



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112402425 A

(43) 申请公布日 2021.02.26

(21) 申请号 202011350126.3

A61K 31/704 (2006.01)

(22) 申请日 2020.11.26

(71) 申请人 山东师范大学

地址 250014 山东省济南市历下区文化东路88号

(72) 发明人 类红旭 盛卸晃 赵子婧 郝梦珠
卢佳澳

(74) 专利代理机构 济南圣达知识产权代理有限公司 37221

代理人 郑平

(51) Int. Cl.

A61K 31/5365 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

A61K 31/136 (2006.01)

权利要求书2页 说明书5页

(54) 发明名称

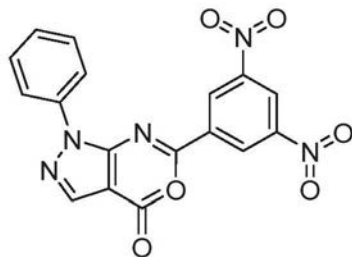
3,5-二硝基苯基-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪
作为肿瘤耐药逆转剂的应用

(57) 摘要

本发明属于医药技术领域,涉及3,5-二硝基苯基-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪作为肿瘤耐药逆转剂的应用。本发明研究表明1-苯基-6-(3,5-二硝基苯基)-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪-4(1H)-酮能够显著提高肿瘤细胞对抗肿瘤药物的敏感性,逆转肿瘤细胞耐药性,并且治疗剂量安全无毒性,具有潜力成为新型的肿瘤耐药逆转剂类药物。基于该研究结果,上述化合物可用于化疗方案的辅助治疗及配合其他抗肿瘤药物共同用药,具有良好的临床用药意义。

1. 3,5-二硝基苯基-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪作为肿瘤耐药逆转剂中应用。

2. 如权利要求1所述的应用,其特征在于,所述3,5-二硝基苯基-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪为1-苯基-6-(3,5-二硝基苯基)-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪-4(1H)-酮,结构式如下:



6-(3,5-dinitrophenyl)-1-phenyl-1H-4λ⁵,5λ³-pyrazolo[3,4-d][1,3]oxazin-4-one

式 1。

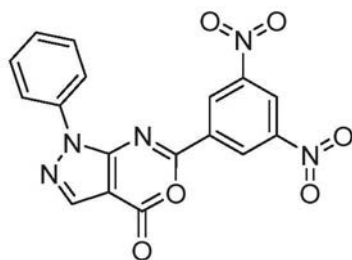
3. 如权利要求1所述的应用,其特征在于,所述肿瘤耐药逆转剂为转运泵抑制剂;

优选的,所述肿瘤耐药逆转剂为对耐药蛋白转运抑制剂;

更为优选的,肿瘤耐药的药物为米托蒽醌或阿霉素。

4. 3,5-二硝基苯基-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪在制备对耐药蛋白(ABCG2)具有抑制作用的药物中的应用。

5. 如权利要求4所述的应用,其特征在于,所述3,5-二硝基苯基-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪为1-苯基-6-(3,5-二硝基苯基)-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪-4(1H)-酮,结构式如下:



6-(3,5-dinitrophenyl)-1-phenyl-1H-4λ⁵,5λ³-pyrazolo[3,4-d][1,3]oxazin-4-one

式 1。

6. 一种药物组合物,其特征在于,所述药物组合物包括:化合物A及药用载体;

其中,所述化合物A为3,5-二硝基苯基-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪。

7. 如权利要求6所述的药物组合物,其特征在于,所述化合物A为1-苯基-6-(3,5-二硝基苯基)-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪-4(1H)-酮。

8. 如权利要求6所述药物组合物,其特征在于,所述药物组合物中还包括用于治疗或辅助治疗肿瘤的药物;

优选的,所述治疗或辅助治疗肿瘤的药物包括但不限于喜树碱类似物、酪氨酸激酶抑制剂、蒽环霉素类药物、抗HIV病毒药物,抗风湿药,免疫抑制剂及抗生素;

或,所述治疗肿瘤的药物为ABCG2耐药相关药物;或所述蒽环霉素类药物为米托蒽醌或阿霉素;

或,所述药物组合物包括但不限于口服剂型、胃肠外给药剂型、外用剂型和直肠给药剂型;优选的,所述药物组合物可以是口服的片剂、胶囊、丸剂、粉剂、缓释制剂、溶液和悬浮

液,用于胃肠外注射的无菌溶液、悬浮液或乳液,用于外用的软膏或乳膏,或者用于直肠给药的栓剂。

9. 权利要求6-8任一项所述药物组合物在制备抗肿瘤药剂中的应用。

10. 如权利要求9所述化合物或药物组合物在制备抗肿瘤药剂中的应用,其特征在于,所述抗肿瘤药剂包括用于治疗肿瘤的药物、保健品及模型工具药物。

3,5-二硝基苯基-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪作为肿瘤耐药逆转剂的应用

技术领域

[0001] 本发明属于医药技术领域,具体涉及3,5-二硝基苯基-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪类化合物——1-苯基-6-(3,5-二硝基苯基)-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪-4(1H)-酮作为肿瘤耐药逆转剂的应用,及包括1-苯基-6-(3,5-二硝基苯基)-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪-4(1H)-酮的药物组合物在制备抗肿瘤药剂中的应用。

背景技术

[0002] 公开该背景技术部分的信息仅仅旨在增加对本发明的总体背景的理解,而不必然被视为承认或以任何形式暗示该信息构成已经成为本领域一般技术人员所公知的现有技术。

[0003] 肿瘤的多药耐药性(multidrug resistance,MDR)一直是困扰癌症治疗的世界性难题,MDR指的是肿瘤细胞长期接触某一种的化疗药物,对此产生了药物耐药性,可能还会其他功能不同的多种化疗药物产生交叉耐药性,是导致化疗失败的主要原因之一。肿瘤的MDR机理复杂,其中ABC转运蛋白的过表达是导致MDR的主要原因。因此,致力于寻找与开发MDR逆转剂,恢复MDR细胞对传统抗癌药物的敏感性被认为是克服MDR的主要策略。

[0004] ABCG2是造成MDR的关键蛋白之一,属于ABC转运蛋白超家族G亚族的第二位成员。ABCG2转运蛋白可将抗肿瘤药物如米托蒽醌、吉非替尼、阿霉素和伊马替尼等从细胞内泵至胞外,从而降低药物的抗肿瘤效果。研究发现,ABCG2不仅与乳腺癌的分期,转移和预后直接临床相关性,还与弥漫性大B细胞淋巴瘤、急性髓细胞性白血病和非小细胞肺癌患者的生存率和治疗反应有明确的联系。因此,阻断ABCG2外排作用在耐药性肿瘤的治疗中具有重要的意义。

发明内容

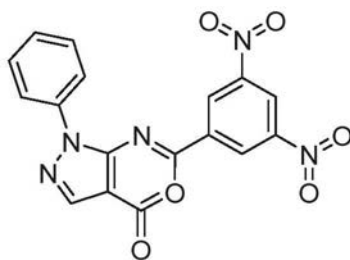
[0005] 基于上述研究背景,本发明研究发现化合物1-苯基-6-(3,5-二硝基苯基)-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪-4(1H)-酮,能够靶向ABCG2,起到抑制作用,提高肿瘤细胞对药物的敏感性,有望应用于耐药性肿瘤的治疗。

[0006] 为实现上述技术目的,本发明采用如下技术方案:

[0007] 本发明的第一个方面,提供了3,5-二硝基苯基-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪作为肿瘤耐药逆转剂中应用。

[0008] 其中,所述3,5-二硝基苯基-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪为1-苯基-6-(3,5-二硝基苯基)-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪-4(1H)-酮,结构式如下:

[0009]

6-(3,5-dinitrophenyl)-1-phenyl-1H-4λ⁵,5λ³-pyrazolo[3,4-d][1,3]oxazin-4-one

式 I。

[0010] 本发明研究表明,式I所示化合物能够逆转肿瘤细胞耐药性,提高所述肿瘤细胞对抗肿瘤药物的敏感性。优选的,上述化合物能够抑制肿瘤细胞中ABCG2的活性,减少抗癌药物的泵出,提高ABCG2耐药途经相关的抗肿瘤药物的敏感性。此外,细胞毒性实验也证实了在治疗剂量下也无明显的毒性。上述结果表明,1-苯基-6-(3,5-二硝基苯基)-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪-4(1H)-酮能够逆转肿瘤细胞耐药的程度,对于肿瘤及耐药性肿瘤具有辅助治疗作用。

[0011] 本发明的第二个方面,提供了3,5-二硝基苯基-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪在制备对耐药蛋白(ABCG2)具有抑制作用的药物中的应用。

[0012] 本发明的第三个方面,提供了一种药物组合物,所述药物组合物包括:化合物A及药用载体;

[0013] 其中,所述化合物A为3,5-二硝基苯基-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪。

[0014] 本发明的第四个方面,提供了任一项上述药物组合物在制备抗肿瘤药剂中的应用。

[0015] 本发明的有益效果在于:

[0016] (1) 本发明研究通过体外细胞实验证实了上述化合物治疗剂量远低于最小毒性剂量,使用安全。

[0017] (2) 本发明研究结果证实了1-苯基-6-(3,5-二硝基苯基)-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪-4(1H)-酮(即式I所示化合物),抑制肿瘤细胞中ABCG2的表达,实现耐药肿瘤细胞的逆转效果。本发明研究结果首次提供了上述化合物在抗肿瘤、特别是抗耐药性肿瘤中的作用。

[0018] (3) 目前已经报道与ABCG2耐药相关的肿瘤包括非小细胞肺癌,弥漫性大B细胞淋巴瘤、急性髓细胞性白血病等。基于本发明研究结果,可相应的开发上述化合物与上述疾病治疗药物的联合应用治疗方法,对于临床用药具有良好的指导意义。

具体实施方式

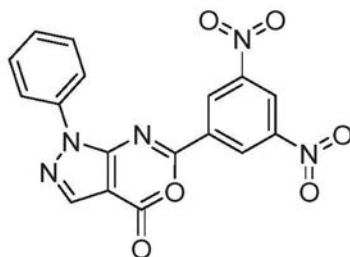
[0019] 应该指出,以下详细说明都是示例性的,旨在对本发明提供进一步的说明。除非另有指明,本发明使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属技术领域的普通技术人员通常理解的含义。

[0020] 需要注意的是,这里所使用的术语仅是为了描述具体实施方式,而非意图限制根据本发明的示例性实施方式。如在这里所使用的,除非上下文另外明确指出,否则单数形式也意图包括复数形式,此外,还应当理解的是,当在本说明书中使用术语“包含”和/或“包括”时,其指明存在特征、步骤、操作、器件、组件和/或它们的组合。

[0021] 正如背景技术所介绍的,针对现有技术中存在的不足,为了解决如上的技术问题,本发明提出了1-苯基-6-(3,5-二硝基苯基)-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪-4(1H)-酮作为肿瘤耐药逆转剂的应用。

[0022] 本发明第一方面,提供一种化合物,所述化合物选自式I所示化合物,或其药用盐、溶剂化物及水合物作为肿瘤耐药逆转剂的应用。

[0023]



6-(3,5-dinitrophenyl)-1-phenyl-1H-4λ⁵,5λ³-pyrazolo[3,4-d][1,3]oxazin-4-one

式 I。

[0024] 在一些实施例中,所述肿瘤耐药逆转剂为转运泵抑制剂。

[0025] 在一些实施例中,所述转运泵抑制剂对耐药蛋白 (ABCG2) 具有抑制作用。

[0026] 在一些实施例中,所述肿瘤耐药逆转剂为对耐药蛋白 (ABCG2) 转运抑制剂。

[0027] 在一些具体的实施方式中,所述肿瘤耐药的药物为米托蒽醌或阿霉素。

[0028] 本发明第二方面,提供一种药物组合物,所述药物组合物包括第一方面所述化合物、所述化合物的药用盐、溶剂化物、水合物中的一种或几种,及药用载体。

[0029] 在一些实施例中,所述药物组合物中还包括用于治疗或辅助治疗肿瘤的药物。

[0030] 在一些实施例中,所述治疗或辅助治疗肿瘤的药物包括但不限于喜树碱类似物、酪氨酸激酶抑制剂、蒽环霉素类药物、抗HIV病毒药物,抗风湿药,免疫抑制剂及抗生素。

[0031] 在一些实施例中,所述治疗肿瘤的药物为ABCG2耐药相关药物。

[0032] 在一些实施例中,所述蒽环霉素类药物为米托蒽醌或阿霉素。

[0033] 在一些实施例中,所述药物组合物包括但不限于口服剂型、胃肠外给药剂型、外用剂型和直肠给药剂型。

[0034] 在一些实施方式中,所述药物组合物可以是口服的片剂、胶囊、丸剂、粉剂、缓释制剂、溶液和悬浮液,用于胃肠外注射的无菌溶液、悬浮液或乳液,用于外用的软膏或乳膏,或者用于直肠给药的栓剂。

[0035] 本发明第三方面,提供第一方面所述化合物或第二方面所述药物组合物在制备抗肿瘤药剂中的应用。

[0036] 在一些实施例中,所述抗肿瘤药剂包括用于治疗肿瘤的药物、保健品及模型工具药物。

[0037] 本发明第四方面,提供一种肿瘤治疗方法,所述治疗方法包括采用第一方面所述化合物或第二方面所述药物组合物进行治疗。

[0038] 在一些实施例中,所述肿瘤为耐药型肿瘤疾病,进一步的,包括但不限于耐药型乳腺癌、耐药型非小细胞肺癌、耐药型弥漫性大B细胞淋巴瘤、耐药型急性髓细胞性白血病。

[0039] 下面结合具体的实施例,对本发明做进一步的详细说明,应该指出,所述具体实施例是对本发明的解释而不是限定。

[0040] 实施例1化合物对肿瘤细胞的耐药逆转实验

[0041] 1、耐药细胞培养: S1-MI-80细胞是源自人结肠癌细胞系S123的MX诱导的ABCG2过表达抗性亚系。在DMEM培养基中培养S1-MI-80。将所有细胞系维持在37℃的含5%CO₂的潮湿培养箱中。

[0042] 2、细胞毒性测试: 使用MTT比色细胞增殖测定法确定体外细胞模型中的药物敏感性。准备单细胞悬液, 并以每孔160μL接种在96孔板上, 放置CO₂培养箱培养24h, 分别加入一系列浓度(0, 1, 2, 4, 8, 18, 32μmol/L)的1-苯基-6-(3,5-二硝基苯基)-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪-4(1H)-酮。将20μL 0.5%MTT加入每个孔中, 再孵育4小时。然后除去上清液, 并将150μL DMSO添加到每个孔中以溶解MTT晶体。用酶标仪在540nm处检测吸光度, 经测定其基本无毒性剂量。

[0043] 3、耐药逆转活性测试: 准备单细胞悬液, 并以每孔160μL接种在96孔板上, 加入20μmol/L 1-苯基-6-(3,5-二硝基苯基)-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪-4(1H)-酮, ko143 (2.5μmol/L) 为阳性对照药。孵育1h后, 加入一系列不同浓度的(100, 200, 400, 800, 1600, 3200nM)米托蒽醌。孵育68小时后加入20μL 0.5%MTT, 再孵育4小时。除去上清液, 并将150μL DMSO添加到每个孔中以溶解MTT晶体。用酶标仪在540nm处检测吸光度, 并通过Bliss方法计算IC₅₀值(IC₅₀值为抑制细胞50%活力时所对应的化合物浓度), 并计算耐药逆转倍数RF(米托蒽醌对敏感肿瘤细胞IC₅₀值/化合物联合米托蒽醌对耐药细胞IC₅₀)。

[0044] 表1化合物的耐药逆转活性

[0045]	编号	non-toxicity (μM)	IC ₅₀ (nM)	耐药逆转倍数 (RF)
[0046]	米托蒽醌	/	690	/
	1-苯基 -6-(3,5-二硝 基苯基)-吡唑 并[3,4-d][1,3] 恶嗪-4(1H)- 酮	10	113	6.10
	Ko143 (阳性对照药)	/	88	7.84

[0047] 结果如表1所示,以已知的ABCG2抑制剂Ko143为阳性对照组。经1-苯基-6-(3,5-二硝基苯基)-吡唑并[3,4-d][1,3]恶嗪-4(1H)-酮处理后的耐药细胞株对米托蒽醌的敏感性具有显著的提高,其耐药逆转倍数RF值为6.10,逆转活性接近于阳性对照Ko143,能够有效地逆转ABCG2过表达耐药细胞S1-MI-80的耐药性。

[0048] 最后应该说明的是,以上所述仅为本发明的优选实施例而已,并不用于限制本发明,尽管参照前述实施例对本发明进行了详细的说明,对于本领域的技术人员来说,其依然可以对前述实施例所记载的技术方案进行修改,或者对其中部分进行等同替换。凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。上述虽然对本发明的具体实施方式进行了描述,但并非对本发明保护范围的限制,所属领域技术人员应该明白,在本发明的技术方案的基础上,本领域技术人员不需要付出创造性劳动即可做出的各种修改或变形仍在本发明的保护范围以内。