[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200410035926.0

[45] 授权公告日 2007 年 2 月 14 日

[11] 授权公告号 CN 1299772C

[22] 申请日 2004.10.14
[21] 申请号 200410035926.0
[73] 专利权人 孔庆忠
地址 250014 山东省济南市历下区燕子山路 2－2（燕柳花园）9 号楼 2 单元 602
[72] 发明人 孔庆忠
[56] 参考文献
CN1345240A 2002.4.17
审查员 王志超

[74] 专利代理机构 济南金迪知识产权代理有限公司
代理人 孙洪叶

权利要求书 1 页 说明书 18 页

[54] 发明名称

一种抗癌药物组合物

[57] 摘要

一种抗癌药物组合物，属于药物技术领域。包括药用辅料以及包于其中的四嗪类药物。四嗪类药物可抑制细胞内的 DNA 修复功能，并能降低肿瘤细胞对亚硝脲类抗癌药物的耐受性，而药用辅料主要为生物可容性可降解吸收的高分子多聚物，在其降解吸收的过程中能将抗癌药物缓慢释放于肿瘤局部，因此在明显降低其全身毒性反应的同时还可于肿瘤局部维持有效药物浓度。该抗癌药物组合物还含有亚硝脲类抗癌药物，肿瘤局部放置该组合物不仅能够降低亚硝脲类抗癌药物和/或四嗪类药物的全身毒性反应，同时还能选择性地提高肿瘤局部的药物浓度，增强化疗药物及放射治疗等非手术疗法的治疗效果。

1、一种抗癌药物组合物，包括抗癌有效成分和药用辅料，其特征在于，所述的药用辅料是缓释辅料，抗癌有效成分为：

1）替莫唑胺与卡莫司汀，重量比为 1～6:2，

2）替莫唑胺与尼莫司汀，重量比为 1～5:2，

3）替莫唑胺与洛莫司汀，重量比为 2～35:10，

4）米托唑胺与尼莫司汀，重量比 1～5:2，或

5）米托唑胺与洛莫司汀，重量比 2～35:10。

2、 权利要求 1 所述之抗癌药物组合物在制备治疗癌症药物中的应用 。

一种抗癌药物组合物

（一）技术领域

本发明涉及一种抗癌药物组合物，属于药物技术领域。

（二）背景技术

实体肿瘤的治疗主要包括手术、放疗及化疗等方法。在所用的各种化疗药物中，亚硝脲类抗癌药物的作用效果较为明显，已广泛应用于多种恶性肿瘤。然而，进一步研究发现，许多肿瘤细胞内的 DNA 修复功能在治疗之后明显增加。后者常导致肿瘤细胞对亚硝脲类抗癌药物的耐受性的增强，其结果是治疗失败。

最近发现，灭活或抑制细胞内的DNA修复蛋白能够增强部分肿瘤细胞对化疗的敏感性，参见多兰等“O6-苄基鸟嘌呤类似物对人肿瘤细胞对烷化剂的细胞毒敏感性的作用”《癌症研究》51 期 3367-3372 页 （1991 年） （Dolan et al., Cancer Res., 51, 3367-3372, 1991))。然而，肿瘤间质中的血管、结缔组织、基质蛋白、纤微蛋白及胶原蛋白等不仅为肿瘤细胞的生长提供了支架及必不可少的营养物质，还影响了化疗药物在肿瘤周围及肿瘤组织内的渗透和扩散，参见尼提等“细胞外间质的状况对实体肿瘤内药物运转的影响”《癌症研究》60 期 2497-503 页 （2000 年）(Netti PA, Cancer Res. 2000, 60(9):2497-503)。由于实体肿瘤过度膨胀性增生，其间质压力、组织弹性压力、流体压力及间质的粘稠度均较其周围正常组织为高，因此，常规化疗，难于肿瘤局部形成有效药物浓度，参见孔庆忠等“瘤内放置顺铂加系统卡莫司汀治疗大鼠脑肿瘤”《外科肿瘤杂志》69 期 76-82 页（1998 年）(Kong Q et al., J Surg Oncol. 1998 Oct; 69(2):76-82），单纯提高给药剂量又受到全身反应的限制。

因此，本发明的一个具体的主题是抗癌药物组合物，所述抗癌药物组合物含四嗪类药物，后者可有效地抑制及破坏肿瘤细胞内的 DNA 修复功能，进而增加亚硝脲类抗癌药物的治疗效果。由于决定治疗效果的主要因素是肿瘤局部的药物浓度以及肿瘤细胞对药物的敏感程度。而肿瘤间质中的血管、结缔组织、基质蛋白、纤微蛋白及胶原蛋白等不仅为肿瘤细胞的生长提供了支架及必不可少的营养物质，还影响了化疗药物在肿瘤周围及肿瘤组织内的渗透和扩散。

（三）发明内容

本发明针对现有技术的不足，提供一种抗癌药物组合物。

本发明抗癌药物组合物，包括抗癌有效成分和药用辅料，抗癌有效成分为：

A) 四嗪类药物 0.01 - 50% 和

B) 亚硝脲类抗癌药物 0.00 - 40%

以上均为重量百分比。

四嗪类药物除能抑制肿瘤生长外，还能增加肿瘤细胞对亚硝脲类抗癌药物的敏感性。

四嗪类药物包括咪唑并四嗪(imidazotetrazine)、咪唑并哌嗪

（imidazopyrazine）、1*H*-咪唑并[b]哌嗪（1*H*-imidazo[b]pyrazine）、咪唑并吡啶（imidazopyridine）、1*H*-咪唑并[1,2-a]吡啶（1*H*-imidazo[1,2-a]pyridinum）、甲基苄肼（procarbazine，PCB）、拓扑替康(topotecan，Topo)、伊力替康(irinotecan)、米托唑胺(mitozolomide，MTZ)、氮烯唑胺(dacarbazine，DCB)、替莫唑胺(Temozolomide or 8-Carbamoyl-3-methylimidazo[5,1-d]-1,2,3,5-tetrazin-4(3H)-one or NSC 362856))及其类似物或衍生物如4-羧基替莫唑胺[4--carbonyl]temozolomide、3-N-甲基替莫唑胺[3-N-methyl]temozolomide)、吡咯[2,1-d][1,2,3,5]四嗪-4(3H)-替莫唑胺(Pyrrolo[2,1-d][1,2,3,5]tetrazine-4(3H)-ones)、吡咯[2,1-d][1,2,3,5]四嗪10a-o (Pyrrolo[2,1-d][1,2,3,5]tetrazinones 10a-o)、替莫唑胺的去杂氮衍生物如5-(3-N-甲基三氮-1-基)-咪唑并-4-羧酰胺（MTIC，5-(3-N-methyltriazen-1-yl)-imidazole-4-carboxamide）、8-硝基-3-甲基-苯并-1,2,3,5-四氮杂卓-4-替莫唑胺(8-nitro-3-methyl-benzo-1,2,3,5-tetrazepin-4(3H)-one，NIME)、3,5-二甲基-吡啶并-1,2,3,5-四氮杂卓-4-替莫唑胺(3,5-dimethyl-pyrido-1,2,3,5-tetrazepin-4-one，PYRZ)和3-(2-氯乙烷)-N,N二甲基-4-氧-3,4-二氢咪唑[5,1-d]-1,2,3,5-四嗪-8-羧酰胺（3-(2-chloroethyl)-N,N-dimethyl-4-oxo-3,4-dihydroimidazo[5,1-d]-1,2,3,5-tetrazine-8-carboxamide，CDODTC)。

上述四嗪类药物可单选或多选，但以咪唑并四嗪、咪唑并哌嗪、1*H*-咪唑并[b]哌嗪、咪唑并吡啶、1*H*-咪唑并[1,2-a]吡啶、甲基苄肼、拓扑替康、伊力替康、米托唑胺、氮烯唑胺、替莫唑胺为优选。

亚硝脲类药物选自，但不限于，阿雌莫司汀（Alestramustine）、阿莫司汀（Atrimustine）、氨莫司汀（Ambamustine）、尼莫司汀（ACNU，Nimustine）、苯达莫司汀（Bendamustine）、二硫莫司汀（Ditiomustine）、波呋莫司汀（Bofumustine）、卡莫司汀(卡氮芥、BCNU、carmustine)、依莫司汀(Elmustine)、依考莫司汀（Ecomustine）、加莫司汀（Galamustine，GCNU)、福莫司汀（Fotemustine)、雌莫司汀（Estramustine)、合莫司汀（hemustine，heCNU)、奈莫司汀（Pentamustine，Neptamustine）、甘露莫司汀（Mannomustine，MCNU）、洛莫司汀（lomustine，CCNU，环己亚硝脲，罗氮芥)、甲基洛莫司汀（methyl-CCNU）、司莫司汀（Semustine、甲环亚硝脲、Me-CCNU）、雷莫司汀（Ranimustine）、泼尼莫司汀（Prednimustine）、乌拉莫司汀（Uramustine，Uracil Mustard）、萨莫司汀（Sarmustine）、牛磺莫司汀（Tauromustine）、他莫司汀（Tallimustine）、螺莫司汀（Spiromustine）和链佐星（streptozotocin，STZ）等。以上亚硝脲类药物还包括它们的盐，如，但不限于，硫酸盐、磷酸盐、盐酸盐、乳糖酸盐、醋酸盐、天冬酸盐、硝酸盐、枸橼酸盐、嘌呤或嘧啶盐、琥珀酸盐及马来酸盐等。

以上亚硝脲类药物及其盐可单选或多选。但以链佐星、尼莫司汀、卡莫司汀、雌莫司汀、洛莫司汀、萨莫司汀和甲基洛莫司汀为优选。

亚硝脲类抗癌药物在组合物中的含量可从0.01%－99.99%，以1%－50%为佳，以2%－30%为最佳，四嗪类化合物在组合物中所占的比例因具体情况而定，一般而言，可从0.01%－99.99%，以1%－50%为佳，以2%－30%为最佳 。以上均为重量百分比。

药用辅料包括下列之一或其组合：

（1）生物相容性多聚物，包括生物可降解的或生物不可降解的多聚物及其混合物或共聚物，（2）水溶性低分子化合物，或/和（3）用于实现针剂和缓释剂等药物剂型的合适的添加剂及赋型剂。

上述生物可降解的多聚物包括天然的和/或合成的多聚物。合成的多聚物如，但不限于，聚酐类、聚羟基酸、聚酯（polyesters）、聚酰胺（polyamides）、聚原酸酯（polyorthoesters）、聚磷腈(polyphosphazenes)、对羧苯基丙烷(p-CPP)、葵二酸(sebacic acid）等；天然的多聚物如，但不限于，蛋白质及多糖，包括透明质酸、胶原蛋白、明胶、白蛋白等。

上述聚酐类可选用，但不限于，芳香聚酐、脂肪族聚酐；其中芳香聚酐将解较慢，熔点高，有机溶剂中溶解度低，然而，芳香聚酐与脂肪族聚酐的共聚物却较为理想（美国专利4757128）。其代表物是聚苯丙生（对羧苯基丙烷(p-CPP)与葵二酸（SA）的共聚物），而对羧苯基丙烷为芳香聚酐，葵二酸则是一个芳香二酸与一个脂肪二酸的共聚物。可选用的其它芳香或脂肪族聚酐的共聚物在其它美国专利中已有详细描述（US 4857311； 4888176；4789724）。

上述聚羟基酸可选用，但不限于，聚乳酸（PLA）、聚乙醇酸(PGA)、聚乳酸（PLA）与聚乙醇酸的混合物、乙醇酸和羟基羧酸的共聚物（PLGA）；当PLA和PLGA混合时，其含量重量百分比分别为0.1-99.9%和99.9-0.1%。聚乳酸的分子量可为，但不限于，5000 — 100，000，但以10，000 — 50000为优选，以10，000 — 20000为最优选；聚乙醇酸的分子量可为，但不限于，5000 — 100，000，但以10，000 — 50000为优选，以10，000 — 20000为最优选；以上聚羟基酸可单选或多选。当单选时，以聚乳酸（PLA）或羟基羧酸和乙醇酸的共聚物（PLGA）为优选，共聚物的分子量可为，但不限于，1000 — 100，000，但以10，000 — 50000为优选；以10，000 — 20000为最优选；当多选时，以高分子多聚物或不同高分子多聚物组成的复合多聚物或共聚物为优选，以含不同分子量聚乳酸或葵二酸的复合多聚物或共聚物为最优选，如，但不限于，分子量为5000到10000的聚乳酸与分子量为20000到50000的聚乳酸混合、分子量为10000到20000的聚乳酸与分子量为30000到80000的PLGA混合、分子量为5000到10000的聚乳酸与葵二酸混合、分子量为30000到80000的PLGA与葵二酸混合。

上述生物不可降解的多聚物包括，但不限于：有机硅聚合物、乙烯乙酸乙烯酯共聚物（Ethelene-vinyl acetate copolymer, EVAc）、聚丙烯腈（polyacrylonitriles），聚氨基甲酸酯(polyurethanes)及聚磷腈(polyphosphazenes)等。组合物可通过直接扩散的方式将有效成分释放出来。

为调节药物释放速度或改变本发明抗癌组合物的其它特性，可以改变聚合物的单体成分或分子量、添加或调节药用辅料的组成及配比，添加水溶性低分子化合物，如，但不限于，各种糖和盐等。其中糖可为，但不限于，木糖醇、低聚糖及甲壳素等，其中盐可为但不限于，钾盐和钠盐等。

本发明抗癌组合物所用的药用辅料可为上述药用辅料中的任何一种或多种物质，但以水溶性高分子聚合物为主选，在各种高分子聚合物中，以聚乳酸、葵二酸、含聚乳酸或葵二酸的高分子多聚物的混合物或共聚物为首选，混合物和共聚物可选自，但不限于，PLGA、乙醇酸和羟基羧酸的混合物、葵二酸与芳香聚酐或脂肪族聚酐的混合物或共聚物。乙醇酸

和羟基羧酸的共混比例是 10/90-90/10（重量），最好是 25/75-75/25（重量）。共混的方法是任意的。乙醇酸和羟基羧酸共聚时的含量分别为重量百分比 10-90% 和 90-10%。芳香聚酐的代表物是对羧苯基丙烷(p-CPP)，对羧苯基丙烷(p-CPP)与葵二酸共聚时的含量分别为重量百分比 10-60% 和 20-90%，共混重量比是 10-40：50-90，最好是重量比 15-30：65-85。

药用辅料在《药用辅料大全》（第 123 页，四川科学技术出版社 1993 年出版，罗明生和高天惠主编）中已有详细描述。另外，中国专利（申请号 96115937.5；91109723.6;9710703.3； 01803562.0）及美国发明专利（专利号 5,651,986）也列举了某些药用辅料。包括充填剂、增溶剂、吸收促进剂、成膜剂、胶凝剂、制（或致）孔剂、赋型剂或阻止剂。 以上药用辅料有的具有多重作用，因此有的同种物质被列为不同的类别。本发明抗癌药物组合物可选用的支持物可为上述药用辅料中的任何一种或多种物质，并不完全根据其分类或定义来限制组合物的技术特征。

抗癌药物组合物的有效成分可均匀地包装于整个药用辅料中，也可包装于载体支持物中心或其表面；可通过直接扩散或经多聚物降解的方式或如此两种方式将有效成分释放。除此之外，抗癌药物组合物的有效成分也可均匀地包装于脂质体中，或以现有技术方法制成微球。

本发明的特点在于所用的药用辅料除高分子聚合物外，还含有上述任意一种或多种其它药用辅料。添加的药用辅料统称为添加剂。添加剂可根据其功能分为充填剂、致孔剂、赋型剂、分散剂、等渗剂、保存剂、阻止剂、增溶剂、吸收促进剂、成膜剂、胶凝剂等。

药用辅料还可为流质，如，但不限于芝麻油、混悬液、蒸馏水、生理冲液、以及半固态物质，如(但不限于)果冻、糊剂、软膏等，上述药用辅料适用于含或不含添加剂的组合物 。

本发明抗癌药物组合物可制成多种剂型。如，但不限于，针剂、浑悬液、软膏、胶囊及缓释剂等；呈各种形状，如，但不限于，颗粒样、片状、球形、块状、针状、棒状及模状。在各种剂型中，以体内缓慢释放剂为主。上述剂型和形状适用于含或不含添加剂的组合物。

由于本发明抗癌药物组合物可使常规化疗、免疫治疗、高热治疗、光化学治疗、电疗、生物治疗、激素治疗、磁疗、超声治疗、放疗及基因治疗等方法的作用效果加强。因此在局部缓慢释放的同时可与上述非手术疗法合用，从而使其抗癌效果进一步加强。

当与上述非手术疗法合用时，本发明抗癌药物组合物可与非手术疗法同时应用，也可在非手术疗法实施前几天内应用，其目的在于尽可能增强肿瘤的敏感性。四嗪类药物对亚硝脲类抗癌药物有明显的增效作用，从而为根治各种人体及动物原发和转移实体肿瘤提供一种更有效的新的方法，具有非常高的临床应用价值及显著的经济和社会效益。

给药途径

本发明抗癌药物组合物可经各种途径应用，如经脉、动脉、皮下、肌肉、皮内、腔内、瘤内、瘤周等。给药途径取决于多种因素，如肿瘤所在部位、是否手术或转移、肿瘤体积大小、肿瘤类别、病人年龄、身体状况、生育状况及要求等。为于肿瘤所在部位获得有效药物浓度，可选择性地动脉灌注，腔内灌注(intracavitary)，腹腔(intraperitoneal) 或胸腔(intrapleural)及椎管内(intraspinal)给药，也可脏器内放置，如肠腔内、膀胱内、宫腔内、阴道内、胃内及食道内等。 在多种途径中， 以局部

给药， 如以选择性动脉、瘤内、瘤周注射为主，以瘤内、瘤周或瘤腔缓慢释放的形式为优选，如可选用可种缓释泵及缓释胶囊或体内缓释植入剂。

当抗癌药物组合物的有效成分为四嗪类药物时，该组合物以局部给药为主， 如以选择性动脉、瘤内、瘤周注射为主，以瘤内、瘤周或瘤腔缓慢释放的形式为优选，而亚硝脲类抗癌药物可经经脉、动脉、腹腔 或胸腔等途径给药。

给药剂量

抗癌药物的用量取决于很多因素，如，但不限于，肿瘤体积、病人体重、给药方式、病情进展情况及治疗反应。但其原则是能够降低肿瘤细胞对 DNA 的修复能力， 增加化疗等疗法的作用效果。四嗪类药物的有效剂量为 0.01 - 80 毫克/公斤体重，以 1-50 毫克/公斤体重为理想，以 2-10 毫克/公斤体重为最理想。四嗪类药物在组合物中所占的比例因具体情况而定，可从 0.01%—99.99%，以 1%—80%为佳，以 2%—40%为最佳 。以上均为重量百分比。

当局部应用时，其血中浓度维持在较低水平，而瘤内浓度维持在较高水平。

当四嗪类药物与亚硝脲类抗癌药物联合应用时，二者的比例可为 1：9 到 9：1，四嗪类药物的有效剂量为 0.01 - 80 毫克/公斤体重，以 1-50 毫克/公斤体重为理想，以 2-10 毫克/公斤体重为最理想。而亚硝脲类抗癌药物的有效剂量为 0.01 - 200 毫克/公斤体重，以 1-30 毫克/公斤体重为理想，以 2-20 毫克/公斤体重为最理想。 亚硝脲类抗癌药物的在组合物中的含量为 0.1% - 40%，四嗪类药物的含量为 0.1% - 30%，以上均为重量百分比。

本发明抗癌药物组合物可以用于制备治疗人、宠物及各种动物的各种癌、肉瘤或癌肉瘤等实体肿瘤的药物，包括起源于大脑、中枢神经系统、肾脏、肝、胆囊、头颈部、口腔、甲状腺、皮肤、黏膜、腺体、血管、骨组织、淋巴结、肺脏、食管、胃、乳腺、胰腺、眼睛、鼻烟部、子宫、卵巢、子宫内膜、子宫颈、前列腺、膀胱、结肠、直肠的原发或转移的癌或肉瘤或癌肉瘤。

该抗癌药物组合物中还可加入其它药用成分，如，但不限于，抗菌素、止疼药、抗凝药、止血药等。以上药用成分可单选或多选，可加入到含或不含添加剂的组合物， 其含量因具体需要而定。

将上述有效成分包装于药用辅料中，然后局部应用。该组合物可经各种途径给药，以局部给药，如选择性动脉注射和直接瘤体内注射为佳，其中又以局部缓慢释放为最佳。当局部应用时，本发明抗癌药物组合物可直接置于原发或转移的实体肿瘤周围或瘤体内，也可直接置于原发或转移的实体肿瘤全部或部分切除后所形成的腔内。

本发明抗癌药物组合物主要成份以生物可容性物质为支持物，故不引起异物反应。 支持物体内放置后可降解吸收，故不再手术取出。因在肿瘤局部释放所含药物，从而选择性地提高并延长局部药物浓度，同时可降低由常规途径给药所造成的全身毒性反应。

抗癌药物组合物可制成各种形状，其中有效成份的含量因不同需要而定。可从 0.1%—99.9%，以 1%—80%为佳，以 5%—40%为最佳。该抗癌药物组合物可制成各种剂型，如，但不限于，针剂、浑悬液、软膏、胶囊、及植入缓释剂等；呈各种形状，如，但不限于，颗粒样、片状、球形、块状、针状、棒状及模样；可经各种途径给药，以动脉途径为佳，肿瘤体内直接放置为最佳。本发明的最佳剂型为生物可容性、可降解吸收的植入缓释剂，可

因不同临床需要而制成各种形状。其主要成份的包装方法和步骤在美国专利中(US5651986)已有详细描述，包括若干种制备缓释制剂的方法:如，但不限于，（i）把载体支持物粉末与药物混合然后压制成植入剂，即所谓的混合法；（ii）把载体支持物熔化,与待包装的药物相混合,然后固体冷却，即所谓的熔融法；（iii）把载体支持物溶解于溶剂中,把待包装的药物溶解或分散于聚合物溶液中，然后蒸发溶剂，乾燥，即所谓的溶解法。其中溶解法可用以微球的制造，其方法是任意的，抗癌药物组合物也可包装脂质体中。

本发明抗癌药物组合物制备技术的特点在于将亚硝脲类抗癌药物增效剂和四嗪类药物单独或联合包装于药用辅料中，按照一定比例将有效成份和药用辅料溶解，待充份混匀之后乾燥。待乾燥后立即成形并消毒分装。

以上四嗪类药物能够不同程度的抑制或降低肿瘤细胞 DNA 修复酶的活性，本发明的体内外实验发现其对亚硝脲类抗癌药物的明显增效作用。当二者联合局部应用，尤其是局部放置，不仅能够克服全身给药带来的毒性反应，而且解决了肿瘤局部药物浓度过低以及细胞对药物的敏感性问题。

试验一、四嗪类药物及亚硝脲类抗癌药物的体外抑瘤作用。

所用的肿瘤细胞包括CNS-1、C6、胃腺上皮癌（SA)、骨肿瘤(BC)、乳腺癌（BA)、肺癌（LH)、甲状腺乳头状腺癌（PAT)、肝癌等。将以下四嗪类药物及亚硝脲类抗癌药物按10 ug/ml浓度加到体外培养24小时的各种肿瘤细胞中，继续培养48小时后计数细胞总数。 其肿瘤生长抑制效果见表1所示。

表1

瘤细胞	TMZ	BCNU	TMZ +BCNUC	ACNU	TMZ + ACNU	CCNU	TMZ + CCNU	GCNU	TMZ +GCNU
CNS	68%	64%	90%	66%	98%	64%	90%	66%	98%
C6	62%	64%	96%	60%	98%	64%	96%	60%	98%
SA	58%	60%	86%	56%	92%	60%	86%	60%	92%
BC	54%	64%	94%	54%	84%	54%	94%	64%	84%
BA	54%	62%	98%	62%	82%	52%	98%	62%	82%
LH	60%	58%	90%	62%	92%	68%	90%	62%	92%
PAT	54%	56%	94%	66%	98%	66%	94%	56%	98%

注解：TMZ：替莫唑胺；BCNU、ACNU、CCNU、GCNU分别为卡莫司汀、尼莫司汀、洛莫司汀和加莫司汀。其中替莫唑胺为四嗪类药物，属亚硝脲类抗癌药物增效剂，而BCNU、ACNU、CCNU、GCNU均为亚硝脲类抗癌药物。

试验二、四嗪类药物及亚硝脲类抗癌药物的体外抑瘤作用。

用试验一中所用的肿瘤细胞，将以下四嗪类药物及亚硝脲类抗癌药物按10 ug/ml浓度加到体外培养24小时的各种肿瘤细胞中，继续培养48小时后计数细胞总数。 其肿瘤生长抑制效果见表2所示。

表2

瘤细胞	DITC	Al	DITC +Al	At	DITC + At	Am	DITC + Am	Be	DITC +Be
CNS	67%	64%	92%	67%	96%	65%	94%	64%	96%

C6	62%	66%	96%	60%	98%	64%	96%	60%	94%
SA	56%	60%	88%	58%	90%	68%	86%	58%	92%
BC	54%	56%	94%	54%	84%	64%	90%	64%	86%
BA	57%	52%	96%	62%	80%	68%	98%	56%	82%
LH	62%	66%	90%	68%	90%	50%	92%	60%	90%
PAT	54%	66%	96%	66%	98%	56%	94%	56%	98%

注解：DITC ： 5-（三氮烯基）咪唑-4-羧酰胺；Al：阿雌莫司汀、At：阿莫司汀、Am：氨莫司汀、Be：苯达莫司汀．其中DITC为四嗪类药物，属于亚硝脲类抗癌药物增效剂，而阿雌莫司汀、阿莫司汀、氨莫司汀、苯达莫司汀均为亚硝脲类抗癌药物。

试验三、四嗪类药物及亚硝脲类抗癌药物的体外抑瘤作用。

用试验一中所用的肿瘤细胞，将以下四嗪类药物及亚硝脲类抗癌药物按10 ug/ml浓度加到体外培养24小时的各种肿瘤细胞中，继续培养48小时后计数细胞总数。 其肿瘤生长抑制效果见表3所示。

表3

瘤细胞	IRT	Di	IRT +Di	Bo	IRT + Bo	El	IRT + El	Ec	IRT + Ec
CNS	67%	64%	92%	67%	96%	65%	94%	64%	96%
C6	62%	66%	96%	60%	98%	64%	89%	60%	94%
SA	56%	60%	88%	58%	90%	68%	88%	58%	92%
BC	54%	56%	94%	54%	84%	64%	90%	64%	86%
BA	57%	52%	96%	62%	80%	68%	88%	66%	82%
LH	62%	66%	90%	68%	90%	50%	92%	60%	90%
PAT	54%	66%	96%	66%	98%	56%	89%	66%	98%

注解： IRT：伊力替康；Di：二硫莫司汀；Bo：波呋莫司汀；El：依莫司汀；Ec：依考莫司汀．其中IRT为四嗪类药物，属于亚硝脲类抗癌药物增效剂，而二硫莫司汀、波呋莫司汀、依莫司汀及依考莫司汀均为亚硝脲类抗癌药物。

试验四、四嗪类药物及亚硝脲类抗癌药物的体外抑瘤作用。

用试验一中所用的肿瘤细胞，将以下四嗪类药物及亚硝脲类抗癌药物按10 ug/ml浓度加到体外培养24小时的各种肿瘤细胞中，继续培养48小时后计数细胞总数。 其肿瘤生长抑制效果见表4所示。

表4

瘤细胞	PCB	Fo	PCB +Fo	Es	PCB + Es	He	PCB + He	Ne	PCB + Ne
CNS	57%	68%	98%	68%	98%	68%	88%	59%	94%
C6	52%	76%	96%	62%	98%	64%	90%	60%	90%
SA	46%	60%	88%	58%	90%	68%	90%	88%	95%
BC	58%	66%	94%	54%	84%	60%	89%	64%	88%
BA	57%	58%	96%	68%	88%	68%	88%	56%	82%

LH	60%	68%	98%	68%	90%	50%	89%	60%	92%
PAT	55%	66%	96%	68%	98%	58%	94%	56%	96%

注解：PCB：甲基苄肼；Fo：福莫司汀；Es：雌莫司汀；He：合莫司汀；Ne：奈莫司汀。其中PCB为四嗪类药物，属于亚硝脲类抗癌药物增效剂， 而福莫司汀、雌莫司汀、合莫司汀和奈莫司汀均为亚硝脲类抗癌药物。

试验五、四嗪类药物及亚硝脲类抗癌药物的体外抑瘤作用。

用试验一中所用的肿瘤细胞，将以下四嗪类药物及亚硝脲类抗癌药物按10 ug/ml浓度加到体外培养24小时的各种肿瘤细胞中，继续培养48小时后计数细胞总数。 其肿瘤生长抑制效果见表5所示。

表5

瘤细胞	Topo	Ma	Topo +Ma	Met	Topo + Met	Se	Topo + Se	Ra	Topo +Ra
CNS	67%	64%	92%	67%	96%	65%	94%	64%	96%
C6	62%	66%	96%	60%	98%	64%	96%	56%	94%
SA	56%	60%	88%	58%	90%	68%	86%	58%	92%
BC	54%	56%	94%	54%	84%	64%	90%	54%	86%
BA	57%	52%	96%	62%	80%	68%	98%	66%	82%
LH	62%	66%	90%	68%	90%	50%	92%	60%	90%
PAT	54%	66%	96%	66%	98%	56%	94%	56%	98%

注解：Topo：拓扑替康；Ma：甘露莫司汀；Met：甲基洛莫司汀；Se：司莫司汀；Ra：雷莫司汀。其中拓扑替康为四嗪类药物，属于亚硝脲类抗癌药物增效剂，而甘露莫司汀、甲基洛莫司汀、司莫司汀及雷莫司汀均为亚硝脲类抗癌药物。

结果表明，所用拓扑替康及各种亚硝脲类抗癌药物在该浓度时对肿瘤细胞生长均有明显的抑制作用，但二者合用时具有明显的增效作用。

试验六、四嗪类药物及亚硝脲类抗癌药物的体外抑瘤作用。

用试验一中所用的肿瘤细胞，将以下四嗪类药物及亚硝脲类抗癌药物按10 ug/ml浓度加到体外培养24小时的各种肿瘤细胞中，继续培养48小时后计数细胞总数。 其肿瘤生长抑制效果见表6所示。

表6

瘤细胞	MTZ	Pr	MTZ +Pr	Ur	MTZ + Ur	Ta	MTZ + Ta	Sp	MTZ + Sp
CNS	67%	64%	92%	67%	96%	65%	94%	64%	96%
C6	62%	66%	96%	60%	98%	64%	89%	60%	94%
SA	56%	60%	88%	58%	90%	68%	86%	58%	92%
BC	54%	56%	94%	54%	84%	64%	90%	64%	86%
BA	57%	52%	96%	62%	80%	68%	88%	66%	82%
LH	62%	66%	90%	68%	90%	50%	92%	60%	90%
PAT	54%	66%	96%	66%	98%	56%	94%	66%	98%

注解：MTZ：米托唑胺；Pr：泼尼莫司汀；.Ur：乌拉莫司汀； Ta：他莫司汀；Sp：螺莫司汀。其中MTZ为四嗪类药物，属于亚硝脲类抗癌药物增效剂，而泼尼莫司汀、乌拉莫司汀、他莫司汀及螺莫司汀均为亚硝脲类抗癌药物。

试验一到六结果表明，所用四嗪类药物及各种亚硝脲类抗癌药物在该浓度时对肿瘤细胞生长均有明显的抑制作用，但二者合用时具有明显的增效作用。

试验七、四嗪类药物对O6-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶的抑制作用

如上所述，肿瘤细胞内DNA修复酶如O6-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶的增高是其对亚硝脲类抗癌药物产生耐受性的主要原因，因此，检测化合物对该酶活力的影响可以用来筛选亚硝脲类抗癌药物增效剂。本实验以肺癌细胞为试验对象，用甲基转移酶诊断药盒对四嗪类药物及其衍生物进行筛选。体外培养24小时的各种肿瘤细胞中加入浓度为5 mM/ml的药物，继续培养48小时后检测对甲基转移酶活力的抑制作用。抑制效果（%）见表7所示。

表7

甲基转移酶抑制剂	甲基转移酶抑制率（%）
甲基苄肼	88
拓扑替康	80
伊力替康	86
米托唑胺	80
氮烯唑胺	80
替莫唑胺	84
咪唑并四嗪	80
咪唑并哌嗪	80
1*H*-咪唑并[b]哌嗪	88
咪唑并吡啶	86
1*H*-咪唑并[1,2-a] 吡啶	88
4-羧基替莫唑胺	88
3-N-甲基替莫唑胺	90
吡咯[2,1-d][1,2,3,5]四嗪-4（3H）-TMZ	68
吡咯[2,1-d][1,2,3,5]四嗪 10a-o	70
5-(3-N-甲基三氮-1-基)- 咪唑并-4-羧酰胺	80
8-硝基-3-甲基-苯并-1,2,3,5-四氮杂卓-4-TMZ	86
3,5-二甲基-吡啶并-1,2,3,5-四氮杂卓-4-替莫唑胺	80
3-(2-氯乙烷)-N,N 二甲基-4-氧-3,4-二氢咪唑[5,1-d]-1,2 ,3,5- 四嗪-8-羧酰胺	86

5-（三氮烯基）咪唑-4-羧酰胺	82
3-氨基苯酰胺	80
6-氨基烟酰胺	86

由上表可以看出，所试药物对甲基转移酶均有明显抑制作用，其中甲基苄肼、拓扑替康、伊力替康、米托唑胺、氮烯唑胺、替莫唑胺、咪唑并四嗪、咪唑并哌嗪、1*H*-咪唑并[b]哌嗪、咪唑并吡啶、1*H*-咪唑并[1,2-a]吡啶、4-羧基替莫唑胺、3-N-甲基替莫唑胺、吡咯[2,1-d][1,2,3,5]四嗪-4(3H)-替莫唑胺、吡咯[2,1-d][1,2,3,5]四嗪10a-o、5-(3-N-甲基三氮-1-基)-咪唑并-4-羧酰胺、8-硝基-3-甲基-苯并-1,2,3,5-四氮杂卓-4-替莫唑胺、3,5-二甲基-吡啶并-1,2,3,5-四氮杂卓-4-替莫唑胺 或3-(2-氯乙烷)-N,N二甲基-4-氧-3,4-二氢咪唑[5,1-d]-1,2 ,3,5- 四嗪-8-羧酰胺、5-（三氮烯基）咪唑-4-羧酰胺、3-氨基苯酰胺或6-氨基烟酰胺等的作用尤为明显，均在80%以上。

以多种其它肿瘤细胞（包括脑肿瘤（CNS-1、C6、9L）、胃腺上皮癌（SA）、骨肿瘤(BC)、乳腺癌（BA）、甲状腺乳头状腺癌（PAT）、肝癌、胰腺癌、肾癌及食管癌等）为试验对象得出类似结果。由此说明四嗪类药物，尤其是甲基苄肼、拓扑替康、伊力替康、米托唑胺、氮烯唑胺、替莫唑胺、咪唑并四嗪、咪唑并哌嗪和1*H*-咪唑并[b]哌嗪、咪唑并吡啶等均为非常有效的甲基转移酶抑制剂。其对肿瘤的治疗作用在以下的动物试验和实施例中将有更充分的描述。

试验八、四嗪类药物及亚硝脲类抗癌药物的体内抑瘤作用。

以大白鼠为试验对象，将$2x10^5$个肿瘤细胞（肝癌）皮下注射于其季肋部，待肿瘤生长14天后将其分为以下10组（见表8）。第一组为对照，第2到10组为治疗组，其中，第2组为替莫唑胺(TMZ)，第3到6组分别为BCNU（卡莫司汀）、ACNU、CCNU及雌莫司汀。第7到10组分别为TMZ与BCNU、ACNU、CCNU及雌莫司汀的联合。所有药物均经瘤内注射，剂量为5 mg/kg。治疗后第30天测量肿瘤体积大小，比较治疗效果（见表8）。

表 8

试验组 (n)	所受治疗	肿瘤体积 (cm^3)	P 值
1 (6)	对照	80±21 cm^3	
2 (6)	TMZ	60±4.5 cm^3	<0.05
3 (6)	ACNU	50±2.5 cm^3	<0.01
4 (6)	BCNU	44±3.2 cm^3	<0.01
5 (6)	CCNU	48±3.6 cm^3	<0.01
6 (6)	雌莫司汀	40±3.8 cm^3	<0.01
7 (6)	TMZ + ACNU	30±3.2 cm^3	<0.001
8 (6)	TMZ + BCNU	34±3.6 cm^3	<0.001
9 (6)	TMZ + CCNU	22±3.2 cm^3	<0.001
10 (6)	TMZ + 雌莫司汀	20±3.4 cm^3	<0.001

注解：TMZ为四嗪类药物，属于亚硝脲类抗癌药物增效剂，而BCNU、ACNU、CCNU及雌莫司汀均为亚硝脲类抗癌药物。

试验九、四嗪类药物及亚硝脲类抗癌药物的体内抑瘤作用。

以大白鼠为试验对象， 将$2x10^5$个肿瘤细胞（乳腺癌）皮下注射于其季肋部，待肿瘤生长14天后将其分为以下10组（见表9）。第1组为对照，第2到10组为治疗组，其中，第2组为四嗪类药物抗癌药物；第3到6组分别为亚硝脲类抗癌药物。第7到10组分别为四嗪类药物及不同亚硝脲类抗癌药物的联合。所有药物均经瘤内放置， 剂量为5 mg/kg。治疗后第30天测量肿瘤体积大小，比较治疗效果（见表9）。

表 9

试验组 (n)	所受治疗	肿瘤体积 (cm^3)	P 值
1 (6)	对照	78.5±23 cm^3	
2 (6)	DITC	54±5.3 cm^3	<0.05
3 (6)	福莫司汀	41±2.3 cm^3	<0.01
4 (6)	司莫司汀	42±3.6 cm^3	<0.01
5 (6)	牛磺莫司汀	44±3.4 cm^3	<0.01
6 (6)	螺莫司汀	44±3.8 cm^3	<0.01
7 (6)	DITC + 福莫司汀	22±3.6 cm^3	<0.001
8 (6)	DITC + 司莫司汀	20±3.6 cm^3	<0.001
9 (6)	DITC + 牛磺莫司汀	22±3.6 cm^3	<0.001
10 (6)	DITC + 螺莫司汀	28±3.6 cm^3	<0.001

备注：DITC：咪唑-4-羧酰胺，为四嗪类药物，属于亚硝脲类抗癌药物增效剂，而福莫司汀、司莫司汀、牛磺莫司汀及螺莫司汀均为亚硝脲类抗癌药物。

试验十、局部应用四嗪类药物对亚硝脲类抗癌药物的增效作用。

以大白鼠为试验对象， 将$2x10^5$个肉瘤细胞（S180）皮下注射于其季肋部，待肿瘤生长14天后将其分为以下10组（见表10）。第一组为对照，第2到10组为治疗组，其中，第2组为甲基苄肼 （PCB），第3到6组分别为BCNU（卡莫司汀）、ACNU、CCNU及雌莫司汀。第7到10组分别为PCB与BCNU、ACNU、CCNU及雌莫司的联合。BCNU（卡莫司汀）、ACNU、CCNU及雌莫司汀。亚硝脲类抗癌药物增效剂经瘤内放置，而亚硝脲类抗癌药物于一天后经腹腔注射， 所有药物剂量均为5 mg/kg。 治疗后第30天测量肿瘤体积大小，比较治疗效果（见表10）。

表 10

试验组 (n)	所受治疗	肿瘤体积 (cm^3)	P 值
1 (6)	对照	89.5±23 cm^3	
2 (6)	PCB	68±5.3 cm^3	<0.05
3 (6)	ACNU	40±2.3 cm^3	<0.01
4 (6)	BCNU	33±3.6 cm^3	<0.01
5 (6)	CCNU	34±3.4 cm^3	<0.01
6 (6)	雌莫司汀	32±3.8 cm^3	<0.01
7 (6)	PCB + ACNU	22±3.6 cm^3	<0.001
8 (6)	PCB + BCNU	20±3.6 cm^3	<0.001
9 (6)	PCB + CCNU	18±3.6 cm^3	<0.001

10 (6)	PCB + 雌莫司汀	16±3.6 cm^3	<0.001

备注：PCB：甲基苄肼为四嗪类药物，属于亚硝脲类抗癌药物增效剂；而BCNU、ACNU、CCNU及雌莫司汀均为亚硝脲类抗癌药物。

试验八到十的结果表明，与对照组相比，四嗪类抗癌药物（第2组）及亚硝脲类抗癌药物（第3到6组）单独应用均有一定的抑瘤作用（$P < 0.05$）。然而联合应用（第7到10组）具有明显的增效作用（$P < 0.001$）。类似增效作用还见于其它四嗪类药物与其它亚硝脲类抗癌药物的联合。

试验十一、局部应用四嗪类药物和亚硝脲类抗癌药物对肿瘤的抑制作用。

按照试验九所述的方法比较四嗪类药物和亚硝脲类抗癌药物对肠癌生长的抑瘤作用。第一组为对照，第2到10组为治疗组，其中，第2组为BCNU（卡莫司汀），第3到6组分别为拓扑替康(Topo)、伊力替康(IRT)、米托唑胺(MTZ)和氮烯唑胺(DCB)。第7到10组分别为BCNU与拓扑替康、伊利诺替康、米托唑胺和氮烯唑胺的联合。所有药物均经瘤内放置，缓释制剂按照本发明所述工艺制作。缓释制剂重量为30 毫克，所有药物的含量均为 12 %。 治疗后第30天测量肿瘤体积大小，比较治疗效果（见表11）。

表11

试验组 (n)	所受治疗	肿瘤体积 (cm^3)	P 值
1 (6)	对照	67.5±23 cm^3	
2 (6)	BCNU	36±5.8 cm^3	<0.05
3 (6)	Topo	35±2.3 cm^3	<0.01
4 (6)	IRT	30±3.6 cm^3	<0.01
5 (6)	MTZ	34±3.4 cm^3	<0.01
6 (6)	DCB	30±3.8 cm^3	<0.01
7 (6)	BCNU + Topo	10±3.6 cm^3	<0.001
8 (6)	BCNU + IRT	12±3.6 cm^3	<0.001
9 (6)	BCNU + MTZ	16±3.6 cm^3	<0.001
10 (6)	BCNU + DCB	12±3.6 cm^3	<0.001

备注：为拓扑替康（Topo）、伊力替康（）、米托唑胺（MTZ）和氮烯唑胺（DCB）均为四嗪类药物，亚硝脲类抗癌药物增效剂，而BCNU为亚硝脲类抗癌药物。 结果表明，与对照组相比， 四嗪类药物（第3到6组）及亚硝脲类抗癌药物（第2组）单独应用均有一定的抑瘤作用（$P < 0.05$）。然而联合应用（第7到10组）具有明显的增效作用（$P < 0.001$）。

试验十二、局部应用四嗪类药物和亚硝脲类抗癌药物对肿瘤的抑制作用。

按照试验九所述的方法比较四嗪类药物和亚硝脲类抗癌药物对肠癌生长的抑瘤作用。第一组为对照，第2到10组为治疗组，其中，第2组为ACNU（尼莫司汀），第3到6组分别为拓扑替康（Topo）、伊力替康（IRT）、米托唑胺（MTZ）和替莫唑胺(TMZ)。第7到10组分别为BCNU与拓扑替康、伊力替康、米托唑胺和氮烯唑胺的联合。所有药物均经瘤内放置，缓释制剂按照本发明所述工艺制作。缓释制剂重量为30 毫克，所有药物的含量均为 12 %。 治疗后第30天测量肿瘤体积大小，比较治疗效果（见表12）。

表12

试验组 (n)	所受治疗	肿瘤体积 (cm^3)	P 值
1 (6)	对照	67.5±23 cm^3	
2 (6)	ACNU	36±5.8 cm^3	<0.05
3 (6)	Topo	35±2.3 cm^3	<0.01
4 (6)	IRT	30±3.6 cm^3	<0.01
5 (6)	TMZ	34±3.4 cm^3	<0.01
6 (6)	DCB	30±3.8 cm^3	<0.01
7 (6)	ACNU + Topo	10±3.6 cm^3	<0.001
8 (6)	ACNU + IRT	12±3.6 cm^3	<0.001
9 (6)	ACNU + MTZ	16±3.6 cm^3	<0.001
10 (6)	ACNU + DCB	12±3.6 cm^3	<0.001

备注：为拓扑替康（Topo）、伊力替康（IRT）、米托唑胺（MTZ）和替莫唑胺(TMZ)均为四嗪类药物，属于亚硝脲类抗癌药物增效剂，而ACNU为亚硝脲类抗癌药物。结果表明，与对照组相比，四嗪类药物（第3到6组）及亚硝脲类抗癌药物（第2组）单独应用均有一定的抑瘤作用（$P<0.05$）。然而联合应用（第7到10组）具有明显的增效作用（$P<0.001$）。类似增效作用还见于其它四嗪类药物与其它亚硝脲类抗癌药物的联合。

总之，上述所列的各种四嗪类药物均能抑制甲基转移酶的活性。实验结果也表明本发明中的四嗪类药物对所列亚硝脲类抗癌药物及其类似物的增效作用。因此，本发明所述的抗癌复合物的有效成分为任意一种（或多种）四嗪类药物和/或任意一种（或多种）亚硝脲类抗癌药物及其类似物的联合或单独包装。含有以上有效成分的抗癌药物组合物可制成任意剂型或形状，但以缓慢释放剂型为优选。

本发明抗癌药物组合物的制备方法如下：

1. 将称重的药用辅料放入容器中,加一定量的有机溶剂溶解均匀，有机溶剂的量不严格限定，以充分溶解为宜。
2. 加入称重之抗癌有效成份重新摇匀。药物与药用辅料的用量比例因具体要求而定。
3. 去除有机溶剂。真空干燥或低温干燥法均可。
4. 将干燥后的固体组合物根据需要制成各种形状。
5. 分装后射线灭菌(射线剂量因体积而异)备用。也可用其它方法灭菌。

（四）具体实施方式

本发明加工成抗癌药物组合物通过以下实施例进一步加以说明,但不限于此。

实施例一：

将 95 mg 分子量为 20000 的聚乳酸 （PLA）放入容器中,加 100 毫升二氯甲烷溶解混匀后，加入 5mg 抗癌有效成份(替莫唑胺),重新摇匀后真空干燥去除有机溶剂。将干燥后的固体组合物立即成形，分装后射线灭菌，得到含 5%的抗癌药物组合物。将含药复合物放于小白鼠皮下，定时取出测药物含量，根据剩余药物量，并计算累计释放百分数（%）。结果发现，药物在 30 天内均匀释放 80-95%。以上均为重量百分比。

实施例二：

加工成抗癌药物组合物的方法步骤与实施例一相同， 但所含有效成分为列之一：

（a）2-25% 的咪唑并四嗪、咪唑并哌嗪、1*H*-咪唑并[b]哌嗪、或咪唑并吡啶；

（b） 2-30% 的1*H*-咪唑并[1,2-a] 吡啶、4-羧基替莫唑胺、3-N-甲基替莫唑胺、吡咯[2,1-d][1,2,3,5]四嗪-4（3H）-替莫唑胺、吡咯[2,1-d][1,2,3,5]四嗪10a-o、5-(3-N-甲基三氮-1-基)- 咪唑并-4-羧酰胺或8-硝基-3-甲基-苯并-1,2,3,5-四氮杂卓-4-替莫唑胺；

（c）2-35% 的3,5-二甲基-吡啶并-1,2,3,5-四氮杂卓-4-替莫唑胺 或3-(2-氯乙烷)-N,N二甲基-4-氧-3,4-二氢咪唑[5,1-d]-1,2,3,5- 四嗪-8-羧酰胺或5-（三氮烯基）咪唑-4-羧酰胺；或

（d）2-35% 的甲基苄肼、 拓扑替康、 伊力替康、米托唑胺、氮烯唑胺、替莫唑胺、3-氨基苯酰胺或6-氨基烟酰胺。

以上均为重量百分比。

实施例三：

加工成抗癌药物组合物的方法步骤与实施例一相同， 但所用药用辅料分别为下列之一：

a) 分子量为5000-15000、10000-20000、25000-35000或30000-50000的聚乳酸（PLA）；

b) 分子量为5000-15000、10000-20000、25000-35000或30000-50000的聚乙醇酸和羟基乙酸的共聚物（PLGA）；

c) 乙烯乙酸乙烯酯共聚物（EVAc）；

d) 10：90、20：80、30:70、40：60、50：50或60：40的对羧苯基丙烷（p-CPP）：葵二酸（SA）共聚物（聚苯丙生），均为重量百分比。

实施例四：

将 80 mg 分子量为 10000 的聚乳酸 （PLGA）放入容器中,加 100 毫升二氯甲烷溶解混匀后，加入 5mg 替莫唑胺和 15mg 卡莫司汀,重新摇匀后真空干燥去除有机溶剂。将干燥后的固体组合物立即成形，分装后射线灭菌，得到抗癌药物组合物含 5% 替莫唑胺和 15% 卡莫司汀。将含药复合物防于小白鼠皮下，定时取出测药物含量，根据剩余药物量， 并计算累计释放百分数（%）。结果发现， 药物在 30 天内均匀释放 90-95%。以上均为重量百分比。

实施例五：

加工成抗癌药物组合物的方法步骤与实施例四相同， 但所含有效成分为：

A) 四嗪类药物：15%卡莫司汀与5% 的咪唑并四嗪、咪唑并哌嗪、1*H*-咪唑并[b]哌嗪、咪唑并吡啶、1*H*-咪唑并[1,2-a] 吡啶、4-羧基替莫唑胺、3-N-甲基替莫唑胺、吡咯[2,1-d][1,2,3,5]四嗪-4（3H）-替莫唑胺、吡咯[2,1-d][1,2,3,5]四嗪10a-o、5-(3-N-甲基三氮-1-基)- 咪唑并-4-羧酰胺或8-硝基-3-甲基-苯并-1,2,3,5-四氮杂卓-4-替莫唑胺；和

B) 亚硝脲类药物：15% 卡莫司汀与5%的3,5-二甲基-吡啶并-1,2,3,5-四氮杂卓-4-替莫唑胺 或3-(2-氯乙烷)-N,N二甲基-4-氧-3,4-二氢咪唑[5,1-d]-1,2 ,3,5- 四嗪-8-羧酰胺、5-（三氮烯基）咪唑-4-羧酰胺、甲基苄肼、 拓扑替康、 伊力替康、米托唑胺、氮烯唑胺、

替莫唑胺、3-氨基苯酰胺或6-氨基烟酰胺。

以上均为重量百分比。

实施例六：

加工成抗癌药物组合物方法步骤与实施例四相同， 但所含有效成分为（a）～(d)：

（a）15%尼莫司汀与5% 的咪唑并四嗪、咪唑并哌嗪、1*H*-咪唑并[b]哌嗪、咪唑并吡啶、1*H*-咪唑并[1,2-a] 吡啶、4-羧基替莫唑胺、3-N-甲基替莫唑胺、吡咯[2,1-d][1,2,3,5]四嗪-4（3H）-替莫唑胺、吡咯[2,1-d][1,2,3,5]四嗪10a-o、5-(3-N-甲基三氮-1-基)-咪唑并-4-羧酰胺或8-硝基-3-甲基-苯并-1,2,3,5-四氮杂卓-4-替莫唑胺；

(b) 15% 尼莫司汀与5%的3,5-二甲基-吡啶并-1,2,3,5-四氮杂卓-4-替莫唑胺 、3-(2-氯乙烷)-N,N二甲基-4-氧-3,4-二氢咪唑[5,1-d]-1,2 ,3,5- 四嗪-8-羧酰胺、5-（三氮烯基）咪唑-4-羧酰胺、甲基苄肼、 拓扑替康、 伊力替康、米托唑胺、氮烯唑胺、替莫唑胺、3-氨基苯酰胺或6-氨基烟酰胺。

(c) 15%洛莫司汀与5% 的咪唑并四嗪、咪唑并哌嗪、1*H*-咪唑并[b]哌嗪、咪唑并吡啶、1*H*-咪唑并[1,2-a] 吡啶、4-羧基替莫唑胺、3-N-甲基替莫唑胺、吡咯[2,1-d][1,2,3,5]四嗪-4（3H）-替莫唑胺、吡咯[2,1-d][1,2,3,5]四嗪10a-o、5-(3-N-甲基三氮-1-基)-咪唑并-4-羧酰胺或8-硝基-3-甲基-苯并-1,2,3,5-四氮杂卓-4-替莫唑胺；

(d) 15% 洛莫司汀与5%的3,5-二甲基-吡啶并-1,2,3,5-四氮杂卓-4-替莫唑胺 、3-(2-氯乙烷)-N,N二甲基-4-氧-3,4-二氢咪唑[5,1-d]-1,2 ,3,5- 四嗪-8-羧酰胺、5-（三氮烯基）咪唑-4-羧酰胺、甲基苄肼、 拓扑替康、 伊力替康、米托唑胺、氮烯唑胺、替莫唑胺、3-氨基苯酰胺或6-氨基烟酰胺。

以上均为重量百分比。

实施例七：

加工成抗癌药物组合物的方法步骤与实施例四相同， 但所含有效成分为（a）～(d)：

（a）15%雌莫司汀与5% 的咪唑并四嗪、咪唑并哌嗪、1*H*-咪唑并[b]哌嗪、咪唑并吡啶、1*H*-咪唑并[1,2-a] 吡啶、4-羧基替莫唑胺、3-N-甲基替莫唑胺、吡咯[2,1-d][1,2,3,5]四嗪-4（3H）-替莫唑胺、吡咯[2,1-d][1,2,3,5]四嗪10a-o、5-(3-N-甲基三氮-1-基)-咪唑并-4-羧酰胺或8-硝基-3-甲基-苯并-1,2,3,5-四氮杂卓-4-替莫唑胺；

(b) 15% 司莫司汀与5%的3,5-二甲基-吡啶并-1,2,3,5-四氮杂卓-4-替莫唑胺 、3-(2-氯乙烷)-N,N二甲基-4-氧-3,4-二氢咪唑[5,1-d]-1,2 ,3,5- 四嗪-8-羧酰胺、5-（三氮烯基）咪唑-4-羧酰胺、甲基苄肼、 拓扑替康、 伊力替康、米托唑胺、氮烯唑胺、替莫唑胺、3-氨基苯酰胺或6-氨基烟酰胺。

(c) 15%甲基洛莫司汀与5% 的咪唑并四嗪、咪唑并哌嗪、1*H*-咪唑并[b]哌嗪、咪唑并吡啶、1*H*-咪唑并[1,2-a] 吡啶、4-羧基替莫唑胺、3-N-甲基替莫唑胺、吡咯[2,1-d][1,2,3,5]四嗪-4（3H）-替莫唑胺、吡咯[2,1-d][1,2,3,5]四嗪10a-o、5-(3-N-甲基三氮-1-基)-咪唑并-4-羧酰胺或8-硝基-3-甲基-苯并-1,2,3,5-四氮杂卓-4-替莫唑胺；

(d) 15% 甲基洛莫司汀与5%的3,5-二甲基-吡啶并-1,2,3,5-四氮杂卓-4-替莫唑胺 、3-(2-氯乙烷)-N,N二甲基-4-氧-3,4-二氢咪唑[5,1-d]-1,2 ,3,5- 四嗪-8-羧酰胺、5-（三氮烯基）咪唑-4-羧酰胺、甲基苄肼、 拓扑替康、 伊力替康、米托唑胺、氮烯唑胺、替莫唑胺、3-氨基苯酰胺或6-氨基烟酰胺。

以上均为重量百分比。

实施例八：

将80 mg乙烯乙酸乙烯酯共聚物放入容器中，加100毫升二氯甲烷溶解混匀后，加入10mg四嗪类药物和10mg亚硝脲类抗癌药物，重新摇匀后真空干燥去除有机溶剂。将干燥后的固体组合物立即成形，分装后射线灭菌，得到抗癌药物组合物含10% 四嗪类药物和10%亚硝脲类抗癌药物。将上述实施例中的抗癌药物组合物放在室温生理盐水中浸泡，测不同时间药物释放量，并计算累计释放百分数（%）。结果发现，药物在30天内均匀释放90-97%。以上均为重量百分比。

实施例九：

加工成抗癌药物组合物的方法步骤与实施例八相同，但所含抗癌有效成分为下列a)-l)之一：

a) 1 - 40 % 咪唑并哌嗪；

或

b) 5 - 30 % 替莫唑胺 和 5 - 20 % 卡莫司汀；

或

c) 5 - 25 % 替莫唑胺 和 5 - 20 % 尼莫司汀；

或

d) 2 - 35 % 替莫唑胺 和 5 - 20 % 洛莫司汀；

或

e) 2 - 40 % 替莫唑胺 和 5 - 20 % 司莫司汀；

或

f) 1 - 35 % 替莫唑胺 和 5 - 20 % 萨莫司汀；

或

g) 1 - 45 % 咪唑并吡啶 ；

或

h) 1 - 45 % 米托唑胺 和 5 - 20 % 卡莫司汀；

或

i) 5 - 25 % 米托唑胺 和 5 - 20 % 尼莫司汀；

或

j) 2 - 35 % 米托唑胺 和 5 - 20 % 洛莫司汀；

或

k) 2 - 40 % 米托唑胺 和 5 - 20 % 司莫司汀；

或

l) 1 - 35 % 米托唑胺 和 5 - 20 % 萨莫司汀。

以上均为重量百分比。

实施例十：

加工成抗癌药物组合物的方法步骤与实施例八相同，但所含有效成分为下列组合之一：

（1）甲基苄肼与链佐星、阿雌莫司汀、阿莫司汀、氨莫司汀、尼莫司汀、苯达莫司汀、

二硫莫司汀、波呋莫司汀、依莫司汀、依考莫司汀、二硫氮芥、加莫司汀、福莫司汀、雌莫司汀、合莫司汀、奈莫司汀、甘露莫司汀、洛莫司汀、甲基洛莫司汀、司莫司汀、雷莫司汀、泼尼莫司汀、乌拉莫司汀、萨莫司汀、牛磺莫司汀、他莫司汀或螺莫司汀的组合；

（2）拓扑替康与链佐星、阿雌莫司汀、阿莫司汀、氨莫司汀、尼莫司汀、苯达莫司汀、二硫莫司汀、波呋莫司汀、依莫司汀、依考莫司汀、二硫氮芥、加莫司汀、福莫司汀、雌莫司汀、合莫司汀、奈莫司汀、甘露莫司汀、洛莫司汀、甲基洛莫司汀、司莫司汀、雷莫司汀、泼尼莫司汀、乌拉莫司汀、萨莫司汀、牛磺莫司汀、他莫司汀或螺莫司汀的组合；

（3）伊力替康与链佐星、阿雌莫司汀、阿莫司汀、氨莫司汀、尼莫司汀、苯达莫司汀、二硫莫司汀、波呋莫司汀、依莫司汀、依考莫司汀、二硫氮芥、加莫司汀、福莫司汀、雌莫司汀、合莫司汀、奈莫司汀、甘露莫司汀、洛莫司汀、甲基洛莫司汀、司莫司汀、雷莫司汀、泼尼莫司汀、乌拉莫司汀、萨莫司汀、牛磺莫司汀、他莫司汀或螺莫司汀的组合；

（4）米托唑胺与链佐星、阿雌莫司汀、阿莫司汀、氨莫司汀、尼莫司汀、苯达莫司汀、二硫莫司汀、波呋莫司汀、依莫司汀、依考莫司汀、二硫氮芥、加莫司汀、福莫司汀、雌莫司汀、合莫司汀、奈莫司汀、甘露莫司汀、洛莫司汀、甲基洛莫司汀、司莫司汀、雷莫司汀、泼尼莫司汀、乌拉莫司汀、萨莫司汀、牛磺莫司汀、他莫司汀或螺莫司汀的组合；

（5）氮烯唑胺与链佐星、阿雌莫司汀、阿莫司汀、氨莫司汀、尼莫司汀、苯达莫司汀、二硫莫司汀、波呋莫司汀、依莫司汀、依考莫司汀、二硫氮芥、加莫司汀、福莫司汀、雌莫司汀、合莫司汀、奈莫司汀、甘露莫司汀、洛莫司汀、甲基洛莫司汀、司莫司汀、雷莫司汀、泼尼莫司汀、乌拉莫司汀、萨莫司汀、牛磺莫司汀、他莫司汀或螺莫司汀的组合；

（6）替莫唑胺、3-氨基苯酰胺或6-氨基烟酰胺与链佐星、阿雌莫司汀、阿莫司汀、氨莫司汀、尼莫司汀、苯达莫司汀、二硫莫司汀、波呋莫司汀、依莫司汀、依考莫司汀、二硫氮芥、加莫司汀、福莫司汀、雌莫司汀、合莫司汀、奈莫司汀、甘露莫司汀、洛莫司汀、甲基洛莫司汀、司莫司汀、雷莫司汀、泼尼莫司汀、乌拉莫司汀、萨莫司汀、牛磺莫司汀、他莫司汀或螺莫司汀的组合。

以上抗癌药物组合物中的药物重量百分比含量为0.01 - 50%， 其中四嗪类药物与亚硝脲类抗癌药物的重量比为1：9到9：1。

实施例十一：

将80 mg 分子量为 10000 的聚乳酸 （PLGA）放入容器中，加 100 毫升二氯甲烷溶解混匀后，加入 10mg 替莫唑胺和 10mg 米托唑胺，重新摇匀后真空干燥去除有机溶剂。将干燥后的固体组合物立即成形，分装后射线灭菌，得到抗癌药物组合物含 10% 替莫唑胺和 10%米托唑胺。均为重量百分比。

实施例十二：

将80 mg 分子量为 10000 的聚乳酸 （PLGA）放入容器中，加 100 毫升二氯甲烷溶解混匀后，加入 5mg 替莫唑胺、5mg 米托唑胺和 10mg 卡莫司汀，重新摇匀后真空干燥去除有机溶剂。将干燥后的固体组合物立即成形，分装后射线灭菌，得到抗癌药物组合物含 5% 替莫唑胺和 5%米托唑胺和 10%卡莫司汀。均为重量百分比。

由于本发明抗癌药物组合物所用的四嗪类药物对亚硝脲类抗癌药物增敏具有普遍意义，且体内外释放较为缓慢且平稳，所以，本发明抗癌药物组合物中四嗪类药物的选择十分广泛，同样四嗪类药物及亚硝脲类抗癌药物的联合也可任选。抗癌药物组合物可用现有

的方法制成各种剂型及形状，但以缓慢释放剂为优选。以上实施例仅用于说明，而并非局限本发明的应用。

上述抗癌药物组合物可放置在肿瘤局部用于人及动物各种实体肿瘤的治疗，手术后局部放置应用该组合物对根治实体肿瘤具有独特的效果。某些肿瘤生长在人体的关键部位(如脑干等处)不能手术去除,局部药物缓慢释放该组合物可以取代手术切除。有些恶性肿瘤,手术操 作可能促进肿瘤扩散,局部药物缓慢释放可能是更科学的选择。该组合物除单独应用外，还可与许多治疗措施联合应用：如与放射治疗、高热治疗、免疫治疗、其它疗法如光疗、电疗、激素治疗及基因治疗等联合应用，局部放置应用该组合物作为增效剂具有独特的优点及很高的临床应用价值。当该组合物与其它治疗措施联合应用时，该组合物可同时或先于其它治疗措施。