[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl[7]
C07C229/76
C07F 15/00 A61K 31/282
A61P 35/00

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 00124864.2

[45] 授权公告日 2003 年 9 月 17 日

[11] 授权公告号 CN 1121380C

[22] 申请日 2000.9.20 [21] 申请号 00124864.2

[30] 优先权

[32] 2000. 3. 3 [33] CN [31] 00103393. X

[71] 专利权人 北京兴大豪斯科技有限公司

地址 100871 北京海淀区紫竹院公园内

[72] 发明人 杨旭清 杨振云 尹应武 崔维川 杨金力 王敬尊

审查员 杨永明

[74] 专利代理机构 隆天国际知识产权代理有限公司

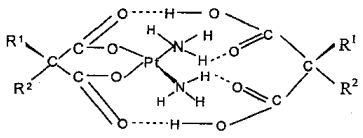
代理人 杨淑媛 郑 霞

权利要求书 3 页 说明书 19 页 附图 11 页

[54] 发明名称 一种抗肿瘤的双二羧酸二氨络铂衍生物及其药物组合物

[57] 摘要

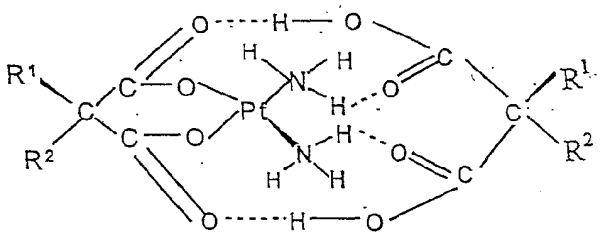
本发明涉及一种抗肿瘤的下式 [I] 的双二羧酸二氨络铂衍生物，式中：R^1 和 R^2 如说明书中所定义。 本发明还涉及所述式 [I] 衍生物的制备方法和含有式 [I] 衍生物的抗肿瘤的药物组合物，其具有毒性低、抗癌谱广、抗癌活性高、水溶性好且水溶液稳定性好及可选择性杀死癌细胞而不伤害正常细胞等优点，是一代安全有效的抗癌新药。



（I）

ISSN1008-4274

1、一种双二羧酸二氨络铂衍生物，其特征在于，它具有下式（I）：



（I）

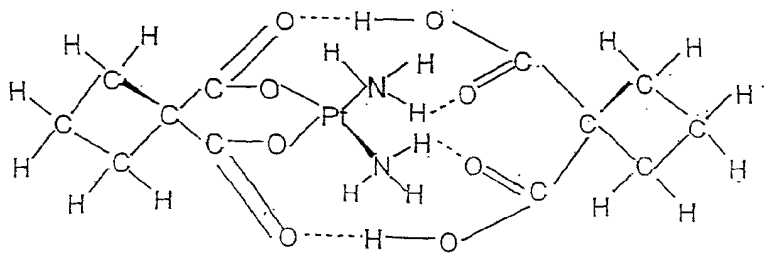
式中：R^1和R^2可相同或不同，其独自表示氢、C_{1-12}烃基、卤素、氨基、氰基、羟基、羧基、酰基、磷酰基或磷酰氨基；

或者R^1与R^2相互连接并与它们相连的碳原子一起形成含碳原子的3—12元饱和或不饱和的碳环。

2．根据权利要求1所述的双二羧酸二氨络铂衍生物，其特征在于，所述的R^1与R^2相互连接并与它们相连的碳原子一起形成含碳原子的3-6元的饱和碳环。

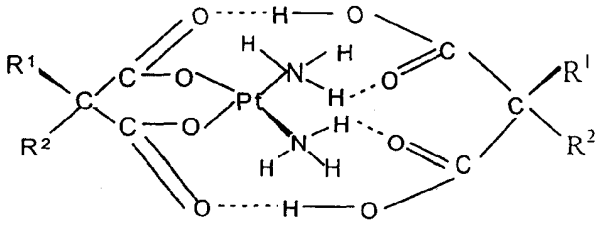
3．根据权利要求2所述的双二羧酸二氨络铂衍生物，其特征在于，其为双1,1-环丙烷二羧酸二氨络铂或双1,1-环丁烷二羧酸二氨络铂化合物。

4．根据权利要求3所述的双二羧酸二氨络铂衍生物，其特征在于，其为下式（II）的双1,1-环丁烷二羧酸二氨络铂化合物：



（II）

5．一种用于制备双二羧酸二氨络铂衍生物的方法，其特征在于，所述的衍生物具有下式（I）：



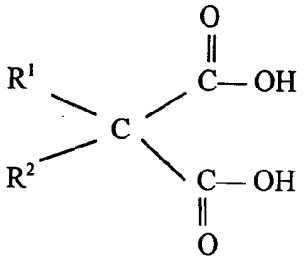
（I）

式中：R^1和R^2可相同或不同，其独自表示氢、C_{1-12}烃基、卤素、氨基、氰基、羟基、羧基、酰基、磷酰基或磷酰氨基；

或者R^1和R^2相互连接并与它们相连的碳原子一起形成含有碳原子的3-12元饱和或不饱和的碳环，

该方法为：

1）将卡铂或卡铂类物质与下式（III）的二羧酸配体衍生物反应



（III）

式中R^1和R^2的定义如上述式（I）中所述

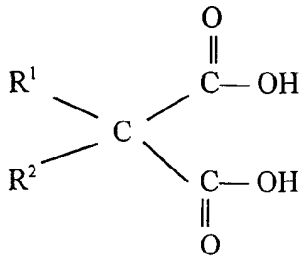
生成式（I）的双二羧酸二氨络铂衍生物；或

2）将式为$(NH_3)_2PtX_2$的二卤二氨铂

式中：X为Cl或I

与硝酸银或硫酸银于水溶液中反应生成式为$(NH_3)_2Pt(H_2O)_2(NO_3)_2$的水合二氨铂硝酸盐；

将生成的水合二氨铂硝酸盐与下式（III）的二羧酸配体衍生物或其钠盐或钡盐反应



（III）

式中：R^1和R^2的定义如上述式（I）中所述

生成式（I）的双二羧酸二氨络铂衍生物。

6．一种抗肿瘤的药物组合物，其特征在于，该组合物中含有0.1-0.5wt%浓度的至少一种权利要求1所述的式（I）的双二羧酸二氨络铂衍生物及药物上可接受的载体。

7．根据权利要求6所述的药物组合物，其特征在于，所述的式（I）的双二羧酸二氨络铂衍生物为在所述式（I）中 R^1 和 R^2 相互连接并与它们相连的碳原子一起形成含碳原子的3-6元的饱和碳环的那些双二羧酸二氨络铂衍生物。

8．根据权利要求7所述的药物组合物，其特征在于，所述的式（I）的双二羧酸二氨络铂衍生物为双 1,1-环丙烷二羧酸二氨络铂或双 1,1-环 丁烷二羧酸二氨络铂化合物。

9．根据要求8所述的药物组合物，其特征在于，所述的式（I）的双二羧酸二氨络铂衍生物为双1,1-环丁烷二羧酸二氨络铂化合物。

10．根据权利要求6-9任一项所述的药物组合物，其特征在于，该药物组合物以针剂或胶囊的形式给药。

11．权利要求1所述式（I）的双二羧酸二氨络铂衍生物在制备抗肿瘤药物中的应用。

一种抗肿瘤的双二羧酸二氨络铂衍生物及其药物组合物

本发明涉及一种新颖的抗肿瘤铂类衍生物，特别是涉及一种新颖的抗肿瘤的双二羧酸二氨络铂衍生物；本发明还涉及所述的双二羧酸二氨络铂衍生物的制备方法及含有所述双二羧酸二氨络铂衍生物的药物组合物；本发明还进一步涉及所述的双二羧酸二氨络铂衍生物在制备抗肿瘤药物中的应用。

自 1969 年 B.Rosenber 发现顺式二氯二氨铂具有抗肿瘤以来，顺铂(Cisplatin)作为铂类抗癌药已广泛用于临床，对于泌尿生殖癌、鼻咽癌、头颈癌、肺癌等多种癌症疗效显著，但毒副作用严重。肾毒、神经毒、耳毒、恶心、呕吐等不良反应限制了药剂量和长期用药。作为第二代铂类抗癌药的卡铂(Carboplatin，又名碳铂)其抗癌谱与顺铂相似，药效略逊于顺铂，并有交叉抗药性，毒副作用虽然明显低于顺铂，但骨髓抑制依然存在，且其在水中稳定性较差。因此寻找高效、低毒、广谱的铂类抗癌药剂的研究一直十分活跃。

与本发明最相关的现有技术为 WO95/20956 和 EP642792A1，这两篇文献公开了顺-二氨-1,1-二环丁烷二甲酸合铂，其结构式与本发明所述的双二羧酸二氨合铂衍生物差异很大。因此，本发明为开拓性发明。

据报道，近年来已有多种新铂类抗癌药物进入临床试验，如异丙铂(Isoplatin)、草酸铂(Oxaliplatin)、奥马铂(Ormajplatin)、乐巴铂(Lobapatin)、恩络铂(Enloplatin)、增尼铂(Zeninplatin)，以及 L-NDOP，DWA-2114A，CI-973 等。这些新铂类化合物虽然多数与顺铂无交叉抗药性，但抗肿瘤株大致与顺铂相同，无更广的抗癌谱，水中稳定

性亦较差。在毒性方面多数低于顺铂，有些仍表现出明显的肾毒、神经毒及骨髓抑制。因此，均未进入临床应用。至于口服有效的铂类抗癌药物，至今尚未见报道。一类更有效、更低毒且在水中稳定的铂类药物是人们所需求的。

本发明者对铂类化合物进行了深入细致的研究，出人意料地发现，双二羧酸二氨络铂衍生物能够克服上述缺陷，具有高效、低毒且在水中稳定的性能，从而实现本发明。

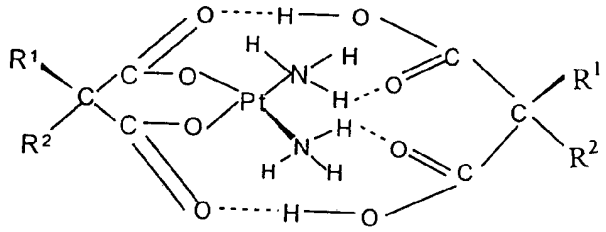
因此，本发明的首要目的是提供一种能克服上述现有技术缺陷的新颖的抗肿瘤的双二羧酸二氨络铂衍生物；

本发明的另一目的是提供一种用于制备双二羧酸二氨络铂衍生物的方法；

本发明的再一目的是提供一种含有作为活性组分的所述双二羧酸二氨络铂衍生物的抗肿瘤的药物组合物；

本发明的进一步的目的是提供所述双二羧酸二氨络铂衍生物在制备抗肿瘤药物中的应用。

本发明涉及一种抗肿瘤的双二羧酸二氨络铂衍生物，其特征在于，它具有下式（I）：



（I）

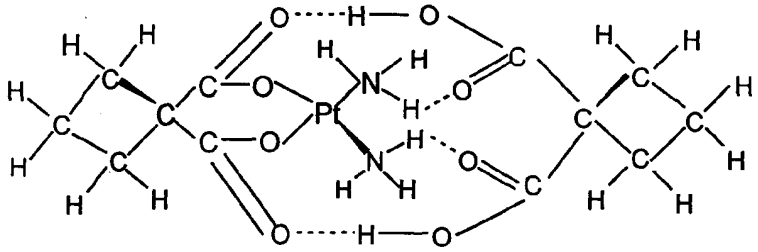
式中：R^1 和 R^2 可相同或不同，其独自表示氢、C_{1-12} 烃基、卤素、氨基、氰基、羟基、羧基、酰基、磷酰基或磷酰氨基，

或者 R^1 与 R^2 相互连接并与它们相连的碳原子一起形成含碳原子的3-12元饱和或不饱和的碳环。

优选的是，所述的 R^1 与 R^2 相互连接并与它们相连的碳原子一起形成含碳原子的 3-6 元的饱和碳环。

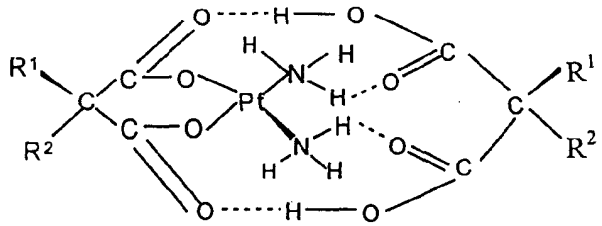
更优选的是，所述的双二羧酸二氨络铂衍生物为双 1,1-环丙烷二羧酸二氨络铂或双 1,1-环丁烷二羧酸二氨络铂化合物。

最优选的是，本发明提供下述式（II）的双 1,1-环丁烷二羧酸二氨络铂化合物（下文中称作双环铂）：



（II）

本发明还涉及用于制备双二羧酸二氨络铂衍生物的方法，其特征在于，所述的衍生物具有下式（I）：



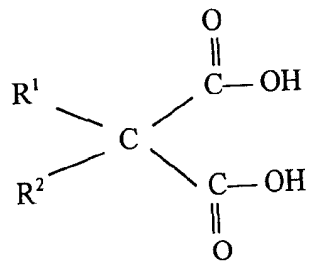
（I）

式中：R^1 和 R^2 可相同或不同，其独自表示氢、C_{1-12} 烃基、卤素、氨基、氰基、羟基、羧基、酰基、磷酰基或磷酰氨基；

或者 R^1 与 R^2 相互连接并与它们相连的碳原子一起形成含碳原子的 3-12 元饱和或不饱和的碳环，

该方法为：

1）将卡铂或卡铂类物质与下式（III）的二羧酸配体衍生物反应



（III）

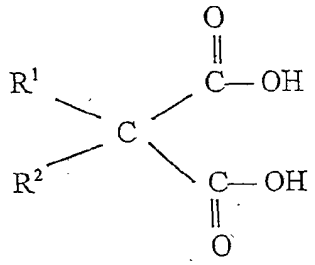
生成式（I）的双二羧酸二氨络铂衍生物；或

2）将式为 $(NH_3)_2PtX_2$ 的二卤二氨铂

式中：X 为 Cl 或 I

与硝酸银或硫酸银于水溶液中反应生成式为 $(NH_3)_2Pt(H_2O)_2(NO_3)_2$ 的水合二氨铂硝酸盐；

将生成的水合二氨铂硝酸盐与下式（III）的二羧酸配体衍生物或其钠盐或钡盐反应，



（III）

式中：R^1 和 R^2 的定义如上述式（I）中所述

生成式（I）的双二羧酸二氨络铂衍生物。

制备式(I)双二羧酸二氨络铂时，其各步反应温度都可以在相对宽的范围内进行。通常，反应是在 0℃至 100℃，优选在 10℃至 50℃间的温度下进行。各步的反应时间一般为 2-16 小时。

本发明的方法通常是在常压下进行的。然而，本发明方法也可以在加压或减压下——通常是在 0.1 巴至 10 巴间的压力下进行。

进行本发明方法时，通常采用大致等摩尔量的起始原料。然而，也可以采用使起始原料之一相对大量地过量。

起始原料二卤二氨铂和二羧酸配体衍生物是已知物质，其可以用已知方法制备。

另外，本发明还涉及一种抗肿瘤的药物组合物，其特征在于，该组合物中含有作为活性组分的 0.1-0.5wt%浓度的至少一种式（I）的双二羧酸二氨络铂衍生物及药物上可接受的载体。

按照本发明所述的药物组合物，优选的是，作为活性组分的式（I）的双二羧酸二氨络铂衍生物为在式（I）中所述 R^1 与 R^2 相互连接并与它们相连碳原子一起形成含碳原子的 3-6 元的饱和碳环的那些式（I）的双二羧酸二氨络铂衍生物，较优选的为双 1,1-环丙烷二羧酸二氨络铂或式（II）的双 1,1-环丁烷二羧酸二氨络铂化合物，最优选的是式（II）的双 1,1-环丁烷二羧酸二氨络铂化合物。

本发明所述的抗肿瘤药物组合物的制备是比较简单的，只要将式（I）的双二羧酸二氨络铂衍生物与可药用载体混合即可，该药物组合物可以以针剂或胶囊的形式给药。

所述的可药用的载体可包括纯净水、医用淀粉和维生素 C。其中可用纯净水将药物制成针剂，可以皮下、腹腔、静脉注射；可用医用淀粉和维生素 C 将药物制成口服胶囊。

本发明所述的药物组合物，如双环铂腹腔注射用时其 LD_{50} 为 283mg/kg，静脉注射用时其 LD_{50}=50.46±0.93mg/kg，口服用时其 LD_{50} 为 500mg/kg；双 1,1-环丙烷二羧酸二氨络铂的注射用时其 LD_{50} 为 180mg/kg。

本发明所述的药物组合物的给药剂量一般为其 LD_{50} 量的一半。

本发明还进一步涉及所述式（I）的双二羧酸二氨铂衍生物在制备抗肿瘤药物中的应用。

对式(I)的双环烷二羧酸二氨络铂化合物，例如式(II)的双 1,1-环丁烷二羧酸二氨络铂进行过多次急毒、药效实验并做了长达数年临床检验，结果如下：

进行裸鼠的静脉注射、腹腔注射和口服的急毒实验。急性毒性限量实验表明，毒性低，LD_{50}(静注)=50.46±0.93mg/Kg、LD_{50}（腹腔注射)=283mg/Kg 和 LD_{50}（口服)=500mg/Kg。

中国医学科学院肿瘤医院、肿瘤研究所对双环铂做了与治疗作用有关的药效实验。双环铂对人肝癌细胞 BEL—7402 IC_{50}=1.3μg/ml(注：

将此癌细胞杀死一半需双环铂 1.3μg/ml)；对人乳腺癌细胞 IC_{50}=2.8μg/ml，并对人乳腺癌、肺癌、肝癌、大肠癌和卵巢及双环铂做裸鼠接种抑瘤率实验，腹腔注射给药，分大剂量(LD_{50}×1/5)、中剂量(LD_{50}×1/10)和小剂量(LD_{50}×1/20)组，抑瘤率分别为 90%、95%和 70%。灌胃方式用上述同样剂量给药，抑瘤率略低。北京市药检所对人肝癌 H_{22}裸鼠接种抑瘤率实验，静脉注射给药，分大剂量(LD_{50}×1/5)、中剂量(LD_{50}×1/10_)和小剂量(LD_{50}×1/20)，与环磷酰胺进行药效对照。双环铂大、中、小剂量用量 0.2ml/次，每日一次，连续注射 7 次，接种荷瘤裸鼠 30 天处死。大、中、小剂量双环铂抑瘤率分别为 50.85%、57.40%和 35.20%，裸鼠生活正常，饮食正常，每组 10 只裸鼠无一死亡。而环磷酰胺组按其 LD_{50}最小剂量给药仅 2 次，抑制率达 73.15%，但大部分裸鼠近于死亡。

用兔子对双环铂做静脉注射药代动力学实验，用小鼠对双环铂做口服药代动力学实验。按时间测定动物血清中铂的含量，45—60 分钟药物在血液中达到高峰，24 小时在血液中含量趋于 0。

大鼠口服双环铂三个月的长期毒性实验：为评价双环铂的安全性，观察连续给药三个月后对机体主要反应及其严重程度提供毒性反靶器官及其损害的可逆性，确定无毒反应剂量，为拟定人用安全剂量提供参考。

本药对内脏的损伤呈量效关系，在治疗量给药下，停药 1 个月后，病状减轻。小剂量组影响不大，并可恢复正常。

离体细胞抑瘤实验：

1、双环铂对体外培养的人肝癌 BEL-7402 细胞的生长抑制作用通过对人肝癌 BEL-7402 细胞在用双环铂处理后的动态生长情况的观察，结果发现：在双环铂处理后 2 天，10μg/ml 及 20μg/ml 双环铂组与对照组的细胞数差别不大，从用药 3 天开始，用药组存活细胞数开始明显少于对照组，对照组呈对数生长，而双环铂处理组细胞数渐趋下降，随时间

推移，各组间差别越明显，且 20μg/ml 对双环铂组存活细胞数低于 10μg/ml 双环铂组。以上结果表明双环铂对体外培养的人肝 BEL-7402 细胞具有明显的生长抑制作用，并显示剂量时效应关系(参见图 4)。

2、双环铂在一定的剂量范围内具有选择性杀死癌细胞的功能而对正常细胞不伤害。

南京大学生命科学院用双环铂对人体正常纤维、表皮细胞和肺癌细胞、黑色素瘤进行实验，实验证明人体正常的纤维细胞和表皮细胞未受伤害，肺癌细胞和黑色素细胞被杀害 50%和 80%(见图 5)。

3、双环铂对人肝癌 BEL-7402 细胞超微结构影响将 BEL-7402 细胞用不同剂量的双环铂处理后，收集细胞、固定、包埋、切片，在透射电镜下观察细胞超微结构的改变。结果发现未受药处肝癌细胞呈不规则多连形，细胞表面有丰富的微绒毛，胞浆内细胞器丰富，并含有数量不等的糖原颗粒。受双环铂处理的肝癌细胞，随药物浓度的增加，细胞呈现不同程度的退行性变，胞浆内大量空泡、脂滴增多，直到坏死性改变、核固缩、核碎裂、核溶解、细胞器完全崩解等(参见图 6－11)。

同时，我们对双 1,1-环丙烷二羧酸二氨络铂化合物也进行过多次毒性、药效实验，实验表明，双 1,1-环丙烷二羧酸二氨络铂与式（II）的双环铂化合物相比，其水溶性较差，毒性较高，但抗肿瘤性能更好。

下面通过一系列的具体试验来说明本发明式（I）的双二羧酸二氨络铂衍生物作为活性组分的药物的特性和优点：

1、IC_{50}值的测定：

a) 取胃癌 BGC-823 细胞，培养于含 15%小牛血清 RPMJ-1640 营养液中，接种于 96 孔培养板，1×10^4细胞/孔，置于 37℃，5%CO_2孵化箱中。用含 15%小牛血清的 RPMI-1640 培养液将 1%双环铂水溶液稀释至所需浓度，分别加入 96 孔板各孔中，每浓度 3 孔，6 孔空白对照，培养 72 小时，加入 MTT 液，1 小时后加 DMSO 显色，酶标仪测 OD 值。计算各

浓度药物杀伤率，按坐标法求出 IC_{50} 值。

表 1 BGC-823 细胞 IC_{50} = 14.80±1.34μg/ml

浓度μg/ml	200	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78
杀伤率%	83.3	80.3	74.6	60.0	51.0	33.0	21.0	19.0	6.0

b)应用上述试验相同方法，测出双环铂对人口腔癌 KB 细胞的 IC_{50} 值。

表 2 KB 细胞 IC_{50} = 13.24±1.33μg/ml

浓度μg/ml	200	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78
杀伤率%	93.3	93.0	77.1	66.6	36.7	26.2	28.2	14.8	5.9

2、具有明显的抗肿瘤作用：

a) 取 40 只体重 21-22g 昆明种小鼠，雌雄各半，随机分成 4 组，每组 10 只。右腹皮下接种肝癌 H_{22} 细胞悬浮液 0.2ml/只。次日，取 3 组分别腹腔注射双环铂 30mg、20mg、10mg/kg，每日一次，连续 7 天，对照组 IP 生理盐水。于停药后次日处死小鼠，称体重、瘤重，计算抑瘤率。如表 3 所示，给药组小鼠体重增加较少，但无一只死亡，双环铂对 H_{22} 有明显抗肿瘤作用。10mg g、20mg、30m /kg 给药抑瘤率分别为 40.4%、67.0%、78.6%，且抑瘤作用强度与给药剂量呈正相关。

表 3 对肝癌 H_{22} 抑瘤率

级别	小鼠(只)		体重(g)		瘤重(g)	抑瘤率(%)	P 值
	前	后	前	后			
对照	10	10	21.4	30.6	1.59±0.48		
30mg/kg	10	10	21.6	22.4	0.34±0.09	78.6	<0.001
20mg/kg	10	10	21.6	24.4	0.53±0.26	67.0	<0.001
10mg/kg	10	10	21.8	27.9	0.95±0.29	40.4	<0.01

b) 用与上述试验相同方法测得双环铂对肉瘤 S_{180} 抑瘤率示于表 4。显示双环铂对 S_{180} 同样具有明显抑制作用，并呈剂量—效应关系。

表 4 对肉瘤 S_{180} 抑瘤率

级别	小鼠(只)		体重(g)		瘤重(g)	抑瘤率(%)	P 值
	前	后	前	后			
对照	10	10	21.2	29.0	1.7±0.57		
30mg/kg	10	10	21.6	21.5	0.49±0.16	71.0	<0.001
20mg/kg	10	10	21.6	18.1	0.54±0.16	68.0	<0.001
10mg/kg	10	10	21.5	25.8	1.03±0.30	39.7	<0.01

c) 以 10μg/ml、20μg/ml 双环铂处理人肝癌 BEL-7402 细胞，观察细胞动态生长情况 8 天，如图 4 所示，两天以内给药组与对照组细胞数差别不大，第三天开始施药组细胞数逐渐下降，而对照组癌细胞继续呈对数生长。随着时间增加，组间差别愈大。显示双环铂对人肝癌 BEL-7402 细胞有明显生长抑制作用，并显示剂量—效应关系。

3、显示极低的毒副作用，可选择性杀死癌细胞，而不伤害正常细胞

a) 取 50 只体重在 18-22g 的昆明种小鼠，雌雄各半，随机分成 5 组，每组 10 只。按 400、280、196、137、96mg/kg 分别 IP 给药双环铂 1 次，连续观察 10 天，记录一般表现及死亡数。除高浓度给药显示局部刺激症状外，未见异常表现，一般死亡发生在 3-7 天。根据 Bliss 法求出 LD_{50}±SE＝210.5±1.14mg/kg。明显高于相同条件下测定的 Cisplation 和 Carboplatin 的 LD_{50} 值，显示双环铂的低毒性。

b) 选取年龄、体重相近的两只兔子(3.25kg、3.5kg)，分别静脉注射 100mg 双环铂，定时抽取血样，应用原子吸收光谱(AAS 法)测血清样品中铂含量。数据如表 5 所示，注射后血液中药物浓度很快达到最高，发挥药效，然后随时间递降。12 小时后浓度已经很低，24 小时趋于 0，双环铂能够快速代谢离开机体，故毒副作用很小。

表 5 兔子血清中铂含量(μg/ml)

时间(小时)	兔子 1(3.25kg)	兔子 2(3.5kg)
0	34.6	58.0

0.5	20.5	21.8
1	10.4	20.3
2	6.2	10.8
4	2.4	4.2
6	1.9	2.8
8	1.7	2.3
10	1.6	2.1
12	0.9	2.2
24	0	0

c) 以口服急性毒性试验 LD_{50} 500mg/kg 为参考，按 $LD_{50}/10$ 给大鼠口服双环铂，用 5%葡萄糖和 0.9%氯化钠(即糖盐水)溶解，每天给药一次，连续 90 天，进行长毒实验。每周测体重一次，根据体重变化调整给药剂量，服药 12 周后停药，再观察 2 周，结果表明：

(1) 大鼠未见死亡，饮食、活动、状态无明显异常。说明双环铂对大鼠无不良作用。

(2) 在给药 12 周及停药 2 周后眼球采血检测，红白细胞数、血红蛋白含量及分类、血小板均在正常范围，组间无明显差异($P>0.05$)；尿素氮(BUN)、谷丙转氨酶(GPT)、谷草转氨酶(GOT)三项指标，给药与对照组间无显著差异($P>0.05$)。

(3) 观察结束后处死大鼠，测定主要脏器系数，给药组肝脏重量略高于空白对照组，但仍在正常值范围。其它脏器系数值均未见异常。

(4) 对大鼠心、肝、脾、肺、肾、胃、十二指肠、卵巢、睾丸、前列腺、肾上腺、甲状腺等进行组织检查，给药组肝、脾有不同程度充血，水肿，其它脏器未见有药物引起的器质性病变。

d) 用双环铂处理人体正常纤维细胞、表皮细胞、肺癌细胞和黑色素瘤细胞，实验结果示于图 5，在一定剂量范围内，正常纤维细胞和表皮

细胞未受伤害，而肺癌细胞和黑色素瘤细胞分别被杀死 50%和 80%，显示双环铂可选择性杀死癌细胞而正常细胞无伤害。

e) 人肝癌 BEL-7402 细胞用双环铂处理后，透视电镜下观察细胞超微结构的变化。未经药物处理的肝癌细胞呈不规则多边形，表面有丰富的微绒毛，胞浆内细胞器丰满，并含有数量不等的糖原颗粒(图 6,7)。经双环铂处理的肝癌细胞呈现不同程度的退行性改变，胞浆内出现大量空泡(图 8)，脂滴增多(图 9)，直到坏死性改变，核固缩、核碎裂、核溶解，细胞器完全崩解(图 10,11)，5 天后死亡。

抗癌新药双环铂口服胶囊和针剂临床典型病例：

1. 双环铂和辅料组成的口服胶囊，患者口服胶囊含双环铂 20-30mg。

痊愈病例：

朱某，男，64 岁，膀胱癌。发现血尿激光治部复发三次后，开始服用双环铂，原 3 块 2×2cm^{2}大小肿块完全消失。两肾、膀胱未见异常。

王某，女，65 岁，肝癌，晚期，病危。此后开始服用双环铂，并静脉注射 A T 素 3 0 mg 后，肝左右瘤 4.7×3.1cm，用药 4 5 天后，缩小到 2.3×1.7cm。肿瘤消失，病治愈，生活正常。

2．双环铂水针剂， 5 ml 安瓿，双环铂含量 1 %，隔日静注 1 次，每次 2 支。双环铂水剂溶于 100ml 5% 葡萄糖 0.9%氯化钠注射液。滴毕后再用 100ml 氯化钠注射液冲滴， 6 次(12 安瓿)为一个疗程。隔两周后，进行第二疗程治疗。连续治疗 3 个疗程后，进行全面检查。

马某，男，83 岁，复发肝癌晚期转肺。此后开始服用双环铂胶囊每日四次，每次 4－6 粒，服用二个月后肺转移癌肿瘤由 2×2cm 到消失。骨转移癌肿瘤由 18×14cm 缩小为 14×11cm ，肝癌原发病灶边缘较前光滑并略有缩小。

治疗期间同时还输用双环铂针剂， 2 支/次，隔日一次，共计用药几个疗程 60 支。病人精神状态及食欲良好，体重由 59Kg 增至 61Kg，血象

治疗前后对比变化不大，治疗效果良好。

徐某，男，59岁，鼻咽癌低分化鳞癌，放疗十年后复发，鼻咽癌晚期，淋巴转移。复发时已产生 8×8cm 肿块压迫气管食道，呼吸，吞咽困难，需切开支气管用呼吸机。曾相继出现三次心脏停跳，血压降至30/50mmHg。后来，开始隔日注射双环铂针剂，2支/次 50 天内共注射50支，休息一周后继续注射，总计用量为 74 支，患者情况逐日好转，并出院，出院时血色素 8.0 克，白血球 3000，均于正常。B超查显示，肿块 15×10mm^2，9×8mm^2，6×5mm^{2}注射前后无恶心、呕吐等其他抗癌药常见反应。

杨某，男，45岁，黑色素瘤，肝肺转移，注射 36 针双环铂针剂后，上海肿瘤医院各种放、化疗无效后，使用安托可金针剂，转移瘤、肝肺癌已治愈，黑色素瘤已坏死。

李某，男，49 岁，原发性肝癌，肿瘤体积 3.3×3.3cm 左右胆管转移门脉癌栓黄胆。用双环铂针剂三个疗程 36 支，第一个疗程左肝叶肿瘤体积缩小为 3.3×3.3cm，第二疗程左肝叶肿瘤基本消失，右胆管仅扩张 0.8cm，门脉癌栓消失。第三疗程病性稳定，病人精神状态及食欲良好，血象治疗前后变化不大。周期性发烧达 10 小时左右有时病区有阵痛。

孟某，男，48岁，经 301 医院诊断为肺腺癌晚期属Ⅰ Ⅴ期，注射双环铂针剂，同时口服双环铂胶囊，咳嗽、喘、痰等症状全都消失，已基本治愈。

某国外患者，男，60岁，俄罗斯及中国医科院肿瘤医院和空军总医院确诊为肠癌肝转移，并出现黄胆，俄罗斯手术后医生建议到中国救诊，经推荐注射双环铂针剂 36 针，同时口服双环铂胶囊 36 粒，肝转移消失，现已基本治愈。

从以上大量科学实验，从离体细胞实验，临床(口服和针剂注射两种途径)结果，急毒、长期毒性以及对正常细胞的实验结论均证明式(I)所示的双

二羧酸二氨络铂衍生物(特别是双环铂和双 1，1-环丙烷二羧酸二氨络铂)是一代安全有效的抗癌新药，为人类攻克癌症带来了新的希望。

下面对附图进行简要说明：

图 1 为双环铂的红外光谱图；

图 2A 为双环铂的 ^{1}H-NMR 谱图；

图 2B 和 2C 为双环铂的负离子 ESI-MS（电喷雾质谱）图；

图 3 为双环铂的 X-光四元衍射晶胞堆积图；

图 4 为双环铂的人肝癌 BEL-7402 细胞生长曲线图；

图 5 为双环铂的选择性杀癌细胞曲线图；

图 6 为空白对照的 BEL-7402 细胞(EM×10000)；

图 7 为空白对照的 BEL-7402 细胞(EM×6000)；

图 8 为 BEL-7402 细胞空泡变样(EM×12000)；

图 9 为 BEL-7402 细胞脂肪变性(EM×12000)；

图 10 为 BEL-7402 细胞核碎裂(EM×6000)；

图 11 为 BEL-7402 细胞核碎裂(EM×8000)。

图 1 中主要峰的解释与归属：

3291cm^{-1}为 Pt←NH3 的伸缩振动峰；

2539－2992cm^{-1}缓慢小丘形升高的峰，表明双环铂中存在羧酸-COOH 基团，而不是羧酸盐的-COO$^-$基团；

1716、1704cm^{-1}的强峰为双环铂中羧酸基团中-C＝0 伸缩振动峰；

1608、1566cm^{-1}强峰为分子中-COO-Pt 中的 C＝0 伸缩振动峰；

1400cm^{-1}的强吸收峰为-C＝0 的变角振动吸收峰；

697～1317cm^{-1}指纹区的峰，不一一解释。

上述红外光谱数据是对 1,1-环丁基二羧基二氨络铂（II）（简称双环铂）的指纹表征。

图 2A 中双环铂的 ^{1}H-NMR 分析说明如下：

δ PPm	峰形	JHz	H 数	质子基团解释
1.64	5 重峰	7.5	2	结构(II)右四元环 3 位 CH_2 中 2 个磁等价的 H
1.84	5 重峰	7.5	2	结构(II)左四元环 3 位 CH_2 中 2 个磁等价的 H
2.36	3 重峰	7.5	4	结构(II)右四元环 2，4 位 2 个 CH_2 中 4 个磁等价 H
2.49	多重峰	—	—	溶剂 DMSO 中未氘氧化的 H
2.65	3 重峰	7.5	4	结构(II)右四元环 2，4 位 2 个 CH_2 中 4 个磁等价的 H
3.28	单峰	—	—	溶剂 DMSO 中微量 H_2O
4.06	单峰	—	6	结构(II)中 Pt 上两个 NH_3 6 个磁等价 H
12.61	单峰	—	2*	结构(II)中两个-COOH 磁等价 H

从上述分析数据与双环铂（II）所示结构完全符合。

双环铂分子重：515.36。

图 2B 清楚的给出 M-1 准分子离子峰 m/z 514。

在图 2C 中所有峰所代表的碎片，依据有机化合物结构是合理的。

图 4 中“ •”表示对照组，“◆”表示 10μg/ml，“×”表示 20μg/ml。

图 5 中“○”表示正常人的纤维细胞，“ • ”表示正常人的表皮细胞，“▲”表示人的黑色素瘤细胞，“□”表示人的肝癌细胞。

通过下述制备所述式（I）衍生物和其药物组合物的实施例可进一步

说明本发明：

实施例 1：双 1,1-环丁烷二羧酸二氨络铂化合物的制备

在反应瓶中加入卡铂 3.54g(10.0mmol)，加纯水 200ml，避光搅拌至全溶，搅拌下加入环丁烷二羧酸 16.2g(10.0mmol)，搅拌、溶解、旋转蒸发至干，加入乙醇 50ml，搅拌 2 小时，过滤，10ml×3 乙醇洗，蒸馏水重结晶，抽真空，自然干燥，得标题化合物。

实施例 2：双 1,1-环丙烷二羧酸二氨络铂化合物的制备

在反应瓶中加入 Ag_2SO_4 6.5g(20.8mmol)，加纯水 100ml，避光搅拌至全溶，搅拌下分批加入 Cis-$(NH_3)_2PtCl_2$ 6.2g(20.7mmol)，40℃以下水浴搅拌反应 5 小时。趁热过滤，以 10ml×3 温水洗，滤液转入反应瓶中，分批加入 35%(H_2O_2 20ml(232.6mmol)，室温搅拌反应 4 小时，升温至 60℃反应 2 小时。然后加入环丙二酸钡 12.0g(25.0mmol)，60℃搅拌反应 8 小时，趁热过滤，以 10ml×3 温水洗，滤液转入反应瓶中，旋转蒸发至干，加入乙醇 50ml，搅拌 2 小时，过滤，10ml×3 乙醇洗，蒸馏水重结晶，抽真空，自然干燥，得标题化合物。220℃分解。

实施例 3：双 1,1-环丁烷二羧酸二氨络铂化合物的制备

10.5g(61.8mmol)$AgNO_3$，加纯水 100ml，在反应瓶中搅拌至溶解，分批加入二氯二氨铂 9.3g(31.1mmol)，40℃以下搅拌反应 5 小时。趁热过滤，以 10ml×3 温水洗，滤液转入反应瓶中，分批(15ml+15ml×3)加入 35% H_2O_2 30ml(349.0mmol)，室温搅拌反应 5 小时，升温至 60℃反应 2 小时。然后加入环丁二酸 12.0g(69.0mmol)，60℃搅拌反应 8 小时，趁热过滤，以 10ml×3 温水洗，滤液转入反应瓶中，旋转蒸发至干，加入乙醇 50ml，搅拌 2 小时，过滤，10ml×3 乙醇洗，蒸馏水重结晶，抽真空，自然干燥，得标题化合物。

实施例 4：双 1,1-环丁烷二羧酸二氨络铂化合物的制备

采用与实施例 3 相同的步骤，采用 15.0g 二碘二氨铂代替 9.3g 二氯

二氨铂，得到标题化合物。

实施例 5：双 1,1-环戊烷二羧酸二氨络铂化合物的制备

10.5g(61.8mmol)$AgNO_3$，加纯水 100ml，在反应瓶中搅拌至溶解，分批加入二氯二氨铂 9.3g(31.1mmol)，40℃以下搅拌反应 5 小时。趁热过滤，以 10ml×3 温水洗，滤液转入反应瓶中，分批(15ml+15ml×3)加入 35% H_2O_2 30ml(349.0mmol)，室温搅拌反应 5 小时，升温至 60℃反应 2 小时。然后加入环戊二酸钡 15.6g(53.0mmol)，60℃搅拌反应 8 小时，趁热过滤，以 10ml×3 温水洗，滤液转入反应瓶中，旋转蒸发至干，加入乙醇 50ml，搅拌 2 小时，过滤，10ml×3 乙醇洗，蒸馏水重结晶，抽真空，自然干燥，得标题化合物。

实施例 6：双 1,1-环己烷二羧酸二氨络铂化合物的制备

6.7g(39.4mmol)$AgNO_3$，加纯水 100ml，在反应瓶中搅拌至溶解，分批加入二氯二氨铂 6.2g(19.6mmol)，40℃以下搅拌反应 5 小时。趁热过滤，以 10ml×3 温水洗，滤液转入反应瓶中，分批加入 35% H_2O_2 20ml(232.6mmol)，室温搅拌反应 5 小时，升温至 60℃反应 2 小时。然后加入环己二酸 3.7g(21.5mmol)。45℃搅拌下，缓慢滴入水合肼 1ml(10.3mmol)。2 小时内滴完，再反应 6 小时，旋转蒸发至干，真空脱水干燥 5 小时。加入甲醇 50ml 搅拌 2 小时，过滤，10ml×3 甲醇洗，蒸馏水重结晶，抽真空干燥，得标题化合物。

实施例 7：双 1,1-环丁烷二羧酸二氨络铂的制备及精制

12.4g 二氯二氨铂悬浮于 800ml 纯水中，避光搅拌下加入化学计量的 1N $AgNO_3$溶液，40℃反应 4 小时。冰箱静置过滤。过滤除去沉淀物(回收待用)。向滤液中加入化学计量的环丁烷二羧酸，60℃搅拌反应 16 小时 ，减压旋转蒸发至微晶出现，冰箱静置 48 小时，过滤，收集晶体，得粗产品。粗品经蒸馏水重结晶精制纯化得精品收率 90%，熔点 182℃～184℃。

制剂实施例 1：注射剂

50g 双环铂溶解于 5000ml 纯净水中，7.5g 医用炭吸附过滤，用 2um 滤膜过滤二次，分装于 1000 支 5ml 安瓿中，灼烧封口得注射剂。

制剂实施例 2：口服剂

24g 双环铂、1600g 医用淀粉和 120g 维生素 C，在搅拌机中混合粉碎，消毒，分装于 5000 粒口服胶囊中，得口服制剂。

上述实施例 1、3、4 和 7 制备的式(II)双环铂为无色针状晶体，胶束应用中制成白色微晶粉末。通过熔点、溶解度、pH 值测定，碳、氢、氮微量元素分析，ICP-EAS 法铂含量分析，差热、热失重分析，红外光谱、紫外光谱、激光拉曼光谱、薄层色谱、^{1}H、^{13}C、^{195}Pt 核磁共振谱、X一四元衍射等多种现代物理、化学方法，对式(II)双环铂的组成、结构、纯度进行了充分地测试与研究。式(II)的双 1，1-环丁烷二羧酸二氨络铂的 IR、^{13}C-NMR、TLC、X=ray 单晶结构分析等谱图实验数据证实其为新型笼状化合物，红外光谱、^{1}H-NMR、MS 和 X一四元衍射图参见附图 1～3 及下表 6。

表 6 X-光四元衍射测度结果

单晶尺寸(mm)	0.2×0.2×0.3
晶系	单斜
空间群	P21/C
晶胞参数	a = 5.679(2)A
	b = 12.107(2)A
	c = 23.430(5)A
	β = 95.25(2)°
体积	1604.3(7)A^3
密度	2.123Mg/m^3

吸收系数	$8.876mm^{-1}$
晶胞分子数	4

本发明的新的式(I)双二羧酸二氨络铂衍生物具有出人意料地治疗癌症的效果。与现有铂类抗癌药相比，本发明式(I)双二羧酸二氨络铂衍生物的特点是：

该化合物通过分子内四个氢键形成了笼状分子结构，将铂原子锁于笼中，使化合物有一定的稳定性，又削弱了水分子的进攻，保证了水中的稳定性。很好的克服了铂系化合物毒性大、水中不稳定的致命弱点，又很好地保留了其药效显著的优点，使水溶性大为改善、水中稳定，可以皮下、腹腔、静脉注射及口服给药。不但具有较高铂类抗癌药类的抗癌活性而且大大降低了其毒性。而且克服了其水中的不稳定性。其显著特点如下，以式(II)的双环铂化合物为例：

1、抗癌活性高，如对乳腺癌细胞 IC_{50} 卡 铂 9.30μg/ml

双环铂 2.80μg/ml

对肝癌细胞 BL7402 IC_{50} 卡 铂 8.45μg/ml

双环铂 1.30μg/ml

2、抗癌谱广对泌生癌、头颈癌、鼻咽癌、乳腺癌、肺癌、肝癌、胰腺癌、胃癌、肠癌、淋巴癌等均有显著疗效。

3、毒性低，LD_{50} 腹腔注射 顺 铂 13mg/Kg

卡 铂 130mg/Kg

双环铂 283mg/Kg

口 服 双环铂 500mg/Kg

(顺铂和卡铂口服无效)

临床试验毒性反应为 0 度至 1 度(按 WHO 五度分类)，临床患者无不良反应。

4．水溶性好，稳定性好，水溶解度(g/100ml) 顺 铂 0.2

卡 铂 1.5

双环铂 4.0

顺铂和卡铂溶解于水后一天失效，而式(II)的双环铂化合物制成水剂可长期保存不失效。

5．口服有效，双二羧酸二氨络铂衍生物不但注射有效，而且口服也有效。例如，以式(II)的双环铂化合物为主剂，辅以可药用的赋形剂制成的胶囊，经过长期、大量临床口服试用，疗效显著。

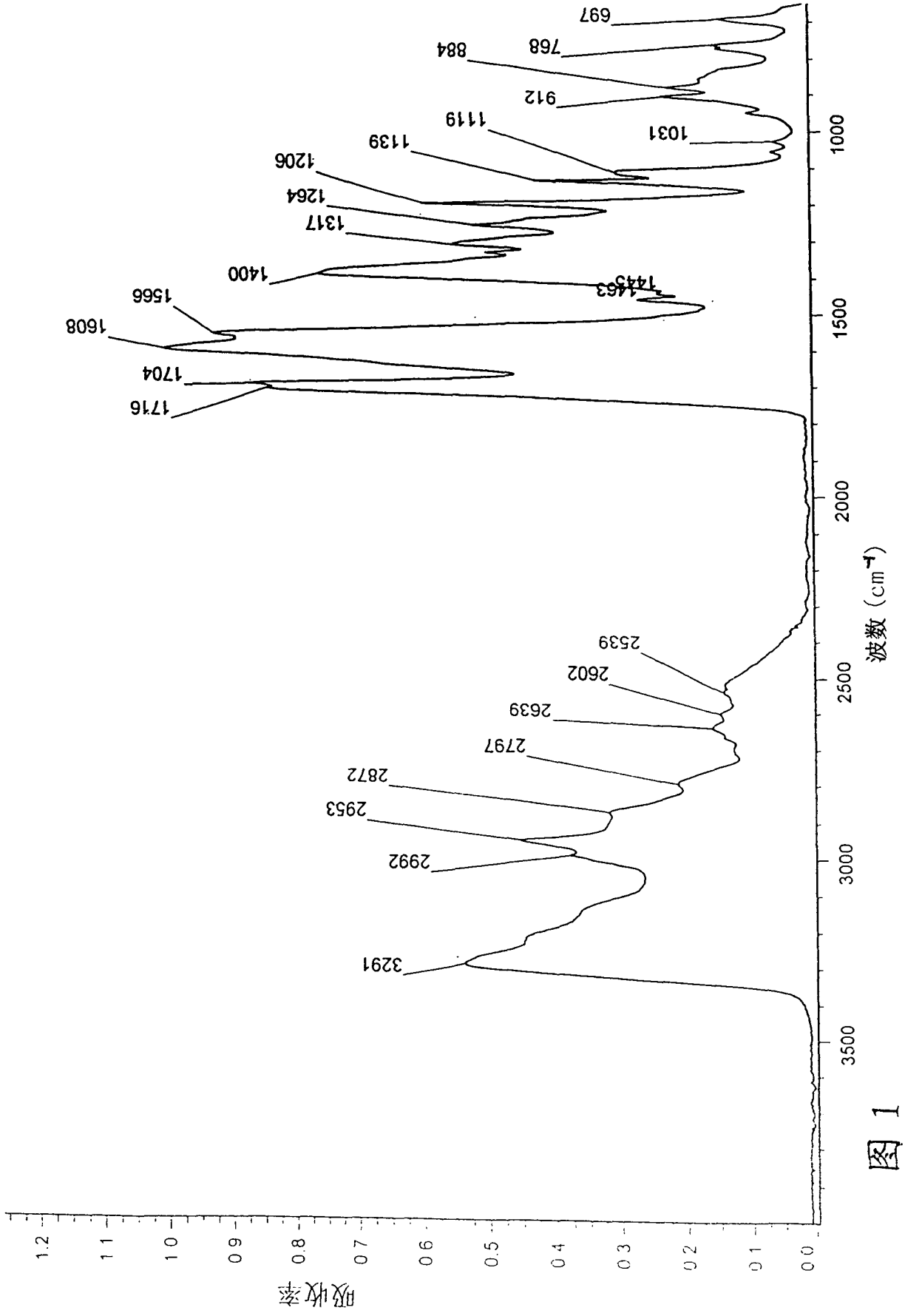

697
768
884
912
1031
1119
1139
1206
1264
1317
1400
1445
1463
1566
1608
1704
1716
2539
2602
2639
2797
2872
2953
2992
3291
吸收率
波数 (cm⁻¹)

图 1

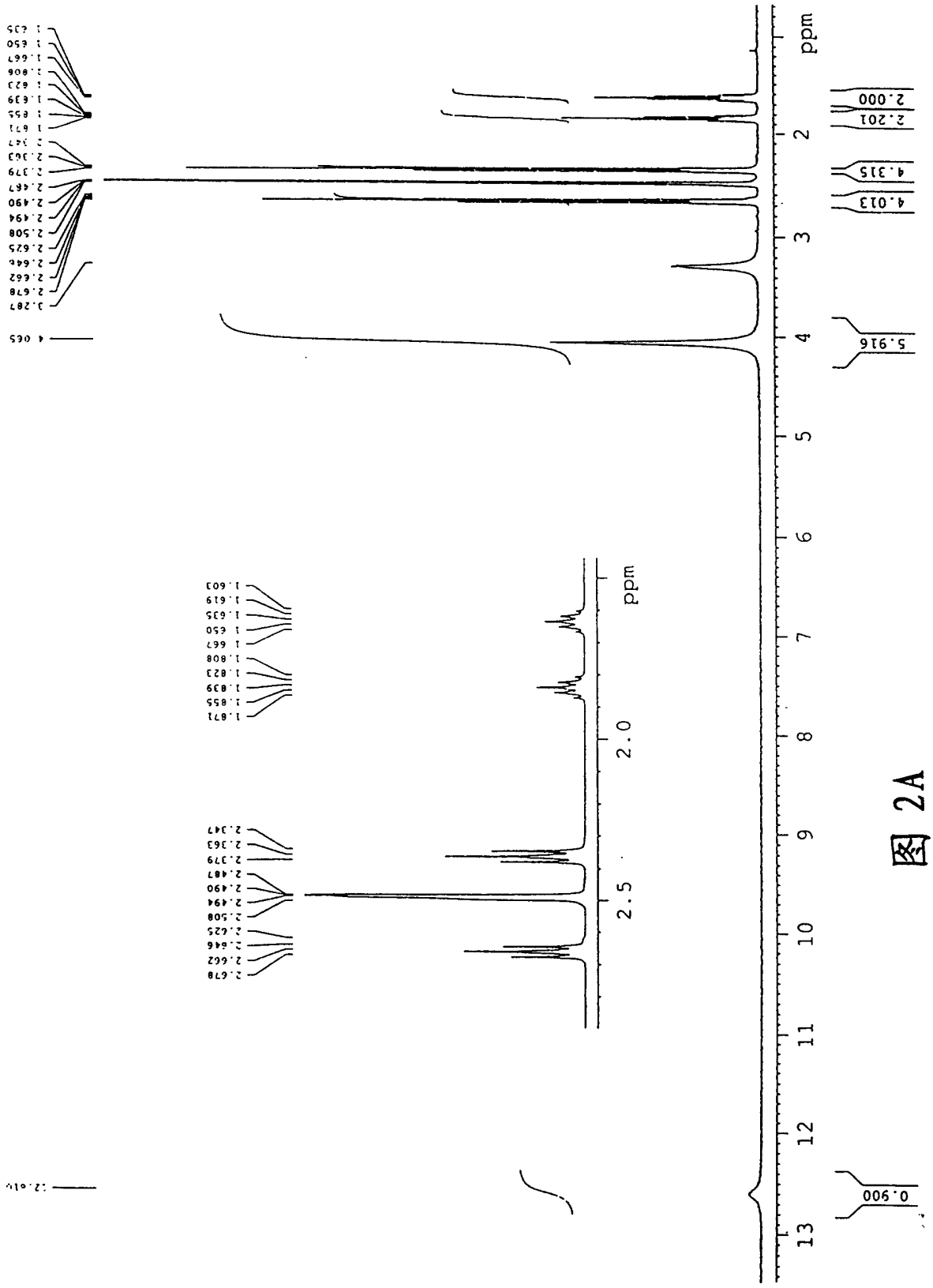


图 2A

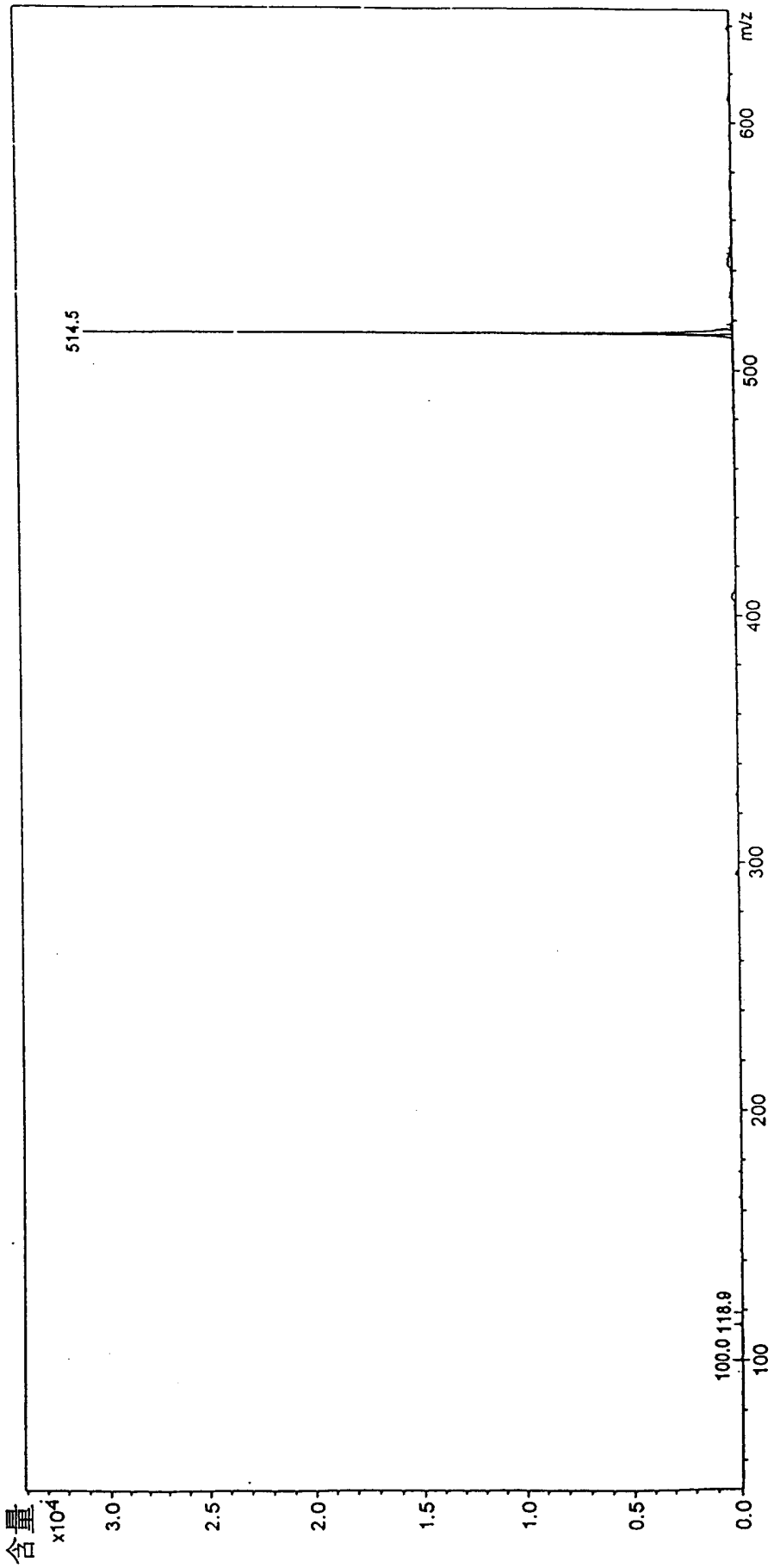

514.5
100.0
118.9
m/z
600
500
400
300
200
100
含量
x10⁴
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0

图 2B

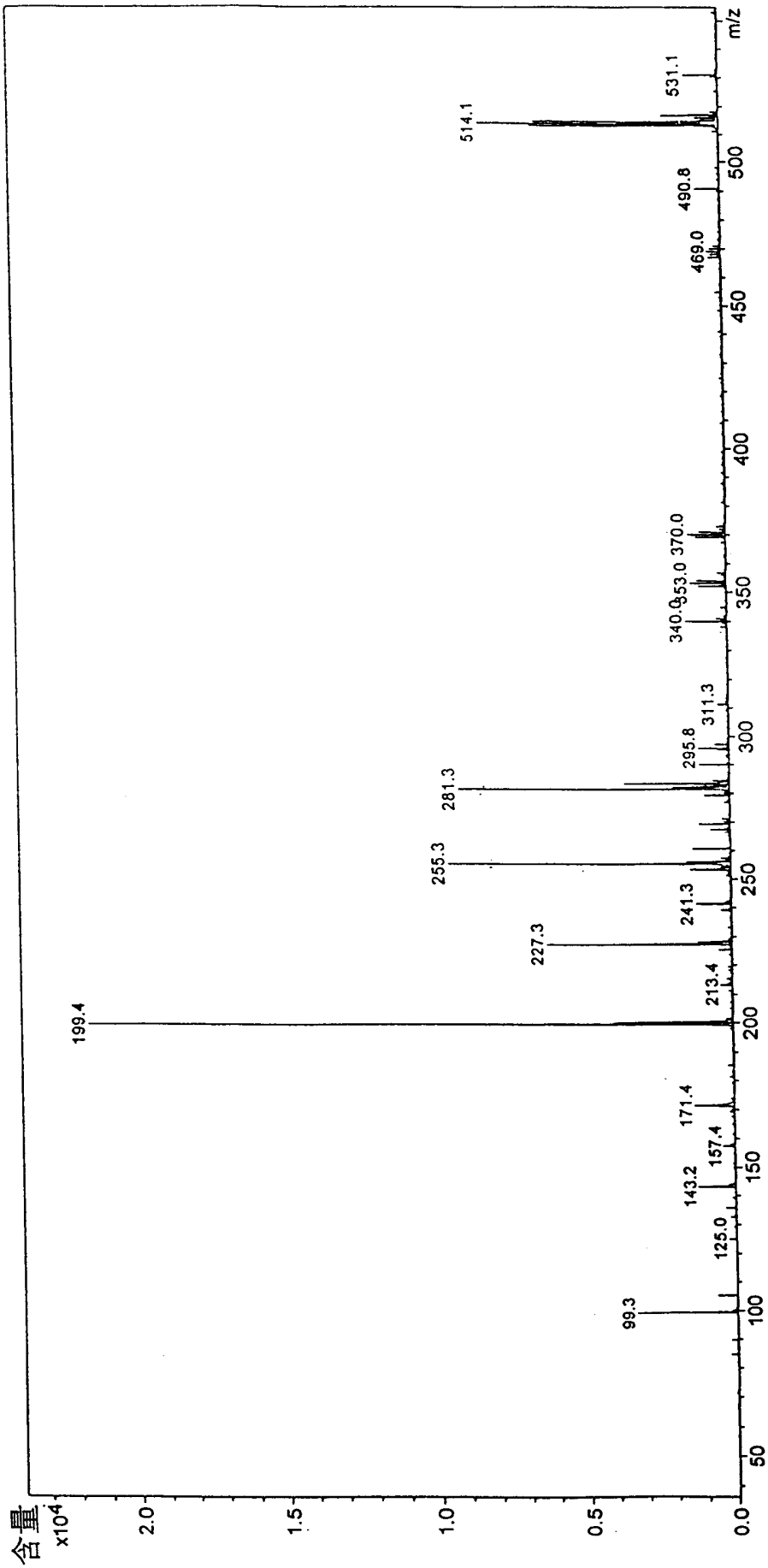

含量
x10⁴
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
m/z
50
100
150
200
250
300
350
400
450
500
199.4
514.1
531.1
281.3
255.3
227.3
241.3
213.4
171.4
157.4
143.2
125.0
99.3
295.8
311.3
340.0
353.0
370.0
469.0
490.8

图2C

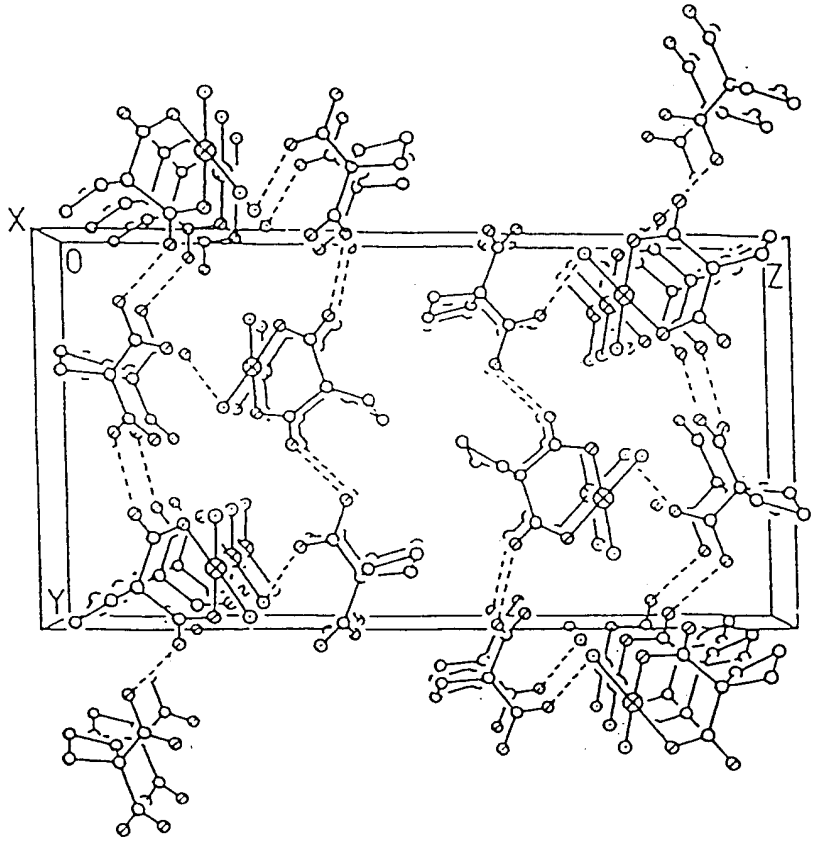


图 3

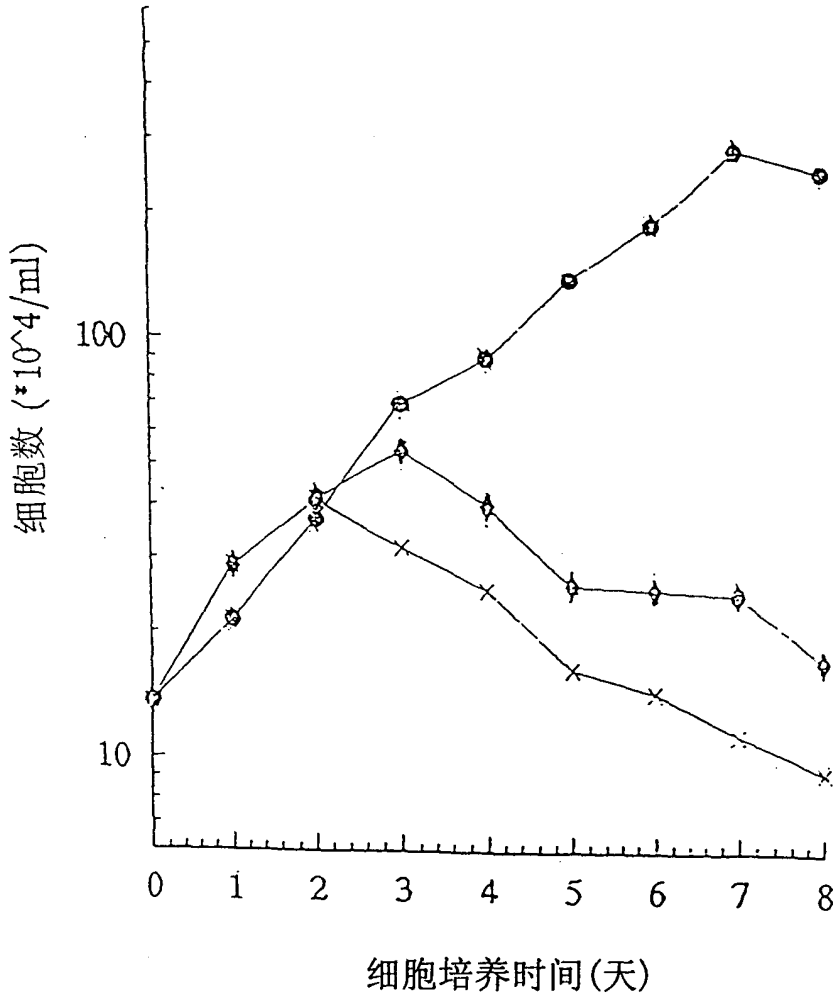


图 4

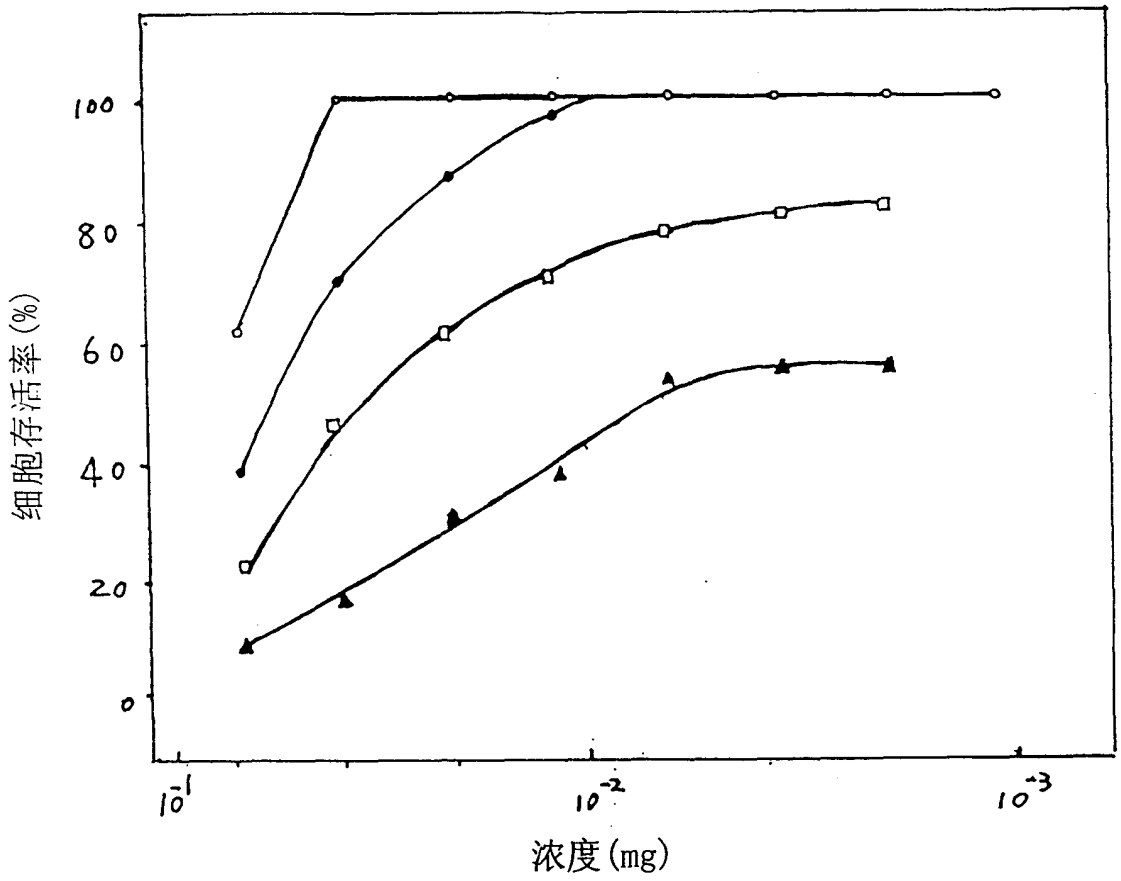


图 5

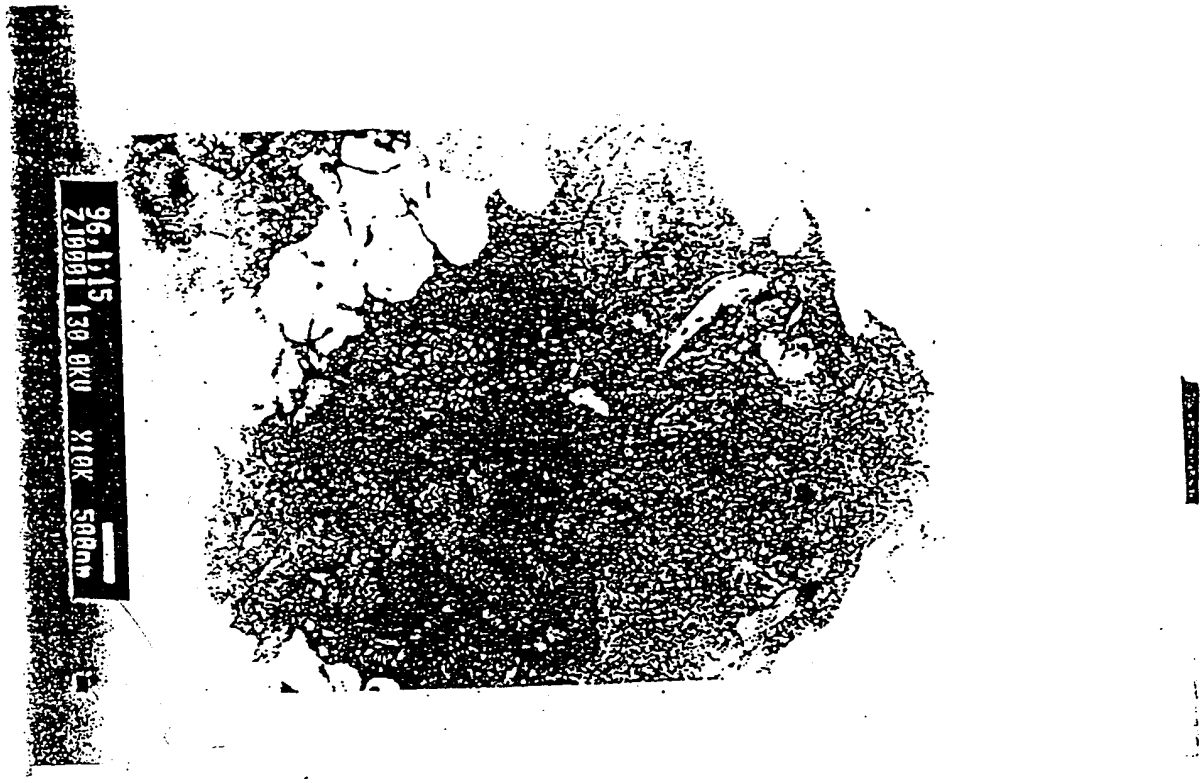


图 6



图7

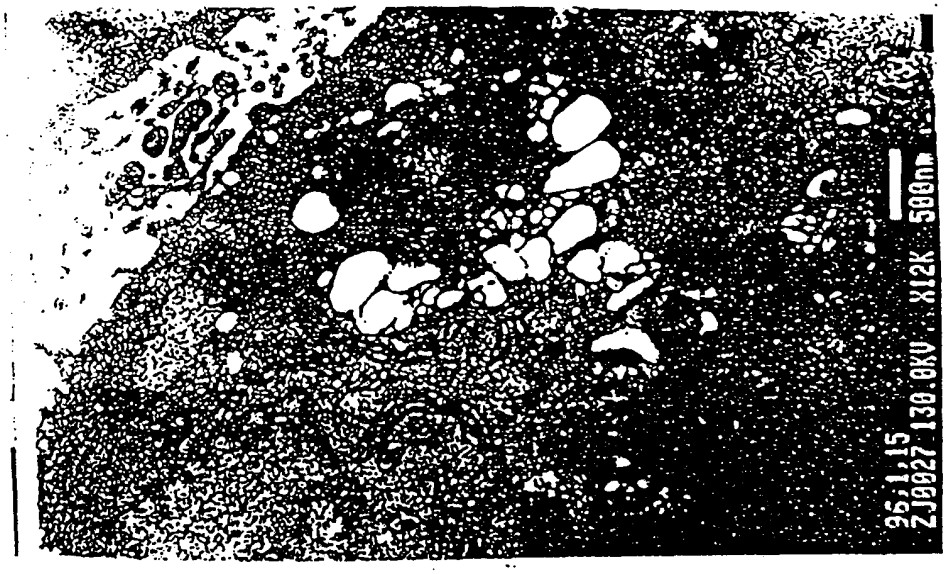


图 8



图 9



图 10

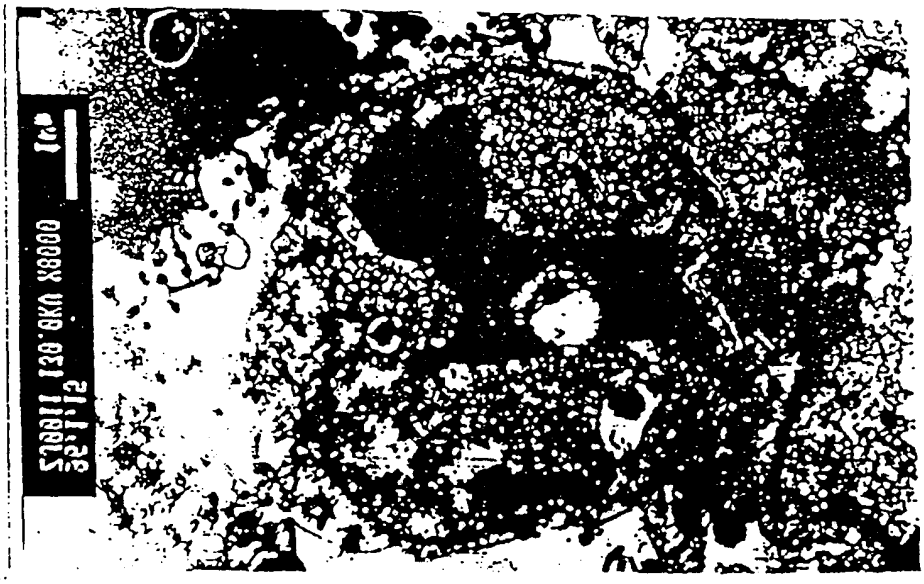


图 11