

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 01811477.6

[51] Int. Cl.

A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/4025 (2006.01)
A61K 33/24 (2006.01)
A61K 31/555 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

[45] 授权公告日 2009 年 4 月 22 日

[11] 授权公告号 CN 100479860C

[22] 申请日 2001.6.20 [21] 申请号 01811477.6

[30] 优先权

[32] 2000.6.23 [33] GB [31] 0015447.6

[86] 国际申请 PCT/EP2001/007064 2001.6.20

[87] 国际公布 WO2001/097790 英 2001.12.27

[85] 进入国家阶段日期 2002.12.20

[73] 专利权人 内尔维阿诺医学科学有限公司

地址 意大利米兰

[72] 发明人 M·C·R·格罗尼 P·科兹

I·伯利亚

[56] 参考文献

WO9934796A 1999.7.15

CN1226232A 1999.8.18

WO9950266A 1999.10.7

WO9821202A 1998.5.22

审查员 豆波建

[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 唐伟杰

权利要求书 8 页 说明书 9 页

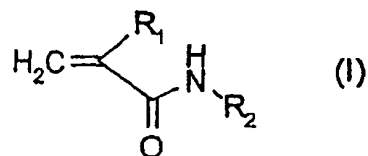
[54] 发明名称

包含取代的丙烯酰基偏端霉素衍生物和烷基
化剂的抗肿瘤联合疗法

[57] 摘要

本发明提供丙烯酰基偏端霉素衍生物，特别是如本说明书中所列的式(I)的 α -溴-丙烯酰基偏端霉素衍生物和 α -氯-丙烯酰基偏端霉素衍生物与烷基化剂在肿瘤治疗中的联合用途。本发明还提供所述联合用药物在通过抑制血管发生治疗或预防转移瘤或治疗肿瘤中的用途。

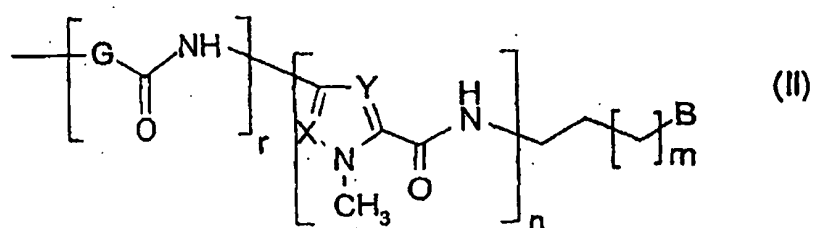
1. 药物组合物, 它包含药学可接受的载体或赋形剂以及作为活性组分的式(I)的丙烯酰基偏端霉素衍生物或其药学可接受的盐和烷化剂, 其中式(I)的结构式如下:



其中:

R_1 是溴原子或氯原子;

R_2 是如式(II)所示的偏端霉素或偏端霉素样结构:



其中:

m 是 0-2 的整数;

n 是 2-5 的整数;

r 是 0 或 1;

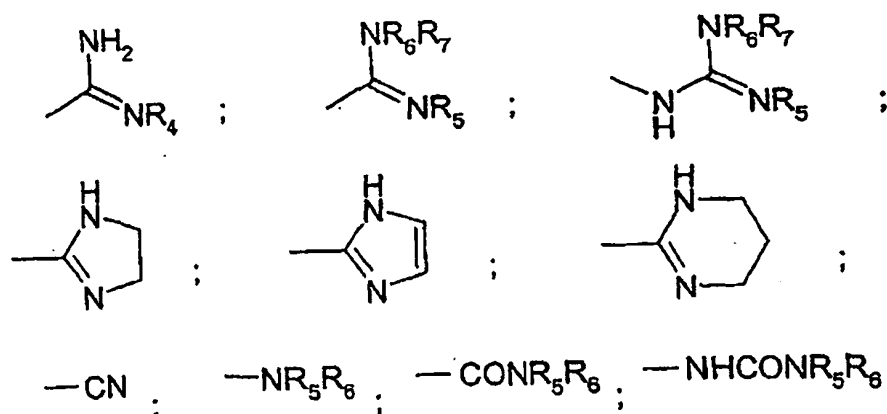
X 和 Y 相同或不同且就各杂环而言相互独立地为氮原子或 CH 基团;

G 是亚苯基, 含有 1-3 个选自 N、O 或 S 的杂原子的 5 或 6 元饱和或不饱和杂环, 或者它是下列式(III)的基团:



其中 Q 是氮原子或 CH 基且 W 是氧原子或硫原子或者它是基团 NR_3 , 其中 R_3 是氢或 C_1 - C_4 烷基;

B 选自下列基团:



其中 R_4 是氰基、氨基、羟基或 C_1 - C_4 烷氧基; R_5 、 R_6 和 R_7 相同或不同, 是氢或 C_1 - C_4 烷基。

2. 根据权利要求 1 的药物组合物, 其中烷化剂选自下列: 芥子类; 亚硝基脲类; 四嗪类; 氮丙啶类; 以及选自顺铂、卡铂、奥沙利铂、萘达铂和洛铂的铂衍生物。

3. 根据权利要求 2 的组合物, 其中芥子类选自美法仑、苯丁酸氮芥、氮芥、环磷酰胺、异环磷酰胺和白消安。

4. 根据权利要求 2 的药物组合物, 其中亚硝基脲类选自卡莫司汀、洛莫司汀、司莫司汀和福莫司汀。

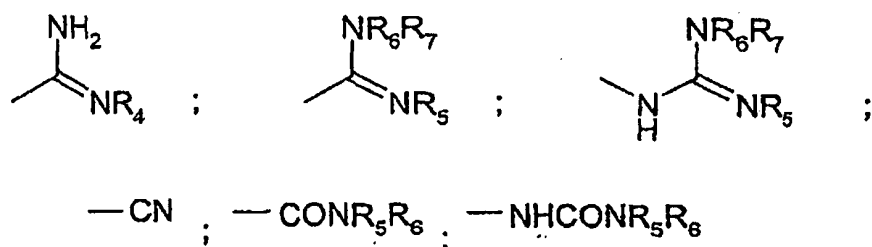
5. 根据权利要求 2 的药物组合物, 其中四嗪类选自达卡巴嗪和替莫唑胺。

6. 根据权利要求 2 的药物组合物, 其中氮丙啶类选自塞替派和丝裂霉素 C。

7. 根据权利要求 1 的药物组合物, 它包含式 (I) 的丙烯酰基偏端

霉素衍生物, 其中 R_1 、 R_2 和 B 如权利要求 1 中所定义, r 是 0, m 是 0 或 1 且 n 是 4。

8. 根据权利要求 7 的药物组合物, 它包含式 (I) 的丙烯酰基偏端霉素衍生物, 其中 R_1 和 R_2 如权利要求 1 中所定义, r 是 0, m 是 0 或 1, n 是 4, X 和 Y 均为 CH 基且 B 选自:



其中 R_4 是氰基或羟基且 R_5 、 R_6 和 R_7 相同或不同, 是氢或 C_1 - C_4 烷基。

9. 根据权利要求 1 的药物组合物, 它包含可选是其药学可接受的盐形式的丙烯酰基偏端霉素衍生物, 后者选自由如下化合物组成的组:

1. N-(5-{[(5-{[(5-{[(2-[[氨基(亚氨基)甲基]氨基]乙基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-4-[(2-溴丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰胺盐酸盐;

2. N-(5-{[(5-{[(5-{[(2-[[氨基(亚氨基)甲基]氨基]丙基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-4-[(2-溴丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰胺盐酸盐;

3. N-(5-{[(5-{[(5-{[(3-氨基-3-亚氨基丙基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-4-[(2-溴丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰胺盐酸盐;

4. N-(5-{[(5-{[(5-{[(3-氨基-3-亚氨基丙基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)

氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-4-[(2-溴丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-咪唑-2-甲酰胺盐酸盐;

5. N-(5-{[(5-{[(5-{[(3-氨基-3-亚氨基丙基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-3-[(2-溴丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-咪唑-5-甲酰胺盐酸盐;

6. N-(5-{[(5-{[(5-{[(3-氨基-3-氧代丙基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-3-[(2-溴丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-咪唑-5-甲酰胺;

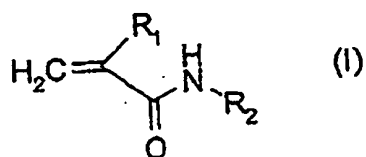
7. N-(5-{[(5-{[(5-{[(2-{[氨基(亚氨基)甲基]氨基}乙基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-4-[(2-氯丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰胺盐酸盐;

8. N-(5-{[(5-{[(3-{[氨基(亚氨基)甲基]氨基}丙基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-4-[(2-溴丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰胺盐酸盐;

9. N-(5-{[(5-{[(3-氨基-3-亚氨基丙基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-4-[(2-溴丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰胺盐酸盐; 和

10. N-{5-[(5-{[(5-{[(3-{(氨基羰基)氨基}丙基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羰基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-4-[(2-溴丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰胺。

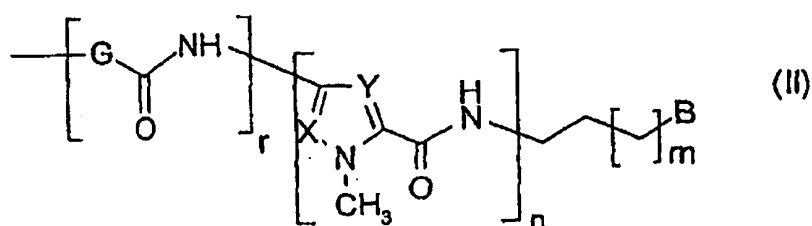
10. 包含式(I)的丙烯酰基偏端霉素衍生物或其药学可接受的盐以及烷化剂的产品, 作为在肿瘤治疗中同时、分别或依次使用的联用制剂, 其中式(I)的结构式如下:



其中:

R_1 是溴原子或氯原子;

R_2 是如式 (II) 所示的偏端霉素或偏端霉素样结构:



其中:

m 是 0 - 2 的整数;

n 是 2 - 5 的整数;

r 是 0 或 1;

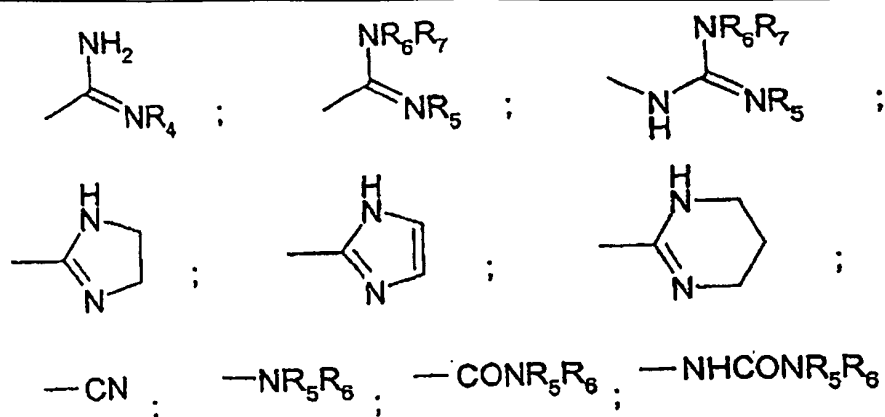
X 和 Y 相同或不同且就各杂环而言相互独立地为氮原子或 CH 基团;

G 是亚苯基, 含有 1 - 3 个选自 N、O 或 S 的杂原子的 5 或 6 元饱和或不饱和杂环, 或者它是下列式 (III) 的基团:



其中 Q 是氮原子或 CH 基且 W 是氧原子或硫原子或者它是基团 NR_3 , 其中 R_3 是氢或 C_1 - C_4 烷基;

B 选自下列基团:



其中 R_4 是氰基、氨基、羟基或 C_1 - C_4 烷氧基； R_5 、 R_6 和 R_7 相同或不同，是氢或 C_1 - C_4 烷基。

11. 根据权利要求 10 的产品，其中烷化剂选自：芥子类；亚硝基脲类；四嗪类；氮丙啶类；以及选自顺铂、卡铂、奥沙利铂、萘达铂和洛铂的铂衍生物。

12. 根据权利要求 11 的产品，其中芥子类选自美法仑、苯丁酸氮芥、氮芥、环磷酰胺、异环磷酰胺和白消安。

13. 根据权利要求 11 的产品，其中亚硝基脲类选自卡莫司汀、洛莫司汀、司莫司汀和福莫司汀。

14. 根据权利要求 11 的产品，其中四嗪类选自达卡巴嗪和替莫唑胺。

15. 根据权利要求 11 的产品，其中氮丙啶类选自塞替派和丝裂霉素 C。

16. 根据权利要求 10 的产品，其中丙烯酰基偏端霉素衍生物选自如权利要求 9 中所定义的组。

17. 如权利要求 1 到 9 中任意一项所定义的式(I)的丙烯酰基偏端霉素衍生物在制备用于肿瘤治疗中与烷化剂进行联合疗法的药物中的用途。

18. 根据权利要求 17 的用途,其中药物进一步包含所述的烷化剂。

19. 根据权利要求 17 或 18 的用途,其中烷化剂如权利要求 2-6 中任一项所定义。

20. 根据权利要求 17 或 18 的用途,其中丙烯酰基偏端霉素衍生物选自如权利要求 9 中所定义的组。

21. 根据权利要求 17 到 20 中任意一项的用途,其中肿瘤选自乳腺、卵巢、肺、结肠、肾、胃、胰腺、肝的肿瘤、黑素瘤、白血病和脑肿瘤。

22. 如权利要求 1 到 9 中任意一项所定义的式(I)的丙烯酰基偏端霉素衍生物在制备用于通过抑制血管发生预防或治疗转移瘤或治疗肿瘤时与烷化剂进行联合疗法的药物中的用途。

23. 根据权利要求 22 的用途,其中药物进一步包含所述的烷化剂。

24. 联用制剂在制备用于在包括人在内的有需要的哺乳动物中减少由使用抗肿瘤药进行抗肿瘤疗法而导致的副作用的药物中的用途,所述联用制剂包括有效产生协同抗肿瘤作用的量的烷化剂和如权利要求 1 到 6 中任意一项所定义的式(I)的丙烯酰基偏端霉素衍生物。

25. 根据权利要求 1 的药物组合物,其中可选为其药学可接受的

盐形式的丙烯酰基偏端霉素衍生物是 N-(5-{{(5-{{(5-{{(2-{{氨基(亚氨基)甲基}氨基}乙基)氨基}羰基)-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基}羰基)-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基}羰基)-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-4-[(2-溴丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰胺; 且烷化剂是选自顺铂、卡铂、奥沙利铂、萘达铂或洛铂的铂衍生物。

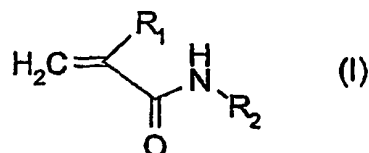
包含取代的丙烯酰基偏端霉素衍生物 和烷基化剂的抗肿瘤联合疗法

本发明涉及癌症治疗领域并提供含取代的丙烯酰基偏端霉素衍生物，更具体地说是 α -溴或 α -氯-丙烯酰基偏端霉素衍生物和烷基化剂的具有协同抗肿瘤作用的抗肿瘤组合物。

下文称作偏端霉素和偏端霉素样衍生物的偏端霉素 A 及其类似物在本领域中公知为用于抗肿瘤疗法的细胞毒性剂。

偏端霉素 A 是具有抗病毒和抗原生动物活性、具有多吡咯结构的抗生物质[《自然》(Nature) 203: 1064 (1964); 《药物化学杂志》(J. Med. Chem.) 32 : 774-778 (1989)]。所有以申请人本身的名义并引入作为参考的国际专利申请 WO 90/11277、WO 98/04524、WO 98/21202、WO 99/50265、WO 99/50266 和 WO01/40181(要求英国专利申请 9928703.9 的优先权)中均公开了丙烯酰基偏端霉素衍生物, 其中偏端霉素的脒基部分可选地被诸如例如氰脒基、N-甲基脒基、胍基、氨基甲酰基、偕胺肟、氰基等含氮端基取代, 和/或其中偏端霉素或其部分的多吡咯结构被不同的碳环或杂环部分取代。

本发明在第一个方面提供用于包括人在内的哺乳动物的抗肿瘤疗法中的药物组合物，它包含药学可接受的载体或赋形剂、式(I)的丙烯酰基偏端霉素衍生物或其药物上可接受的盐和烷基化剂，其中式 I 的结构式如下：



其中：

R_1 是溴原子或氯原子;

R_2 是偏端霉素或偏端霉素样结构。

本发明在其范围内包括含有由式(I)化合物所覆盖的任意可能的异构体(可以认为是单独或混合物的形式)以及式(I)化合物的代谢物和药物上可接受的生物前体(或称作前体药物)的药物组合物。

在本说明书中,除非另有说明,我们用术语偏端霉素或偏端霉素样结构 R_2 指在结构上与偏端霉素本身密切相关的任意部分,例如通过可选地取代偏端霉素和/或其多吡咯结构或其部分的末端脒基部分。

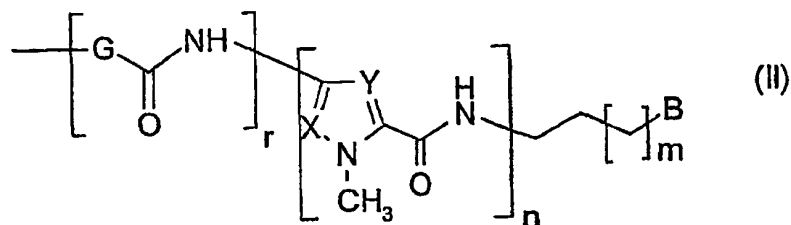
已知烷基化剂在本领域中广泛描述于各种科学出版物。

这类化合物的代表是例如:芥子类,例如美法仑、苯丁酸氮芥、氮芥、环磷酰胺、异环磷酰胺和白消安;亚硝基脲类,诸如卡莫司汀、洛莫司汀(lormustine)、司莫司汀和福莫司汀;四嗪类,诸如达卡巴嗪和替莫唑胺;氮丙啶类,诸如塞替派和丝裂霉素C;以及铂衍生物,例如顺铂、卡铂、奥沙利铂、萘达铂和洛铂等。

就一般参考文献而言,参见《癌症机理和肿瘤学实践》(Cancer Principles and Practice of Oncology), Lippincott-Raven Ed. (1997), 405-432。

根据本发明的优选实施方案在此提供上述药物组合物,其中烷基化剂选自芥子类 and 诸如顺铂、卡铂和奥沙利铂这样的铂衍生物。

根据本发明的另一个优选的实施方案提供上述药物组合物,其中在式(I)的丙烯酰基偏端霉素衍生物中, R_1 具有上述报导的含义且 R_2 是下列式(II)的基团:



其中

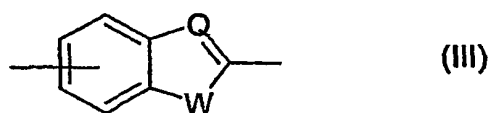
m 是 0-2 的整数;

n 是 2-5 的整数;

r 是 0 或 1;

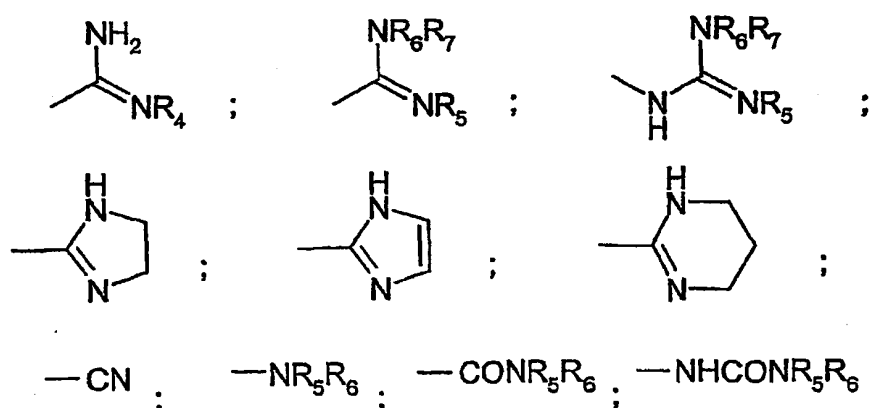
X 和 Y 相同或不同且就各杂环而言独立为氮原子或 CH 基团;

G 是亚苯基、含有 1-3 个选自 N、O 或 S 的杂原子的 5 或 6 元饱和或不饱和杂环, 或者它是下列式(III)的基团:



其中 Q 是氮原子或 CH 基且 W 是氧原子或硫原子或是基团 NR_3 , 其中 R_3 是氢或 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 烷基;

B 选自下列基团:

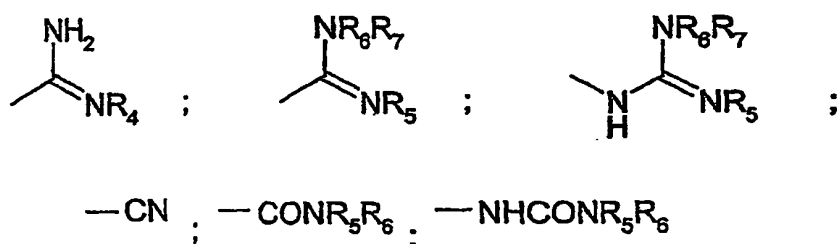


其中 R_4 是氰基、氨基、羟基或 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 烷氧基; R_5 、 R_6 和 R_7 相同或不同且是氢或 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 烷基。

在本说明书中, 除非另有说明, 我们用术语 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 烷基或烷氧基指选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、仲丁氧基或叔丁氧基的直链或支链基团。

本发明的药物组合物甚至更优选包含上述式(I)的丙烯酰基偏端霉素衍生物, 其中 R_1 是溴或氯; R_2 是上述式(II)的基团, 其中 r 是 0、m 是 0 或 1、n 是 4 且 B 具有上述报导的含义。

在这种类型范围内更优选的药物组合物包含式(I)化合物, 其中 R_1 是溴或氯; R_2 是上述式(II)的基团, 其中 r 是 0、m 是 0 或 1、n 是 4、X 和 Y 均为 CH 基且 B 选自下列基团:



其中 R_4 是氨基或羟基且 R_5 、 R_6 和 R_7 相同或不同且是氢或 C_1 – C_4 烷基。

式(I)化合物的药学可接受的盐是那些与药学可接受的无机酸或有机酸形成的盐，所述的无机酸或有机酸诸如：例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、乙酸、丙酸、琥珀酸、丙二酸、柠檬酸、酒石酸、甲磺酸、对甲苯磺酸等。

在本发明的组合物对象范围内，式(I)丙烯酰基偏端霉素衍生物的优选实例，可选以药学可接受的盐的形式，优选与盐酸形成的盐形式，为：

1. N-(5-{[(5-{[(5-{[(2-{[氨基(亚氨基)甲基]氨基}乙基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-4-[(2-溴丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰胺盐酸盐；

2. N-(5-{[(5-{[(5-{[(2-{[氨基(亚氨基)甲基]氨基}丙基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-4-[(2-溴丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰胺盐酸盐；

3. N-(5-{[(5-{[(5-{[(3-氨基-3-亚氨基丙基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-4-[(2-溴丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰胺盐酸盐；

4. N-(5-{[(5-{[(5-{[(3-氨基-3-亚氨基丙基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-4-[(2-溴丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-咪唑-2-甲酰胺盐酸盐；

5. N-(5-{[(5-{[(5-{[(3-氨基-3-亚氨基丙基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-3-[(2-溴丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-吡唑-5-甲酰胺盐酸盐;

6. N-(5-{[(5-{[(5-{[(3-氨基-3-氧丙基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-3-[(2-溴丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-吡唑-5-甲酰胺;

7. N-(5-{[(5-{[(5-{[(2-{[氨基(亚氨基)甲基]氨基}乙基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-4-[(2-氯丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰胺盐酸盐;

8. N-(5-{[(5-{[(3-{[氨基(亚氨基)甲基]氨基}丙基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-4-[(2-溴丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰胺盐酸盐;

9. N-(5-{[(5-{[(3-氨基-3-亚氨基丙基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)氨基]羧基}-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-4-[(2-溴丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰胺盐酸盐; 和

10. N-{5-[(5-{[(5-{[(3-{[(氨基羧基)氨基]丙基}氨基)羧基]-1-甲基-1H-吡咯-3-基}氨基)羧基]-1-甲基-1H-吡咯-3-基}氨基)羧基]-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-4-[(2-溴丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰胺。

上述特别如此或通过通式鉴定的式(I)化合物是公知的或易于按照例如上述国际专利申请 WO 90/11277、WO 98/04524、WO 98/21202、WO 99/50265 和 WO 99/50266 以及 W001/40181 中报导的已知方法制备。

本发明进一步提供包含如上定义的式(I)的丙烯酰基偏端霉素衍生物和烷基化剂的产品, 作为在抗肿瘤疗法中同时、分别或依次应用的联合用制剂。

本发明的另一个方面提供治疗患有肿瘤疾病的包括人在内的哺乳

动物的方法，该方法包括对所述的哺乳动物以有效产生协同抗肿瘤作用的量施用上述式(I)的丙烯酰基偏端霉素衍生物和烷基化剂。

本发明还提供降低有需要的包括人在内的哺乳动物用抗肿瘤药进行抗肿瘤疗法所导致的副作用的方法，该方法包括对所述的哺乳动物以有效产生协同抗肿瘤作用的量施用含上述定义的式(I)的丙烯酰基偏端霉素衍生物和烷基化剂的联合用制剂。

本文所用的术语“协同的抗肿瘤作用”指通过对包括人在内的哺乳动物施用有效量的含式(I)的丙烯酰基偏端霉素衍生物和烷基化剂的联合用药物来抑制肿瘤生长、优选使肿瘤完全消退。

本文所用的术语“施用的”或“施用”指非肠胃和/或经口给药；术语“非肠胃”指的是静脉内、皮下和肌肉内给药。

在本发明的方法中，丙烯酰基偏端霉素衍生物和烷基化剂可以同时给药或者，两种化合物可以以任何顺序依次给药。

在这方面，可以理解的是实际优选的方法和给药顺序可以特别根据所用式(I)的丙烯酰基偏端霉素衍生物的特定制剂、所用烷基化剂的特定制剂、所治疗的特定肿瘤模型和所治疗的特定宿主及其他事物的不同而改变。

为了按照本发明方法施用式(I)的丙烯酰基偏端霉素衍生物，一般使用的治疗过程包括在约 0.05 到约 100mg/m² 体表面积，且更优选约 0.1 到约 50mg/m² 体表面积内改变的剂量。

为了按照本发明的方法施用烷基化剂，一般使用的治疗过程包括：就施用芥子类化合物而言，剂量在约 1 mg/m² 到约 5000 mg/m² 体表面积，且更优选约 10 到约 1000 mg/m² 体表面积内改变。

就施用亚硝基脲衍生物而言，剂量在约 1 mg/m² 到约 1000 mg/m² 体表面积，且更优选约 10 到约 1000 mg/m² 体表面积内改变。

就施用四嗪和氮丙啶类化合物而言，剂量在约 1 mg/m² 到约 1000 mg/m² 体表面积且，更优选约 10 到约 1000 mg/m² 体表面积内改变。

就施用铂衍生物而言，剂量在约 1 mg/m² 到约 1000 mg/m² 体表面积且，更优选约 10 到约 500 mg/m² 体表面积内改变。

本发明的抗肿瘤疗法特别适合于治疗包括人在内的哺乳动物的乳腺、卵巢、肺、结肠、肾、胃、胰腺、肝的肿瘤、黑素瘤、白血病和脑肿瘤。

本发明在另一个方面中涉及在制备通过抑制血管发生来预防或治疗转移瘤或治疗肿瘤的药物中制备包含有效量的如上定义的式(I)的丙烯酰基偏端霉素衍生物和烷基化剂的药物组合物。

如上所述,式(I)的丙烯酰基偏端霉素衍生物和例如顺铂和卡铂的烷基化剂的作用显著提高而毒性没有平行增加。换句话说,本发明的联合疗法提高了丙烯酰基偏端霉素衍生物和烷基化剂的抗肿瘤作用,且由此提供了最有效而最低毒性的肿瘤治疗方法。

本发明联合用制剂的协同或超加作用例如通过下列体内试验而得到说明,这些体内试验用于解释本发明而没有对本发明的任何限定作用。

表 1 展示通过将本发明式(I)的代表性化合物 N-(5-[[[(5-[[[(5-[[[(2-[[氨基(亚氨基)甲基]氨基]乙基)氨基]羧基-1-甲基-1H-吡咯-3-基]氨基]羧基]-1-甲基-1H-吡咯-3-基]氨基]羧基]-1-甲基-1H-吡咯-3-基]-4-[(2-溴丙烯酰基)氨基]-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰胺盐酸盐(内部编码 PNU 166196)与顺铂联用而获得的对扩散的 L1210 鼠白血病的抗白血病活性。

单用 5.9 mg/kg 剂量的顺铂(+3 天)和单用 0.26 mg/kg 剂量的 PNU 166196(+1、2 天),没有毒性,其 ILS%值分别为 67 和 33。

按照相同的时间方案联用相同剂量的顺铂和 PNU 166196,观察到 ILS%值为 125 的活性增加,由此证实了协同的抗肿瘤作用。

表 2 展示通过联用上述 PNU 166196 衍生物与卡铂而获得的对扩散的 L1210 鼠白血病的抗白血病活性。

单用 135mg/kg 剂量的卡铂(+3 天)和单用 0.26 mg/kg 剂量的 PNU 166196(+1、2 天),没有毒性,其 ILS%值分别为 50 和 33。

通过以相同剂量并使用相同的时间方案联用卡铂和 PNU 166196,观察到 ILS%值为 92 的活性增加,再次证实超过加和性的作用。

表 3 展示通过联用 PNU 166196 与顺铂而获得的对皮下植入的 HCT-116 人结肠癌的抗肿瘤作用。

单用 2mg/kg 剂量的卡铂 (q7x3) 和单用 0.4mg/kg 剂量的 PNU 166196 (q7x3), 没有毒性, 其 T/C% 值分别为 92 和 61。

通过联用顺铂和 PNU 166196, 却观察到肿瘤生长减缓的显著增加, 由此证实了联合用药物 (协同作用) 与施用单一药物相比有治疗优势。

为了进行这些实验, 将 PNU 166196 溶于注射用水, 同时使用顺铂和卡铂的标准制剂。

表 1: 丙烯酰基偏端霉素衍生物 (I) 和顺铂联合对扩散的 L1210¹ 鼠白血病的抗白血病活性。

化合物	治疗 ² 时间方案	剂量 (mg/kg/天)	ILS% ³	毒性 ⁴
PNU 166196	iv +1, 2	0.26	33	0/10
顺铂	iv +3	5.9	67	0/10
PNU 166196 + 顺铂	iv +1, 2 iv +3	0.26+5.9	120	0/10

¹ 在第 0 天经静脉内注射 L1210 白血病细胞 (10⁵/小鼠 CD2F1)。

² 经静脉内施用治疗。

³ 存活期延长: [(治疗的小鼠的中数存活时间/对照组的中数存活时间) x 100]-100。

⁴ 中毒死亡的数量/小鼠的数量。

表 2: 丙烯酰基偏端霉素衍生物和卡铂联合对扩散的 L1210¹ 鼠白血病的抗白血病活性。

化合物	治疗 ² 时间方案	剂量 (mg/kg/天)	ILS% ³	毒性 ⁴
PNU 166196	iv +1, 2	0.26	33	0/10
卡铂	iv +3	135	50	0/10
PNU 166196 + 卡铂	iv +1, 2 iv +3	0.26+ 135	92	0/10

¹ 在第 0 天经静脉内注射 L1210 白血病细胞 (10^5 /小鼠 CD2F1)。

² 经静脉内施用治疗。

³ 存活期延长: [(治疗的小鼠的中数存活时间/对照组的中数存活时间) x 100]-100。

⁴ 中毒死亡的数量/小鼠的数量。

表 3: 丙烯酰基偏端霉素衍生物和顺铂联合对人结肠癌 HCT-116 (低度/中度 GST 和 MMR 缺陷) 的抗肿瘤作用。

化合物	剂量 ^a (mg/kg)	T/C% ^b	Log 总杀伤 细胞	不含肿瘤/总 小鼠 ^c	WL% (最少的 天) ^d
PNU-166196	0.4	61	0.15	0/8	12 (29)
顺铂	2	92	0	0/7	12 (24)
PNU-166196 + 顺铂	0.4 + 2	36 (协同) ^e	0.7	1/7	13 (27)

^a 在植入肿瘤后第 7 天开始的静脉内治疗; 在施用顺铂后 48 小时施用的 PNU166196 时间方案 q7dx3;

^b 治疗后第 20 天的肿瘤消退情况 (T/C %) (根据 NCI 标准: T/C ≤ 42 活跃);

^c 在植入肿瘤后第 40 天;

^d 在植入肿瘤后 27 天;

^e 对顺铂与 PNU 166196 的 Fisher 检验。