



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106421796 A

(43)申请公布日 2017.02.22

(21)申请号 201610951596.2

(22)申请日 2016.11.02

(71)申请人 中国科学院生物物理研究所
地址 100101 北京市朝阳区大屯路15号

(72)发明人 杨鹏远 高雅楠 杜成志

(74)专利代理机构 中科专利商标代理有限责任
公司 11021

代理人 穆彬

(51)Int.Cl.

A61K 45/06(2006.01)

A61K 31/517(2006.01)

A61K 31/433(2006.01)

A61K 31/44(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

权利要求书2页 说明书5页 附图1页

(54)发明名称

索拉菲尼联合CCR4拮抗剂在抑制癌生长及转移中的应用

(57)摘要

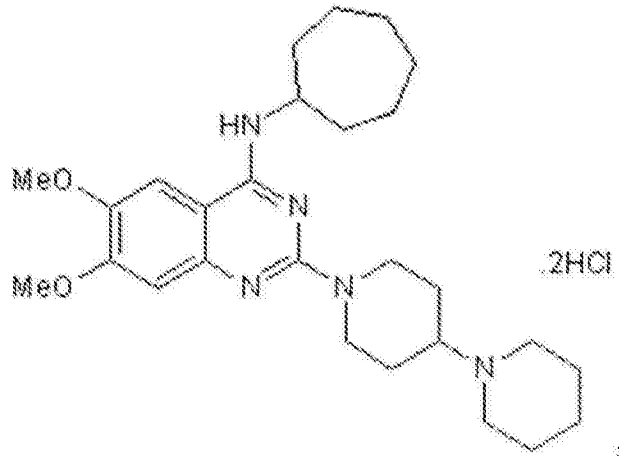
本发明涉及索拉菲尼联合CCR4拮抗剂在抑制癌生长及转移中的应用,属于生物医药技术领域,具体涉及索拉菲尼药物与CCR4拮抗剂,尤其是C-021和ST45177901联合治疗在抑制癌例如肝癌、肾癌、肺癌、乳腺癌、黑色素瘤、甲状腺癌、前列腺癌等肿瘤生长及转移中的应用。本发明提供的化合物联合治疗在抑制癌尤其是肝癌、肾癌、肺癌、乳腺癌、黑色素瘤、甲状腺癌、前列腺癌等肿瘤生长及转移中具有良好的临床应用前景。

1. 一种药物组合物,其包含索拉菲尼和CCR4拮抗剂。

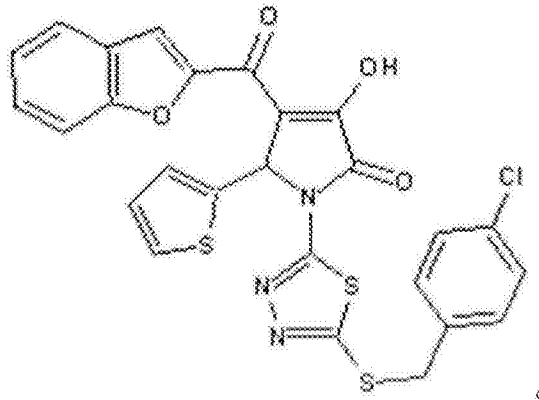
2. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述CCR4拮抗剂包括可以拮抗CCR4的化合物,优选选自以下类型的化合物:噻唑烷酮类、内酰胺类、2-氨基噻唑类、芳基磺酰胺类、二氨基嘧啶类、2,4-二氨基喹唑啉类及环胺类化合物。

3. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述CCR4拮抗剂选自小分子化合物C-021、小分子化合物ST45177901、其结构类似物或其任意组合,

其中所述小分子化合物C-021的结构式为:



所述小分子化合物ST45177901结构式为:



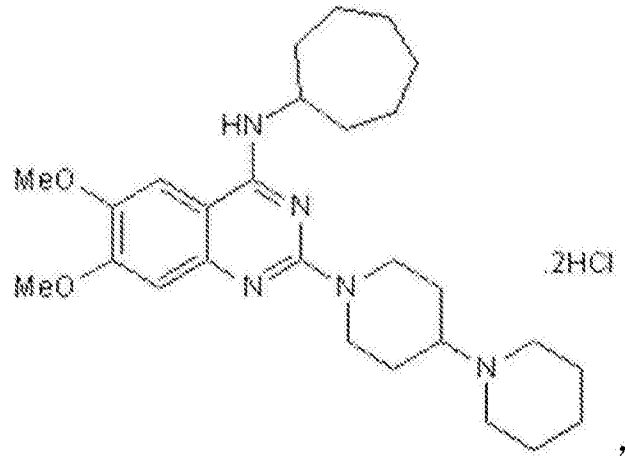
4. 索拉菲尼与CCR4拮抗剂用于联合制备药物的用途,所述药物用于治疗癌症。

5. 根据权利要求4所述的用途,所述治疗包括抑制癌生长及抑制癌症转移。

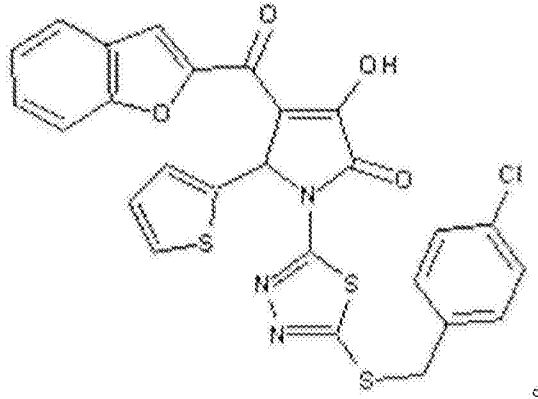
6. 根据权利要求4所述的用途,其中所述CCR4拮抗剂包括可以拮抗CCR4的化合物,优选选自以下类型的化合物:噻唑烷酮类、内酰胺类、2-氨基噻唑类、芳基磺酰胺类、二氨基嘧啶类、2,4-二氨基喹唑啉类及环胺类化合物。

7. 根据权利要求4所述的用途,其中所述CCR4拮抗剂选自小分子化合物C-021、小分子化合物ST45177901、其结构类似物或其任意组合,

其中所述小分子化合物C-021的结构式为:



所述小分子化合物ST45177901结构式为：



8. 根据权利要求4所述的用途,其中所述癌症选自肝癌、肾癌、肺癌、乳腺癌、黑色素瘤、甲状腺癌、前列腺癌。

9. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述CCR4拮抗剂与索拉菲尼分开或同时施用。

10. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述CCR4拮抗剂为注射剂、片剂或胶囊剂。

索拉菲尼联合CCR4拮抗剂在抑制癌生长及转移中的应用

技术领域

[0001] 本发明涉及生物医药技术领域,具体涉及索拉菲尼与CCR4拮抗剂联合治疗在抑制癌生长及转移中的应用。

背景技术

[0002] 索拉菲尼(sorafenib)是一种口服的多激酶抑制剂,可以有效抑制肿瘤细胞增殖和新生血管生成,对肝癌、肾癌的治疗效果显著,在非小细胞肺癌、黑色素瘤、甲状腺癌、乳腺癌、前列腺癌等癌症的治疗研究中亦有报道。

[0003] 肝癌是临床上最常见的恶性肿瘤之一,具有恶性度高、进展快、预后差的特点,严重威胁着人类健康和生命安全。中国是全球肝癌发病率最高和病死数最多的国家,肝癌患者约占全球的55%。近年来,肝癌在全球的发病率都呈上升趋势,而中国新增癌症病例高居世界第一位,其中肝癌的新增病例和死亡人数均居世界首位。由于肝脏具有丰富的血流供应,因此,血管转移是最重要的肝癌转移途径。有报道称,90%以上的癌症患者死于癌转移。目前国内外应用于治疗肝癌血管转移的有效药物很少,因此,深入开展肝癌血管转移的药物防治研究具有重要意义。

[0004] 索拉菲尼是FDA批准的第一个也是目前唯一一个用于治疗晚期肝癌的一线靶向药物。SHARP研究显示,索拉菲尼治疗组相比对照组可有效延长总生存时间(OS,10.7个月vs7.9个月, $P<0.001$)和疾病进展时间(TTP,5.5个月vs2.8个月, $P<0.001$)。但随着临床治疗与研究的深入,索拉菲尼耐药性的问题变得尤为突出。有报道称,索拉菲尼对于HBV阳性肝癌的应答率极低,且大部分临床患者在服用索拉菲尼3-6个月后会出現索拉菲尼抵抗的效应,但关于索拉菲尼的耐药机制目前尚不明确。

[0005] CC趋化因子受体4(CC chemokine receptor 4,CCR4)又称CKR4、CMKBR4、ChemR13、K5-5等,属于CC趋化因子受体家族,含360个氨基酸残基,定位于3号染色体p24-p21.3区域,为7次跨膜G蛋白偶联受体,主要表达于各淋巴细胞和组织,CCR4的高表达与多种血液系统肿瘤以及恶性实体瘤的浸润、转移和预后相关。已知的CCR4高亲和力配体有两个,分别为胸腺活化调节趋化因子(Thymus and activation regulated chemokine,TARC/CCL17)和巨噬细胞衍生趋化因子(macrophage-derived chemokine,MDC/CCL22)。CCR4主要通过调节性T细胞(Treg)发挥免疫效应,如Treg细胞表面的CCR4通过与其配体CCL22/CCL17的结合趋化Treg细胞,引起免疫逃逸,从而导致不良临床后果。

[0006] CCR4拮抗剂根据其化学结构可分为:噻唑烷酮类、内酰胺类、2-氨基噻唑类、芳基磺酰胺类、二氨基嘧啶类、2,4-二氨基噻唑啉类及环胺类化合物等。在哮喘、鼻炎、皮炎、血栓性疾病、自身免疫性疾病等疾病的研究中均有良好的治疗效果,具有较大的临床应用价值。

[0007] 迄今为止,尚未见索拉菲尼与CCR4拮抗剂联合用于治疗肝癌、肾癌、非小细胞肺癌、黑色素瘤、甲状腺癌、乳腺癌、前列腺癌等肿瘤生长及转移的报道。

发明内容

[0008] 本发明人研究发现,索拉菲尼可刺激肿瘤细胞高分泌CCL22和CCL17,趋化Treg细胞浸润导致索拉菲尼治疗耐药。利用索拉菲尼与CCR4拮抗剂,尤其是小分子化合物C-021或ST45177901联合治疗,可有效抑制CCL22/CCL17-CCR4信号通路趋化Treg细胞,从而显著抑制肿瘤细胞的生长及转移。

[0009] 本发明提供的索拉菲尼与CCR4拮抗剂联合治疗方案在治疗肝癌、肾癌、肺癌、乳腺癌、黑色素瘤、甲状腺癌、前列腺癌等肿瘤生长及转移中具有良好的临床应用前景。

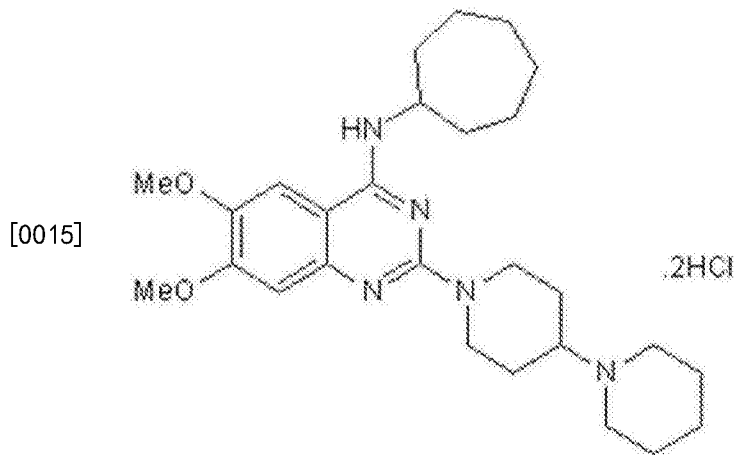
[0010] 因此,本发明涉及以下各项:

[0011] 1. 一种药物组合物,其包含索拉菲尼和CCR4拮抗剂。

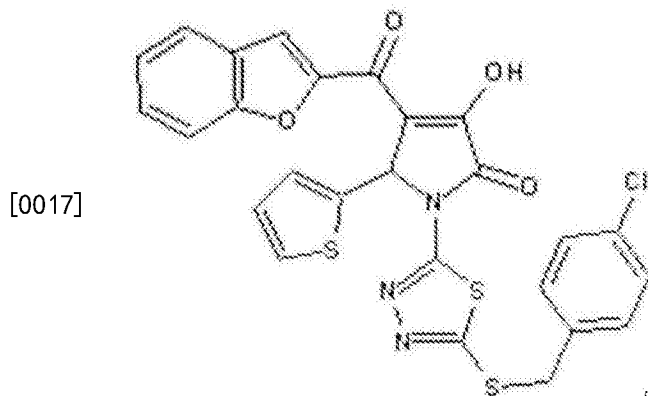
[0012] 2. 根据1所述的药物组合物,其中所述CCR4拮抗剂包括可以拮抗CCR4的化合物,优选选自以下类型的化合物:噻唑烷酮类、内酰胺类、2-氨基噻唑类、芳基磺酰胺类、二氨基嘧啶类、2,4-二氨基喹唑啉类及环胺类化合物。

[0013] 3. 根据1所述的药物组合物,其中所述CCR4拮抗剂选自小分子化合物C-021、小分子化合物ST45177901、其结构类似物或其任意组合,

[0014] 其中所述小分子化合物C-021的结构式为:



[0016] 所述小分子化合物ST45177901结构式为:



[0018] 4. 索拉菲尼与CCR4拮抗剂用于联合制备药物的用途,所述药物用于治疗癌症。

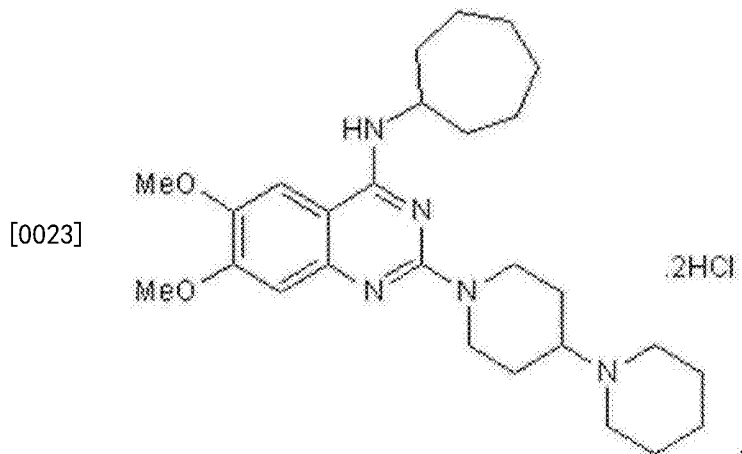
[0019] 5. 根据4所述的用途,所述治疗包括抑制癌生长及抑制癌症转移。

[0020] 6. 根据4所述的用途,其中所述CCR4拮抗剂包括可以拮抗CCR4的化合物,优选选自

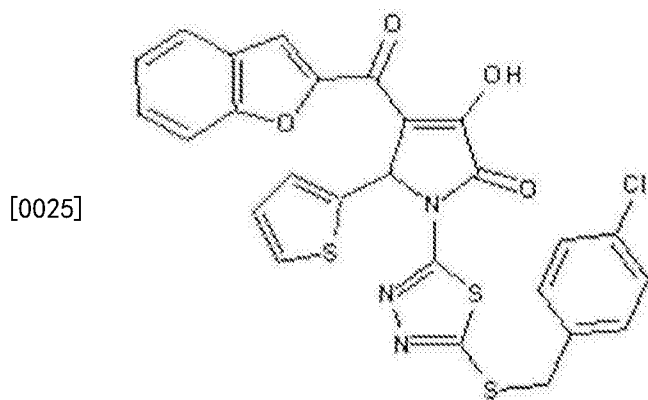
以下类型的化合物：噻唑烷酮类、内酰胺类、2-氨基噻唑类、芳基磺酰胺类、二氨基嘧啶类、2,4-二氨基喹啉类及环胺类化合物。

[0021] 7. 根据4所述的用途,其中所述CCR4拮抗剂选自小分子化合物C-021、小分子化合物ST45177901、其结构类似物或其任意组合,

[0022] 其中所述小分子化合物C-021的结构式为:



[0024] 所述小分子化合物ST45177901结构式为:



[0026] 8. 根据4所述的用途,其中所述癌症选自肝癌、肾癌、肺癌、乳腺癌、黑色素瘤、甲状腺癌、前列腺癌。

[0027] 9. 根据1所述的药物组合物,其中所述CCR4拮抗剂与索拉菲尼分开或同时施用。

[0028] 10. 根据1所述的药物组合物,其中所述CCR4拮抗剂为注射剂、片剂或胶囊剂。

附图说明

[0029] 图1. 索拉菲尼处理肝癌细胞系趋化因子、细胞因子变化检测

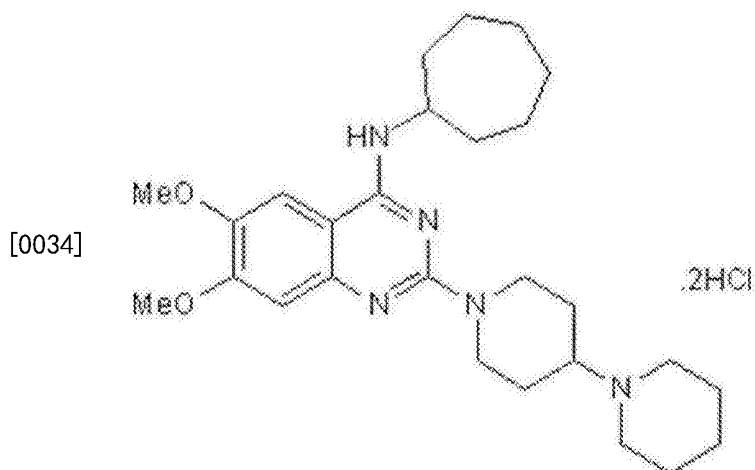
[0030] 图2. 索拉菲尼和CCR4拮抗剂联合治疗效果检测

具体实施方式

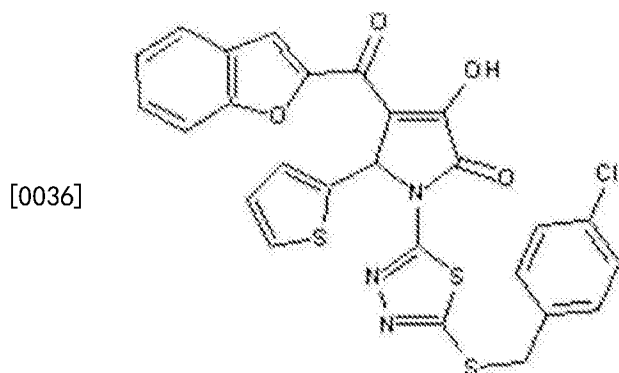
[0031] 实施例1: 化合物

[0032] 1. 索拉菲尼原料药购于药渡公司。

[0033] 2. 小分子化合物c-021购于Tocris公司(货号:3581,纯度>99%),该化合物分子式为 $C_{27}H_{41}N_5O_2 \cdot 2HCl$,结构如下:



[0035] 3. 小分子化合物ST45177901购于Timtec公司(货号:MFCD04147999,纯度>99%),该化合物分子式为 $C_{26}H_{16}ClN_3O_4S_3$,结构如下:



[0037] 实施例2:索拉菲尼处理肝癌细胞系趋化因子、细胞因子变化检测

[0038] 实时荧光定量PCR检测经不同浓度索拉菲尼刺激肝癌细胞系后趋化因子、细胞因子等分泌水平变化,筛选出索拉菲尼诱导产生的高分泌因子。

[0039] 1、细胞

[0040] 小鼠肝癌细胞系Hepa1-6细胞购自ATCC细胞库(货号:CRL-1830)。

[0041] 2、药物

[0042] 用不同浓度索拉菲尼处理Hepa1-6细胞48h:

[0043] 实验组1:细胞培养基中加入 $4\mu\text{M}$ 索拉菲尼,培养48小时;

[0044] 实验组2:细胞培养基中加入 $2\mu\text{M}$ 索拉菲尼,培养48小时;

[0045] 对照组:加入等体积DMSO,培养48h。

[0046] 3、实验仪器

[0047] 仪器名称:ViiA™7荧光定量PCR仪,型号:ViiA™7,出产厂家:美国ABI。

[0048] 4、实验方法

[0049] 将细胞培养基中分别加入 $2\mu\text{M}$ 、 $4\mu\text{M}$ 索拉菲尼或DMSO,培养48h后,提取细胞RNA,逆转录为cDNA,real-time PCR检测趋化因子、细胞因子变化。

[0050] 结果表明,索拉菲尼处理后,CCL22和CCL17表达水平较对照组显著增加(图1),表明索拉菲尼耐药性的产生与CCL22/CCL17-CCR4信号通路活化有关,趋化Treg促使肿瘤免疫逃逸所致。

[0051] 实施例3:索拉菲尼联合CCR4拮抗剂用于治疗肝癌生长及转移的动物实验

[0052] 小鼠皮下荷瘤模型是常规观测肿瘤生长、转移的模型,因此用其验证索拉菲尼与CCR4拮抗剂联合治疗肝癌生长及转移的作用。

[0053] 1、动物

[0054] C57BL/6小鼠(均为雄性,体重20~24g,每组6只/笼群养),购于北京维通利华实验动物技术有限公司,饲养于SPF级动物房。共分6组进行实验。

[0055] 2、细胞

[0056] 小鼠肝癌细胞系Hepa1-6细胞购自ATCC细胞库(货号:CRL-1830),每只小鼠接种 3×10^6 细胞,获得实验小鼠。

[0057] 3、药物

[0058] 将实验小鼠进行分组:

[0059] 实验组1:每两天灌胃索拉菲尼,40mg/kg,同时腹腔注射PBS

[0060] 实验组2:每两天灌胃索拉菲尼,40mg/kg,同时腹腔注射CCR4拮抗剂(以小分子化合物c-021为例,10 μ mol/kg)

[0061] 实验组3:每两天灌胃索拉菲尼,10mg/kg,同时腹腔注射PBS

[0062] 实验组4:每两天灌胃索拉菲尼,10mg/kg,同时腹腔注射CCR4拮抗剂(以小分子化合物c-021为例,10 μ mol/kg)

[0063] 实验组5:每两天灌胃PBS,同时腹腔注射CCR4拮抗剂(以小分子化合物c-021为例,10 μ mol/kg)

[0064] 对照组:每两天灌胃PBS,同时腹腔注射PBS

[0065] 4、实验方法

[0066] 将C57BL/6小鼠皮下接种 3×10^6 Hepa1-6细胞,7天后分别灌胃不同剂量索拉菲尼及腹腔注射CCR4拮抗剂(以小分子化合物c-021为例)治疗,每两天记录肿瘤的大小,计算肿瘤体积(长*宽*宽/2),绘制肿瘤生长曲线。14天后,剥离皮下肿瘤,记录大小并称重。

[0067] 结果表明,40mg/kg索拉菲尼联合CCR4拮抗剂可有效抑制肿瘤的生长,单独给予CCR4治疗也有一定的效果,单独给予10mg/kg索拉菲尼一定程度上更利于肿瘤生长(图2)。

[0068] 利用小分子化合物ST45177901也得到与上述类似的结果。

[0069] 这些结果说明,索拉菲尼刺激肿瘤细胞高分泌CCL22和CCL17,趋化Treg细胞浸润促使肿瘤免疫逃逸,诱发索拉菲尼耐药,因此单独给予索拉菲尼治疗效果并不理想。而索拉菲尼与CCR4拮抗剂联合治疗可有效抑制CCL22/CCL17-CCR4信号通路活化,从而抑制肿瘤免疫逃逸,因此可以显著抑制肿瘤细胞的生长及转移。在治疗肝癌、肾癌、肺癌、乳腺癌、黑色素瘤、甲状腺癌、前列腺癌等肿瘤生长及转移中具有良好的临床应用前景。

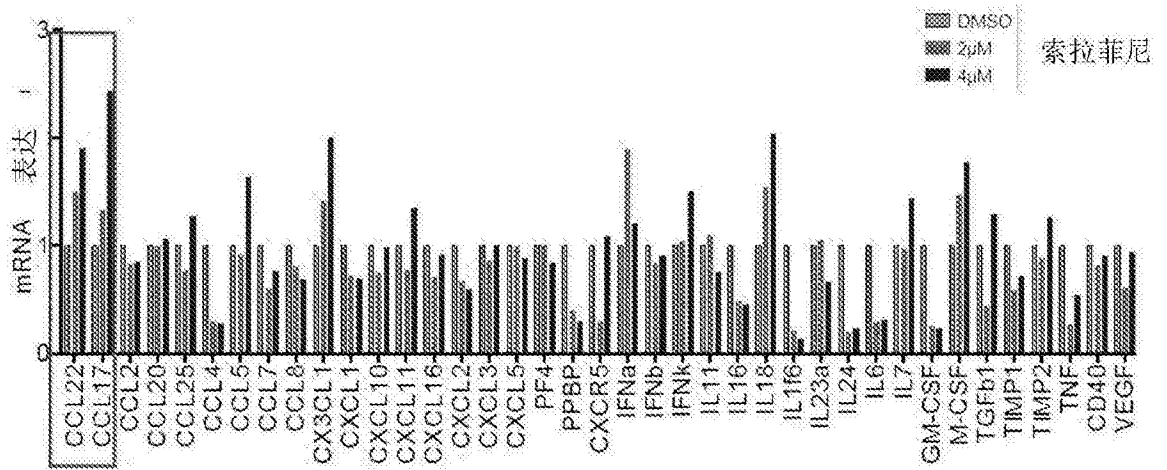


图1

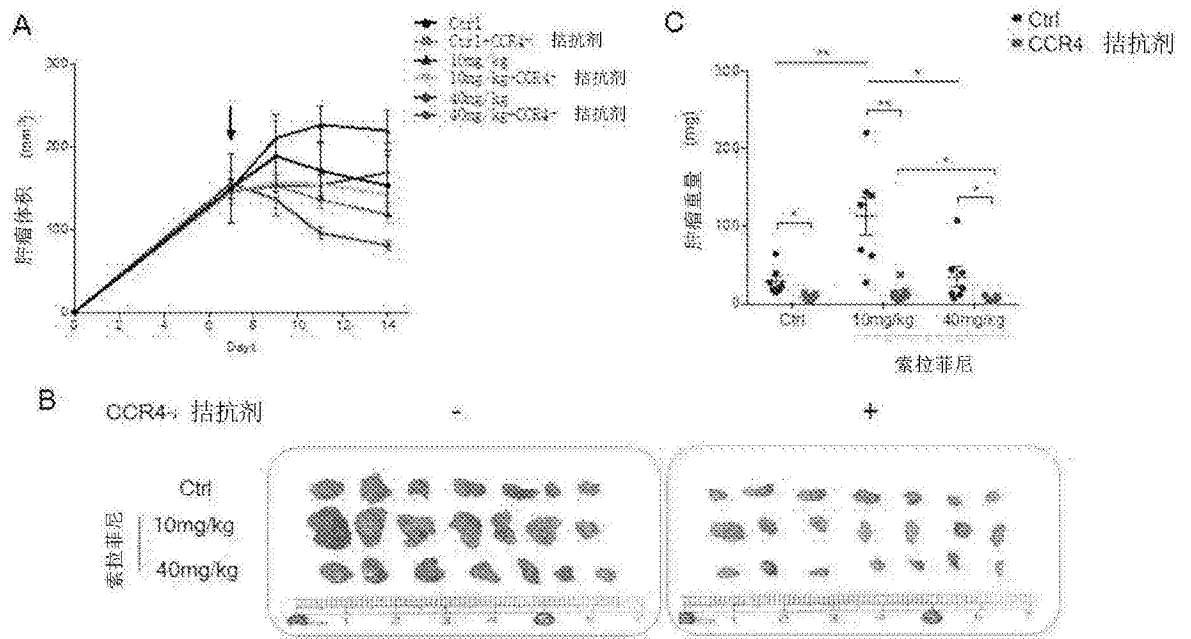


图2