

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200480036706.8

[51] Int. Cl.

A61K 31/401 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

[43] 公开日 2007年1月3日

[11] 公开号 CN 1889946A

[22] 申请日 2004.12.13

[21] 申请号 200480036706.8

[30] 优先权

[32] 2003.12.12 [33] DE [31] 10359828.6

[86] 国际申请 PCT/DE2004/002760 2004.12.13

[87] 国际公布 WO2005/056005 德 2005.6.23

[85] 进入国家阶段日期 2006.6.9

[71] 申请人 措泽·B·扎拉马

地址 德国柏林

[72] 发明人 措泽·B·扎拉马

达格马·布劳恩

[74] 专利代理机构 北京银龙知识产权代理有限公司

代理人 葛松生

权利要求书 3 页 说明书 16 页

[54] 发明名称

CHP - 吉西他滨组合药剂及其作为抗癌活性物质的用途

[57] 摘要

本发明涉及一种组合药剂，其包括顺式 - 羟基 - 脯氨酸 (CHP) 和吉西他滨，以及该药剂在肿瘤预防和治疗中的用途。

1. 含有顺式-羟基-脯氨酸 (CHP) 和吉西他滨的组合药剂。
2. 根据权利要求 1 的药剂, 其特征在于, 含有药学可接受的载体、辅药和/或赋形剂。
3. 根据权利要求 2 的药剂, 其特征在于, 所述的载体选自填料、稀释剂、粘合剂、湿润剂、崩解剂、溶解阻滞剂、吸收促进剂、浸透剂、吸附剂和/或润滑剂。
4. 根据权利要求 2 的药剂, 其特征在于, 所述的赋形剂选自脂质体、Siosomen 和/或 Niosomen。
5. 根据权利要求 1-4 中任一项的药剂, 其特征在于, 该药剂是凝胶、药粉、粉末、输液、片剂、缓释片剂、预混物、前药、乳液、浸液配方、滴剂、浓缩液、颗粒、糖浆、小丸、大丸剂、胶囊、气溶胶、喷雾剂和/或吸入剂。
6. 根据权利要求 5 的药剂, 其特征在于, CHP 和吉西他滨在配方中的浓度为 0.1-99.5 重量%, 优选为 0.5-95 重量%, 特别优选为 1-80 重量%。
7. 根据权利要求 1-6 中任一项的药剂, 其特征在于, CHP 和吉西他滨在配方中的比例为 500: 1-1: 500, 优选为 100: 1-1: 100, 特别优选为 50: 1-1: 50。
8. 抗癌剂, 其特征在于, 含有根据权利要求 1-7 中任一项的组合药剂。
9. 根据权利要求 1-8 中任一项的药剂在与细胞生长、细胞分化和/或细胞分裂相关的疾病的预防、治疗、过程控制、和/或术后治疗处理中的用途。
10. 根据上述权利要求的用途, 其特征在于, 所述的疾病是肿瘤。
11. 根据权利要求 9 或 10 的用途, 其特征在于, 延缓或阻止肿瘤生长、肿瘤血管生成、肿瘤扩散、肿瘤侵入、肿瘤浸润和/或肿瘤转移。
12. 根据上述权利要求的用途, 其特征在于, 所述的肿瘤疾病选自赘生的肿瘤、炎性肿瘤和/或脓肿。
13. 根据权利要求 10-12 中任一项的用途, 其特征在于, 所述的肿瘤是固体的肿瘤或白血病。

14. 根据上述权利要求的用途，其特征在于，固体肿瘤是泌尿生殖道和/或胃肠道的肿瘤。

15. 根据权利要求 10—14 中任一项的用途，其特征在于，所述的肿瘤是结肠癌、胃癌、胰腺癌、小肠癌、卵巢癌、子宫颈癌、肺癌、前列腺癌、乳腺癌、肾细胞癌、脑部肿瘤、头—喉肿瘤、肝部肿瘤和/或上述肿瘤的转移瘤。

16. 根据权利要求 13 或 14 的用途，其特征在于，所述的固体肿瘤是乳腺、支气管、结肠直肠和/或前列腺癌和/或上述肿瘤的转移瘤。

17. 根据权利要求 14 的用途，其特征在于，所述的泌尿生殖道的肿瘤是膀胱癌和/或该肿瘤的转移瘤。

18. 根据权利要求 9—17 中任一项的用途，其特征在于，所述的过程控制是对抗癌治疗效果的监视。

19. 根据权利要求 9—18 中任一项的用途，其特征在于，将根据权利要求 1—8 的药剂用于对肿瘤转移、肿瘤侵入、肿瘤生长、肿瘤扩散、肿瘤浸润和/或肿瘤血管生成的预防、防止、诊断、减轻、治疗、过程控制和/或术后治疗。

20. 根据权利要求 9—19 中任一项的用途，其特征在于，过程控制是对抗癌治疗效果的监视。

21. 根据权利要求 9—20 中任一项的用途，其特征在于，将根据权利要求 1—8 的药剂用于联合治疗中。

22. 根据上述权利要求的用途，其特征在于，联合治疗包括化疗、细胞生长抑制治疗和/或放射治疗。

23. 根据上述权利要求的用途，其特征在于，联合治疗包括辅助的生物特异形式的治疗。

24. 根据权利要求 9—23 的用途，其特征在于，治疗形式是免疫治疗。

25. 根据权利要求 9—24 中任一项在提高癌细胞对细胞生长抑制和/或放射线的敏感性中的用途。

26. 根据权利要求 9—25 中任一项在用于抑制细胞的生存能力、增殖速率、引诱自然死亡和/或细胞循环停止的用途。

27. 根据权利要求 9—26 中任一项的用途，其特征在于，将配方以口服、

阴道、直肠、鼻腔、皮下、静脉内、肌肉内、腹膜内、区域和/或局部使用。

28. 根据权利要求 9—27 中任一项的用途，其特征在于，根据权利要求 1—8 的药剂以每 24 小时 0.05—1000mg/kg，优选为 5—450mg/kg 体重的总量使用。

CHP—吉西他滨组合药剂及其作为抗癌活性物质的用途

本发明涉及含有顺式—羟基—脯氨酸（CHP）和吉西他滨（Gemcitabin）的组合药剂以及该药剂在肿瘤预防和治疗中的用途。

肿瘤或癌症是组织体积的局部增长，因此，广义地说，其是由于水肿、急性或慢性炎症、例如发炎性的器官肿胀而产生局部性的肿胀。狭义地说，肿瘤是躯体组织自发的、不同级别失控的、独立的和不可逆过量生长形式的组织新的形态，通常具有不同的明显消耗的特定细胞和组织功能。这些独立的和不可逆过量生长会对生物体，例如人类产生损害，并会导致死亡。

由于癌症或肿瘤疾病的剧烈影响，用于治疗这些病理学改变的不同药剂有所发展。大量的这些药剂的缺陷是，没有特定的效果并具有大量的副作用。尤其是以高的剂量使用一种抗癌剂，会导致大量的副作用，因此患者对此有所考虑，尽管其同时带来治疗的良好效果。

在寻找抗癌药剂时的另一个困难是，不同的衍生物或其起始物质和其衍生物在动物模型以及在人类中会有不同反应和影响。例如，公知的不同起始物质没有或仅具有微弱的抗癌效果，然而其衍生物或转变产物能够具有显著的肿瘤抑制效果，或肿瘤促进效果。

例如，根据 Klohe et al. (1985)，顺式—羟基—脯氨酸不具有用于有效抗肿瘤药剂所需要的性质。根据 National Cancer Institute 在 1933—1946 年间对其以及其他氨基酸所进行的早期积极试验，在接下来的数年中，合成了脯氨酸和羟基—脯氨酸的衍生物，其在癌症治疗中用作药物（EP0223850）。此外，由于 CHP 的微弱效果（Klohe et al.），提出了使用不同 CHP 衍生物的组合物，因为这些组合物在肿瘤治疗中作为药剂显示出合成的效果（US6066665）。

所述组合物制剂的合成效果仅具有有限的再现性，此外研究的衍生物仅能在高的浓度下伴随有副作用使用。

因此，本发明的目的是，提供一种基于 CHP 的用于癌症治疗的药剂和方法，其可以简单、安全和有效地使用。

现在发现，CHP 和吉西他滨的组合物具有对肿瘤细胞良好的效果。本发明还涉及令人惊讶的教导：该化合物，即非衍生的 CHP，在现有技术中被描述为具有不充分的抗肿瘤效果，而该化合物与化疗剂吉西他滨组合在一起对癌症细胞具有效果，而且这种效果令人吃惊地高于单个的化合物。

本发明中的 CHP 是 4-羟基-L-脯氨酸或其盐的顺式异构体，而不是 CHP-衍生物。本发明中的吉西他滨尤其是吉西他滨-盐酸盐、2'-脱氧-2', 2'-二氟胞苷。本发明中的组合剂例如可以按照如下提供：CHP 和吉西他滨一起被包含在溶液或固体例如片剂中。其中，CHP 和吉西他滨的比例可以任一改变。优选的是，CHP 和吉西他滨的比例在 1: 10000-10000: 1 的范围。在该范围内，CHP 和吉西他滨的比例可以根据肿瘤或患者的状况进行改变。不言而喻，至少两种成分-CHP 和吉西他滨-还可以以这样一种方式在溶液或固体中混合，使其释放随着时间而改变。本发明中的组合剂还可以包括两种独立的溶液或两种独立的固体，其中一种溶液或一种固体主要含有吉西他滨，而另一种溶液或另一种固体主要含有 CHP。其中还可以是，具有共同的或单独的载体的两种溶液或固体可以联用。两种溶液和/或两种固体可以例如放置在作为共同载体的胶囊中。本发明的组合药剂的这种配方尤其是具有如下优点，其中 CHP 和吉西他滨的给药可以时间移位地进行。即，首先使生物体与 CHP 接触，例如通过输液或口服给药，以便然后时间移位地与组合药剂的其他成分进行接触。显而易见的是，还可以通过常规的给药方式和方法提供组合剂，使得首先将生物体与吉西他滨接触，然后与 CHP 接触。还优选的是，使生物体按照顺序与组合剂的成分接触。本发明组合剂的两种成分的给药之间的时间间隔以及 CHP 或吉西他滨的首先释放，可以根据患者的年龄、性别、总体状况、肿瘤种类或根据其他的参数，由治疗的医生例如通过预试验进行适当调整。

显而易见的是，本发明的药剂还可以含有常规的助剂，优选载体、辅药和/或赋形剂。所述的载体，例如可以是填料、稀释剂、粘合剂、湿润剂、崩解剂、溶解阻滞剂、吸收促进剂、浸透剂、吸附剂和/或润滑剂。在这种情况下，组合剂尤其称作药物或药剂。

在本发明的一个优选实施方式中，药剂还含有一种或多种选自抗病毒剂、

抗真菌剂或抗细菌剂和/或免疫刺激剂的额外的药剂。此外，药剂还可以含有其他的化疗剂，优选 alitretinoin、阿地白介素 (IL-2)、六甲蜜胺、全反式-视黄酸 (Tretinoin)、氨基苯乙哌啶酮、阿那格雷、阿那曲唑、门冬酰胺酶 (大肠杆菌)、硫唑嘌呤、比卡鲁胺、博来霉素、Busulfan、卡培他滨、卡铂、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、顺铂、克拉屈滨 (2-CDA)、环磷酰胺、阿糖胞苷、达卡巴嗪、放线菌素-D、柔红霉素 (Daunomycin)、柔红霉素、脂质体、地塞米松、多西他赛、多柔比星、多柔比星、脂质体、表柔比星、雌莫司汀磷酸盐、依托泊苷 (VP-16-213)、依西美坦、氮尿苷、5-氟尿嘧啶、氟达拉滨、氟甲睾酮、氟他胺、吉西他滨、Gemtuzumab、戈舍瑞林乙酸盐、羟基脲、伊达比星、异环磷酰胺、Imatmib Mesylate、伊立替康、 α -干扰素、来曲唑、Leuprolide 乙酸盐、左旋咪唑 HCl、洛莫司汀、甲地孕酮乙酸盐、美法仑 (L-苯丙氨酸莫司汀)、6-巯嘌呤、甲氨蝶呤、甲氧沙林 (8-MOP)、丝裂霉素-C、米托坦、米托蒽醌、尼鲁米特、氮莫司汀 (氮芥盐酸盐)、奥曲肽、紫杉醇、培门冬酶、喷司他丁 (2'-去氧助间型霉素)、普卡霉素、吡吩姆、泼尼松、丙卡巴肼、Rituximab、Streptozotocin、他莫昔芬、替尼泊苷 (VM-26)、6-巯鸟嘌呤、沙利度胺、塞替派、Topotecan、托瑞米芬、Trastuzumab、三甲曲沙、长春碱、长春新碱和/或长春瑞滨。还可以优选的是，吉西他滨可以部分或完全被一种或多种所述药剂替换。

本发明还涉及本发明的药剂在与细胞生长、细胞分化和/或细胞分裂有关的疾病的诊断、预防、跟踪控制、治疗和/或术后处理中的用途。

在本发明的一个优选实施方式中，疾病是肿瘤，尤其是赘生的肿瘤、发炎的肿瘤、脓肿、淤血和/或水肿。特别优选的是，肿瘤是固体的肿瘤或白血病。

在本发明另一个优选的实施方式中，本发明的药剂配制成凝胶、药粉、粉末、片剂、缓释片剂、预混物、乳液、浸液配方、滴剂、浓缩液、颗粒、糖浆、小丸、大丸剂、胶囊、气溶胶、喷雾剂和/或吸入剂，和/或以这种形式使用。片剂、糖衣药丸、胶囊、丸剂和颗粒剂可以具有常规的、任选包括不透明剂的涂膜，并可以具有如下组成，使得有效物质的释放任选以延迟的方式仅或优选在肠道中的适宜部位进行，其中聚合物和石蜡可以用作灌封物质。

本发明的药物可以优选使用口服易消化的剂型口服给药，其包括胶囊、片剂和含水悬浮液和溶液，但并不限于此。在使用片剂口服给药的情况下，通常使用的载体包括乳糖和玉米淀粉。还通常添加润滑剂，例如硬脂酸镁。对于以胶囊的形式口服给药，适宜的稀释剂包括乳糖和干燥的玉米淀粉。当以含水悬浮液口服给药时，将有效物质与乳化剂和悬浮剂联用。另外，如果需要，可以添加特定的甜味剂和/或调味剂和/或着色剂。

根据需要，有效物质可以与一种或多种上述的载体物质形成微胶囊的形式。

除了有效物质以外，栓剂还可以含有常规的水溶性或水不溶性载体物质，例如聚乙二醇、脂肪，如可可脂和高级酯（例如 C₁₄ 醇与 C₁₆ 脂肪酸的酯）或这些物质的混合物。

除了有效物质以外，软膏、糊剂、乳膏和凝胶还可以含有常规的载体物质，例如动物和植物脂肪、蜡、石蜡、淀粉、黄耆胶、纤维素衍生物、聚乙二醇、聚硅氧烷、膨润土、二氧化硅、滑石和氧化锌或这些物质的混合物。

除了有效物质以外，粉剂和喷雾剂还可以含有常规的载体物质，例如乳糖、滑石、二氧化硅、氢氧化铝、硅酸钙和聚酰胺粉末或这些物质的混合物。喷雾剂还可以含有常规的促进剂，例如氯氟烃。

除了有效物质 CHP 和吉西他滨外，溶液和乳液还可以含有常规的载体物质，例如溶剂、增溶剂和乳化剂，例如水、乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苜醇、苯甲酸苜酯、丙二醇、1, 3-丁二醇、二甲基甲酰胺、油、尤其是棉花油、豌豆油、玉米油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油，甘油、甘油甲缩醛、四氢呋喃醇、聚乙二醇和脱水山梨糖醇的脂肪酸酯或这些物质的混合物。为了不经肠胃使用，溶液和乳液还可以以无菌和血液等渗的形式存在。

除了有效物质以外，悬浮液还可以含有常规的载体物质，例如：液体稀释剂，如水、乙醇、丙二醇；悬浮剂，如乙氧基化的异硬脂醇、聚氧乙烯山梨糖醇和脱水山梨糖醇酯、微晶纤维素、偏氢氧化铝（aluminium metahydroxide）、膨润土、琼胶和黄耆胶或这些物质的混合物。

药物可以是无菌注射配方的形式，例如作为无菌注射的含水或含油悬浮液存在。该悬浮液还可以以本领域中公知的方法，通过使用适宜的分散剂或

润湿剂（例如 Tween80）和悬浮剂进行配制。无菌注射配方还可以是在无毒的适合非肠道给药的稀释剂或溶剂中的无菌注射溶液或悬浮液，例如在 1, 3-丁二醇中的溶液。可以使用的适宜的载体和溶剂有甘露醇、水、林格溶液和等渗压氯化钠溶液。此外，通常使用无菌、非挥发性的油作为溶剂或悬浮介质，出于该目的，可以使用任意柔和的非挥发性的油，包括合成的甘油单酯或甘油二酯。脂肪酸，例如油酸及其甘油酯衍生物，可以在注射剂的制备中使用，例如天然的药物可接受的油，如橄榄油或蓖麻油，尤其是它们的聚氧乙烯化的形式。这些油溶液或悬浮液还可以含有长链醇或类似的醇作为稀释剂或分散剂。

上述的配方还可以含有着色剂、防腐剂以及气味和味道改善添加剂，例如薄荷油和桉树油，以及甜味剂，例如糖精。有效物质 CHP 和/或吉西他滨优选以全部混合物的约 0.1—99.5 重量%，最好是约 0.5—95 重量%的浓度存在于上述药物配方中。

除了 CHP 和吉西他滨外，上述药物制剂还可以进一步含有其它的药物活性物质。上述药物制剂的制备采用根据公知方法的常规途径进行，例如通过将活性物质与载体物质混合。

对于人类和动物，上述配方可以经口、直肠、非肠道（静脉内、肌内、皮下途径）、脑池内、阴道内、腹膜内、局部（粉剂、软膏、滴剂）使用，用于治疗癌症。对于口服治疗，注射溶液、溶液和悬浮液可以作为适宜的制剂。对于局部治疗，可以使用眼药和皮肤的配方、银和其它的盐、耳部滴剂、眼膏、粉剂或溶液。对于动物，给药还可以通过具有适宜配方的饲料或饮用水进行。此外，此外，药剂或组合药剂可以包含在其它载体材料中，例如塑料（用于局部治疗的塑料链）、胶原或骨质粉。

在本发明另一个优选的实施方式中，CHP 和/或吉西他滨在药物配方中的浓度为 0.1—99.5，优选为 0.5—95，特别优选为 20—80 重量%。即，CHP 和吉西他滨在上述的药物配方，例如片剂、丸剂、颗粒剂等中的浓度为全部混合物的 0.1—99.5 重量%。为了制造单独的剂型，有效物质的量，即与载体物质联用的本发明化合物的量，可以由本领域技术人员根据需要治疗的病人以及特定的效果而改变。当患者的状况得到改善后，制剂中活性化合物的部

分可以进行改变，使得存在维持剂量，该剂量可以抑制肿瘤的进一步生长，或者抑制其转移或浸润。然后，根据于症状，降小剂量或给药频率或两者至维持改善状况的水平。一旦症状缓和至期望的程度，治疗应当停止。然而，如果疾病症状重现，患者可以需要长期的间歇治疗。因此，化合物部分，即它们在药物制剂全部混合物中的浓度，以及成分或其组合物发生改变，且可以由本领域普通技术人员进行改变和调整。

如本领域技术人员公知的，本发明化合物可以以不同的途径与生物体，优选人类或动物接触。另外，如本领域技术人员公知的，药剂可以以不同的剂量使用。因此，给药应当这样来进行来进行，使得疾病能有效地得到控制，或者通过预防性的给药以避免疾病开始。给药的浓度和方式可以由本领域技术人员通过途径试验确定。本发明化合物优选的给药是：口服给药为粉剂、片剂、汁液、糖浆、滴剂、胶囊等形式；直肠给药为栓剂、溶液等形式；非肠道给药为注射液、输液和溶液；以及局部给药为软膏、膏药、热敷、洗液等形式。优选的是，以预防或治疗的方式与本发明的化合物接触。

所选择的给药方式，例如剂量、给药途径、辅药的选择等的适合性，例如可以通过取出患者即人类或动物的血清—Alliquoten，以及对在治疗过程中存在的癌症细胞进行测试而确定。可选的和伴随其的是，由通过常规的方法确定的肝的状态或 T-细胞或免疫系统的其他细胞的量，可以获得对患者免疫结构，尤其新陈代谢重要器官的总体了解。此外，患者的临床状态可以根据期望的效果进行观察。当获得的抗肿瘤效果不充分时，患者可以调整根据本发明的药剂和其他公知的药物，并继续治疗以期望总体状况的改善。显而易见的是，还可以调整药剂的载体或赋形剂，或改变给药途径。除了口服的方式以外，用于根据本发明化合物的治疗给药的另一种优选途径例如还可以是注射，如肌肉内或皮下注射或血管中注射。此外，还可以通过导管或外科橡胶管供应进行给药。

在本发明化合物的使用中，除了上述浓度以外，在一个优选实施方式中，CHP 和/或吉西他滨还可以以每 24 小时 0.05—500mg/kg 体重的总量使用，优选为 5—100mg/kg 体重。有利地是，该治疗量能够避免或者改善病症或相应的病理学生理状况。给药量足以避免癌症的生长。

显而易见的是，剂量取决于受药人的年龄、健康状况、体重、疾病的程度、必要的同步处理的方式、治疗的频率和期望效果的类型以及副作用。0.05—500mg/kg 体重的每日剂量可以作为一次使用或分为多次使用，以获得期望的结果。通常，将药剂每日进行 1—10 次的给药，或者作为替代方式或附加地作为连续输液进行。这样的给药可以用作慢性疾病或急症的治疗。当然，与载体物质联用以获得单独剂型的活性物质的量，取决于治疗对象和特定的给药方式是可以改变的。优选的是，将目标剂量分成 2—5 次给药，其中，在每一次给药中，将具有 0.05—500mg/kg 体重的有效物质含量的 1-2 片片剂给药。当然，还可以选择更高的活性物质含量，例如最高至 5000mg/kg 的浓度。片剂还可以是缓释片剂，其中每日给药的次数减少为 1—3 次。缓释片剂的有效物质的含量可以是 3—3000mg。如果有效物质一如上所述—通过注射给药时，优选的是，使受体每日 1—10 次或者通过持续输液与本发明的化合物接触，其中优选每日的量为 4—4000mg。优选的每日总量在人类和动物药物中均是有利的。有时也可能需要偏离上述的剂量，根据要治疗的对象的种类和体重、疾病的类型和程度、配方类型和药物给药的方式、在给药中的时间或间隔等来确定剂量。因此，在一些情况下可以优选的是，使生物体与少于上述的剂量接触，在另外的情况下，上述特定活性物质的量必须增加。本领域普通技术人员可以容易地确定每一个病例中需要的最佳剂量以及活性物质给药的类型。

在本发明的另一个特别优选的实施方式中，该药剂以 1—100，尤其是 2—50mg/kg 体重的一次给药剂量使用。与每日的总量同样，每次使用的一次给药量也可以由本领域普通技术人员根据其专业知识改变。类似地，根据本发明使用的化合物可以以上述单独的浓度和配方与饲料或饲料配方或饮用水混合用于兽药中。一次剂量优选包括在一次给药中给药的活性物质的量和通常对应于 1 天、半天的剂量或 1/3 天、1/4 天的剂量的活性物质的量。因此，剂量单元可以优选含有 1、2、3 或 4 或更多的一次剂量或 0.5、0.3 或 0.25 个一次剂量。优选的是，根据本发明的化合物的每日剂量分为 2—10 次给药，优选为 2—7 次，更优选为 3—5 次给药。当然，根据本发明试剂的持续输液也是可以的。

在本发明的一个特别优选的实施方式中，在本发明化合物每一次的口服给药时，使用 1—2 个片剂。根据本发明的片剂可以具有对本领域技术人员是公知的涂层和包皮，或可以按如下组成，使得仅在受体的优选的特定部分释放活性物质。

在一个优选实施方式中，被治疗、预防或防止复发的癌症或肿瘤选自喉—鼻—耳范围的癌症疾病或癌症、肺、纵隔、胃肠道、泌尿生殖系统、妇科系统、乳房、内分泌系统、皮肤、骨骼的肿瘤疾病和软组织肉瘤、间皮瘤、黑瘤、中枢神经系统的螫生物、婴儿期的癌症或肿瘤疾病、淋巴、白血病、副螫生物的综合症、无已知基本癌症的转移瘤（CUP—综合症）、腹膜癌、恶性免疫缺陷和/或癌转移瘤。

更具体地说，癌症可以涉及下述类型的癌：乳腺癌、前列腺癌和结肠癌；各种形式的肺癌、支气管癌；骨髓癌、黑瘤、肝细胞瘤、成神经细胞瘤；乳头状瘤；Apudom、迷芽瘤、鳃原瘤；恶性癌症综合症；癌症—心脏疾病、癌（例如沃克癌、基础细胞—癌、嗜硷扁平细胞癌、Brown—Pearce 癌、导管癌、埃尔利希癌、原位癌、癌—2 癌、美克耳细胞癌、粘液性癌、非—小细胞支气管癌、Hafer 细胞癌、乳头状癌、硬癌、细支气管—小泡癌、小支气管癌、鳞状上皮细胞癌和过渡型细胞癌）；组织细胞功能性紊乱；白血病（例如涉及 B—细胞白血病、总细胞白血病、中性细胞白血病、T—细胞白血病、慢性 T—细胞白血病、HTLV—II—联合白血病、急性淋巴囊肿白血病、慢性淋巴囊肿白血病、肥大细胞白血病和脊髓白血病）；恶性组织细胞增殖、霍奇金癌症、非霍奇金淋巴瘤、单独血浆细胞癌；网状内皮细胞组织增殖、成软骨细胞瘤；软骨瘤、软骨肉瘤；纤维瘤、纤维肉瘤；大细胞癌；组织细胞增殖；脂肪瘤、脂肪肉瘤；白血病性肉瘤；间皮瘤；粘液瘤；粘液肉瘤；骨瘤；骨皮瘤；尤因皮瘤；滑膜瘤；腺纤维瘤；腺淋巴瘤；癌肉瘤；脊索瘤、颅咽管瘤、无性细胞瘤、错构瘤、间质瘤；中肾瘤；肌肉瘤、成釉细胞瘤、牙骨质瘤；牙瘤；畸胎瘤；胸腺瘤、成绒(毛)膜细胞瘤；腺肌肉瘤、腺瘤；胆管瘤；珠光瘤；圆柱瘤；半胱胺加氧酶瘤、囊腺瘤；粒层细胞癌；雌雄胚细胞瘤(Gynadroblastom)；汗腺腺瘤；岛状细胞瘤；Leydig 细胞癌；乳突淋瘤；塞尔托利细胞癌、囊细胞癌、平滑肌瘤；平滑肌肉瘤；成肌细胞瘤；肌瘤；肌肉瘤；横纹肌瘤；横

纹肌肉瘤；室管瘤；神经节细胞瘤、神经胶质瘤；成神经管细胞瘤、脑(脊)膜瘤；神经鞘瘤；成神经细胞瘤；神经上皮瘤、纤维神经瘤、神经瘤、副神经节瘤、非嗜铬副神经节瘤、血管角质瘤、嗜酸性的成血管淋巴增殖；硬化型血管瘤；血管肉瘤；血管球瘤；血管内皮瘤；血管瘤；血管外皮细胞瘤、血管肉瘤；淋巴管瘤、淋巴管瘤、淋巴管肉瘤；松果体瘤；叶状膀胱肉瘤；血管肉瘤；淋巴管肉瘤；多发性黏液瘤、卵巢瘤；肉瘤（例如尤因肉瘤、实验、卡波济氏肉瘤和肥大细胞肉瘤）；瘤（例如骨状瘤、胸腔瘤、消化系统瘤、结肠直肠瘤、肝癌、胰腺瘤、脑垂体瘤、睾丸瘤、眼眶瘤、头部和颈部肿瘤、中央神经系统肿瘤、耳部肿瘤、骨盆肿瘤、呼吸道肿瘤和泌尿生殖器肿瘤）；多发性神经纤维瘤和颈部平上皮结构不良。

在另一个优选的实施方式中，被治疗、预防或防止复发的癌症或肿瘤疾病选自：喉—鼻—耳范围内的癌症，包括内鼻腔癌、骨鼻窦癌、鼻咽癌、唇癌、口腔癌、口咽癌、喉癌、下咽部癌、耳癌、唾液腺癌和神经节细胞瘤；肺癌，包括非—小细胞支气管癌、小细胞支气管癌、纵隔癌；胃肠道癌，包括食道癌、胃癌、胰腺癌、肝癌、胆囊癌和胆管癌、小肠癌、结肠和直肠癌和肛门癌；泌尿生殖器癌，包括肾癌、输尿管癌、膀胱癌、前列腺癌、尿道癌、阴茎和睾丸癌；妇科癌症，包括子宫颈癌、阴道癌、外阴癌、Korpus 癌、恶性滋养层疾病、卵巢癌、输卵管癌（Tuba Faloppii）、腹腔癌、癌性乳腺炎；内分泌器官癌，包括甲状腺癌、副甲状腺癌、副肾外皮癌、内分泌胰腺癌、致癌性肿瘤和致癌性综合症、多内分泌瘤、骨肉瘤和软组织肉瘤、间皮瘤、皮肤癌、黑素瘤，包括，皮肤和皮内黑素瘤、中央神经系统癌；婴儿期的癌症，包括视网膜细胞瘤、Wilms 癌、神经纤维瘤、成神经细胞瘤、尤因氏肉瘤癌症族、横纹肌肉瘤；淋巴瘤，包括非霍奇金淋巴瘤、皮肤 T 细胞淋巴瘤、中枢神经系统的基本淋巴瘤、霍奇金疾病；白血病，包括急性白血病、慢性白血病和淋巴组织白血病、浆细胞瘤、骨髓塑料化综合症、准塑料化综合症、无基已知癌症的转移瘤（CUP—综合症）、peritoneale 致癌性转移瘤；免疫力缺陷导致的恶性肿瘤，包括 AIDS 导致的恶性肿瘤，如 Kaposi 肉瘤、与 AIDS 联发的淋巴瘤、与 AIDS 联发的中枢神经系统淋巴瘤、与 AIDS 联发的霍奇金疾病和与 AIDS 联发的肛门与生殖器癌、移植导致的恶性肿瘤；转移

瘤性癌，包括脑部转移瘤、肺部转移瘤、肝部转移瘤、骨转移瘤、胸部和心包转移瘤以及恶性腹水。

在另一个优选的实施方式中，被治疗、预防或防止复发的癌症或肿瘤疾病选自：癌性乳腺炎；胃肠癌，包括结肠癌、胃癌、结肠癌、小肠癌；卵巢癌；子宫颈癌；肝癌；肺癌；肾细胞癌和多发骨髓瘤。

以下，通过实施例进一步阐述本发明，但本发明并不限于这些实施例。
材料和方法：

除非另有说明，使用美国典型培养物收藏中心（ATCC, Rockville, MD）的细胞系（Zelllinien），在恒温箱（5% H_2O , 37°C）中的 RPMI-1640 重碳酸盐介质（Seromed, Berlin, Deutschland）中培养，直至汇流成一个单层。这些细胞经过支原体污染后进行检测。介质含有 10% 热失活胎盘小牛血清（Seromed）和 4mM 谷氨酰胺。将该细胞通过常规方法培养并传代（passagiert）（含有 0.02% EDTA 的 0.03% 胰蛋白酶，一周 3 次）。细胞数量使用 TOA Sysmex 微细胞计量器（TOA, Tokyo, Japan）测定。

化学试剂和溶液：

除非另有说明，化学试剂均来源于 Sigma 的（St. Louis, MO）。用于测试的组分例如以供货的状态使用。CHP 作为在 PBS（磷酸盐缓冲盐, Dulbecco）中的 5mg/ml 母液使用，并在 -20°C 下等份地冷冻。同样，将相关联的组分作为 2mg/ml 的母溶液使用，并在 -20°C 下等份地冷冻。

细胞周期分析和化学敏感性分析：

细胞通过胰蛋白酶培养获得，在 PBS 中洗涤，在 70% 的乙醇中于 -20°C 下固定 20 分钟。接着，在 PBS 中再次洗涤细胞并转送至染色溶液中，该染色溶液含有在 0.05% Monidet P40/PBS 中的 20 μ g/ml 碘化丙锭（PI）、5 μ g/ml RNase A，在室温下培养一夜。将洗涤后的细胞借助于通流式细胞计数器（Coulter XL-MLC, Coulter, Miami, Florida），使用 Multicycle AV Software（Phoenix）进行分析，计算 PI 直方图的细胞周期分布。确定在 G1/0 期（分裂间相），S 期（DNA 合成）和 G2M 期（有丝分裂细胞）中的细胞百分比数量。由 P1 直方图计算 Apoptotische subG1 细胞。所有的试验进行两次。

化学敏感性分析在具有每孔 10^4 个细胞的 96 孔微量滴定平板和 100μ l

的介质中进行，欲测试的组分体积为 100 μ l。所有的组分在微量滴定平板上稀释，将该平板在细胞培养环境下培养 4 天，除非需确定给药时间和反应之间的比例的试验。细胞的生存能力通过 MTT 分析确定，其包括活化线粒体、细胞存活量的比例以及细胞数量。测试按照本领域技术人员公知的方法进行。

细胞程序死亡分析；

程序死亡或坏死的细胞根据常规试验方法通过 Annexin V/PI 染色试验进行。

结果：确定在肿瘤细胞系中 CHP 的活性

表1 CHP 抗增殖活性的细胞系筛选

组织/细胞	名称	反应	
胰细胞系	BxPC3	-41%	
	MIAPaCa2	-45.7%	
	ASPC1	-42%	
	PANC1	-54%	
	Capan1	-66%	
	HOS	-68%	
骨肉瘤组织			
前列腺组织	PC3	抗拒的	
结肠细胞系	HT29	-48%	
	Colo320DM	-11%	
	DLD1	-19.8%	
	SW620(Cc1227)	-66.4%	
	SW480(Cc1228)	-58%	
	HCT-15	-10%	
	Colo205	-66%	
	乳房组织	MCF-7	-43%
		T47D	-34%
		MDA-MBA231	抗拒的
白血病细胞 类癌瘤	K562	-11%	
	CRO1	-35%	
	CRO2	-13%	
肾细胞系	A498	-6%	
	ACHN	抗拒的	
黑素瘤	A518	抗拒的	
	Me128	抗拒的	
	B607	-12%	
	JVSO	-15%	
成骨细胞	Calc22	+8%	
成纤维细胞	WI38	抗拒的	
	Fib2(PPH)	抗拒的	
	Fib3(PPH)	-14%	

在与 CHP 组合使用吉西他滨或其它功能性类似化合物时表明, 在表 1 中对于选择的细胞系测得的值在可以显著地并令人吃惊地得到协同改善。在这些试验中还表明, 本发明组合药剂对不同的细胞系的效果明显不同。

例如可以借助于胰癌细胞系进行阐述。将含有比例为 400 μ g/ml: 4 μ g/ml

的 CHP 和吉西他滨的组合药剂给药且两种化合物同时释放时，显示出拮抗作用。即，细胞存活时间变长。将组合药剂中吉西他滨的浓度改变为 0.25、0.05 或 $1\ \mu\text{g/ml}$ 以及改变 CHP 浓度，证实拮抗效果为约 15—25%。这些结果尤其是在胰癌细胞系中被发现，而在其它的细胞系中将组合药剂给药，同时释放 CHP 和吉西他滨，对细胞生长具有抑制作用。

此外，还测试了相继释放 CHP 和吉西他滨的本发明的组合药剂。该药剂的制备根据本领域技术人员公知的盖伦式方法进行。将该药剂用于细胞的培养，其中首先释放 CHP，在 24 小时或 48 小时后释放吉西他滨。其中可以看出，首先与 CHP 接触、即用 CHP 预处理的胰腺癌细胞，在随后与吉西他滨接触时具有抗力。在例如大于 $0.25\ \mu\text{g/ml}$ 的高吉西他滨浓度下，细胞抗力增大约 5%，在低的高吉西他滨浓度下，其抗力增大约 20%。即，将 CHP 和吉西他滨先后相继释放的组合药剂给药，使得细胞首先与 CHP，然后与吉西他滨接触，导致胰肿瘤细胞对吉西他滨敏感度降低。这些结果在其他的细胞系中可能重复出现，其中在选择细胞中可以示出，通过上述组合药剂的给药，细胞具有对吉西他滨微弱的抵抗性。如果使用组合药剂时，首先释放吉西他滨，接着释放 CHP，则显示出明显的协同效果。令人吃惊的是，当在组合药剂中 CHP 浓度较少时，在胰癌细胞系中显示出协同效果，而当在组合药剂中 CHP 的浓度高于 $100\ \mu\text{g/ml}$ 时，显示出拮抗作用。使用的组合药剂释放 $1\ \mu\text{g/ml}$ 吉西他滨，并在 12、24 和 48 小时后释放 CHP。

表 2 示出了组合药剂对 PANC-1 细胞上的效果

CHP ($\mu\text{g/ml}$)	PANC-1 对照组	PANC-1 用先释放吉西他 滨的药剂处理	BxPC3 对照组	BxPC3 用先释放吉西他 滨的药剂处理
100	95.1 \pm 2.3	103 \pm 2.5	105.2 \pm 5.4	98.7 \pm 2.0
50	94.8 \pm 6.4	90.0 \pm 8.2	99.8 \pm 4.3	87.3 \pm 3.8
25	95.9 \pm 5.1	88.4 \pm 4.0	99.9 \pm 3.1	94.6 \pm 3.3
12.5	90.8 \pm 4.1	88.9 \pm 4.3	102.6 \pm 1.7	101.3 \pm 4.8
6.1	96.0 \pm 6.0	91.0 \pm 5.9	103.5 \pm 2.6	101.9 \pm 8.8
3	98.8 \pm 4.0	90.3 \pm 6.0	-	-

即，当首先与吉西他滨接触，然后与 CHP 接触时，胰肿瘤的顺序治疗是特别有效的，其中 CHP 浓度应按上述选择较低浓度。在使用的药剂中，CHP 和吉西他滨包括不同的可溶载体和赋形剂。还使用试剂盒，在试剂盒中含有以不同的溶液分置的吉西他滨与 CHP，其按顺序使用。因此，用于使用的组合药剂根据时间释放，并在开始后或在用于不同肿瘤的成分或化合物释放后，具有不同的特性。另外，令人惊讶的是，根据本发明的组合药剂可以改变肿瘤每个细胞周期。根据使用的组合药剂和使用的细胞，可以改变或消耗 S 一相或 G2M 一或 G1/0 状态。此外，可以观察到，在自然死亡/坏死的细胞中通过组合药剂治疗的多种细胞实现转变。此外还可以示出，当除了使用吉西他滨以外，还使用其他的化疗剂，例如氧代铂或多柔比星时，也可以获得组合药剂的不同特性。在组合药剂的使用中还可以示出，在吉西他滨部分，可以通过氧代铂或多柔比星或其他化疗剂完全替代。组合药剂特性的另一个改变是可以通过 CHP 的反式一羟基一脯氨酸代替顺式一形式。

此外，根据本发明公开的组合剂还可以在人类范围内用于临床测试。因此通过 CHP 一吉西他滨组合药剂和 CHP 一卡培他滨 (Capecitabine) 组合剂可以获得良好的结果。吉西他滨已被美国食品药品监督管理局于 1996 年批准用于具有局部发生或转移的胰腺癌患者的初期治疗。建议剂量和治疗周期包括以每周 1g/m^2 使用 7 周，接着的 1 周为休息周期。随后的治疗周期包括以每周

1g/m²的剂量使用3周，再以1周为休息周期。但是，该建议的治疗没有明显的副作用。吉西他滨给药的常见副作用是例如是骨髓的损坏，导致对造血产生损害，使得仅有少量的血细胞可以成熟。其中的后果是贫血、中性白血球减少和所有的免疫抑制。由于骨髓损坏引起的这些副作用被称为骨髓抑制。其他的副作用是明显的大量出汗、腹泻、发烧或与流行性感冒类似的症状、恶心、恶心腹泻、呼吸困难、周边性水肿、血尿、蛋白尿、脱发以及皮疹和在注射装置上的反应。

通过吉西他滨和 CHP 的组合治疗，可以避免这些缺陷。在肿瘤的治疗中的进展，可以每月一次通过 CT、临床化学、肿瘤标记和身体总体状况包括血液学检查确定。其中示出的是，通过组合治疗的肿瘤可以非常良好地治疗，而不会出现上述的副作用。

使用 CHP—吉西他滨组合剂的治疗流程

1. 第1—7天治疗：每天8g CHP（静脉内）
2. 随后8天治疗：每周3次静脉注射8g CHP且每周口服4次8g CHP。
3. 当根据 RECIST 的基准确定肿瘤发展时，还可以进行额外的吉西他滨给药。
4. 吉西他滨的剂量为1000mg/m²并在第1、8和15天进行静脉内给药。
5. 在第29天重复该治疗周期
6. 使用吉西他滨输液时，口服 CHP，剂量为4g。
7. 在第3—6、10—13和17—26天，同时给药 CHP（导致28天的治疗周期）

大量患有结肠直肠腺肉瘤和肝转移瘤的患者，可以通过卡培他滨和 CHP 的组合治疗进行治疗。用于这些肿瘤的标准治疗为在21天的治疗周期中进行吉西他滨给药。将患者治疗14天，然后是7天的休息阶段。卡培他滨的建议剂量为每天2500 mg/m²。该药剂在每次餐后30分钟以两个独立的剂量给药。与上述吉西他滨给药同样（见上述），卡培他滨的给药出现了大量的副作用。令人惊讶的是，与使用单独的 CHP 和卡培他滨的治疗相比，卡培他滨与 CHP 的组合在治疗肿瘤和避免副作用方面获得了良好的效果。值得说明的是，组合治疗使用少量的卡培他滨给药以及具有不超过10天的短的治疗周期。组合

治疗能够被患者非常良好地接受。

患者 I—K (68 岁, 男性) 和 S—M (76 岁, 男性) 患有组织学确定的结肠癌以及肝转移瘤, 按照下述的治疗方案, 使用卡培他滨和 CHP 的组合治疗的治疗周期进行治疗:

1. 将卡培他滨连续给药 10 天 (2×3 片、每片 500mg), 接着为 10 天的上述休息周期, 以及

2. 以口服溶液的形式将 CHP 连续给药 30 天 (每次剂量 8g)。

接着确定例如在 CHP—吉西他滨组合治疗中的治疗结果。

CHP—吉西他滨和 CHP—卡培他滨组合治疗在肿瘤治疗中均显示出了良好治疗结果, 其中, 可以 CHP 的存在下, 可以以较少的剂量和在短的治疗周期下使用化疗剂吉西他滨和卡培他滨 (与单独药剂的独立给药相比)。尤其是减少了在胃肠道中出现的副作用, 例如腹部疼痛、腹泻以及吐泻、呕吐和所有的疲惫症状, 例如口腔炎、贫血等。