

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2006 年 3 月 30 日 (30.03.2006)



PCT



(10) 国际公布号
WO 2006/032190 A1

- (51) 国际专利分类号⁷: **C07D 487/04**, (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW。
- (21) 国际申请号: PCT/CN2005/001477
- (22) 国际申请日: 2005 年 9 月 15 日 (15.09.2005)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
200410072056.4
2004 年 9 月 22 日 (22.09.2004) CN
- (71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 天津天士力集团有限公司(TIAN JIN TASLY GROUP CO., LTD.) [CN/CN]; 中国天津市北辰区北辰科技园辽河东路 1 号, Tianjin 300402 (CN)。
- (72) 发明人; 及
- (75) 发明人/申请人 (仅对美国): 王永峰(WANG, Yongfeng) [CN/CN]; 中国天津市北辰区北辰科技园辽河东路 1 号, Tianjin 300402 (CN)。
- (74) 代理人: 北京信慧永光知识产权代理有限公司(BEIJING SUNHOPE INTELLECTUAL PROPERTY LTD.); 中国北京市海淀区知春路 9 号坤讯大厦 1106 室, Beijing 100083 (CN)。
- (84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。
- 根据细则 4.17 的声明:
— 关于申请人有权要求在先申请的优先权 (细则 4.17 (iii)) 对所有指定国
- 本国际公布:
— 包括国际检索报告。
- 所引用双字母代码及其它缩写符号, 请参考刊登在每期 PCT 公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION COMPRISING TEMOZOLOMIDE ESTER

(54) 发明名称: 含有替莫唑胺酯的药用组合物

(57) Abstract: The present invention discloses general formula I of Temozolomide-8-carboxylate compounds, the process for preparation, pharmaceutical compositions comprising the compounds and the use of the compounds and pharmaceutical compositions for the manufacture of an antitumor medicament. The said pharmaceutical composition comprises one or more general formula I Temozolomide-8-carboxylate compounds as active ingredient, together with conventional pharmaceutical carriers. The composition also comprises one or more pharmaceutically acceptable acidic material, optionally second or tertiary alcohol or ester or other derivatives thereof. The said pharmaceutical composition can be made into various common formulations, particularly oral formulations as well as topically transdermal patches. The present invention also discloses the application of the compounds and the compositions to treat tumor.

(57) 摘要: 本发明公开了通式 I 的替莫唑胺-8-羧酸酯类化合物、其制备方法、含有该化合物的药用组合物以及该化合物和组合物用于制备抗肿瘤药物的应用。所述药用组合物中含有一种或多种通式 I 的替莫唑胺-8-羧酸酯作为活性成分, 以及常规的药用载体, 该组合物中还可包括一种或多种药学上可接受的酸性物质, 和选择性含有仲醇或叔醇或它们的酯或醚衍生物。所述的药用组合物可以制成各种常规的制剂, 特别是口服制剂和局部应用的透皮吸收制剂。本发明还公开了使用该化合物和组合物治疗肿瘤的方法。



WO 2006/032190 A1

含有替莫唑胺酯的药用组合物

技术领域

本发明涉及医药领域，更具体地，本发明涉及替莫唑胺-8-羧酸酯的衍生物、其制备方法、含有该衍生物的药用组合物，及该衍生物和组合物在制备抗肿瘤药物方面的应用，特别是以口服制剂和透皮吸收制剂治疗癌症，例如皮肤癌、脑癌和淋巴瘤的应用。

背景技术

替莫唑胺 (temozolomide) 为一种烷化剂型抗癌药物，具有广谱抗肿瘤活性[L.H. Tsang, et al. Cancer Chemother Pharmacol. 27 (1991): 342-346]，尤其是对神经胶质瘤(脑癌)和黑色素瘤(皮肤癌)。替莫唑胺的胶囊剂已在欧美批准用于治疗恶性神经胶质瘤。WO 00/57867 描述了一个周期给药方式。替莫唑胺的胶囊剂在我国也已批准临床。II 期临床结果显示替莫唑胺对恶性黑色素瘤有效[N.M. Bleehen, et al. J. Clin. Oncol. 13 (1995): 910-913]。近期的 III 期临床结果显示替莫唑胺治疗恶性黑色素瘤疗效与达卡巴嗪相同[M.R. Middleton, et al. J. Clin. Oncol. 18 (2000): 158-166]，同时显示服用替莫唑胺产生的副反应与达卡巴嗪副反应相似，如：白细胞减少、恶心、呕吐、脱发、红疹及便秘。此外口服替莫唑胺显示剂量限制的骨髓毒性[A.M. Heimberger, et al. Clin. Can. Res. 6 (2000): 4148-4153]。在以往剂型改变研究中证明替莫唑胺溶液腱鞘注射剂型可以降低副反应[J.H. Sampson, et al. Can. Res. 5 (1999): 1183-11886]。因此替莫唑胺透皮制剂应该是用于治疗皮肤癌的理想剂型，尤其是在早期。已有研究证明托瑞米芬局部给药在肿瘤部位产生高的局部浓度，而系统药物浓度很低[L. Soe, et al. Cancer Chemother. Pharmacol., 39 (1997): 513-520]，因此产生低的系统毒性。

皮肤给药通常受到皮肤屏障及药物理化性质的制约。此类化合物的溶解度和稳定性较差，使它们在制剂时受到很大的限制。研究证明 (WO 00/57867) 替莫唑胺不能通过人造皮肤(硅膜)、大鼠皮肤和人皮肤，不能直接制成透皮制剂。因此，替莫唑胺的应用范围受到一定的限制。

以往对替莫唑胺结构改造和衍生物的合成都集中在三位氮上的取代基的替换和八酰胺基氮上的取代基的改变。EP0252682(1987)的通式结构中要求了替莫唑胺-8-羧酸甲，乙，-丙，丁酯，但并没有公开其药理作用，也没有关于抗癌活性的报道。

另一方面，替莫唑胺是咪唑[5,1-d]并[1,2,3,5]四嗪酮类化合物的代表。这类化合物的一个共同特点是溶解度极差，几乎不溶于常见的有机溶剂，

如乙酸乙酯、二氯甲烷，也不溶于水中。在有机溶剂与水的混合溶剂，如1-10%的乙酸、乙腈、丙酮、甲醇或乙醇水溶液中微溶，约为1%-5%，即使在常用的非质子极性溶剂 DMSO 中，其溶解度也仅为 5%左右。这类化合物的另一个特点是稳定性极差。这不仅体现在它们的对光的敏感性，更重要的是体现在对碱性介质（pH 高于 7）和带有亲核基团介质的敏感性，如带有氨基、羟基和巯基的化合物。在高于 pH7 的环境中，这类化合物很快变色（红色）分解，在甲醇、乙醇中同样很快变色分解，由此限制了使用甲醇或乙醇作为增溶剂在制剂中的应用。因此需要寻求新的活性化合物，以及寻找提高此类化合物制药稳定性和增加其溶解度的方法和手段。

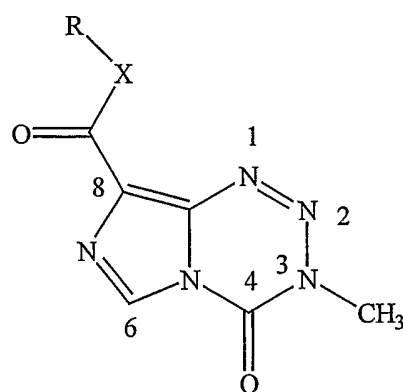
发明内容

本发明目的在于提供了通式 I 所示的替莫唑胺-8-羧酸酯衍生物、其制备方法、含有该衍生物的药用组合物及其制备方法。

本发明人发现通式 I 所示的替莫唑胺-8-羧酸酯衍生物和含有该衍生物的药用组合物具有抗肿瘤活性，可将其用于治疗癌症，特别是用于治疗皮肤癌、脑癌和淋巴瘤等。因此，本发明的另一目的是提供了通式 I 所示的替莫唑胺-8-羧酸酯衍生物和含有该衍生物的药用组合物用于制备抗癌药物方面的应用，所述的癌症包括皮肤癌、脑癌和淋巴瘤等。

本发明的又一目的在于提供了一种具有抗肿瘤活性的、以通式 I 所示的替莫唑胺-8-羧酸酯衍生物为活性成分的各种制剂，特别是口服制剂和局部透皮贴剂，所述的局部应用的透皮贴剂包括基质型控释贴剂、固体储库型控释贴剂或液体储库型控释贴剂。

本发明所述替莫唑胺-8-羧酸酯的结构如下通式 I 所示：



I

其中 X 是 O 或 S；

R 是取代或未取代的 C₃-C₁₀ 的直链或支链烷基、C₃-C₁₀ 的环烷基、C₃-C₁₀ 的直链或支链链烯基或 C₃-C₁₀ 的直链或支链炔基；

当 R 具有取代基时,所述的取代基可以是 C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷硫基、C₁-C₆烷氨基、苯基或卤素取代的苯基。

上述通式中,优选的 X 为 0。

在上述通式定义中,术语“C₃-C₁₀的直链或支链烷基”是具有 3-10 个碳原子的直链或支链的饱和烃基,例如丙基、丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基或癸基等和它们的各种同分异构体,例如异丙基、异丁基、特丁基、异己基、异庚基等。优选的 R 基团是甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、1-甲基-丙基、2-甲基-丙基、戊基、1-甲基-丁基、2-甲基-丁基、3-甲基-丁基、己基、1-甲基-戊基、2-甲基-戊基、3-甲基-戊基、4-甲基-戊基、庚基、1-甲基-己基、2-甲基-己基、3-甲基-己基、4-甲基-己基、5-甲基-己基、辛基、1-甲基-庚基、2-甲基-庚基、3-甲基-庚基、4-甲基-庚基、5-甲基-庚基、6-甲基-庚基、1-乙基-丙基、1-乙基-丁基、1-乙基-戊基、2-乙基-戊基或 3-乙基-戊基,特别优选正己基、异己基和环己基,最优选正己基。与上述基团相应的替莫唑胺-8-羧酸的衍生物为替莫唑胺-8-羧酸甲酯、替莫唑胺-8-羧酸乙酯、替莫唑胺-8-羧酸丙酯、替莫唑胺-8-羧酸丁酯、替莫唑胺-8-羧酸-1-甲基-丁酯、替莫唑胺-8-羧酸-1-乙基-丁酯、替莫唑胺-8-羧酸-1-乙基-丙酯、替莫唑胺-8-羧酸-1-乙基-戊酯、替莫唑胺-8-羧酸-1-甲基-己酯、替莫唑胺-8-羧酸-2-甲基-己酯、替莫唑胺-8-羧酸-3-甲基-己酯、替莫唑胺-8-羧酸-4-甲基-己酯、替莫唑胺-8-羧酸-5-甲基-己酯、替莫唑胺-8-羧酸-1-甲基-庚酯、替莫唑胺-8-羧酸-2-甲基-庚酯、替莫唑胺-8-羧酸-3-甲基-庚酯、替莫唑胺-8-羧酸-4-甲基-庚酯、替莫唑胺-8-羧酸-5-甲基-庚酯、替莫唑胺-8-羧酸-6-甲基-庚酯、替莫唑胺-8-羧酸戊酯、替莫唑胺-8-羧酸正己酯、替莫唑胺-8-羧酸环己酯、替莫唑胺-8-羧酸异己酯、替莫唑胺-8-羧酸庚酯和替莫唑胺-8-羧酸辛酯;优选替莫唑胺-8-羧酸的正己酯、异己酯和环己酯,最优选替莫唑胺-8-羧酸的正己酯。

在上述通式定义中,术语“C₃-C₁₀的环烷基”是具有 3-10 个碳原子的环状饱和烃基,例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、环壬基或环癸基等。

上述定义中,术语“C₃-C₁₀的直链或支链链烯基”是具有 3-10 个碳原子和 1-3 个不饱和双键的烃基,例如丙烯基、丁烯基、戊烯基、己烯基、庚烯基、庚二烯基等。

上述定义中,术语“C₃-C₁₀的直链或支链炔基”是具有 3-10 个碳原子和 1-3 个不饱和三键的烃基,例如丙炔基、丁炔基、戊炔基、己炔基、庚炔

基等。

在上述通式定义中，术语“C₁₋₆ 烷基”是与上述烷基定义相应的、具有 1-6 个碳原子的直链或支链饱和烃基，例如甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基等和它们的各种同分异构体。

5 在上述通式定义中，术语“C₁₋₆ 烷氧基”是与上述烷基定义相应的含氧基团，例如甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、戊氧基、己氧基等和它们的各种同分异构体。

在上述通式定义中，术语“C₁₋₆ 烷硫基”是与上述烷氧基定义相应的，以硫原子代替其中的氧原子的基团，例如甲硫基、乙硫基、丙硫基、丁硫基、戊硫基、己硫基等和它们的各种同分异构体。

在上述通式定义中，术语“C₁₋₆ 烷基氨基”是带有一或二个上述定义的烷基的氨基基团，例如甲氨基、乙氨基、二甲氨基、丁氨基、戊氨基、己氨基等和它们的各种同分异构体。

在上述通式定义中，术语“卤素”是指氟、氯、溴或碘。

15 所述通式 I 化合物的制备方法如下：

替莫唑胺与浓硫酸混合搅拌。将亚硝酸钠溶解在水中，然后在冰浴 15℃ 以下滴加入反应混合物中，室温搅拌过夜。反应混合物中加入冰，冰浴冷却 1 小时，过滤收集产品固体得到的替莫唑胺酸，真空干燥。

20 将无水 DMF 和无水 THF 注射进一个盛有替莫唑胺酸和 Pybrop (苯并三唑-1-基氧基-三(吡咯烷基)六氟磷酸磷鎓) (benzotriazol-1-yloxytri(pyrrolidino)-phosphonium hexafluorophosphate) (参见 CN1485327A) 的烧瓶中，搅拌混合物使固体全部溶解。冰浴下，加入 DMAP (N,N-二甲基吡啶)，然后注射入适量的、具有所需酯基基团的无水醇或者硫醇，继续反应半小时，然后室温搅拌过夜。反应完成后，用布氏漏斗过滤悬浮液，母液蒸馏，剩余物中加入冰，然后用乙酸乙酯萃取产品。合并乙酸乙酯相用无水硫酸镁干燥，旋转蒸发除去乙酸乙酯，剩余物过硅胶柱纯化，蒸除溶剂后得到产物。

所得产物的结构经红外 (IR)、¹H-NMR、¹³C-NMR 核磁和质谱 (MS) 确定。

30 本发明的另一目的在于提供含有上述替莫唑胺-8-羧酸酯衍生物的药用组合物及其制备方法。

本发明的药用组合物具有抗肿瘤活性，所述组合物中含有一种或多种治疗有效量的本发明通式 I 化合物作为活性成分，和常规的药用载体。所述的药用载体是本领域中已知的，例如液体或固体赋形剂、稀释剂、湿润剂、防腐剂、

矫味剂及着色剂等。

本发明药用组合物以一种或多种上文所述通式 I 化合物为的活性成分，优选的通式 I 化合物选自：替莫唑胺-8-羧酸甲酯、替莫唑胺-8-羧酸乙酯、替莫唑胺-8-羧酸丙酯、替莫唑胺-8-羧酸丁酯、替莫唑胺-8-羧酸-1-甲基-丁酯、替莫唑胺-8-羧酸-1-乙基-丁酯、替莫唑胺-8-羧酸-1-乙基-丙酯、替莫唑胺-8-羧酸-1-乙基-戊酯、替莫唑胺-8-羧酸-1-甲基-己酯、替莫唑胺-8-羧酸-1-甲基-己酯、替莫唑胺-8-羧酸-2-甲基-己酯、替莫唑胺-8-羧酸-3-甲基-己酯、替莫唑胺-8-羧酸-4-甲基-己酯、替莫唑胺-8-羧酸-5-甲基-己酯、替莫唑胺-8-羧酸-1-甲基-庚酯、替莫唑胺-8-羧酸-2-甲基-庚酯、替莫唑胺-8-羧酸-3-甲基-庚酯、替莫唑胺-8-羧酸-4-甲基-庚酯、替莫唑胺-8-羧酸-5-甲基-庚酯、替莫唑胺-8-羧酸-6-甲基-庚酯、替莫唑胺-8-羧酸戊酯、替莫唑胺-8-羧酸正己酯、替莫唑胺-8-羧酸庚酯和替莫唑胺-8-羧酸辛酯；更优选替莫唑胺-8-羧酸的正己酯、异己酯和环己酯，最优选替莫唑胺-8-羧酸正己酯。

本发明的药用组合物中还可包括药学上可接受的酸性物质，例如制药上可用的酸性赋形剂或载体，如油酸、硬脂酸、亚麻酸、富马酸、苯甲酸、酒石酸、山梨酸、乳酸、柠檬酸、乙酸、EDTA 等。这些酸性物质是通式 I 化合物的稳定剂。

本发明人经过研究还发现，以组合物的总量计，在所述的组合物中加入 0.5%-20%，优选加入 1-10% 的药学上可接受的仲醇或叔醇，优选 C₃-C₈ 仲醇或叔醇，如异丙醇、异丁醇、异戊醇、特丁醇或它们的酯或醚的衍生物，如甘油三酸酯和聚乙二醇醚，可提高药用组合物中活性成分替莫唑胺-8-羧酸酯在介质中的溶解度和载药量。因此，上述物质可作为增溶剂应用于替莫唑胺-8-羧酸酯衍生物及其它咪唑[5, 1-d]并[1, 2, 3, 5]四嗪酮类化合物的药用组合物和各种制剂之中。

本发明的药用组合物可以制成药剂学上常规的任何剂型，制剂(剂型)的选择可根据所要达到的效果、活性成分的性质、剂量和患者的年龄、性别及患者病情病态进行设计。这些制剂包括口服制剂、注射剂、直肠给药制剂、局部给药制剂等，例如片剂、丸剂、分散粉末、胶囊剂、颗粒剂、乳剂、溶液剂、悬浮液、糖浆、阴道或直肠给药的固体栓剂制剂、局部应用的贴剂等。优选被制成透皮局部给药剂型或口服剂型。最优选透皮局部给药制剂。

本发明的药用组合物和该组合物的各种制剂可按照制药领域已知的常规方法进行制备。

根据本发明，替莫唑胺-8-羧酸酯衍生物的适用剂型之一是口服制剂，

包括固体和液体制剂。替莫唑胺-8-羧酸酯衍生物的固体口服制剂包括片剂、丸剂、分散粉末、胶囊剂和颗粒剂等。在这些种固体制剂中，替莫唑胺-8-羧酸酯衍生物可以与任何惰性稀释剂混合，也可以与至少一种惰性稀释剂混合，稀释剂包括：碳酸钙、淀粉、褐藻酸或乳糖等；其中可加入酸性物质，例如富马酸、酒石酸、山梨酸、柠檬酸等。处方中还可包括其他成分，例如润滑剂硬脂酸镁。替莫唑胺-8-羧酸酯衍生物也可以制成口服液体制剂包括乳剂、溶液剂、悬浮液、糖浆等。替莫唑胺-8-羧酸酯衍生物的口服液体制剂的惰性稀释剂常用含有表面活性剂的水性液体或液体石蜡。除了惰性稀释剂外，液体制剂还可包括其他佐剂，例如湿润剂和悬浮剂如聚乙烯吡咯烷酮、甜味剂、矫味剂、香料和防腐剂。

替莫唑胺-8-羧酸酯衍生物的另一种适用剂型是栓剂，包括阴道和直肠给药的固体栓剂制剂。替莫唑胺-8-羧酸酯衍生物的栓剂制剂除包括常规的赋型剂之外还包括生物可降解的聚合物，如聚乳酸 PLGA、聚酸酐和聚混合酸酐 CPP:SA, 用以实现缓控释效果。

鉴于本发明人发现了替莫唑胺-8-羧酸酯衍生物具有良好的透皮吸收特点，所以其最优选的制剂是透皮吸收局部给药制剂。透皮局部给药制剂包括酊剂、混悬剂、乳剂、乳液、软膏、凝胶、栓剂、膜剂和贴剂等。透皮局部给药制剂通常包括油相介质、表面活性剂等赋形剂。

常用于上述透皮局部给药制剂的油相介质有油酸，肉豆蔻酸异丙酯 (IPM)，月桂酸、蜂蜡、琼蜡醇、硬脂醇、液体石蜡、凡士林、无水羊毛脂、硬脂酸、棉子油、蓖麻油、亚麻酸，甘油三酸酯等等可做为油相。常用于上述透皮局部给药制剂的表面活性剂包括磷脂，Myrj 类、Brij 类、Tween 类，阿拉伯胶、黄蓍胶、明胶、维生素 ETPGS 等。

优选的替莫唑胺-8-羧酸酯透皮吸收局部给药贴剂的系统设计基本有两种，分别为基质型和储库型。基质型又可分为单片基质 (AM) 及复合基质 (PM)。储库型分为液体储库系统 (LRS) 及固体储库系统 (SSR) 两种，由多层粘合剂 (MLA) 或多层聚合物基质 (MLM) 的组成。基质型和储库型替莫唑胺-8-羧酸酯透皮吸收局部给药制剂基本包括：底片，聚合物基质，药物储库（即，药物溶液或悬浮液），控速膜，压力敏感粘合剂 (PSAs)，保护压力敏感粘合剂 (PSAs) 的释放层。具体分述如下：

固体储库型贴片：储库药物基质是由水相、油相和表面活性剂按不同比例配制形成的透明稳定的微乳及其制剂，分为固体型和液体型储库贴片。其中的固体型储库贴片可以选择油酸或肉豆蔻酸异丙酯 (IPM) 作为油相，也可以选

择月桂酸、蜂蜡、琼蜡醇、硬脂醇、液体石蜡、凡士林、无水羊毛脂、硬脂酸、棉子油、蓖麻油、亚麻酸等等。

本发明替莫唑胺-8-羧酸酯固体储库型贴片的油相优选为肉豆蔻酸异丙酯(IPM)或油酸；水相优选为水；表面活性剂优选维生素 E TPGS 和柠檬酸。

5 液体储库型控释贴片由不可透过的底片或称“底片”、液体药物、控速膜、压力敏感粘合剂、释放层热合而成。

其中，本发明替莫唑胺-8-羧酸酯液储库型控释贴片的各部分结构如下：

底片，即不可透过的底片，一般是指那些具有渗透性或非渗透性的合成聚合物材料，如聚酯、聚乙烯、聚氯乙烯 PVDC、聚亚安酯等，可以是天然
10 的聚合物材料，如棉花、羊毛等。本发明中底片选自下列材料：聚氯乙烯、硝化甘油 Nitroglycerin Transdermal®、聚二甲基硅氧烷，即 Nitrodisc®、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯醇，即 Nitro-Dur® I、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯氧化物复合物、聚乙二醇、聚乙二醇的各类衍生物例如聚乙二醇单甲醚或双甲醚，聚乙二醇琥珀酸酯及其琥珀酸聚乙二醇维生素 E 混合双酯(VETPGS)等；优选为聚
15 乙烯、聚氯乙烯 PVDC、聚亚氨酯或棉花。

控速膜优选为乙烯-醋酸乙烯共聚物膜或聚氨酯膜、乙二醇二乙酸酯膜等均质膜；压力敏感粘合剂是一种独特的生物粘合剂，优选为聚硅氧烷压敏胶或聚丙烯酸酯压敏胶。为便于理解。

本发明的所述的储库型控释贴片可以按照如下步骤制备：称取适量的替
20 莫唑胺-8-羧酸正己酯，研成细粉；加水相，如水，和油相如油酸等，与表面活性剂，如 Vitamin E TPGS 等，混合均匀；加入粉碎的药物混合研磨制成微乳，加入控速膜，如乙烯-醋酸乙烯共聚物膜等，和压力敏感粘合剂适量，搅匀，水浴保温脱气，涂膜于聚乙烯底片上，烘干，切成贴片，即得。

本发明的单片粘附基质贴片可按照下述方法制备：单片粘附基质型是药
25 物分散在压敏胶中，压敏胶控制药物释放。此类释药系统的特点是剂型薄，工艺简单，易于工业化。其中本发明组合物的药物粘附基质辅料选自天然聚合物或合成聚合物，包括聚氯乙烯、聚丙烯酸酯、聚二甲基硅氧烷；亲水性的多聚物，包括聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯醇、凝胶制成的水凝胶，即 Prostep®、聚乙烯吡咯烷酮和聚乙烯氧化物复合物、聚乙二醇和聚乙二醇的各类衍生物，如聚
30 乙二醇单甲醚或双甲醚，聚乙二醇琥珀酸酯及其琥珀酸聚乙二醇维生素 E 混合双酯(VETPGS)；优选为聚丙烯酸酯。

上述替莫唑胺-8-羧酸酯的施用剂量通常在 0.1-200mg/kg 体重/天，优选为 1-20mg/kg 体重/天之间。

替莫唑胺-8-羧酸酯的脂溶性、稳定性以及溶解度研究

经研究发现,替莫唑胺-8-羧酸酯衍生物的脂溶性与替莫唑胺相比有极其显著的改善。例如,以 Log P 为衡量标准,替莫唑胺的 Log P 为-0.66,替莫唑胺-8-羧酸正己酯的 Log P 为 2.56,这标志着替莫唑胺-8-羧酸正己酯是一个理想的局部透皮给药的药物。(LogP 测定方法参见 Leo 和 Hansch, Chemical Reviews 71 No.6 December 1971 (Partition Coefficients and their uses, Leo A. Hansch C. Elkins D))。

对替莫唑胺-8-羧酸酯衍生物单独或与其它咪唑[5,1-d]并[1,2,3,5]四嗪酮类化合物组合在介质中的稳定性进行研究,本发明人发现通过在其中加入药学上可接受的酸性物质而获得酸性环境(pH 1-6.5),可显著提高其稳定性。因此,在将其作为活性成分用于制备液体药物剂型如酏剂、混悬剂、乳剂和注射剂以及制备软膏、栓剂、膜剂等固体药物剂型时,可大大改善制剂中活性成分的稳定性。所述的药用酸性物质包括油酸、硬脂酸、亚麻酸、富马酸、苯甲酸、酒石酸、山梨酸、乳酸、柠檬酸、乙酸、EDTA 等。

本发明人经过研究还发现,通过使用 0.5%-20%的药学上可接受的仲或叔醇,如异丙醇、异丁醇、异戊醇、特丁醇或它们的酯或醚的衍生物,如甘油三酸酯和聚乙二醇醚可以提高药用组合中活性成分替莫唑胺-8-羧酸酯在介质中的溶解度和载药量。因此,仲醇或叔醇,如异丙醇、异丁醇、异戊醇、叔丁醇等可以作为增溶剂应用于替莫唑胺-8-羧酸酯及咪唑[5,1-d]并[1,2,3,5]四嗪酮类化合物的药用组合中。

根据上述发现,本发明提供了具有抗癌活性的药用组合物,其中含有一种或多种替莫唑胺-8-羧酸酯衍生物、药学上可接受的酸性物质、选择性地含有药学上可接受的仲醇或叔醇或其衍生物以及药学上可接受的赋形剂和/或载体,本发明还提供了由本发明药用组合物制成的各种不同的药物剂型。

下面通过替莫唑胺-8-羧酸甲酯、丁酯、正己酯的体外抑瘤实验,说明本发明的有益效果。

替莫唑胺-8-羧酸酯体外杀伤肿瘤细胞作用

将氟尿嘧啶注射液(10ml: 0.25g,上海旭东海普药业有限公司产品,批号: 000612)选为阳性对照药,同替莫唑胺-8-羧酸甲酯、丁酯、正己酯和已知具有抗癌活性的替莫唑胺酸一起做杀伤癌细胞株的实验.癌细胞株包括 HCT-8(人结肠癌细胞), A549 (人肺癌细胞), MCF-7 (人乳腺癌细胞), Be17402 (人肝

癌细胞), BGC-823 (人胃癌细胞), MV3 (人黑色素瘤细胞)。

药品及试剂: 替莫唑胺酸, 白色粉状固体; 替莫唑胺-8-羧酸的甲酯、丁酯和正己酯, 其制备参见下文实施例 2; 阳性对照药: 氟尿嘧啶注射液 (10ml: 0.25g), 上海旭东海普药业有限公司产品, 批号: 000612。RPMI 1640 为 GIBCO 产品。小牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司。MTT 为 Bebc0 产品。

细胞株: HCT-8 (人结肠癌细胞), A549 (人肺癌细胞), MCF-7 (人乳腺癌细胞), Bel-7402 (人肝癌细胞), BGC-823 (人胃癌细胞), MV3 (人黑色素瘤细胞), B16 (人黑色素瘤细胞), 由中国医学科学院药物研究所培养传代。

仪器: BIORAD 550 型酶标仪。

实验方法:

应用四氮唑盐[[3-(4, 5-二甲基噻唑 -2-基)-2, 5-二苯基- 四唑鎓溴化物, MTT]还原法。收集生长良好的肿瘤细胞, 用含 10%小牛血清的 RPMI 1640 培养基配置成 1×10^4 /ml 细胞悬液, 于 96 孔培养板内接种, 每孔 100ul (含 1000 个肿瘤细胞), 置 37°C, 5% CO₂ 温箱内培养 24 小时后加药, 实验设空白对照, 阳性对照药为氟尿嘧啶。受试样品设 5 个浓度, 每浓度 3 个平行孔, 置 37°C, 5% CO₂ 温箱内, 培养 4 天。弃去培养液, 每孔加入 MTT 溶液 (0.4mg/ml, RPMI 1640 配制) 100ul, 37°C 孵育 4 小时。弃去上清液, 每孔加入 DMSO 150μl, 溶解 Fomazan 颗粒, 轻度振荡后, 用 550 型酶标仪在检测波长 540nm, 参考波长 450nm 下测定 OD 值。

结果计算: 以药物的不同浓度及对细胞的抑制率作图可得到剂量反应曲线, 从中求出半数抑制浓度 IC₅₀ (表 1 和表 2)。

实验结果表明 (详见表 1), 替莫唑胺-8-羧酸甲酯、丁酯、和替莫唑胺酸对所选用的细胞株的 IC₅₀ 多在 10-30ug/ml 之间, 它们之间作用差别不明显。

表 1. MTT 法人癌细胞杀伤实验结果

细胞株	IC ₅₀				
	氟尿嘧啶	替莫唑胺酸	替莫唑胺-8-羧酸正己酯	替莫唑胺-8-羧酸甲酯	替莫唑胺-8-羧酸丁酯
MV3	0.427	14.625	8.835	8.827	7.568
MCF-7	0.629	14.911	19.995	17.665	16.558
Bel-7402	0.495	16.957	27.203	25.304	24.368
A549	0.126	>19.5	26.632	27.001	25.336
HCT-8	0.606	18.525	28.644	28.369	27.359
BGC-823	0.722	>19.5	>19.5	>19.5	>19.5

替莫唑胺-8-羧酸己酯局部涂抹药物对人黑色素瘤 MV3 裸小鼠异种移植瘤生长的影响

以替莫唑胺-8-羧酸己酯为代表考察替莫唑胺-8-羧酸酯衍生物对人黑色素瘤 MV3 裸小鼠异种移植瘤生长的影响。

将替莫唑胺-8-羧酸己酯溶解于二甲基亚砷 (DMSO)，制成 50mg/ml 溶液。BALB/c-nu 裸小鼠接种人黑色素瘤 MV3 裸鼠异种移植瘤，待肿瘤体积生长至 100-300mm³时将动物按肿瘤大小分层分组，每组 8 只小鼠。

将其中 1 组小鼠作为给药组，涂抹替莫唑胺-8-羧酸己酯溶液，另 1 组小鼠肿瘤自然生长作为对照。

每日 2 次（周六、周日为 1 次）在给药组小鼠肿瘤部位及周围约 2×2cm² 范围内涂抹药液，每次均在药液干燥后重复涂抹 1-2 遍。每只小鼠平均每日接受替莫唑胺-8-羧酸己酯剂量约 20mg 许。

每周 2 次测量动物肿瘤体积，动态观察、记录肿瘤生长情况。待对照组肿瘤生长至一定体积，处死动物，剥瘤肿瘤，称瘤重，计算给药组肿瘤生长抑制率，用二组肿瘤的相对体积计算相对肿瘤增殖 (%T/C)。

肿瘤体积 (TV) 的计算公式为：长×宽²÷2。

相对肿瘤体积 (RTV) 的计算公式为：V_t/V_o（其中 V_o 为分笼给药时测量所得 TV，V_t 为以后每次测量时的 TV）。

t 检验法比较各组动物肿瘤重量、肿瘤体积、RTV 等指标的统计学差别。抗肿瘤活性的评价指标采用相对肿瘤增殖率 T/C (%)，计算公式为：

$$T/C(\%) = \frac{\text{治疗组}(T)RTV}{\text{阴性对照组}(C)RTV} \times 100$$

$$T/C(\%) = \frac{\text{治疗组}(T)RTV}{\text{阴性对照组}(C)RTV} \times 100$$

疗效评价标准：

T/C (%) > 60 为无效

T/C (%) ≤ 60，并经统计学处理 $p < 0.05$ 为有效。

- 5 结果发现，涂抹替莫唑胺-8-羧酸己酯对荷瘤小鼠生长显示明显抑制作用。替莫唑胺-8-羧酸己酯对人黑色素瘤 MV3 等肿瘤细胞具较强的杀伤作用，每只鼠每日外用涂抹约 20mg 剂量对移植性肿瘤生长显示抑制作用，实验结束时肿瘤重量与肿瘤体积均与对照组显示明显统计学差别。实验结果可参见图 1、图 2 和表 2。图 1 显示了涂抹替莫唑胺-8-羧酸己酯对人黑色素瘤 MV3 肿瘤细胞生长的影响，图中可以看出，与对照组相比，给药组小鼠的人黑色素瘤 MV3 肿瘤细胞的生长收到明显的抑制。图 2 是两组实验小鼠实体照片，第一幅图的上半部分为对照组小鼠的照片，下半部分为给药组小鼠的照片；第二幅图的上半部分为对照组小鼠瘤体的照片，下半部分为给药组小鼠瘤体的照片。表 2 给出了用替莫唑胺-8-羧酸己酯涂抹荷 MV3 裸小鼠时对肿瘤生长的影响。
- 10

表 2 用替莫唑胺-8-羧酸己酯涂抹荷 MV3 裸小鼠对肿瘤生长的影响 (施用剂量约 20mg/只/日)

组别	动物数		体重(g)		肿瘤体积(mm ³)		RTV	T/C(%)	瘤重(g)	抑制率(%)
	开始	结束	开始	结束	开始	结束				
阴性对照	8	8	22.6±1.56	24.8±0.535	06±56.3	2456±960.3	9.35±7.88		2.15±0.8.6	
替莫唑胺-8-羧酸丁酯组	8	8	24.0±1.48	25.6±3.64	115±36	635±545.1*	3.25±1.85	33.7	0.45±0.335	83.2

*P<0.05 与阴性对照组比较, 体重、瘤重、瘤体积以 X±SD 表示

附图说明

图 1 是肿瘤生长曲线,说明替莫唑胺-8-羧酸正己酯涂抹对人黑色素瘤 MV3 生长的抑制作用。

图 2 显示了施用替莫唑胺-8-羧正己酯的小鼠和对照组小鼠及其瘤体的实体照片。

图 3 是替莫唑胺-8-羧酸正己酯在常见醇中的稳定性实验结果。

图 4 是介质的 pH 值对替莫唑胺-8-羧酸正己酯稳定性的影响。

具体实施方式

下面通过实施例具体地描述本发明,但这些实施例不限制本发明的保护范围。

实施例 1. 替莫唑胺酸的合成(参阅 EP0252682)

替莫唑胺 (2.577mmol, 0.5g) 与 4 毫升浓硫酸混合搅拌。将亚硝酸钠 (9.4mmol, 0.65g) 溶解在 2.6 毫升水中,然后在冰浴 15℃ 以下滴加入上述反应混合物中,室温搅拌过夜。反应混合物中加入 10 克冰,冰浴冷却 1 小时,过滤收集产品固体替莫唑胺酸,真空干燥,得 0.493 克,收率 98.6%。

实施例 2. 替莫唑胺-8-羧酸酯的合成

将无水 DMF (2 毫升) 和无水 THF (3 毫升) 注射进一个盛有实施例 1 所制备的替莫唑胺酸 (1mmol, 0.195g) 和 Pybrop (1mmol, 0.466g) 的烧瓶中,搅拌混合物使固体全部溶解。冰浴下,加入 DMAP (2mmol, 0.244g),然后注射入适量相应的无水醇或者硫醇 (2.2mmol),继续反应半小时,然后室温搅拌过夜。反应完成后,用布氏漏斗过滤悬浮液,母液蒸馏,剩余物中加入冰 (10 克),然后用乙酸乙酯 (10mL X 3) 萃取产品。合并乙酸乙酯相用无水硫酸镁干燥,旋转蒸发除去乙酸乙酯,剩余物过硅胶柱纯化,蒸除溶剂后得到产物。

所得产物的结构经红外 (IR)、¹H-NMR、¹³C-NMR 核磁和质谱 (MS) 确定。典型产物的结构数据如下。

1. 替莫唑胺-8-羧酸甲酯

¹H NMR (d₆-DMSO/ppm) δ 8.86 (s, 1, H-6), 3.90 (s, 3, CH₃-O), 3.87 (s, 3, CH₃-N)

¹³C NMR (d₆-DMSO/ppm) δ 161 (C=O), 139 (C-4), 137 (C-6), 129 (C-9), 126 (C-8), 52.2 (OCH₃), 36.4 (NCH₃)

ν_{max} (KBr): 3489, 2961 (C-H), 1752 (C=O), 1727 (C=O), 1214 (C-O), 1062 (C-O), 828, 556 cm⁻¹

MS: + ES: m/z = 232 [M+H]⁺, 214[M+H-H₂O]⁺

2. 替莫唑胺-8-羧酸乙酯

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3/ppm) δ 8.45 (s, 1, H-6), 4.52 (q, 2, $J=7.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{-O}$),
4.04 (s, 3, $\text{CH}_3\text{-N}$), 1.45 (t, 3, $J=7.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$)

$^{13}\text{C NMR}$ ($d_6\text{-DMSO}/\text{ppm}$) δ 161 (C=O), 139 (C-4), 137 (C-6), 129 (C-9),
127 (C-8), 60.9 (OCH_2), 36.4 (NCH_3), 14.3 (CH_2CH_3)

ν_{max} (KBr): 3478, 2991 (C-H), 1754 (C=O), 1700 (C=O), 1467 (C-O), 1258
(C-O), 1060 (C-O), 844, 561 cm^{-1}

MS: + ES: $m/z = 246$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 228 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$

3. 替莫唑胺-8-羧酸丙酯

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3/ppm) δ 8.46 (s, 1, H-6), 4.41 (t, 2, $J=6.7$ Hz, $\text{CH}_2\text{-O}$),
4.03 (s, 3, $\text{CH}_3\text{-N}$), 1.83 (sextet, 2, $J=7.1$ Hz, $\text{C-CH}_2\text{-C}$), 1.03 (t, 3,
 $J=7.4$ Hz, C-CH_3)

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3/ppm) δ 160 (C=O), 138 (C-4), 136 (C-6), 130 (C-9),
128 (C-8), 67.1 (OCH_2), 36.5 (NCH_3), 21.7 (CH_2CH_3), 8.87 (CH_2CH_3)

ν_{max} (KBr): 3122, 2960 (C-H), 1729 (C=O), 1700 (C=O), 1457 (C-O),
1200 (C-O), 1174 (C-O), 1052, 942 cm^{-1}

MS: + ES: $m/z = 260$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 242 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$

4. 替莫唑胺-8-羧酸丁酯

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3/ppm) δ 8.45 (s, 1 H-6), 4.45 (t, 2, $J=7.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{-O}$),
4.03 (s, 3, $\text{CH}_3\text{-N}$), 1.79 (quintet, 2, $J=7.4$ Hz, $\text{C-CH}_2\text{-C}$), 1.46 (sextet,
2, $J=7.3$ Hz, $\text{C-CH}_2\text{-CH}_3$), 0.95 (t, 3, $J=7.3$ Hz, C-CH_3)

$^{13}\text{C NMR}$ ($d_6\text{-DMSO}/\text{ppm}$) δ 161 (C=O), 139 (C-4), 137 (C-6), 129 (C-9),
127 (C-8), 64.5 (OCH_2), 36.4 (NCH_3), 30.3 (OCH_2CH_2), 18.7 (CH_2CH_3), 13.6
(CH_2CH_3)

ν_{max} (KBr): 3156, 2967 (C-H), 1746 (C=O), 1467 (C-O), 1261 (C-O),
1054 (C-O), 823, 561 cm^{-1}

MS: + ES: $m/z = 274$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 256 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$

5. 替莫唑胺-8-羧酸戊酯

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3/ppm) δ 8.46 (s, 1, H-6), 4.45 (t, 2, $J=7.0$ Hz, $\text{CH}_2\text{-O}$),
4.03 (s, 3, $\text{CH}_3\text{-N}$), 1.79 (quintet, 2, $J=7.1$ Hz, $\text{C-CH}_2\text{-C}$), 1.29-1.40 (m,
4, $\text{C-(CH}_2)_2\text{-CH}_3$), 0.96 (t, 3, $J=6.9$ Hz, C-CH_3)

^{13}CMR ($d_6\text{-DMSO}/\text{ppm}$) δ 161 (C=O), 139 (C-4), 137 (C-6), 129 (C-9),
127 (C-8), 64.6 (OCH_2), 36.4 (NCH_3), 30.9 (OCH_2CH_2), 28.2 ($\text{O(CH}_2)_2\text{CH}_2$),

22.8 ($\underline{\text{CH}_2\text{CH}_3}$), 14.0 ($\underline{\text{CH}_2\text{CH}_3}$)

ν_{max} (KBr): 3136, 2967 (C-H), 1736 (C=O), 1459 (C-O), 1231 (C-O),
1154 (C-O), 923, 761 cm^{-1}

MS: + ES: $m/z = 288 [\text{M}+\text{H}]^+$, $270[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$

5 6. 替莫唑胺-8-羧酸己酯

^1H NMR (CDCl_3/ppm) δ 8.49 (s, 1, H-6), 4.45 (t, 2, $\text{J} = 6.9$ Hz, $\underline{\text{CH}_2-\text{O}}$),
4.04 (s, 3, $\underline{\text{CH}_3-\text{N}}$), 1.79 (quintet, 2, $\text{J} = 7.1$ Hz, $\text{C}-\underline{\text{CH}_2-\text{C}}$), 1.29-1.40 (m,
6, $\text{C}-(\underline{\text{CH}_2})_3-\text{CH}_3$), 0.87 (t, 3, $\text{J} = 6.9$ Hz, $\text{C}-\underline{\text{CH}_3}$)

10 ^{13}C NMR ($\text{d}_6\text{-DMSO}/\text{ppm}$) δ 161 ($\underline{\text{C}}\text{OO}$), 139 (C-4), 137 (C-6), 129 (C-9),
127 (C-8), 64.8 ($\underline{\text{OCH}_2}$), 36.4 ($\underline{\text{NCH}_3}$), 30.9 ($\underline{\text{OCH}_2\text{CH}_2}$), 28.2 ($\underline{\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2}$),
25.1 ($\underline{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3}$), 22.1 ($\underline{\text{CH}_2\text{CH}_3}$), 13.9 ($\underline{\text{CH}_2\text{CH}_3}$)

ν_{max} (KBr): 3156, 2967 (C-H), 1746 (C=O), 1467 (C-O), 1261 (C-O),
1054 (C-O), 823, 561 cm^{-1}

MS: + ES: $m/z = 302 [\text{M}+\text{H}]^+$, $284[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$

15 7. 替莫唑胺-8-羧酸庚酯

^1H NMR (CDCl_3/ppm) δ 8.39 (s, 1, H-6), 4.38 (s, 2, $\underline{\text{CH}_2-\text{O}}$), 4.00 (s,
3, $\underline{\text{CH}_3-\text{N}}$), 1.75 (s, 2, $\text{C}-\underline{\text{CH}_3-\text{C}}$), 1.19 (s, 8, $\text{C}-(\underline{\text{CH}_2})_4-\text{C}$), 0.83 (s, 3, $\text{C}-\underline{\text{CH}_3}$)

20 ^{13}C NMR ($\text{d}_6\text{-DMSO}/\text{ppm}$) δ 161 ($\underline{\text{C}}\text{OO}$), 139 (C-4), 137 (C-6), 129 (C-9),
127 (C-8), 64.8 ($\underline{\text{OCH}_2}$), 36.4 ($\underline{\text{NCH}_3}$), 31.1 ($\underline{\text{OCH}_2\text{CH}_2}$), 2×28.4 ($\underline{\text{OCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2}$),
25.3 ($\underline{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3}$), 22.1 ($\underline{\text{CH}_2\text{CH}_3}$), 13.8 ($\underline{\text{CH}_2\text{CH}_3}$)

ν_{max} (KBr): 3146, 2927 (C-H), 2858 (C-H), 1748 (C=O), 1718 (C=O),
1457 (C-O), 1245 (C-O), 828, 566 cm^{-1}

MS: + ES: $m/z = 316 [\text{M}+\text{H}]^+$, $398[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$

8. 替莫唑胺-8-羧酸辛酯

25 ^1H NMR (CDCl_3/ppm) δ 8.36 (s, 1, H-6), 4.36 (s, 2, $\underline{\text{CH}_2-\text{O}}$), 3.95 (s,
3, $\underline{\text{CH}_3-\text{N}}$), 1.74 (s, 2, $\text{C}-\underline{\text{CH}_3-\text{C}}$), 1.19 (s, 10, $\text{C}-(\underline{\text{CH}_2})_5-\text{C}$), 0.78 (s, 3,
 $\text{C}-\underline{\text{CH}_3}$)

30 ^{13}C NMR ($\text{d}_6\text{-DMSO}/\text{ppm}$) δ 160 ($\underline{\text{C}}\text{OO}$), 139 (C-4), 137 (C-6), 129 (C-9),
127 (C-8), 64.8 ($\underline{\text{OCH}_2}$), 36.4 ($\underline{\text{NCH}_3}$), 31.2 ($\underline{\text{OCH}_2\text{CH}_2}$), 2×28.6 ($\underline{\text{OCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2}$),
28.2 ($\underline{\text{O}(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2}$), 25.4 ($\underline{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3}$), 22.1 ($\underline{\text{CH}_2\text{CH}_3}$), 13.9 ($\underline{\text{CH}_2\text{CH}_3}$)

ν_{max} (KBr): 2925, 2853, 1758, 1720, 1467, 1255, 838, 556 cm^{-1}

MS: + ES: $m/z = 330 [\text{M}+\text{H}]^+$, $312[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$

实施例 3. 替莫唑胺-8-羧酸酯衍生物在醇类溶剂中的稳定性研究

精确称量替莫唑胺-8-羧酸正己酯，分别配制成 1%的甲醇、乙醇、异丙醇和叔丁醇溶液。从上述 1%替莫唑胺-8-羧酸正己酯的甲醇、乙醇、异丙醇和叔丁醇溶液中各取三个 20 毫升样品，置于 50 毫升棕色玻璃瓶中，封闭，然后室温放置，分别在 1,4,8,12,16,20,24,28,32 个月的时间点使用 HPLC 测定含量，求三个平行样品的平均值，绘图。结果表明，替莫唑胺-8-羧酸正己酯在甲醇和乙醇溶液中很快分解，而在异丙醇和叔丁醇溶液中稳定，见图 3。

实施例 4. 替莫唑胺-8-羧酸酯在酸性介质中的稳定性研究

精确称量氢氧化钠和柠檬酸分别配制成 pH7.5、pH7.0、pH6.5、pH6.0 和 pH5.5 的水溶液，精确称量替莫唑胺-8-羧酸正己酯，使用上述 pH7.5、pH7.0、pH6.5、pH6.0 和 pH5.5 的溶液配制成一系列 1%替莫唑胺-8-羧酸正己酯溶液。从上述五种替莫唑胺-8-羧酸正己酯的 1%水溶液中各取三个 20 毫升样品，置于 50 毫升棕色玻璃瓶中，封闭，然后室温放置。分别在 1,4,8,12,16,20,24,28,32 个月的时间点用 HPLC 测定含量，求三个平行样品的平均值，绘图。结果表明，替莫唑胺-8-羧酸正己酯在微碱性介质 (pH7.5) 很快分解，在中性介质中 (pH7.0) 也不稳定，在酸性介质中 (pH<7.0) 相对很稳定，见图 4。

实施例 5. 替莫唑胺-8-羧酸甲酯固体储库系统的制备

称取 3g 的替莫唑胺-8-羧酸甲酯，研成细粉；取 20g 水、50g 油酸，30g Vitamin E TPGS 和适量的柠檬酸，加入粉碎的药物混合研磨制成微乳，加入控速膜乙烯-醋酸乙烯共聚物膜，和压力敏感粘合剂聚硅氧烷压敏胶适量，搅匀，水浴保温脱气，涂膜于聚乙烯底片上，烘干，切成 50 个贴片，即得。

实施例 6. 替莫唑胺-8-羧酸丙酯固体储库系统的制备

按照实施例 5 所述的方法，只是用替莫唑胺-8-羧酸丙酯代替替莫唑胺-8-羧酸甲酯，制备得到 50 个贴片。

实施例 7. 替莫唑胺-8-羧酸丁酯固体储库系统的制备

按照实施例 5 所述的方法，只是用替莫唑胺-8-羧酸丁酯代替替莫唑胺-8-羧酸甲酯，制备得到 50 个贴片。

实施例 8. 替莫唑胺-8-羧酸庚酯固体储库系统的制备

按照实施例 5 所述的方法，只是用替莫唑胺-8-羧酸庚酯代替替莫唑胺-8-羧酸甲酯，制备得到 50 个贴片。

实施例 9. 替莫唑胺-8-羧酸正己酯固体储库系统的制备

按照实施例 5 所述的方法，只是用替莫唑胺-8-羧酸正己酯代替替莫唑胺-8-羧酸甲酯，制备得到 50 个贴片。

实施例 10. 替莫唑胺-8-羧酸乙酯固体储库系统的制备

按照实施例 5 所述的方法，只是用替莫唑胺-8-羧酸乙酯代替替莫唑胺-8-羧酸甲酯，制备得到 50 个贴片。

实施例 11. 替莫唑胺-8-羧戊酯贴片制剂的制备

按照实施例 5 所述的方法，只是用替莫唑胺-8-羧酸戊酯代替替莫唑胺-8-羧酸甲酯，制备得到 50 个贴片。

实施例 12. 替莫唑胺-8-羧酸丁酯胶囊剂的制备

将 5mg 替莫唑胺-8-羧酸丁酯研成细粉，然后装入硬明胶胶囊中，制成胶囊制剂。

实施例 13. 替莫唑胺-8-羧酸庚酯胶囊剂的制备

将 10mg 替莫唑胺-8-羧酸庚酯研成细粉，然后装入硬明胶胶囊中，制成胶囊制剂。

实施例 14. 替莫唑胺-8-羧酸辛酯胶囊剂的制备

将 10mg 替莫唑胺-8-羧酸辛酯研成细粉，然后装入硬明胶胶囊中，制成胶囊制剂。

实施例 15. 替莫唑胺-8-羧酸正己酯胶囊剂的制备

配方：

替莫唑胺-8-羧酸正己酯	10mg
乳糖	65mg
预胶化淀粉	25mg
交联羧甲基纤维素钠	3mg
微粉硅胶	0.25mg
硬酯酸镁	0.30mg

将替莫唑胺-8-羧酸正己酯、乳糖、预胶化淀粉、交联羧甲基纤维素钠分别过 65 目筛备用。按处方量的替莫唑胺-8-羧酸正己酯，按等量递加法与其他辅料混合均匀，过 65 目筛 3 次；测休止角，小于 30°；测含量，定装量；将该粉末装 3 号胶囊。

实施例 16. 替莫唑胺-8-羧酸辛酯胶囊剂的制备

配方：

替莫唑胺-8-羧酸辛酯	10mg
乳糖	65mg

预胶化淀粉	25mg
交联羧甲基纤维素钠	3mg
微粉硅胶	0.25mg
硬酯酸镁	0.30mg

5 按照实施例 14 所述方法,只是用替莫唑胺-8-羧酸辛酯代替替莫唑胺-8-羧酸正己酯, 制备得到标题所述的胶囊剂。

实施例 17. 替莫唑胺-8-羧酸-3-甲基-庚酯胶囊剂的制备
配方:

替莫唑胺-8-羧酸-3-甲基-庚酯	10mg
10 乳糖	65mg
预胶化淀粉	25mg
交联羧甲基纤维素钠	3mg
微粉硅胶	0.25mg
硬酯酸镁	0.30mg

15 按照实施例 14 所述方法, 只是用替莫唑胺-8-羧酸-3-甲基-庚酯代替替莫唑胺-8-羧酸正己酯, 制备得到标题所述的胶囊剂。

实施例 18. 替莫唑胺-8-羧酸-2-乙基-戊酯贴片制剂的制备
配方:

替莫唑胺-8-羧酸-2-乙基-戊酯	3g
20 水	20g
油酸	50g
维生素 E TPGS	30g
柠檬酸	适量

25 按处方量将上述物质混合制成微乳, 加入控速膜乙烯-醋酸乙烯共聚物膜, 和压力敏感粘合剂聚硅氧烷压敏胶适量, 搅匀, 水浴保温脱气, 涂膜于聚乙烯底片上, 烘干, 切成 50 个贴片, 即得。

实施例 19. 替莫唑胺-8-羧酸正己酯透皮局部给药乳剂的制备

30 将 3g 替莫唑胺-8-羧酸正己酯研成细粉, 与 20g 水、50g 油酸、30g 磷脂和适量的柠檬酸或山梨酸(pH=5.5)、维生素 E 和异丙醇混合制成微乳, 其可直接使用,也可将其分成 50 份, 制成 25 个贴片使用。

实施例 20. 替莫唑胺-8-羧酸正己酯透皮局部给药乳液的制备

将 3g 替莫唑胺-8-羧正己酸酯研成细粉, 与 20g 水、35g 维生素 E TPGS、45g 中长链甘油三酸酯、适量的乳酸或苯甲酸(pH=5.0)以及和异丙醇混合制

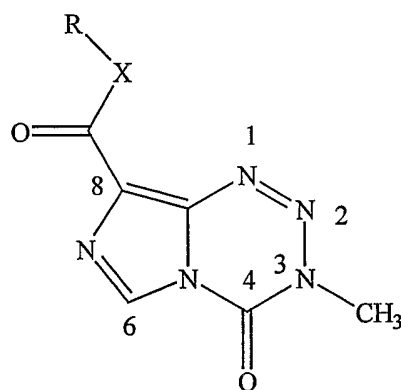
成微乳液。所制成的微乳液可以直接使用,也可分成 50 份,制成 25 个贴片使用。

实施例 21. 替莫唑胺-8-羧酸正己酯透皮局部给药软膏的制备

5 将 3g 替莫唑胺-8-羧酸正己酯研成细粉,与 15g 水、50g 维生素 E TPGS, 35g 肉豆蔻酸异丙酯和适量的苹果酸或富马酸 (pH=6.0)以及异丁醇混合制成软膏。所制成的软膏可以直接使用,也可将其制成微乳分成 50 份,制成 25 个贴片使用。

权 利 要 求 书

1.一种下述通式 I 的替莫唑胺-8-羧酸酯：



5

其中 X 是 O 或 S；

R 是取代或未取代的 C_3-C_{10} 的直链或支链烷基、 C_3-C_{10} 的环烷基、 C_3-C_{10} 的直链或支链链烯基或 C_3-C_{10} 的直链或支链炔基；

当 R 具有取代基时，所述的取代基可以是 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、 C_1-C_6 烷氨基、苯基或卤素取代的苯基。

2. 权利要求 1 所述的替莫唑胺-8-羧酸酯，其中的替莫唑胺-8-羧酸酯选自：替莫唑胺-8-羧酸甲酯、替莫唑胺-8-羧酸乙酯、替莫唑胺-8-羧酸丙酯、替莫唑胺-8-羧酸丁酯、替莫唑胺-8-羧酸-1-甲基-丁酯、替莫唑胺-8-羧酸-1-乙基-丁酯、替莫唑胺-8-羧酸-1-乙基-丙酯、替莫唑胺-8-羧酸-1-乙基-戊酯、替莫唑胺-8-羧酸-1-甲基-己酯、替莫唑胺-8-羧酸-1-甲基-己酯、替莫唑胺-8-羧酸-2-甲基-己酯、替莫唑胺-8-羧酸-3-甲基-己酯、替莫唑胺-8-羧酸-4-甲基-己酯、替莫唑胺-8-羧酸-5-甲基-己酯、替莫唑胺-8-羧酸-1-甲基-庚酯、替莫唑胺-8-羧酸-2-甲基-庚酯、替莫唑胺-8-羧酸-3-甲基-庚酯、替莫唑胺-8-羧酸-4-甲基-庚酯、替莫唑胺-8-羧酸-5-甲基-庚酯、替莫唑胺-8-羧酸-6-甲基-庚酯、替莫唑胺-8-羧酸戊酯、替莫唑胺-8-羧酸正己酯、替莫唑胺-8-羧酸庚酯和替莫唑胺-8-羧酸辛酯。

3. 权利要求 2 所述的替莫唑胺-8-羧酸酯，其中的替莫唑胺-8-羧酸酯为替莫唑胺-8-羧酸正己酯。

4. 一种具有抗肿瘤活性的药用组合物，其中含有一种或多种治疗有效量的权利要求 1-3 任意一项所述的化合物作为活性成分，和常规的药用载体。

5. 权利要求 4 所述的药用组合物, 其中所述的药用组合物中还包括一种或多种药学上可接受的酸性物质。

6. 权利要求 5 所述的药用组合物, 其中所述的酸性物质选自油酸、硬脂酸、亚麻酸、富马酸、苯甲酸、酒石酸、山梨酸、乳酸、柠檬酸、乙酸和 EDTA。

7. 权利要求 4-6 任意一项所述的药用组合物, 其中可进一步含有一种或多种药学上可接受的 C₃-C₈ 仲醇或叔醇或它们的酯或醚衍生物。

8. 权利要求 4-7 任意一项所述的药用组合物, 其中的活性成分按照 0.1-200mg/kg 体重/天的剂量施与患者。

9. 权利要求 8 所述的药用组合物, 其中的活性成分剂量范围为 1-20mg/kg 体重/天。

10. 权利要求 4 所述的药用组合物, 其中所述组合物可以制成药剂学中的任何一种剂型。

11. 权利要求 10 所述的药用组合物, 其中所述的组合物被制成透皮局部给药剂型或口服剂型。

12. 权利要求 11 所述的药用组合物, 其中所述透皮局部给药剂型为局部透皮贴剂。

13. 权利要求 12 所述的药用组合物, 其中的局部透皮贴剂为基质型控释贴剂、固体储库型控释贴剂或液体储库型控释贴剂。

14. 权利要求 13 所述的药用组合物, 其中的局部透皮贴剂为固体储库型控释贴剂, 该贴剂中的水相为水, 油相选自一种或多种下述物质: 油酸、肉豆蔻酸异丙酯、月桂酸、蜂蜡、琼蜡醇、硬脂醇、液体石蜡、凡士林、无水羊毛脂、硬脂酸、棉子油、蓖麻油和亚麻酸。

15. 权利要求 14 所述的药用组合物, 其中的油相为油酸或肉豆蔻酸异丙酯。

16. 权利要求 13 所述的药用组合物, 其中的局部透皮贴剂为液体储库型控释贴剂, 该贴剂由不可透过的底片、液体药物、控速膜、压力敏感粘合剂以及释放层组成, 其中:

底片为选自下述的一种或多种下述物质: 聚乙烯、聚氯乙烯、硝化甘油、聚二甲基硅氧烷、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯氧化物复合物、聚乙二醇、聚乙二醇单甲醚或双甲醚、聚乙二醇琥珀酸酯及其琥珀酸聚乙二醇维生素 E 混合双酯、羊毛或棉花;

控速膜选自乙烯-醋酸乙烯共聚物膜、聚氨酯膜或乙二醇二乙酸酯膜;

和

压力敏感粘合剂选自聚硅氧烷压敏胶或聚丙烯酸酯压敏胶。

17. 权利要求 16 所述的药用组合物，其中所述的底片为聚乙烯或聚氯乙烯。

5 18. 权利要求 13 所述的药用组合物，其中的局部透皮贴剂为基质型控释贴剂，该贴剂中的药物粘附基质辅料选自聚氯乙烯、聚丙烯酸酯、聚二甲基硅氧烷、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯醇、凝胶制成的水凝胶、聚乙烯吡咯烷酮和聚乙烯氧化物复合物、聚乙二醇单甲醚或双甲醚、聚乙二醇琥珀酸酯及其琥珀酸聚乙二醇维生素 E 混合双酯。

10 19. 权利要求 18 所述的药用组合物，其中的药物粘附基质辅料为聚丙烯酸酯。

20. 权利要求 10 所述的药用组合物，其中的剂型可以是片剂、丸剂、分散粉末、胶囊剂、颗粒剂、乳剂、溶液剂、悬浮液、糖浆、阴道或直肠给药的固体栓剂制剂。

15 21. 权利要求 14 或 15 所述的药用组合物的制备方法，该方法包括如下步骤：

称取适量的权利要求 1 所述的替莫唑胺-8-羧酸酯为活性成分，研成细粉；加入水相、油相、表面活性剂和所需的载体，混合均匀；加入粉碎的药物混合研磨制成微乳，加入控速膜和压力敏感粘合剂适量，搅匀，水浴
20 保温脱气，涂膜于聚乙烯底片上，烘干，切成贴片，即得所述的固体储库型控释贴剂。

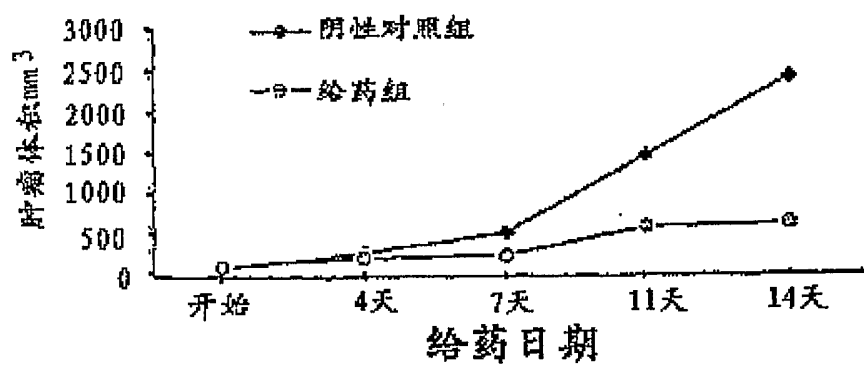


图 1

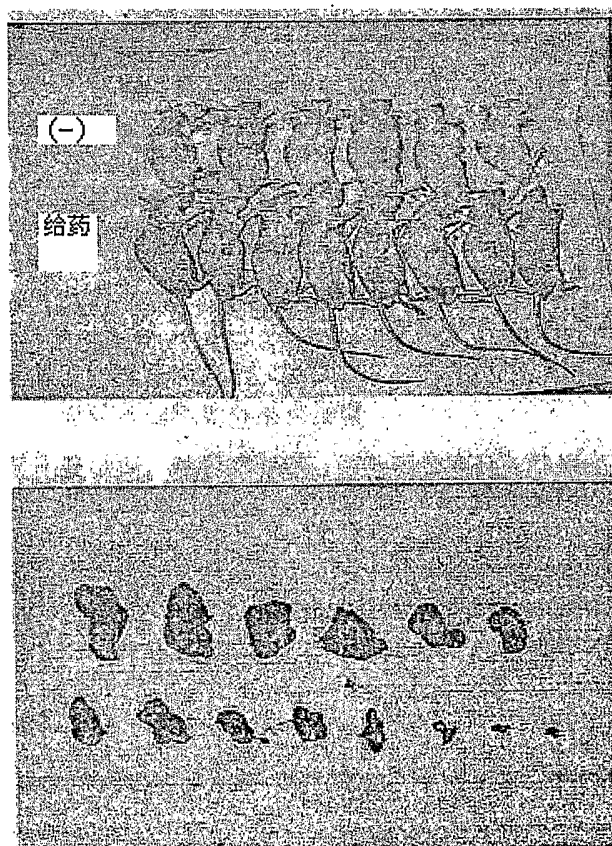


图 2

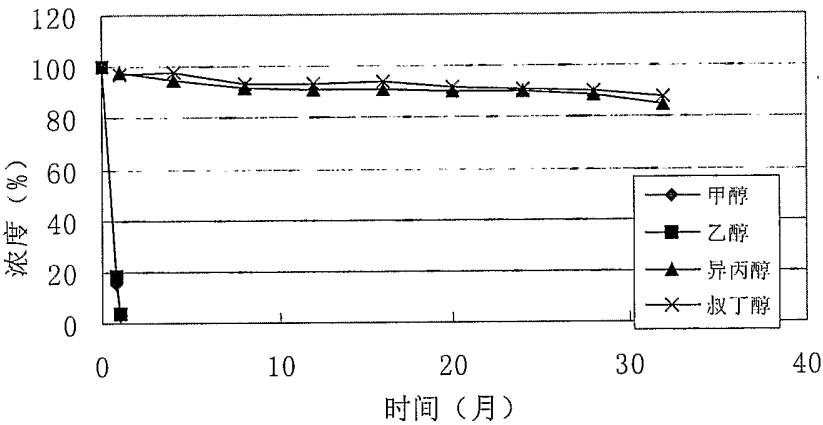


图3

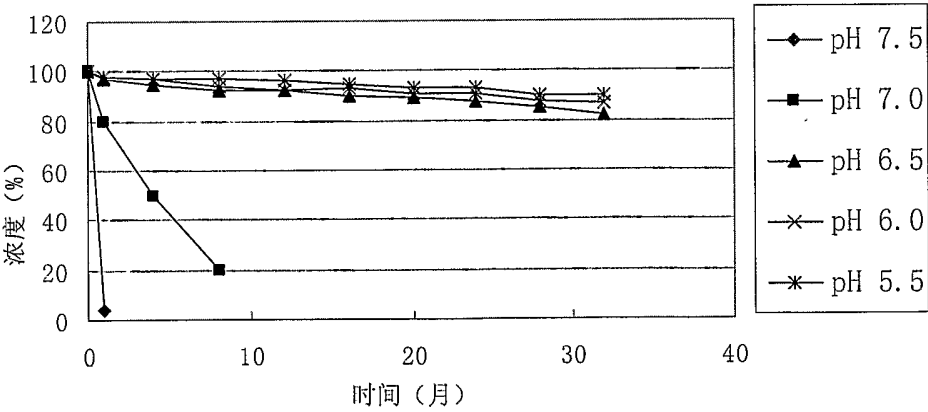


图4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2005/001477

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D487/04, A61K31/41, A61P35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC7 C07D, A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, WPI, PAJ, CPRS, CNKI, CA, STN: Temozolomide? , methazolastone? , imidazo s tetrazin, and also made search on the structure of imidazol[5,1-d] [1,2,3,5] tetrazine-8-carbonyloxo(thio)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 1485327 A(TIANJIN TASLY GROUP CO LTD) 31.Mar.2004(31.03.2004) Example 2 and Claims	1-21
X	EP 0252682 A2(MAY & BAKER LTD) 13. Jan. 1988(13.01.1988) Compounds A, I, X, Z, AB, AC, et al	1-21
A	Chinese Journal of Medicinal Chemistry, 11(5), Oct.2001 ZHAO Lin-xiang, WANG Jing-li, DAI Xian-ping, et al, "Synthesis and Antitumor Activities of 3-Substituted 4-Oxo-3H-imidazol[5,1-d] [1,2,3,5] tetrazine-8-carboxylic Acids and Their Derivatives" P263-269	1-21

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&"document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search

08.Nov.2005(08.11.2005)

Date of mailing of the international search report

08 · DEC 2005 (08 · 12 · 2005)

Name and mailing address of the ISA/CN
The State Intellectual Property Office, the P.R.China
6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing, China
100088
Facsimile No. 86-10-62019451

Authorized officer

Telephone No. 86-10-62085610



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2005/001477

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	European Journal of Medicinal Chemistry, 37(4), 2002 Wang, Yongfeng; Lambert, Peter; et al "Synthesis and antibacterial activity of dual-action agents of a β -lactam antibiotic with cytotoxic agent mitozolomide or temozolomide" P323-332	1-21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2005/001477

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 1485327 A	31-03-2004	NONE	NONE
EP 0252682 A	13-01-1980	JP 63066182 A	24-03-1988

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2005/001477

A. 主题的分类

C07D487/04 A61K31/41 A61P35/00

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC7 C07D A61K

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

EPODOC, WPI, PAJ, CPRS, CNKI, CA, STN: 唑胺, Temozolomide?, methazolastone?, imidazo s tetrazin, 并针对咪唑并四嗪-8-羧基进行了结构检索

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 1485327 A(天津天士力基团有限公司) 31.3 月 2004(31.03.2004) 实施例 2 和权利要求书	1-21
X	EP 0252682 A2(MAY & BAKER LTD) 13.1 月 1988(13.01.1988) 化合物 A, I, X, Z, AB, AC 等	1-21
A	中国药物化学杂志, 第 11 卷, 第 5 期, 2001 年 10 月 ZHAO Lin-xiang, WANG Jing-li, DAI Xian-ping, 等, "Synthesis and Antitumor Activities of 3-Substituted 4-Oxo-3H-imidazol[5,1-d] [1,2,3,5] tetrazine-8-carboxylic Acids and Their Derivatives" 第 263-269 页	1-21

☒ 其余文件在 C 栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件

"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

"T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

"X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

"Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

"&" 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

08.11 月 2005(08.11.2005)

国际检索报告邮寄日期

08 · 12 月 2005 (08 · 12 · 2005)

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088

传真号: (86-10)62019451

受权官员



电话号码: (86-10)62085610

C(续). 相关文件

类 型	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	European Journal of Medicinal Chemistry, 第 37 卷, 第 4 期, 2002 年 Wang, Yongfeng; Lambert, Peter; 等 "Synthesis and antibacterial activity of dual-action agents of a β -lactam antibiotic with cytotoxic agent mitozolomide or temozolomide" 第 323-332 页	1-21

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2005/001477

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN 1485327 A	31.03.2004	无	无
EP 0252682 A	13-01-1980	JP 63066182 A	24-03-1988