

[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 200410067714.0

[51] Int. Cl.

A61K 31/166 (2006.01)

A61K 31/675 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

[43] 公开日 2006年5月10日

[11] 公开号 CN 1768732A

[22] 申请日 2004.11.2

[21] 申请号 200410067714.0

[71] 申请人 上海富海科申药业有限公司

地址 201203 上海市浦东新区张江高科技园
区碧波路328号C座4楼

[72] 发明人 娄实 赵新永 万维勤 狄平平
曹新

权利要求书1页 说明书5页

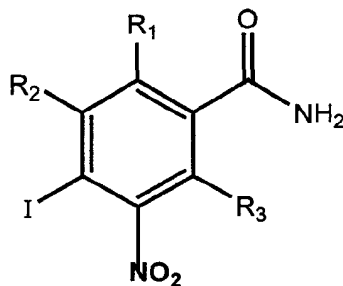
[54] 发明名称

芳香硝基化合物在制备治疗肿瘤药物中的应用

[57] 摘要

本发明涉及芳香硝基化合物在制备治疗肿瘤药物中的应用，特别是合并烷化剂类抗肿瘤药物在治疗肿瘤特别是恶性肿瘤中的新应用。芳香硝基化合物单用或合并烷化剂类抗肿瘤药物有效地抑制或杀死恶性肿瘤。特别优选的芳香硝基化合物对肿瘤细胞的抑制率达约35%或更高。本发明的物质药理作用强，采用常规药物制备方法，即可制得药学上可接受形式的组合物。

1. 芳香硝基化合物在制备治疗肿瘤药物中的应用，其中芳香硝基化合物具有下列通式结构式：



或其药学上可接受形式的组合物，其中：

R₁, R₂ 和 R₃ 各自独立地选自： 氢基、羟基、卤素、氰基、硝基、(C₁-C₆)烷基、(C₁-C₆)烷氧基、(C₃-C₇)环烷基或苯基。

2. 根据权利要求1所述的应用，其中所述的芳香硝基化合物为4-碘-3-硝基苯甲酰胺。
3. 根据权利要求1或2所述的应用，其中给予芳香硝基化合物的途径为口服或/和非胃肠道给药方式。
4. 根据权利要求1或2所述的应用，其中芳香硝基化合物药学上可接受形式的组合物，其特征在于含有能增加药物溶解度的药学上可接受的载体、溶剂或赋形物。
5. 根据权利要求1或2所述的应用，其中给予芳香硝基化合物可以单独进行或在给予烷化剂类抗肿瘤药物同时、分别或按顺序进行。
6. 根据权利要求1或2所述的应用，其中给予芳香硝基化合物是在给予烷化剂类抗肿瘤药物同时、分别或按顺序进行。
7. 根据权利要求5所述的应用，其中所述的烷化剂类抗肿瘤药物为氮芥、环磷酰胺、异环磷酰胺、噻替派、白消安、氮甲、消卡芥（消瘤芥）、卡莫司汀（卡氮芥）、罗莫司汀（环己亚硝脒）、司莫司汀（甲环亚硝脒）、丙卡巴肼（甲基苄肼）、达卡巴嗪（甲氮咪唑胺）、六甲密胺或美法仑。
8. 根据权利要求7所述的应用，其中优选的烷化剂类抗肿瘤药物为环磷酰胺。
9. 根据权利要求1或2所述的应用，其中给予芳香硝基化合物的量，达到足以有效地抑制或退行肿瘤的生长。
10. 根据权利要求1或2所述的应用，其中恶性肿瘤选自癌和肉瘤。

芳香硝基化合物在制备治疗肿瘤药物中的应用

技术领域

本发明涉及一般肿瘤治疗领域。更具体的是，本发明涉及用芳香硝基化合物单独或合并烷化剂类抗肿瘤药物在有效治疗肿瘤中的应用。

背景技术

恶性肿瘤的生长由于它们独特的特性对现代医学形成了严重的挑战。这些特性包括：不可控制的细胞繁殖导致恶性组织无规则地生长，入侵局部甚至远端组织的能力，缺乏变异，缺乏检测的症状。更重要的是，缺乏有效的治疗和预防方法。

癌症可在任何年龄段的任何器官中的任何组织中发生。癌症的病因学定义是不清楚的，但是诸如基因感受性、染色体断裂不规则、病毒、环境因素和免疫失调等机制都与恶性细胞生长和变异有关。

癌症的化学药物疗法是治疗癌症的主要手段之一。抗肿瘤药物可分为很多类别：包括烷化剂、拓扑异构酶 I 抑制剂和微管蛋白酶抑制剂等。

烷化剂使细胞蛋白质和核酸烷化以防止细胞复制，放入细胞代谢，最终导致细胞死亡。典型的烷化剂有氮芥、环磷酰胺等。与烷化剂治疗有关的毒性包括恶心、呕吐、秃头、出血性膀胱炎、肺部纤维化和形成急性白血病的危险增加。

嘌呤、嘧啶和叶酸拮抗剂对细胞循环和有特异性，为了促进抗肿瘤效果，它们要求细胞处于细胞复制阶段并在复制的 DNA 合成阶段。

叶酸盐拮抗剂，如氨甲喋呤与细胞内酶二氢叶酸还原酶紧密结合，最终由于嘧啶不能合成而导致细胞死亡。这些化合物的毒性包括秃头、呕吐、恶心、抑制骨髓、中枢运动失调和常规症状。

植物生物碱，如长春新碱等通常抑制有丝分裂和 DNA 合成和依赖 RNA 的蛋白质合成。这些药物的毒性类似于上述药物的毒性，包括骨髓抑制、外周神经疾病、呕吐、恶心和秃头等。

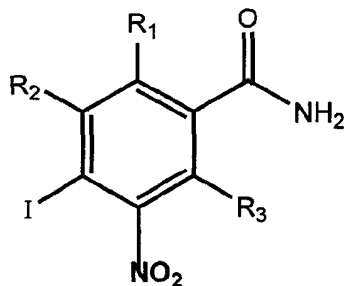
拓扑异构酶抑制类，如羟喜树碱为 DNA 合成抑制剂，实验研究表明它主要作用于 DNA 合成期（即 S 期），对 G₀ 期细胞没有作用，对 G₁、G₂ 与 M 期细胞有轻微杀伤力。常见副作用包括骨髓抑制、外周神经疾病、呕吐、恶心和秃头等。

因此，人们希望制药业提供安全、低毒的化疗药物，这些药物能有效地抑制和/禁止肿瘤细胞的繁殖和生长，并且希望提供安全、有效且服用方便的化疗用药。

发明内容

本发明提供了芳香硝基化合物在制备治疗肿瘤药物中的应用，该应用的特征是单独给予芳香硝基化合物药学上可接受形式的组合物，或与烷化剂类抗肿瘤药物合并给药，芳香硝基化合物的给药量达到足以有效地抑制或退行肿瘤生长的作用，其中芳香硝基化合物具有下列

通式结构式：



或其药学上可接受形式的组合物，其中：

R_1 , R_2 和 R_3 各自独立地选自：氢基、羟基、卤素、氰基、硝基、 (C_1-C_6) 烷基、 (C_1-C_6) 烷氧基、 (C_3-C_7) 环烷基或苯基。其中一个特别优选的化合物为 4-碘-3-硝基苯甲酰胺。

芳香硝基化合物，特别是 4-碘-3-硝基苯甲酰胺，是 PARP 抑制剂。PARP 称为聚(ADP-核糖基)聚合酶，又称为 ADP-核糖基转移酶(ADPRT)，是一位于多数真核细胞核内的色素结合酶。该酶有三个结构域分别参与结合 DNA, NAD 和酶自身的核糖基化。DNA 结合域有二个锌指结构 ($ZnFn$)，通过锌指结构中的 CCHC(氨基酸残基 cys,cys,his,cys)螯合锌维持着该结构的稳定。PARP 催化 NAD 分子中的 ADP-核糖基聚合化产生能和各种核蛋白，包括 PARP 本身共价结合的多聚 ADP-核糖基。在正常细胞中，PARP 具有适应功能，参与 DNA 的正常转录和复制。然而在肿瘤细胞，由于异常 DNA (突变、裂解、过度复制) 的存在，PARP 的适应功能异化。此时，PARP 通过其 DNA 结合域的锌指结构准确地和 DNA 结合，排斥电荷，导致 PARP 和 DNA 解离，DNA 修复开始，细胞分裂增速，细胞呈现恶性表型。如果抑制 PARP 和 DNA 解离，将能阻断 DNA 复制，诱导细胞凋亡 (机体通常凭借此过程驱除损伤细胞)。对 poly ADP-ribose polymerase(PARP)作用的理解是导致开发药物芳香硝基化合物在制备治疗肿瘤药物中的应用的的关键。在正常细胞，PARP 对 DNA 的复制和转录具有调适性功能。然而在肿瘤细胞 PARP 不具有上述功能，应为存在异常 DNA (如突变、断裂或异常扩增)。

4-碘-3-硝基苯甲酰胺作为 PARP 抑制剂，在单用体内抗肿瘤试验中显示了较强的细胞生长抑制活性及细胞毒性。

但是，发明安全有效和使用方便的芳香硝基化合物合并其他抗肿瘤药的方案，能协同抑制和/禁止肿瘤细胞的繁殖和生长，从而达到更佳的抗肿瘤效果是本发明的另一目的。

在化疗药物中，具有癌细胞 DNA 损伤功能的药物占有很大比例，如包括烷化剂抗肿瘤药环磷酰胺等。但这类药物的局限性之一在于抗药性的产生，这是由于药物所造成的癌细胞 DNA 损伤导致核酶 PARP 的大量激活，而 PARP 的激活则促进了 DNA 的修复 (PARP 是 DNA 修复酶体系中的一个重要因素，DNA 单链的断裂导致 PARP 的激活进而引发 DNA 的修复)，从而削弱了药物对癌细胞的杀伤作用。正是基于 PARP 的以上生物学功能 (PARP 的生物功能具有多样性)，所以，芳香硝基化合物较好的合并用药对象是烷化剂类抗肿瘤药。

可以达到协同抗肿瘤目的的烷化剂类抗肿瘤药物有氮芥、环磷酰胺、异环磷酰胺、噻替派、白消安、氮甲、消卡芥 (消瘤芥)、卡莫司汀 (卡氮芥)、罗莫司汀 (环己亚硝脒)、司莫司汀 (甲环亚硝脒)、丙卡巴肼 (甲基苄肼)、达卡巴嗪 (甲氮咪唑胺)、六甲密胺、美法仑。所有以上烷化剂类抗肿瘤药都是已知的，并且在临床上有应用。本发明中，环磷酰胺是优选

的烷化剂类抗肿瘤药。

本发明还提供在肿瘤治疗中合并芳香硝基化合物以及烷化剂类抗肿瘤药给药，可以同时、分别或按顺序使用。

本发明进一步的一个方面是提供了治疗哺乳动物（包括人类）肿瘤疾病状态的方法，其包括单独给予芳香硝基化合物以及合并烷化剂类抗肿瘤药物，其中给予芳香硝基化合物的量，达到足以有效地抑制或退行肿瘤的生长。

本发明所称“协同抗肿瘤作用”是指抑制肿瘤的生长，其包括合并给予哺乳动物有效量的芳香硝基化合物以及烷化剂类抗肿瘤药物。

本发明所称“给药”是指口服或/和非胃肠道给药方式。“非胃肠道”是指静脉，皮下以及肌肉内给药。在本发明中芳香硝基化合物可以单独或与烷化剂类抗肿瘤药物同时给药，或者也可以任意的顺序，依次给予这些化合物。比较可取的做法是根据以下因素对实际中所采用的方法以及给药的顺序进行适当变化，这些因素包括：所应用的芳香硝基化合物的可以含有能增加其溶解度的药学上可接受的载体、溶剂和赋形物的特定配方，所应用的烷化剂类抗肿瘤药物的特定配方，所治疗的特定肿瘤模型以及所治疗的特定宿主。

使用芳香硝基化合物药学上可接受形式的组合物。该组合物含有能增加药物溶解度的药学上可接受的载体、溶剂和赋形物。

在本发明的应用中，其中给予芳香硝基化合物的量，达到足以有效地抑制或退行肿瘤的生长。对于4-碘-3-硝基苯甲酰胺，通常的用量是约5-200 mg/kg，优选的用量是约5-100 mg/kg。

本发明中抗肿瘤治疗特别适合于治疗哺乳动物（包括人类）的癌和肉瘤。优选的是乳腺肿瘤、卵巢肿瘤、肺肿瘤、结肠肿瘤等。

本发明的物质可以采用美国专利5464871公开的制备方法获得。

具体实施方式

下列实施例列举了本发明的特征，它将说明但不限制本发明。

实施例1：制剂

1. 胶囊

	每 1000 粒用量
主药	150 g
乳糖	80 g
预胶化淀粉	65 g
7%PVP 或淀粉浆或 HPMC	适量
低取代羟丙基纤维素	18 g
微粉硅胶	2.0 g

主药研细过筛后与乳糖、预胶化淀粉混合均匀，加入粘合剂溶液制成软材，制粒，湿颗粒干燥。整粒后加入处方中其余组分混匀，装胶囊即可。

2. 注射剂

按下列配方制备注射剂(1000ml):

按 1000ml 计	
主药	10g
PEG400	400ml
乙醇	100
生理盐水	加至 1000ml

按处方配制 PEG400:乙醇溶剂, 主药加入该溶剂中, 加热使溶解, 分装, 灭菌后即得。

实施例2: 4-碘-3-硝基苯甲酰胺静脉给药单用和合并环磷酰胺对小鼠Lewis肺癌(sc)模型的疗效

无菌条件下生长旺盛的小鼠Lewis瘤源, 以生理盐水稀释成癌细胞匀浆, 分别皮下接种, 接种24小时后, 静脉注射, 设二个剂量组, 剂量分别为25mg/kg/d、12.5mg/kg/d。每天1次, 连续7天, 4-碘-3-硝基苯甲酰胺合并组分别先于环磷酰胺15分钟给药。

阴性对照给予试验组高剂量稀释度相同的等体积溶液。阳性对照环磷酰胺 15 mg/kg 腹腔给药, 每天1次, 连续7天。

实验结束时取出肿瘤称重与阴性对照组相比, 按下式计算各组的抑瘤率:

$$\text{抑瘤率}\% = [(\text{对照组肿瘤重} - \text{给药组肿瘤重}) / \text{对照组肿瘤重}] \times 100$$

4-碘-3-硝基苯甲酰胺以25mg/kg/d、12.5mg/kg/d剂量iv×7qd, 单独和分别合并环磷酰胺15mg/kg ip×7qd对小鼠Lewis肺癌的抑瘤率分别为41.43%、35.93%、82.43%、76.50%。环磷酰胺15mg/kg ip×7qd单独给药的疗效为42.14%, 详见表1。

合并效果按下列公式计算:

$$Q = [\text{合并用药抑瘤率} / (\text{单独用药抑瘤率之和} - \text{单独用药抑瘤率之积})]$$

合并效果判断标准: 当Q>1时合并用药有协同作用。

表1. 4-碘-3-硝基苯甲酰胺静脉给药单用和合并环磷酰胺对小鼠Lewis肺癌(sc)模型的疗效

组别	剂量 mg/kg/d	给药 方案	动物数 (只)	动物体重 (g) 始/末	肿瘤重 (g) X±SD	抑瘤率 %	合并效果 Q
阴性对照		iv×7qd	20	20.6/24.8	2.80±0.35		
4-碘-3-硝基- 苯甲酰胺	25	iv×7qd	10	20.7/23.9	1.64±0.19	41.43	
4-碘-3-硝基- 苯甲酰胺	12.5	iv×7qd	10	20.4/24.2	1.79±0.16	35.93	
4-碘-3-硝基- 苯甲酰胺+ 环磷酰胺	25+ 15	iv×7qd+ ip×7qd	10	20.6/22.7	0.49±0.23	82.43	1.25 有协同作用

4-碘-3-硝基- 苯甲酰胺+	12.5+	iv×7qd+	10	20.4/22.4	0.66±0.16	76.50	1.22 有协同作用
环磷酰胺	15	ip×7qd					
环磷酰胺	15	ip×7qd	10	20.4/23.2	1.62±0.21	42.14	

以上试验结果说明, 4-碘-3-硝基苯甲酰胺静脉给药单用和合并环磷酰胺对小鼠Lewis肺癌(sc)模型有显著的疗效。

实施例 3: 4-碘-3-硝基苯甲酰胺灌胃给药单用和合并环磷酰胺对小鼠 Lewis 肺癌 (sc) 模型的疗效

无菌条件下生长旺盛的小鼠Lewis瘤源, 以生理盐水稀释成癌细胞匀浆, 分别皮下接种, 接种24小时后, 灌胃给药, 剂量为40mg/kg/d。每天 1 次, 连续7天, 4-碘-3-硝基苯甲酰胺灌胃途径先于环磷酰胺 30 分钟给药。

阴性对照采用0.5% CMC-Na溶液, 给药方案同试验组。阳性对照环磷酰胺15 mg/kg 腹腔给药, 每天 1 次, 连续 7 天。

实验结束时取出肿瘤称重与阴性对照组相比, 按下式计算各组的抑瘤率:

$$\text{抑瘤率}\% = [(\text{对照组肿瘤重} - \text{给药组肿瘤重}) / \text{对照组肿瘤重}] \times 100$$

4-碘-3-硝基苯甲酰胺以混悬剂40mg/kg/d剂量ig×7qd, 单独和分别合并环磷酰胺15mg/kg ip×7qd对小鼠Lewis肺癌的抑瘤率分别为38.23%, 75.23%。环磷酰胺15mg/kg ip×7qd单独给药的疗效为44.06%, 详见表2。

合并效果按下列公式计算:

$$Q = [\text{合并用药抑瘤率} / (\text{单独用药抑瘤率之和} - \text{单独用药抑瘤率之积})]$$

合并效果判断标准: 当Q>1时合并用药有协同作用。

表2. 4-碘-3-硝基苯甲酰胺灌胃给药单用和合并环磷酰胺对小鼠Lewis肺癌 (sc) 模型的疗效

组别	剂量 mg/kg/d	给药 方案	动物数 (只)	动物体重 (g) 始/末	肿瘤重 (g) X±SD	抑瘤率 %	合并效果 Q
阴性对照		ig×7qd	20	20.8/26.3	2.86±0.34		
4-碘-3-硝基- 苯甲酰胺	40	ig×7qd	10	20.6/25.6	1.77±0.12	38.23	
4-碘-3-硝基- 苯甲酰胺+	40+	ig×7qd +	10	20.5/23.7	0.71±0.15	75.23	1.15 有协同作用
环磷酰胺	15	ip×7qd					
环磷酰胺	15	ip×7qd	10	20.4/24.4	1.60±0.14	44.06	

以上试验结果说明, 4-碘-3-硝基苯甲酰胺灌胃给药单用和合并环磷酰胺对小鼠 Lewis 肺癌 (sc) 模型有显著的疗效。