



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102319235 A

(43) 申请公布日 2012. 01. 18

(21) 申请号 201110205562. 6

(22) 申请日 2011. 07. 21

(71) 申请人 中国科学院长春应用化学研究所
地址 130000 吉林省长春市人民大街 5625
号

(72) 发明人 刘作家 李丹 郑喜亮 汪劲
江尔康

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227
代理人 魏晓波 逯长明

(51) Int. Cl.
A61K 31/137(2006. 01)
A61P 35/00(2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 2 页

(54) 发明名称

一种化合物的应用

(57) 摘要

本发明涉及医药技术领域,公开了一种化合物在制备抗胰腺癌的药物中的应用,本发明所述化合物与临床用药吉西他滨相比,抑制胰腺癌细胞的效果更为显著,且对人体正常细胞的毒性较小,能够更好地应用在胰腺癌的治疗以及制备抗胰腺癌的药物中。

1. 4-叔丁基-2-[(环己基氨基)甲基]-6-甲基苯酚在制备抗胰腺癌的药物中的应用。
2. 一种抗胰腺癌的药物制剂,其特征在于,由有效量的4-叔丁基-2-[(环己基氨基)甲基]-6-甲基苯酚和药学上可接受的辅料组成。
3. 根据权利要求2所述药物制剂,其特征在于,所述药物制剂为注射制剂或口服制剂。
4. 根据权利要求3所述药物制剂,其特征在于,所述注射制剂为冻干粉针剂。
5. 根据权利要求3所述药物制剂,其特征在于,所述口服制剂为散片剂、胶囊剂或颗粒剂。

一种化合物的应用

技术领域

[0001] 本发明涉及医药技术领域,具体涉及一种化合物的应用。

背景技术

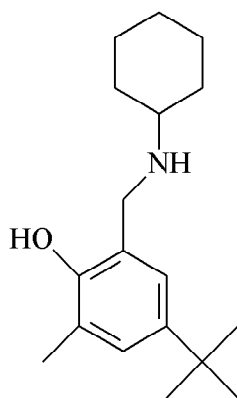
[0002] 胰腺癌是恶性程度最高的实体肿瘤之一,也是消化道常见的恶性肿瘤之一,多发生于胰头部,常见症状为腹痛、乏力、食欲不振以及无痛性黄疸。近年来,全球范围内的胰腺癌发病率有升高趋势。在美国,其死亡率占恶性肿瘤的第四位。在我国,胰腺癌的发病率已居恶性肿瘤的第5-7位,并且每年以5-6万例的速度增加。据报道,胰腺癌确诊后1年生存率约12%,确诊后5年生存率小于4%,其死亡率与发病率的比例接近于1,胰腺癌已经成为人类健康的一大威胁。

[0003] 目前,手术仍然是治疗胰腺癌最有效的治疗方法,但由于胰腺癌起病隐匿,发展快,向周围侵袭转移早,且缺乏早期诊断手段,因而患者就诊时大多数已属中晚期,失去了根治性手术时机,故目前仍有70-80%的病人必须通过非手术治疗手段(如药物)来改善生活质量和延长生存期。在世界范围内,最受推荐的胰腺癌非手术治疗方案主要是采用吉西他滨和以吉西他滨为主的联合用药方案,但吉西他滨的疗效并不能达到令人满意的程度,而且吉西他滨对人体正常细胞毒性较大。因此,提供一种高效低毒的抗胰腺癌药物对胰腺癌的治疗具有重要意义。

发明内容

[0004] 有鉴于此,本发明的目的是提供一种化合物在制备抗胰腺癌的药物中的应用,本发明所述化合物为4-叔丁基-2-[(环己基氨基)甲基]-6-甲基苯酚(TBMMP),属芳香有机酚类,分子式 $C_{18}H_{29}NO$,分子量275.429,其结构式如下:

[0005]



[0006] 经美国国家卫生研究院(NIH)研究发现,TBMMP对肾癌细胞株RXF393具有抑制活性,但是目前尚无TBMMP对胰腺癌细胞具有抑制活性的报道。而本发明经虚拟筛选和药效学试验发现,TBMMP能与Ras-GTP水解的中间体结构有特异的相互作用,然后通过线粒体途径诱导胰腺癌细胞的凋亡以实现胰腺癌细胞的生长抑制作用,同时,药效学试验结果显示TBMMP对k-ras突变激活型胰腺癌细胞株MiaPaCa-2(Ras^{G12V})和野生型胰腺癌细胞株

BxPC-3 (Ras^{WT}) 均有较好的生长抑制作用。

[0007] 与 TBMP 作用机理不同, 临床用药吉西他滨是通过细胞周期阻滞来实现胰腺癌细胞的生长抑制作用, 药效学试验结果显示, 在浓度为 25.0 μ g/mL、50.0 μ g/mL 和 100.0 μ g/mL 时, 吉西他滨对胰腺癌细胞株的抑制率仅在 20-40% 之间, 但是 TBMP 对胰腺癌细胞株的抑制率在 70-80% 之间, 效果明显高于吉西他滨; 在对人正常细胞的抑制作用对比试验中, TBMP 仅在 50.0 μ g/mL 和 100.0 μ g/mL 高浓度时有抑制作用, 而吉西他滨在 6.25 μ g/mL、12.5 μ g/mL、25.0 μ g/mL、50.0 μ g/mL 和 100.0 μ g/mL 浓度时, 均有较为明显的抑制作用。以上试验结果表明, TBMP 高效低毒, 比吉西他滨更适合应用在胰腺癌的治疗以及制备抗胰腺癌的药物中。

[0008] 本发明还提供一种抗胰腺癌的药物制剂, 由有效量的 4-叔丁基-2-[(环己基氨基)甲基]-6-甲基苯酚和药学上可接受的辅料组成。

[0009] 其中, 所述药物制剂优选为注射制剂或口服制剂, 所述注射制剂优选为冻干粉针剂, 所述口服制剂优选为散片剂、胶囊剂或颗粒剂。

[0010] 由以上技术方案可知, 4-叔丁基-2-[(环己基氨基)甲基]-6-甲基苯酚与临床用药吉西他滨相比, 抑制胰腺癌细胞的效果更为显著, 且对人体正常细胞的毒性较小, 能够更好地应用在胰腺癌的治疗以及制备抗胰腺癌的药物中。

附图说明

[0011] 图 1 所示为不同 TBMP 药物浓度对胰腺癌细胞活性影响的柱形图; 其中, 纵坐标表示细胞活性, 单位为%; 横坐标表示 TBMP 药物浓度, 单位为 μ g/mL; 柱形图图例位于右上角, 即黑色柱形表示人胰腺癌细胞 MiaPaCa-2 的活性, 白色柱形表示人胰腺癌细胞 BxPC-3 的活性;

[0012] 图 2 所示为不同 TBMP 药物浓度对人正常细胞活性影响的柱形图; 其中, 纵坐标表示细胞活性, 单位为%; 横坐标表示 TBMP 药物浓度, 单位为 μ g/mL; 柱形图图例位于右上角, 即黑色柱形表示人正常肾细胞 HEK-293 的活性, 白色柱形表示人正常肝细胞 HL-7702 的活性;

[0013] 图 3 所示为不同吉西他滨药物浓度对胰腺癌细胞以及人正常细胞活性影响的柱形图; 其中, 纵坐标表示细胞活性, 单位为%; 横坐标表示吉西他滨药物浓度, 单位为 μ g/mL; 柱形图图例位于右上角, 即黑色柱形表示人胰腺癌细胞 MiaPaCa-2 的活性, 白色柱形表示人正常肾细胞 HEK-293 的活性, 条纹柱形表示人正常肝细胞 HL-7702 的活性。

具体实施方式

[0014] 本发明实施例公开了 4-叔丁基-2-[(环己基氨基)甲基]-6-甲基苯酚的应用。本领域技术人员可以借鉴本文内容, 适当改进工艺参数实现。特别需要指出的是, 所有类似的替换和改动对本领域技术人员来说是显而易见的, 它们都被视为包括在本发明。本发明的应用已经通过较佳实施例进行了描述, 相关人员明显能在不脱离本发明内容、精神和范围内对本文所述的应用进行改动或适当变更与组合, 来实现和应用本发明技术。

[0015] 为了进一步理解本发明, 下面结合实施例对本发明进行详细说明。

[0016] 实施例 1: TBMP 对胰腺癌细胞活性的抑制作用

[0017] 1、材料

[0018] 受试药物 :TBMP 购自于美国国家卫生研究院 (NIH), 并溶于 DMSO 中配成 10mg/mL 的母液, 用含 10% DMSO 的双蒸水稀释成 6.25 μ g/mL、12.5 μ g/mL、25.0 μ g/mL、50.0 μ g/mL 和 100.0 μ g/mL 5 个不同浓度的溶液备用。

[0019] 2、肿瘤细胞

[0020] 人胰腺癌细胞 MiaPaCa-2 和 BxPC-3 购自于美国模式培养物集存库 (ATCC)。

[0021] 3、其他试剂及仪器

[0022] DMEM、IMDM 和胎牛血清 (FBS) 购自于 Gibico (Grand island, NY, USA), 四氮唑盐 (MTT) 购自于 Sigma ;

[0023] CO₂ 培养箱 (Jouan, France) ;酶标仪 (Biotech Instruments, New York, USA)。

[0024] 4、方法

[0025] 取对数生长期细胞 4000 个于 96 孔平板过夜培养。待细胞贴壁, 吸去上清液, 每孔加入 90 μ L 新鲜培养液, 同时加入 5 个不同浓度梯度的 TBMP 溶液各 10 μ L, 每一浓度均设 5 个复孔, 对照组中加入含 10% DMSO 的双蒸水。置于 CO₂ 培养箱中培养 48 小时后, 每孔加入 10 μ L MTT (1mg/ml) 于 37°C 培养 4 小时, 吸弃上清液加入 100 μ L DMSO 于室温振荡 10 分钟, 用酶标仪于 490nm 波长检测各孔的光密度值 (OD)。以胰腺癌细胞活性为纵坐标, 以受试药物浓度为横坐标, 用 Excel 软件作柱形图, 胰腺癌细胞活性 = (实验组 OD/ 对照组 OD) \times 100%, 胰腺癌细胞活性的抑制率 = 1 - (实验组 OD/ 对照组 OD) \times 100%。

[0026] 5、结果

[0027] 结果见图 1, 由图 1 可知, 不同浓度的 TBMP 对胰腺癌细胞活性的抑制作用具有明显的量效关系, 且随浓度的增加, 抑制作用越显著。在对 k-ras 突变激活型人胰腺癌细胞 MiaPaCa-2 的抑制作用中, 浓度为 6.25 μ g/mL 和 12.5 μ g/mL 时, TBMP 对 MiaPaCa-2 的抑制率分别为 10% 左右和 20% 左右, 而浓度为 25.0 μ g/mL、50.0 μ g/mL 和 100.0 μ g/mL 时, 抑制率均在 70-80% 之间 ;

[0028] 在对野生型人胰腺癌细胞 BxPC-3 的抑制作用中, 浓度为 6.25 μ g/mL 时, TBMP 对 BxPC-3 的抑制率分别为 10% 左右, 浓度为 12.5 μ g/mL 时, 抑制率在 53% 左右, 而浓度为 25.0 μ g/mL、50.0 μ g/mL 和 100.0 μ g/mL 时, 抑制率均在 70-80% 之间。

[0029] 实施例 2 :TBMP 对人正常细胞活性的抑制作用

[0030] 1、材料

[0031] 受试药物 :TBMP 购自于美国国家卫生研究院 (NIH), 并溶于 DMSO 中配成 10mg/mL 的母液, 用含 10% DMSO 的双蒸水稀释成 6.25 μ g/mL、12.5 μ g/mL、25.0 μ g/mL、50.0 μ g/mL 和 100.0 μ g/mL 5 个不同浓度的溶液备用。

[0032] 2、人正常细胞

[0033] 人正常肝细胞 HL-7702 和人正常肾细胞 HEK-293 购自于上海细胞库。

[0034] 3、其他试剂及仪器

[0035] DMEM、IMDM 和胎牛血清 (FBS) 购自于 Gibico (Grand island, NY, USA), 四氮唑盐 (MTT) 购自于 Sigma ;

[0036] CO₂ 培养箱 (Jouan, France) ;酶标仪 (Biotech Instruments, New York, USA)。

[0037] 4、方法

[0038] 取对数生长期细胞 4000 个于 96 孔平板过夜培养。待细胞贴壁,吸去上清液,每孔加入 90 μ L 新鲜培养液,同时加入 5 个不同浓度梯度的 TBMMP 溶液各 10 μ L,每一浓度均设 5 个复孔,对照组中加入含 10% DMSO 的双蒸水。置于 CO₂ 培养箱中培养 48 小时后,每孔加入 10 μ L MTT(1mg/mL) 于 37℃ 培养 4 小时,吸弃上清液加入 100 μ L DMSO 于室温振荡 10 分钟,用酶标仪于 490nm 波长检测各孔的光密度值 (OD)。以胰腺癌细胞活性为纵坐标,以受试药物浓度为横坐标,用 Excel 软件作柱形图,胰腺癌细胞活性 = (实验组 OD/ 对照组 OD) \times 100%,胰腺癌细胞活性的抑制率 = 1 - (实验组 OD/ 对照组 OD) \times 100%。

[0039] 5、结果

[0040] 结果见图 2,由图 2 可知,TBMMP 对人正常细胞具有较弱的抑制作用,仅在高浓度 50.0 μ g/mL 时出现稍许抑制作用,而在极高浓度 100.0 μ g/mL 时才出现显著抑制作用。

[0041] 实施例 3:吉西他滨对胰腺癌细胞活性和人正常细胞活性的抑制作用

[0042] 1、材料

[0043] 受试药物:吉西他滨购自于 Sigma,并溶于 DMSO 中配成 10mg/mL 的母液,用含 10% DMSO 的双蒸水稀释成 6.25 μ g/mL、12.5 μ g/mL、25.0 μ g/mL、50.0 μ g/mL 和 100.0 μ g/mL 5 个不同浓度的溶液备用。

[0044] 2、人正常细胞和胰腺癌细胞

[0045] 人胰腺癌细胞 MiaPaCa-2 购自于美国模式培养物集存库 (ATCC);人正常肝细胞 IIL-7702 和人正常肾细胞 HEK-293 购自于上海细胞库。

[0046] 3、其他试剂及仪器

[0047] DMEM、IMDM 和胎牛血清 (FBS) 购自于 Gibico (Grand island, NY, USA), 四氮唑盐 (MTT) 购自于 Sigma;

[0048] CO₂ 培养箱 (Jouan, France);酶标仪 (Biotech Instruments, New York, USA)。

[0049] 4、方法

[0050] 取对数生长期细胞 4000 个于 96 孔平板过夜培养。待细胞贴壁,吸去上清液,每孔加入 90 μ L 新鲜培养液,同时加入 5 个不同浓度梯度的 TBMMP 溶液各 10 μ L,每一浓度均设 5 个复孔,对照组中加入含 10% DMSO 的双蒸水。置于 CO₂ 培养箱中培养 48 小时后,每孔加入 10 μ L MTT(1mg/mL) 于 37℃ 培养 4 小时,吸弃上清液加入 100 μ L DMSO 于室温振荡 10 分钟,用酶标仪于 490nm 波长检测各孔的光密度值 (OD)。以胰腺癌细胞活性为纵坐标,以受试药物浓度为横坐标,用 Excel 软件作柱形图,胰腺癌细胞活性 = (实验组 OD/ 对照组 OD) \times 100%,胰腺癌细胞活性的抑制率 = 1 - (实验组 OD/ 对照组 OD) \times 100%。

[0051] 5、结果

[0052] 结果见图 3,由图 3 可知,吉西他滨对 k-ras 突变激活型人胰腺癌细胞 MiaPaCa-2 的抑制作用较弱,结合图 1 结果我们可以看出,在浓度为 6.25 μ g/mL 和 12.5 μ g/mL 时,TBMMP 和吉西他滨对 MiaPaCa-2 的抑制作用差别不大,但是随着浓度的增加,TBMMP 对 MiaPaCa-2 的抑制作用显著增强,而吉西他滨对 MiaPaCa-2 的抑制作用仍然较弱,在 100.0 μ g/mL 时也仅达到 36.5%。此外,吉西他滨对野生型人胰腺癌细胞 BxPC-3 的抑制作用也同样低于 TBMMP。

[0053] 在对人正常细胞的抑制作用中,吉西他滨对人正常肝细胞 HL-7702 和人正常肾细胞 HEK-293 均有抑制作用,尤其是对人正常肝细胞 HL-7702 的抑制作用最为显著,结合图 2

我们可以看出, TBMMP 对人正常肝细胞 HL-7702 和人正常肾细胞 HEK-293 具有较弱的抑制作用, 仅在高浓度 50.0 μ g/mL 时出现稍许抑制作用, 而在极高浓度 100.0 μ g/mL 时才出现显著抑制作用, 表明 TBMMP 比吉西他滨更加安全, 对正常细胞毒性低。

[0054] 实施例 4 : 冻干粉针剂的制备

[0055] 取 TBMMP 加入葡甲胺, 100 $^{\circ}$ C 加热 1 小时, 加入甘露醇, 经过滤、定容、脱色、除菌、灌装、冻干工艺制备冻干粉针剂。

[0056] 实施例 5 : 散片剂的制备

[0057] 取 TBMMP、蔗糖和糊精按重量比 1 : 3 : 1 的比例, 按常规方法制成散片剂。

[0058] 实施例 6 : 颗粒剂的制备

[0059] 取 TBMMP、蔗糖和糊精按重量比 1 : 3 : 1 的比例, 按常规方法制成颗粒剂。

[0060] 实施例 7 : 胶囊剂的制备

[0061] 取 TBMMP、蔗糖和糊精按重量比 1 : 3 : 1 的比例, 按常规方法制成颗粒, 接着按常规方法灌制胶囊剂。

[0062] 以上实施例的说明只是用于帮助理解本发明的方法及其核心思想。应当指出, 对于本技术领域的普通技术人员来说, 在不脱离本发明原理的前提下, 还可以对本发明进行若干改进和修饰, 这些改进和修饰也落入本发明权利要求的保护范围内。

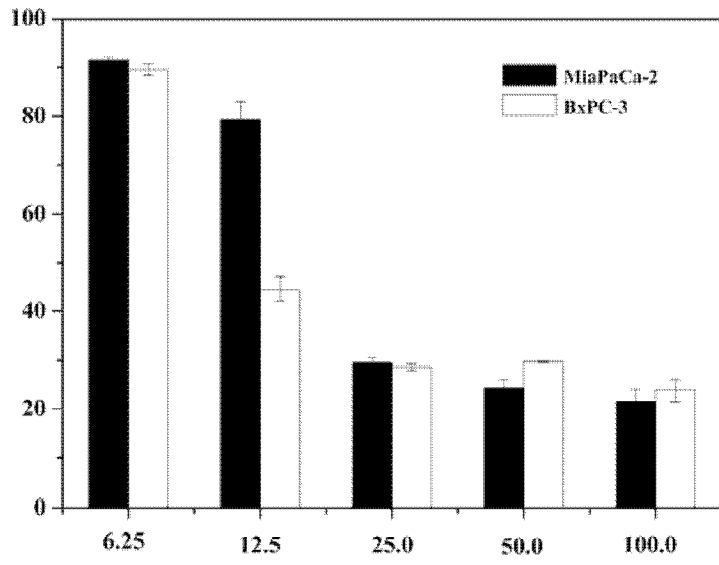


图 1

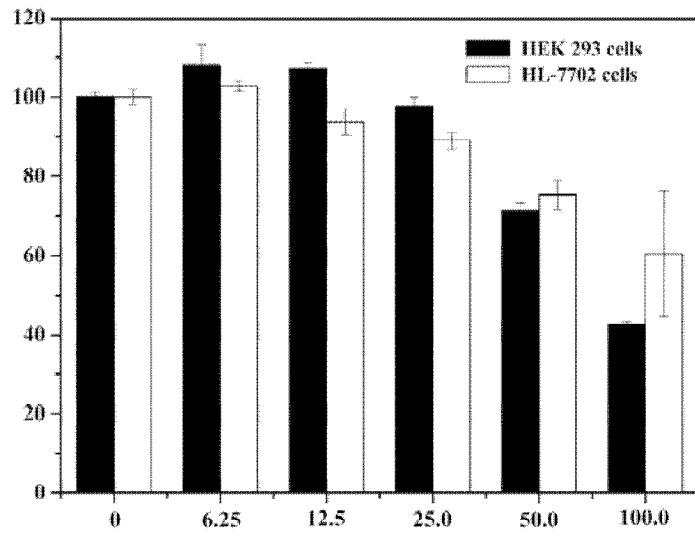


图 2

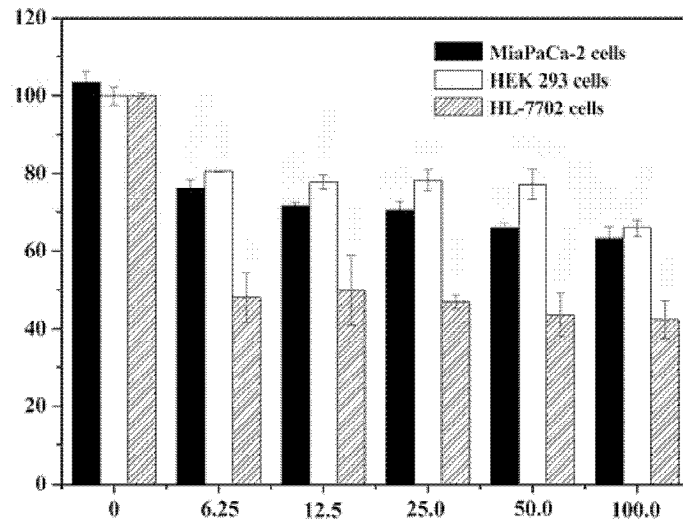


图 3