特别优选的形式中, 使用了一种可适于连续给药精确体积的特别的注射器作为容器, 如在手术的第一阶段施用 20ml, 在第二阶段施用一个或多个进一步的等分部分 (10ml), 例如, 施用于切除的边缘或由于重要器官的浸润而不能手术切除的残留的病变组织。为给药方便, 药物容器还可以是适宜抗生物素蛋白喷雾给药的容器。

30 装有各活性成分剂量的各容器优选地包含在单一包装 (试剂盒) 内, 其中装

有给药方法的说明书。

生物素化的抗体在手术中和在一定的时间后如10分钟后施用,给予不同剂量的抗生物素蛋白,例如,首剂用于肿瘤床内,第二剂在可能的重建介入后施用。

- 5 在本发明的后来的实施方式中,抗生物素蛋白化的抗体或抗生物素蛋白化抗体的衍生物可同样被直接施用。在Neorx提出的欧洲专利申请EP0251494中描述了一种方法,其中多种抗体衍生物用于全身给药。本发明不同于以上方法之处在于,本发明是通过局部途径在手术时使抗生物素蛋白聚集在肿瘤部位,仅在手术后给予生物素化的药物。采用本发明方法会产生一类可摄取放射性生物素的“人工受体”。

- 10 术后最少4小时至2-3天,患者将被送到核医学科,以系统性给予放射性标记的生物素开始进行术后治疗步骤。除放射性标记的生物素外,生物素还可用作抗瘤剂如化疗药、毒素或抗癌细胞(如患者的淋巴细胞)的载体。(DOTA)-⁹⁰Y/¹⁷⁷Lu生物素总是采用静脉给药方式,⁹⁰Y的最初活性为50 mCi,¹⁷⁷Lu为80 mCi。根据以前放射免疫治疗的经验,以上的活性比每周期能给予的最高活性低1/3,因此,治疗窗对⁹⁰Y可为50至100 mCi;对¹⁷⁷Lu可为80至150 mCi。如前面提到的Paganeli等的文献以及EP 0 496 074中所描述的,给予放射性生物素前,可施用生物素化的白蛋白作为“追踪剂”,特别是在10-15分钟之前施用固定剂量25mg的生物素化白蛋白。

- 20 在本发明的另一实施方式中,同样在手术中的局部治疗阶段直接给予抗生物素蛋白。由于抗生物素蛋白具有一定的肿瘤趋向性,因此能聚集在治疗靶部位。

- 25 在这些简化的操作后,许多不呈现特异性抗原的肿瘤仍可采用试剂抗生物素蛋白和生物素进行治疗。随后的治疗顺序保持不变,只是手术和系统治疗之间间隔的时间必须缩短到4-24小时,这是由于在肿瘤部位聚集的时间较短造成的。系统给予放射性标记的生物素或有抗癌活性的载体剂的方法在前面已经进行了描述。

- 30 在另外一个实施方式中,本发明还提供了前面所述的活性成分在制备用于测定治疗前生物分布(剂量测定诊断阶段)的诊断组合物中的用途,其中第二试剂进行了放射性标记。在使用 β 和 γ 放射源(如Lu 177),例如生物素化药物的

情况下，剂量测定可在治疗的同时进行。

参考文献

- 5 U. Veronesi, R. Saccozzi, M. Del Vecchio, A. Banfi, C. Clemente, M. De Lena, G. Gallus, M. Greco, A. Luini, E. Marubini, G. Muscolino, F. Rilke, B. Salvadori, A. Zecchini, R. Zucali. Comparing radical mastectomy with quadrantectomy, axillary dissection, and radiotherapy in patients with small cancers of the breast. *New Engl. J. Med.*, 305: 6-11, 1981.
- 10 U. Veronesi, A. Banfi, M. Del Vecchio, R. Saccozzi, C. Clemente, M. Greco, A. Luini, E. Marubini, G. Muscolino, F. Rilke, V. Sacchini, B. Salvadori, A. Zecchini, R. Zucali: Comparison of Halsted mastectomy with quadrantectomy, axillary dissection, and radiotherapy in early breast cancer: long-term results. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 22: 1085-1089, 1986
- 15 U. Veronesi, B. Salvadori, A. Luini, A. Banfi, R. Zucali, M. Del Vecchio, R. Saccozzi, E. Beretta, P. Boracchi, G. Farante, V. Galimberti, G. Mezzanotte, V. Sacchini, S. Tana and E. Marubini : Conservative treatment of early breast cancer. Long-term results of 1232 cases treated with quadrantectomy, axillary dissection and radiotherapy. *Ann. Surg.* Vol. 211, 3 : 250-259, 1990.
- 20 U. Veronesi, A. Luini, M. Del Vecchio, M. Greco, V. Galimberti, M. Merson, F. Rilke, V. Sacchini, R. Saccozzi, T. Savio, R. Zucali, S. Zurrada, B. Salvadori: Radiotherapy after breast-preserving surgery in women with localized cancer of the breast. *N. Eng. J. Med.*, vol. 328, 22: 1587-1591, 1993
- 25 U. Veronesi, B. Salvadori, A. Luini, M. Greco, R. Saccozzi, M. Del Vecchio, L. Mariani, S. Zurrada and F. Rilke: Breast conservation is a safe method in patients with small cancer of the breast. Long-term results of three randomised trials on 1,973 patients. *Eur. J. Cancer* 31 (19): 1574-1579, 1995.
- 30 L. Mariani, B. Salvadori, E. Marubini, A. R. Conti, D. Rovini, F. Cusumano, T. Rosolin, S. Andreola, R. Zucali, F. Rilke and U. Veronesi, Ten year results of a randomised trial comparing two conservative

treatment strategies for small size breast cancer, European Journal of Cancer, Vol. 34, No. 8, pp. 1156-1162, 1998

Salvadori B. and U. Veronesi. Conservative methods for breast cancer of small size : the experience of the National Cancer Institute, Milan
5 (1973-1998). The Breast 8: 311-314, 1999

Veronesi U, Marubini E, Mariani L, Galimberti V, Luini A, Veronesi P, Salvadori B, Zucali R. Radiotherapy after breast-conserving surgery in small breast carcinoma: Long-term results of a randomized trial. Ann. Oncol. 12: 997-1003, 2001

10 Veronesi U, Cascinelli N, Mariani L, Greco M, Saccozzi R, Luini A, Aguilar M, Marubini E. Twenty-year follow up of a randomized study comparing breast-conserving surgery with radical mastectomy for early breast cancer. N. Engl. J. Med. 347: 1227-1271, 2002