



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101843904 A

(43) 申请公布日 2010.09.29

(21) 申请号 201010165713.5

(22) 申请日 2003.06.06

(30) 优先权数据

60/386,928 2002.06.06 US

(62) 分案原申请数据

03816797.2 2003.06.06

(71) 申请人 华盛顿大学

地址 美国华盛顿

(72) 发明人 H·C·莱 N·P·辛格

(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 11038

代理人 张敏

(51) Int. Cl.

A61K 45/00 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 31/357 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

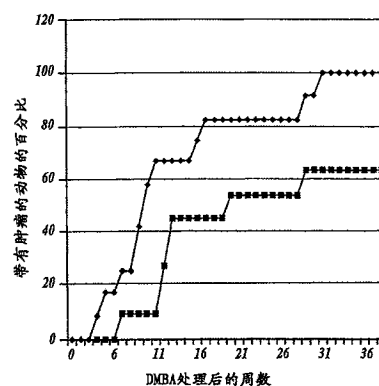
权利要求书 2 页 说明书 9 页 附图 2 页

(54) 发明名称

使用青蒿素样化合物预防或延缓癌症显现的方法

(57) 摘要

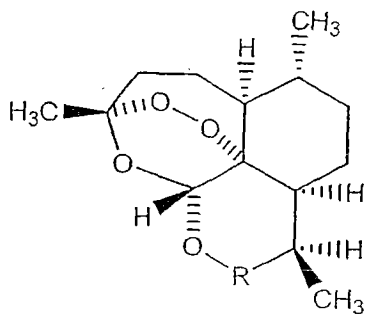
本发明提供了通过对受试者给予自由基发生剂来预防或延缓癌症发展的方法。有代表性的自由基发生剂包括内过氧化物化合物,诸如含有内过氧化物的倍半萜化合物,诸如青蒿素及其类似物、阿替夫林及其类似物、1,2,4-三噁烷类和1,2,4,5-四噁烷类。可以通过给予铁盐或复合物来提高胞内铁浓度。



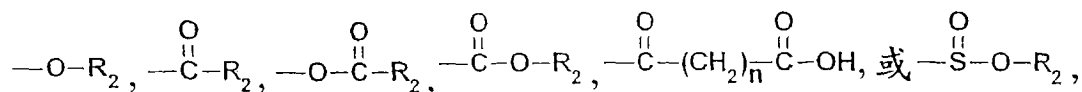
1. 自由基发生剂在制备用于预防或延缓癌症显现的药物中的用途。

2. 权利要求 1 所述的用途,其中所述的自由基发生剂是选自下组的内过氧化物化合物:倍半萜内酯类及其醇类、碳酸酯类、酯类、醚类和磺酸酯类、阿替夫林、1,2,4-三噁烷类和 1,2,4,5-四噁烷类。

3. 权利要求 2 所述的用途,其中所述的内过氧化物化合物为下列通式的化合物及其药物上可接受的盐:



其中 R 为 $\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \\ \text{O} \end{array}$ 或 $\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \\ \text{R}_1 \end{array}$, 其中 R_1 为氢、羟基、烷基或具有下列通式:



其中 R_2 为烷基或芳基,且 n 为 1-6。

4. 权利要求 2 所述的用途,其中所述的内过氧化物化合物为倍半萜化合物,其选自青蒿素、二氢青蒿素、蒿甲醚、蒿乙醚、青蒿琥酯、阿替林酸和二氢青蒿素丙基碳酸酯组成的组。

5. 权利要求 4 所述的用途,其中所述的内过氧化物化合物为青蒿素。

6. 权利要求 4 所述的用途,其中所述的内过氧化物化合物为蒿甲醚。

7. 权利要求 2 所述的用途,其中每天对受试者给予约 0.1-约 20mg/kg 的内过氧化物化合物。

8. 权利要求 2 所述的用途,其中通过口服或局部给予所述的内过氧化物化合物。

9. 权利要求 1 所述的用途,其中所述的自由基发生剂为青蒿素,并且所述药物处于粉剂、片剂或胶囊形式,用于以约 0.1-20mg/kg/天的剂量给药。

10. 权利要求 1 所述的用途,其中所述自由基发生剂可以对癌症显现提供延缓作用。

11. 权利要求 1 所述的用途,其中所述自由基发生剂可以降低癌症显现的可能性。

12. 权利要求 1 所述的用途,其中所述药物中还包含胞内铁强化剂。

13. 权利要求 12 所述的用途,其中所述的胞内铁强化剂选自铁胆盐、硫酸亚铁甘氨酸、葡聚糖铁复合物、脲化铁、山梨醇铁、氧化铁、含糖铁、全铁蛋白和全运铁蛋白组成的组。

14. 一种试剂盒,其中包括自由基发生剂和使用自由基发生剂预防或延缓癌症显现的技术说明书。

15. 权利要求 14 所述的试剂盒,其中所述的自由基发生剂为内过氧化物化合物,其选自倍半萜内酯类及其醇类、碳酸酯类、酯类、醚类和磺酸酯类、阿替夫林、1,2,4-三噁烷类和 1,2,4,5-四噁烷类组成的组。

16. 权利要求 15 所述的试剂盒,其中所述的内过氧化物化合物为青蒿素。

-
17. 权利要求 15 所述的试剂盒,其中所述的内过氧化物化合物为蒿甲醚.
 18. 权利要求 14 所述的试剂盒,其中进一步包括铁强化剂和使用该铁强化剂的技术说明书。

使用青蒿素样化合物预防或延缓癌症显现的方法

[0001] 本申请是发明名称为“使用青蒿素样化合物预防或延缓癌症显现的方法”的中国发明专利申请 No. 03816797.2 的分案申请,申请日为 2003 年 6 月 6 日。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求按照 35U. S. C. 119 于 2002 年 6 月 6 日提交的美国临时申请号 60/386,928 的利益。

发明领域

[0004] 本发明涉及通过对受试者给予自由基发生剂来预防或延缓癌症显现的方法。

[0005] 发明背景

[0006] 青蒿素是从植物黄花蒿 (*Artemisia annua* L.) 中分离的倍半萜内酯类,该植物的提取物已经用于治疗疟疾至少 1600 年。青蒿素分子含有内过氧化桥,它与铁原子反应形成自由基。青蒿素的抗疟作用是因其与寄生虫内的血红素发生反应形成自由基而使细胞死亡所导致的。癌细胞具有显著高于正常细胞的铁流入。因此,已经证实青蒿素和青蒿素类似物对建立的肿瘤和肿瘤细胞系具有细胞毒性(例如,参见 Woerdenbag 等 (1993)《天然产物杂志》(*J. Nat. Prod.*) 56(6):849-56;Lai & Singh (1995)《癌症通讯》(*Cancer Lett.*) 91:41-6;Efferth 等 (2001)《国际肿瘤学杂志》(*Int. J. Oncol.*) 18:767-73;Li 等 (2001)《生物有机药物化学通讯》(*Bioorg. Med. Chem. Lett.*) 11:5-8;Singh & Lai (2001)《生命科学》(*Life Sci.*) 70:49-56;Efferth 等 (2002)《生物化学与药理学》(*Biochem. Pharmacol.*) 64:617-23;Efferth 等 (2002)《血细胞、分子和疾病》(*Blood Cells, Molecules & Diseases*) 28(2):160-8;Sadava 等 (2002)《癌症通讯》(*Cancer Lett.*) 179:151-6)。

[0007] 已经描述了青蒿素的许多类似物和其它具有生物活性的含有内过氧化桥 (endoperoxide bridge) 的化合物(例如,参见美国专利 US5,180,840;美国专利 US5,216,175;美国专利 US5,225,427;Cumming 等 (1998)《药物化学杂志》(*J. Med. Chem.*) 41(6):952-64;Posner 等 (1999)《药物化学杂志》(*J. Med. Chem.*) 42:300-4;Li 等 (2001)《生物有机药物化学通讯》(*Bioorg. Med. Chem. Lett.*) 11:5-8;Wu 等 (2001)《欧洲药物化学杂志》(*Eur. J. Med. Chem.*) 36:469-79;Posner 等 (2003)《药物化学杂志》(*J. Med. Chem.*) 46:1060-5)。已经用于治疗疟疾的青蒿素类似物包括二氢青蒿素、蒿甲醚、青蒿琥酯、蒿乙醚、二氢青蒿素丙基碳酸酯和阿替林酸 (artelinic acid)。

[0008] 青蒿素是相对安全的药物,甚至在高剂量下也只有极少且极低微的副作用。已经将 6 天 70mg/kg/天的口服剂量用于治疗人疟疾。在用青蒿琥酯治疗癌症患者后,没有观察到明显的不良副作用(口服剂量 50mg/天;肌肉剂量 60mg/天;为期 9 个月)(Singh & Verma (2002)《肿瘤学学报》(*Arch. Oncol.*) 10(4):279-80)。还已将青蒿素和青蒿素类似物用于治疗皮肤病,诸如银屑病、起泡性皮肤病、病毒疣、上皮软疣 (*molluscum contagiosum*) 和痔(例如,参见美国专利 US4,978,676;美国专利 US5,219,880)。还将青蒿素和青蒿素类似物用于预防疟疾。

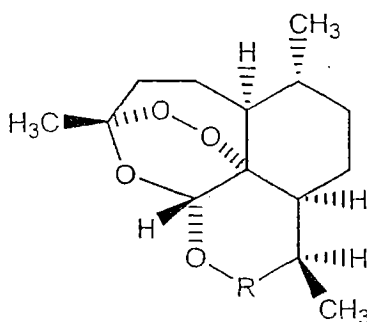
[0009] 癌症一般是因单细胞易于以无法控制的方式增殖而发生。本领域中需要抑制易于

发展成癌症的细胞的方法,以预防或延缓癌症发作。本发明满足了这一需求。

[0010] 发明概述

[0011] 本发明提供了用于预防或延缓癌症显现的方法。该方法包括对受试者给予有效预防或延缓癌症显现的用量的自由基发生剂。在某些实施方案中,所述的自由基发生剂为含有内过氧桥的化合物。一般来说,所述的内过氧化物化合物选自倍半萜内酯类及其醇类、碳酸酯类、酯类、醚类和磺酸酯类、阿替夫林、1,2,4-三噁烷类和1,2,4,5-四噁烷类组成的组。所述的内过氧化物化合物(endoperoxide compound)可以为下列通式的化合物或其药物上可接受的盐:

[0012]



[0013] 其中R为 $\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \\ \text{O} \end{array}$ 或 $\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \\ \text{R}_1 \end{array}$, R_1 为氢、羟基、烷基或具有下列通式:

[0014] $-\text{O}-\text{R}_2$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_2$, $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_2$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{R}_2$, $-\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(=\text{O})-\text{OH}$ 或 $-\text{S}(=\text{O})_2-\text{O}-\text{R}_2$,

[0015] 其中 R_2 为烷基或芳基且 n 为 1-6。

[0016] 可用于实施本发明的代表性内过氧化物化合物包括、但不限于青蒿素、二氢青蒿素、蒿甲醚、蒿乙醚、青蒿琥酯、阿替林酸和二氢青蒿素丙基碳酸酯。

[0017] 自由基发生剂还包括不含内过氧桥、但可以与铁反应形成自由基、例如基于碳的自由基的化合物。自由基发生剂的来源可以是天然(例如分离自植物)、合成或半合成的。例如,可以通过在微生物宿主中表达相关合成途经中的酶而产生自由基发生剂(例如,参见 Martin 等(2003)《天然生物技术》(Nature Biotechnol.), 在线公开:2003年6月1日, doi:10.1038/nbt833)。

[0018] 在某些实施方案中,所述的方法进一步包括对受试者给予有效量的胞内铁强化剂(iron-enhancing agent)的步骤。典型的胞内铁强化化合物为铁盐和复合物,包括铁胆盐、硫酸亚铁甘氨酸(ferroglycinesulfate)、葡聚糖铁复合物(dextran iron complex)、豚化铁、山梨醇铁、氧化铁、含糖铁、全铁蛋白和全运铁蛋白。

[0019] 本发明的方法适用于任意哺乳动物受试者,诸如人体受试者。因此,在某些实施方案中,按照本发明方法用自由基发生剂治疗的接触致癌物的受试者保持不发生癌症的时间是不使用自由基发生剂治疗的对照组动物的2倍。

[0020] 此外,本发明的方法使癌症显现的可能性降低。因此,在某些实施方案中,按照本发明方法用自由基发生剂治疗的接触致癌物的受试者中无一发生癌症,而不使用自由基发生剂治疗的对照组动物中有43%发生癌症。

[0021] 本发明在另一个方面中提供了试剂盒,它包括自由基-发生剂和使用该自由基发生剂来延缓或预防受试者中癌症显现的技术说明书。在某些实施方案中,本发明的试剂盒可以进一步包括铁强化剂。

[0022] 附图简述

[0023] 当结合附图考虑时,本发明的上述方面和许多附加优点更为显而易见,正如参照下列详细描述中同样可以更好地得到理解,其中:

[0024] 附图 1 表示如实施例 1 中所述从接触致癌物,但不进行治疗 1-38 周后(表示为"◆")或每周口服给予青蒿素后(表示为"■")发生肿瘤的动物百分比的图解表示法。

[0025] 附图 2 表示如实施例 2 中所述从接触致癌物,但不进行治疗 1-10 周后(表示为"◆")或用混合在食物中的青蒿素治疗后(表示为"■")发生肿瘤的动物百分比的图解表示法。

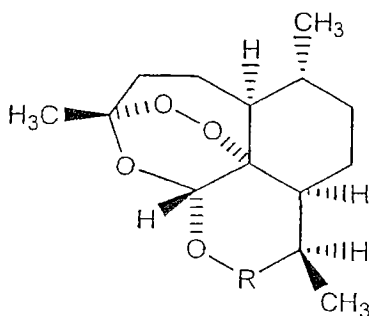
[0026] 优选实施方案的详细描述

[0027] 本发明在一个方面中提供了预防或延缓癌症显现的方法,该方法包括对受试者给予有效预防或延缓癌症显现的用量的自由基发生剂。本发明的方法适用于任意的哺乳动物受试者,诸如人体受试者或动物受试者。本文所用的术语"预防或延缓癌症显现"指的是预防或延缓在不给予本发明自由基发生剂的情况下将发生的癌症出现。术语"癌症显现"指的是癌症在临床上有表现或可通过适合于检测和诊断癌症的任意方法检测到的时间点。因此,可以将癌症显现推迟确定的一段时间或将其无限期延迟。例如,可以通过杀伤癌前细胞或者遗传性或环境性倾向于异常或无法控制的细胞增殖的细胞、通过防止这些细胞分裂或通过防止这些细胞异常或无法控制的分裂来预防或延缓癌症的显现。通过预防或延缓癌症的显现,自由基发生剂可以延长癌症显现前的时间和/或减少癌症显现的可能性。

[0028] 术语"自由基发生剂"指的是可以与铁或含铁的化合物反应而生成自由基、诸如基于碳的自由基的任意试剂。在某些实施方案中,所述的自由基发生剂为内过氧化物化合物。术语"内过氧化物化合物"指的是含有在有铁和含铁的化合物存在下可发生反应而生成自由基的内过氧桥的化合物。内过氧化物化合物还可以在有铜和锰存在的情况下形成自由基。有代表性的内过氧化物化合物如上所述,不过,显然其它内过氧化物化合物也可用于这一目的。

[0029] 可用于实施本发明的典型内过氧化物化合物为青蒿素及其类似物,以及含有可与铁和含铁化合物反应而形成自由基的内过氧桥的其它化合物。因此,合适的内过氧化物化合物包括倍半萜内酯类及其醇类、碳酸酯类、酯类、醚类和磺酸酯类、阿替夫林、1,2,4-三噁烷类和 1,2,4,5-四噁烷类。合适的含有内过氧化物的本发明倍半萜化合物包括下式化合物及其药物上可接受的盐:

[0030]



[0031] 其中 R 为 $\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \\ \text{O} \end{array}$ 或 $\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \\ \text{R}_1 \end{array}$, R_1 为氢、羟基、烷基或具有下列通式:

[0032] $-\text{O}-\text{R}_2$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_2$, $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_2$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{R}_2$, $-\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(=\text{O})-\text{OH}$, 或 $-\text{S}(=\text{O})-\text{O}-\text{R}_2$,

[0033] 其中 R_2 为烷基或芳基, 且 n 为 1-6。本文所用的术语“烷基”指的是含有 1-6 个碳原子、优选 1-4 个碳原子的低级烷基。本发明的烷基可以为直链或支链基团。术语“芳基”指的是含有 4-14 个主链碳或杂原子的单环和多环芳族基团, 包括碳环芳基和杂环芳基。碳环芳基是所有的环原子均为碳的芳基。杂环芳基含有 1-4 个杂原子作为环原子, 剩余的环原子为碳。有代表性的芳基包括例如苯基和苄基。药物上可接受的盐包括碱金属或碱土金属盐, 优选钠或钾盐。

[0034] 例如, 本发明的内过氧化物化合物包括: 青蒿素, 其中 R 为 $\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \\ \text{O} \end{array}$; 二氢青蒿素 ($\text{R}_1 = -\text{OH}$); artesunic acid ($\text{R}_1 = -\text{OC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$); 以及青蒿琥酯; 蒿甲醚 ($\text{R}_1 = -\text{OCH}_3$); 和蒿乙醚 ($\text{R}_1 = -\text{OC}_2\text{H}_5$)。本发明其它有代表性的内过氧化物化合物包括阿替林酸、二氢青蒿素丙基碳酸酯、阿替夫林 (Ro. 42-1611) 及其类似物 (Biirgen 等 (1994) Sixth Int. Cong. Infect. Dis. Abst. 427, p. 152, Prague)、1,2,4-三噁烷类 (Peters 等 (1993) Ann. Trop. Med. Parasit. 87(1):9-16) 和 1,2,4,5-四噁烷类 (Vennerstrom 等 (1992) 《药物化学杂志》(J Med Chem.) 35(16):3023-3027)。青蒿素的其它合适的结构类似物描述在例如美国专利 US5,216,175 和 US5,180,840、Cumming 等 (1998) 《药物化学杂志》(J Med Chem.) 41(6):952-64 和 PCT 专利申请 W097/01548、W099/33461 和 W000/42046 中。

[0035] 有效抑制易发展成癌症的细胞的自由基发生剂的用量最高可达最大耐受剂量, 但该浓度并非关键, 而且可以广泛改变。当然, 其精确量随化合物、给药途径、患者的身体情况和其它因素而改变。可以将每日剂量作为单剂量给药或可以将其分成多次剂量给药。

[0036] 实际给予的自由基发生剂的用量可以是预防有效量, 本文中该术语用于表示对癌症显现产生实质性的预防或延缓作用所需的用量。可以根据来源于体外或动物模型试验系统的剂量-反应曲线外推出有效剂量。一般将动物模型用于测定理想的剂量范围和给药途径。这类信息可用于确定用于人或其它哺乳动物给药的有用剂量和给药途径。有效剂量的测定完全属于本领域技术人员的能力范围。因此, 实际给予的用量取决于具体受试者, 优选是优化用量, 以便获得所需效果, 并且没有显著副作用。

[0037] 可以通过标准制药步骤在细胞培养物或实验动物中测定自由基发生剂、诸如内过氧化物化合物的预防功效和可能的毒性 (例如 ED_{50} , 即有效治疗 50% 群体的剂量; 和 LD_{50} ,

即使 50% 群体致死的剂量)。治疗与毒性效果之间的剂量比是治疗指数, 可以将其表示为 LD_{50} 与 ED_{50} 之比。表现出高治疗指数、例如治疗指数至少约为 60 的自由基发生剂特别适合于实施本发明的方法。可以将从细胞培养试验和动物研究中获得的数据用于确定用于人或其它哺乳动物的剂量范围。自由基发生剂的剂量优选属于包括几乎没有或完全没有毒性的 ED_{50} 的循环浓度范围。剂量一般在该范围内变化, 这取决于所用的剂型、受试者的敏感性和给药途径。因此, 最佳用量可以根据给药方法的不同而改变, 并且一般是以相同或相似形式给药的常用药剂的用量。例如, 对于局部或口服给药, 一般可以每天进行 1-3 次。

[0038] 就诸如青蒿素及其类似物这类内过氧化物化合物而言, 可以以约 0.1- 约 20mg/ 千克体重 / 天、诸如约 0.5- 约 15mg/ 千克体重 / 天、例如约 1- 约 10mg/ 千克体重 / 天的水平使用包括所述化合物的制剂获得良好的结果。就成年人受试者而言, 内过氧化物、诸如青蒿素、蒿甲醚或蒿乙醚的典型每日口服剂量约为 20mg- 约 200mg, 诸如约 40mg- 约 180mg 或约 80mg- 约 160mg。对于其它自由基发生剂可以使用类似的剂量。

[0039] 可以如实施例 1 和 2 中所述, 通过任意有效途经、例如通过口服给予本发明的自由基发生剂。还可以通过非肠道途径给予自由基发生剂。给药方法包括局部、吸入、口含、动脉内、皮下、髓内、静脉内、鼻内、直肠内、眼内给药和其它常用方式。可以将自由基发生剂配制成组合物, 该组合物中另外含有合适的药物上可接受的载体, 包括赋形剂和其它有利于对哺乳动物受试者给予所述自由基发生剂的其它化合物。有关配制和给药的更具体的技术可以在最新版《Remington 氏药物科学》(“ Remington’ s Pharmaceutical Sciences ”) (Maack Publishing Co, Easton PA) 中找到。

[0040] 可以如实施例 1 和 2 中所述使用本领域中众所周知的药物上可接受的载体配制用于口服给药的自由基发生剂, 其剂量适合于口服给药。这类载体使自由基发生剂能够被配制成适合于受试者摄取的片剂、丸剂、锭剂、胶囊、液体、凝胶、糖浆剂、浆液、混悬液等。可以将口服应用的自由基发生剂与例如固体赋形剂一起配制, 任选研磨所得混合物, 并且, 如果需要, 则在加入合适的其它化合物后将该颗粒混合物加工, 以制成片剂或锭剂药芯。合适的赋形剂包括碳水化合物或蛋白质填料。它们包括、但不限于: 糖类, 包括乳糖、蔗糖、甘露糖醇或山梨醇; 来自玉米、小麦、稻、马铃薯或其它植物的淀粉; 纤维素, 诸如甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素或羧甲基纤维素钠; 和树胶, 诸如阿拉伯胶和黄耆胶; 以及蛋白质, 诸如明胶和胶原蛋白。如果需要, 可以加入崩解剂或加溶剂, 诸如交联聚乙烯吡咯烷酮、琼脂、藻酸或其盐, 诸如藻酸钠。

[0041] 给锭芯包上合适的包衣层, 诸如浓糖溶液, 其中还可以含有阿拉伯树胶、滑石、聚乙烯吡咯烷酮、卡波姆凝胶、聚乙二醇和 / 或二氧化钛、漆用溶液和合适的有机溶剂或溶剂混合物。可以向片剂或锭剂包衣层中加入染料或色素以用于产品识别或表征活性化合物用量 (即剂量)。

[0042] 例如, 可以将用于口服给药的自由基发生剂配制成由明胶制成的推入配合式胶囊以及由明胶和诸如甘油或山梨醇这类包衣材料组成的密封软胶囊。推入配合式胶囊可以含有内过氧化物化合物, 其中混有: 填充剂或粘合剂, 诸如乳糖或淀粉; 润滑剂, 诸如滑石或硬脂酸镁; 和任选的稳定剂。在软胶囊中, 可以将自由基发生剂溶于或悬浮于合适的含有或不含稳定剂的液体中, 诸如脂肪油、液体石蜡或液体聚乙二醇。例如, 可以将自由基发生剂, 诸如内过氧化物化合物、如蒿甲醚、蒿乙醚、青蒿素或其它青蒿素类似物溶于油, 诸如大豆

油、橄榄油或花生油中。合适的大豆油包括、但不限于来自大豆 *Glycine Soya Bentham* (例如 Shanghai Number 2 Oil Factory, cat. no. 91102) 的大豆油。

[0043] 用于非肠道给药的组合物包括一种或多种自由基发生剂的水溶液。为了进行注射,可以将本发明的内过氧化物化合物配制在水溶液中,诸如生理上相容的缓冲液,如 Hank's 溶液、林格液或生理缓冲盐水。含水的注射混悬液可以含有增加该混悬液粘度的物质,诸如羧甲基纤维素钠、山梨醇或葡聚糖。另外,可以将自由基发生剂的混悬液制备成适宜的油类注射混悬液。合适的亲脂性溶剂或载体包括:脂肪油,诸如芝麻油;或合成的脂肪酸酯类,诸如油酸乙酯或甘油三酯类;或脂质体。该混悬液还可以任选含有合适的稳定剂或能增加自由基发生剂的溶解度以便制备高浓度溶液的试剂。

[0044] 为了进行局部或鼻部给药,一般将适合于透入特定屏障的渗透剂用于制剂中。它们的实例为 2-吡咯烷酮、N-甲基-2-吡咯烷酮、二甲基乙酰胺、二甲基甲酰胺、丙二醇、甲醇或异丙醇、二甲亚砜和月桂氮杂酮。还可以包括其它试剂以使该制剂在美容上可接受。它们的实例为脂肪、蜡、油、染料、香料、防腐剂、稳定剂和表面活性剂。还可以包括诸如本领域中公知的那些角质分解剂。实例为水杨酸和硫。为了进行局部给药,组合物可以是经皮软膏或贴剂的形式以便全身投递所述化合物,并且可以按照常规方式制备(例如,参见 Barry,《皮肤病用制剂》(Dermatological Formulations)(Drugs and the Pharmaceutical Sciences—Dekker); Harrys Cosmeticology (Leonard Hill Books)。

[0045] 为了进行直肠给药,可以以栓剂或滞留型灌肠剂的形式给予组合物。可以通过将自由基发生剂与合适的无刺激性赋形剂混合来制备这类组合物,所述的无刺激性赋形剂在常温下为固体,而在直肠温度下为液体,由此可在直肠中融化而释放药物。合适的赋形剂包括、但不限于可可脂和聚乙二醇类。

[0046] 这些不同类型的添加剂各自的用量对本领域技术人员而言是显而易见的,最佳用量与针对相同类型给药所设计的其它已知制剂相同。例如,对于角质层渗透促进剂来说,一般包括约 0.1% - 约 15% 浓度。

[0047] 可以按照与本领域中已知类似的方式制备含有本发明自由基发生剂的组合物(例如,通过常规的混合、溶解、成粒、制锭、研磨、乳化、包囊、包埋或冻干法)。还可以通过常规方式(例如包衣)改变组合物以提供适当释放特性,例如缓释或靶向释放。

[0048] 可以将含有自由基发生剂的组合物制成盐的形式,并且可以与许多酸成盐,包括、但不限于盐酸、硫酸、乙酸、乳酸、酒石酸、苹果酸、琥珀酸等。盐比相应的游离碱形式更易溶于水或其它质子溶剂中。

[0049] 在制备了配制成含有自由基发生剂和可接受的载体的这类组合物后,可以将它们放入合适的容器并标记使用。

[0050] 可以单独或与一种或多种其它治疗活性剂一起给予本发明的自由基发生剂。例如,通过增加氧的张力、减少抗氧化剂的摄取和使用诸如咪康唑这类药物阻断过氧化物酶和过氧化氢酶,可以获得内过氧化物化合物的较高功效。还可以通过给予胞内铁强化化合物来提高自由基发生剂的有效性。因此,本发明的某些实施方案还包括胞内铁强化剂。自由基发生剂,诸如内过氧化物化合物,会与铁反应形成自由基。已经证实给予铁盐或携带铁的蛋白质全运铁蛋白增加了癌细胞对青蒿素或二氢青蒿素的敏感性 (Lai & Singh (1995) 《癌症通讯》(Cancer Lett.) 91:41-46; Moore 等 (1995) 《癌症通讯》(Cancer Lett.) 98:

83-7; Singh & Lai (2001) 《生命科学》(Life Sci.) 70:49-56; Sadava 等 (2002) 《癌症通讯》(Cancer Lett.) 1179:151-6)。按照本发明某些实施方案的方法, 给予胞内铁强化剂后增加了自由基发生剂延缓或预防癌症显现的有效性。

[0051] 术语“胞内铁强化剂”指的是可有效增加体内亚铁的胞内浓度的任意活性剂, 包括药物上可接受的铁盐和铁复合物。可用于实施本发明的铁盐包括富马酸亚铁、硫酸亚铁、碳酸亚铁、柠檬酸亚铁、葡萄糖酸亚铁和乳酸亚铁。可用于实施本发明的铁复合物一般包括: 含铁的药物上可接受的复合物, 例如铁胆盐、硫酸亚铁甘氨酸、葡聚糖铁复合物、脲化铁、山梨醇铁、氧化铁和含糖铁; 以及与铁结合蛋白和糖蛋白复合的铁, 诸如全铁蛋白(holo ferritin) 和全运铁蛋白(holo transferrin)。

[0052] 对特定受试者和活性剂而言, 用于本发明的胞内铁强化剂的浓度一般可高达最大耐受剂量, 如上所述, 它将随活性剂、受试者、疾病情况和其它因素的不同而改变。约 1- 约 20mg 铁 / 千克受试者体重 / 天的剂量范围一般用于该目的。在一个实施方案中, 可以在给予自由基发生剂前给予胞内铁强化剂。

[0053] 本发明的方法对受试者的癌症显现提供了显著的延缓作用。因此, 在某些实施方案中, 如实施例 1 中所述, 按照本发明方法用自由基发生剂治疗的接触致癌物的受试者保持无癌状态的时间至少是不使用自由基发生剂治疗的对照组动物的大约 2 倍。

[0054] 此外, 本发明的方法降低了癌症显现的可能性。因此, 在某些实施方案中, 如实施例 1 和 2 中所述, 用自由基发生剂治疗的接触致癌物的受试者与不使用内过氧化物化合物治疗的对照组动物相比更少会发生癌症。在某些实施方案中, 如实施例 2 中所述, 与不使用自由基发生剂治疗的对照组动物中有 43% 患癌相比, 按照本发明方法用自由基发生剂治疗的接触致癌物的受试者无一发生癌症。

[0055] 本发明在另一个方面中提供了试剂盒, 它包括一种或多种自由基发生剂和使用自由基发生剂延缓或预防癌症显现的技术说明书。该技术说明书可以指示给予自由基发生剂可能特别有利的状况, 例如存在癌症家族史、已有癌症发生或接触致癌物。该说明书还提供了给药的建议, 诸如剂量。在某些实施方案中, 本发明的试剂盒可以进一步包括铁强化剂及其与内过氧化物化合物联合使用的技术说明书。

[0056] 下列实施例仅解释了目前已知用于实施本发明的最佳方式, 但不应用于限制本发明。

[0057] 实施例 1

[0058] 本实施例描述了用于预防或延缓接触致癌物的大鼠中癌症发展的代表性方法, 通过每周口腔插管给予青蒿素来进行。

[0059] 材料和方法: 对雌性 Sprague-Dawley 大鼠给予胃内单剂量的致癌物, 即悬浮于橄榄油 (Sigma Chemicals, St Louis, MO; 25mg/ml) 中的 7,12- 二甲基苯并 [a] 蒽 (DMBA; Sigma Chemicals, St Louis, MO; 50mg/kg 体重)。将动物随机分成两个处理组, 一组每周口腔插管接受青蒿素 (Holley Pharmaceuticals, Fullerton, CA; 在 10mg/ml 的橄榄油中 10mg/kg) 的或橄榄油 (对照组)。在给予 DMBA 一周后开始进行青蒿素治疗。每周对动物体内存在的乳腺肿瘤触摸一次。对动物体内存在的每个肿瘤记录检测时间和部位以及大小。

[0060] 结果: 致癌物处理后 6 周, 经青蒿素治疗的动物中没有一只出现肿瘤, 而对照组动物中有 17% 存在肿瘤。致癌物处理后 10 周, 经青蒿素治疗的动物中有 9% 出现肿瘤, 而对

照组动物中有 58% 的动物出现肿瘤。致癌物处理后 20 周, 经青蒿素治疗的动物中有 54% 出现肿瘤, 而对照组动物中有 83% 的动物出现肿瘤。致癌物处理后 38 周, 经青蒿素治疗的动物中有 64% 出现肿瘤, 而对照组动物中 100% 的动物出现肿瘤。这些结果如表 1 和附图 1 中所示。

[0061] 表 1. 每周用青蒿素治疗的动物中的肿瘤发展情况

[0062]

周	存在肿瘤的动物百分比	
	青蒿素治疗组	对照组
6	0	17
7	9	25
9	9	42
10	9	58
11	9	67
12	27	67
13	45	67
16	45	75
17	45	83
20	54	83
29	64	92
31	64	100
38	64	100

[0063] 因此, 每周使用青蒿素治疗延缓了经致癌物处理的动物中的肿瘤表现。此外, 出现肿瘤的动物少于对照组。

[0064] 实施例 2

[0065] 本实施例描述了通过提供混在食物中的青蒿素来预防或延缓接触致癌物的大鼠中癌症出现的有代表性的方法。

[0066] 材料和方法: 如实施例 1 中所述, 类似地用致癌物 DMBA 处理雌性大鼠。将大鼠随机分成两个处理组。在 DMBA 处理后的第二天将青蒿素 (0.05%) 混入一组动物的食物中。基于每天的摄食量估计每天摄取的青蒿素约为 10mg/kg/ 天。对另一组动物 (对照组) 定期给予大鼠食物。

[0067] 结果: 致癌物处理后 10 周, 用青蒿素饲喂的动物中没有一只出现肿瘤, 而对照组动物中有 43% 存在肿瘤, 正如表 2 和附图 2 中所示。

[0068] 表 2. 饲喂青蒿素的动物中肿瘤的发生

[0069]

周	存在肿瘤的动物百分比	
	饲喂青蒿素的组	对照组
6	0	9
7	0	13
8	0	26
9	0	39
10	0	43

[0070] 尽管已经举例说明和描述了本发明的优选实施方案,但是可以理解能够对其进行各种改变而不会脱离本发明的实质和范围。

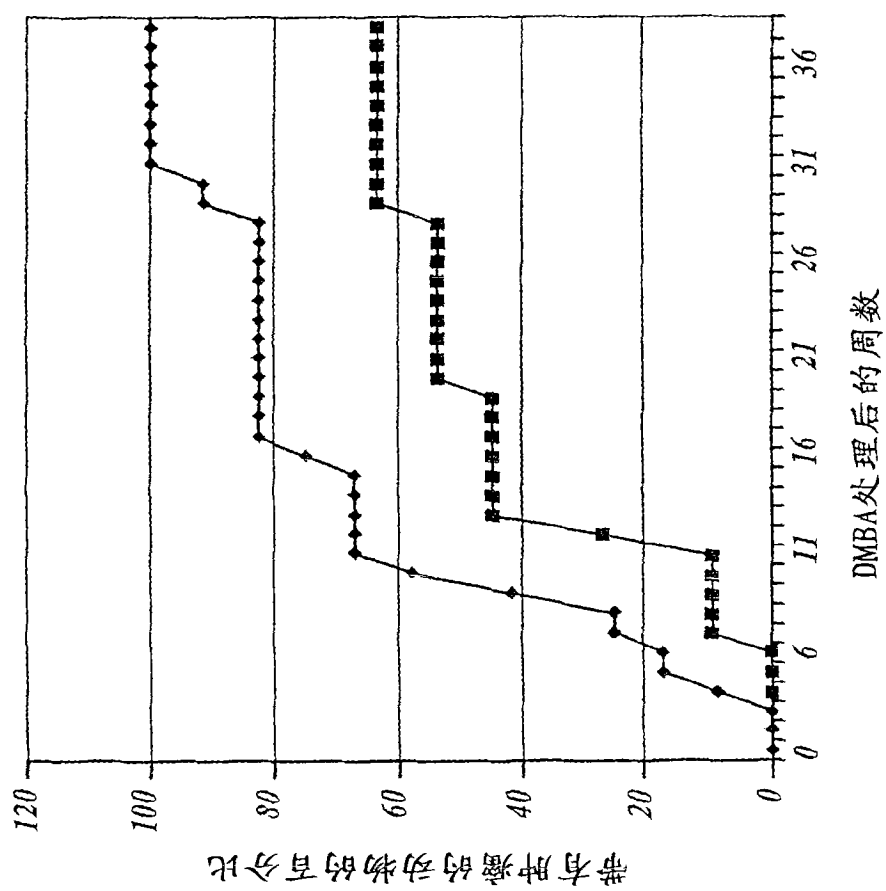


图 1

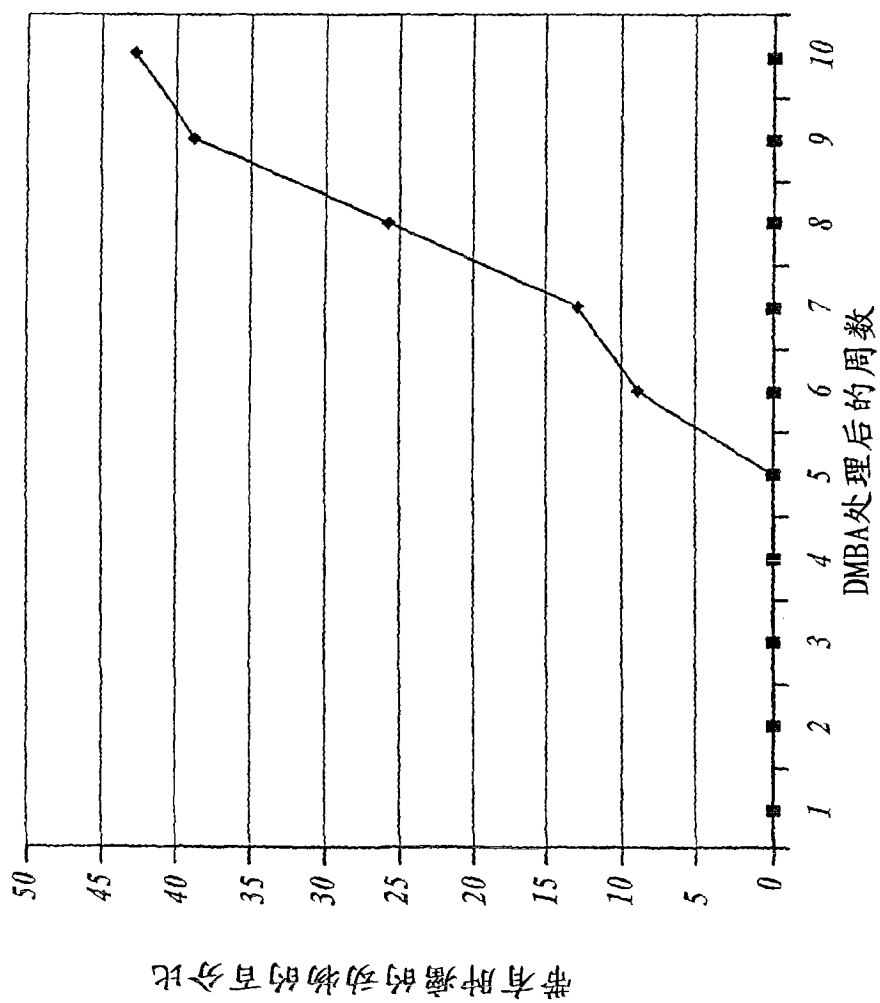


图 2