



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101605539 B

(45) 授权公告日 2013. 01. 02

(21) 申请号 200880004608. 4

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2008. 02. 08

A61K 31/33 (2006. 01)

(30) 优先权数据

(56) 对比文件

60/900, 592 2007. 02. 09 US

US 6723338 B1, 2004. 04. 20, 全文.

(85) PCT申请进入国家阶段日

审查员 庄崧

2009. 08. 10

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2008/053438 2008. 02. 08

(87) PCT申请的公布数据

W02008/098178 EN 2008. 08. 14

(73) 专利权人 安佐制药股份有限公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 赵洪 普贾·萨普拉

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 曹立莉

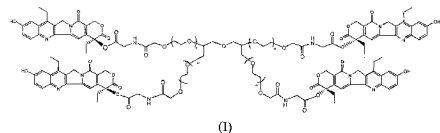
权利要求书 5 页 说明书 21 页 附图 4 页

(54) 发明名称

用 7- 乙基 -10- 羟基喜树碱的多臂聚合缀合物治疗抵抗性或顽固性癌症

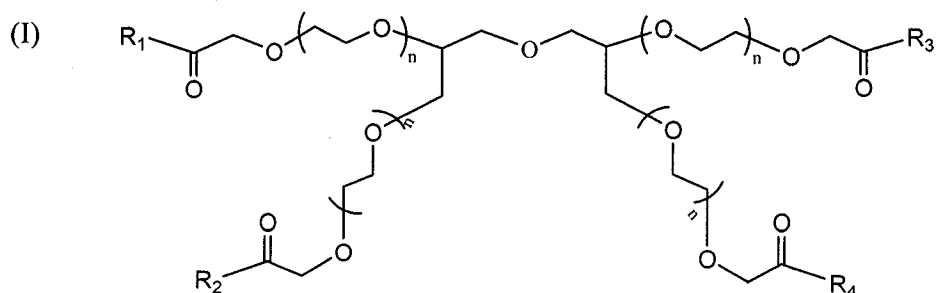
(57) 摘要

本发明涉及治疗哺乳动物中抵抗性或顽固性癌症的方法,其包括向哺乳动物给药有效量的下式化合物。在优选方面,所述癌症对于 CPT-11 或 CPT 治疗是抵抗性的或顽固性的



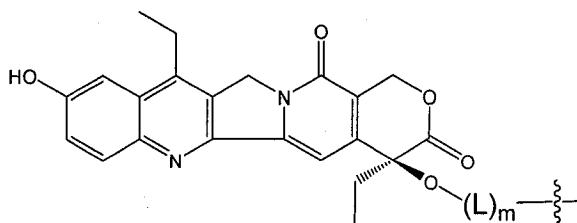
1. 式 (I) 化合物或其药学可接受的盐在制备用于治疗哺乳动物中抵抗性或顽固性癌症的药物中的用途：

其中所述式 (I) 化合物具有以下结构：



其中

R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 独立地为 OH 或



其中

L 为甘氨酸、丙氨酸、蛋氨酸或肌氨酸的残基；

m 为 1 至 10 的正整数；且

n 为 28 至 341 的正整数，以使式 (I) 化合物的聚合物部分的总分子量为 5,000 至 60,000 道尔顿；

条件是 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 不全为 OH。

2. 权利要求 1 的用途，其中所述抵抗性或顽固性癌症选自实体瘤或急性淋巴细胞性白血病。

3. 权利要求 1 的用途，其中所述抵抗性或顽固性癌症选自淋巴瘤或恶性胶质瘤。

4. 权利要求 1 的用途，其中所述抵抗性或顽固性癌症选自肺癌、乳腺癌、结肠直肠癌、胰腺癌、卵巢癌和胃癌。

5. 权利要求 1 的用途，其中所述抵抗性或顽固性癌症为小细胞肺癌。

6. 权利要求 4 的用途，其中所述抵抗性或顽固性癌症为结肠直肠癌。

7. 权利要求 1 的用途，其中所述抵抗性或顽固性癌症选自实体瘤。

8. 权利要求 1 的用途，其中所述抵抗性或顽固性癌症选自转移癌。

9. 权利要求 1 的用途，其中所述癌症对于喜树碱或喜树碱类似物的治疗是抵抗性的或顽固性的。

10. 权利要求 1 的用途，其中所述癌症对于依立替康治疗是抵抗性的或顽固性的。

11. 权利要求 1 的用途，其中所述癌症对于喜树碱治疗是抵抗性的或顽固性的。

12. 权利要求 1 的用途，其中 L 为甘氨酸的残基。

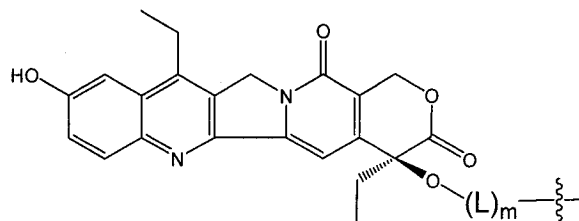
13. 权利要求 1 的用途，其中 m 为 1。

14. 权利要求 1 的用途，其中 n 为 114 至 227，以使式 (I) 化合物的聚合物部分的总分

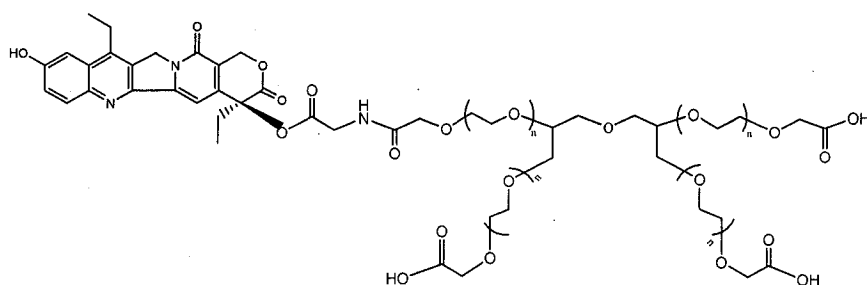
子量为 20,000 至 40,000 道尔顿。

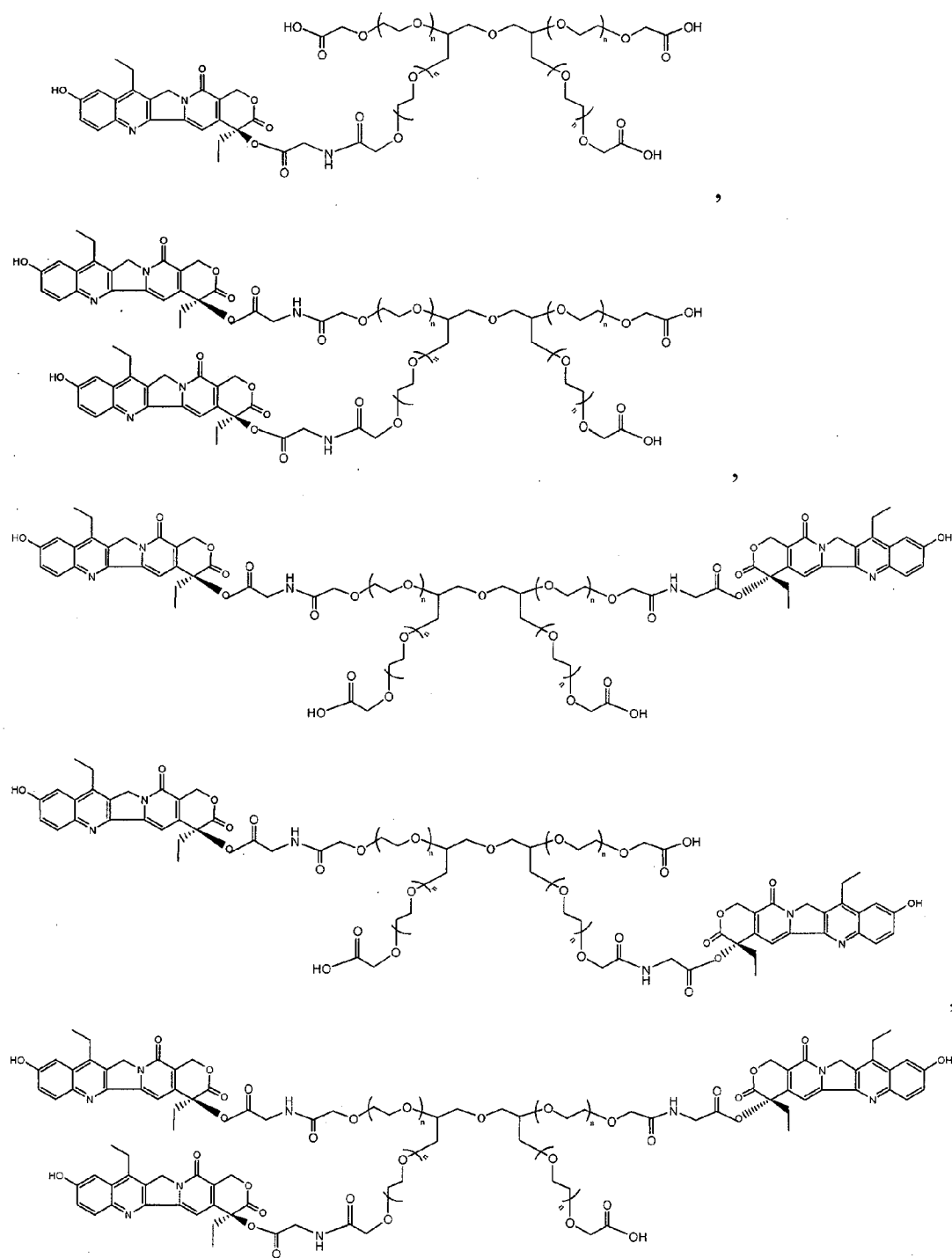
15. 权利要求 1 的用途,其中 n 为 227,以使式 (I) 化合物的聚合物部分的总分子量为 40,000 道尔顿。

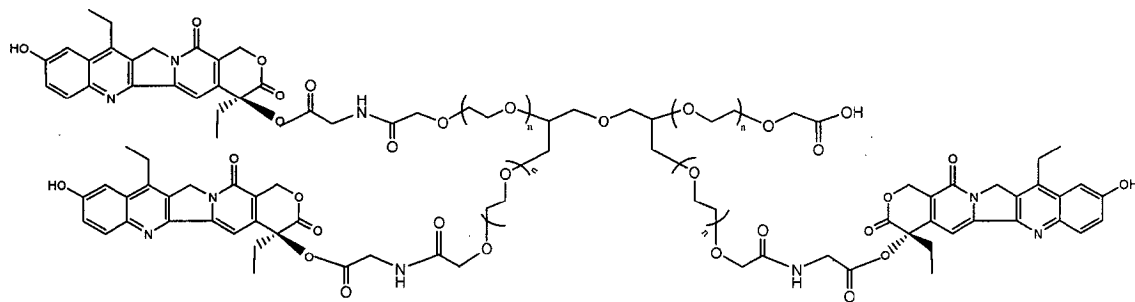
16. 权利要求 1 的用途,其中式 (I) 化合物为药物组合物的一部分,且 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 全部为



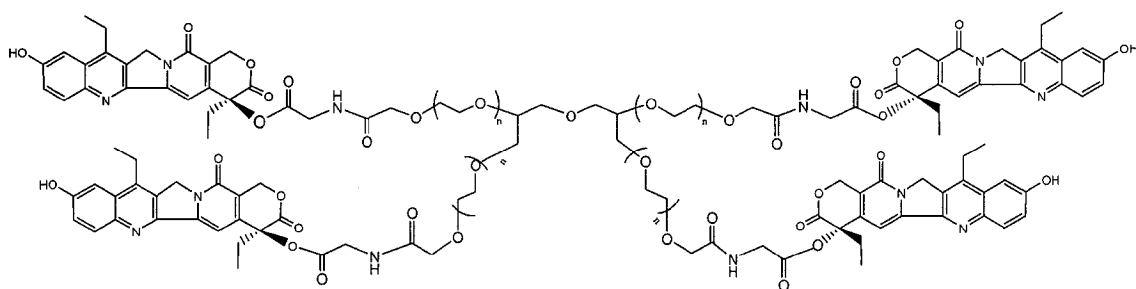
17. 权利要求 1 的用途,其中式 (I) 化合物选自



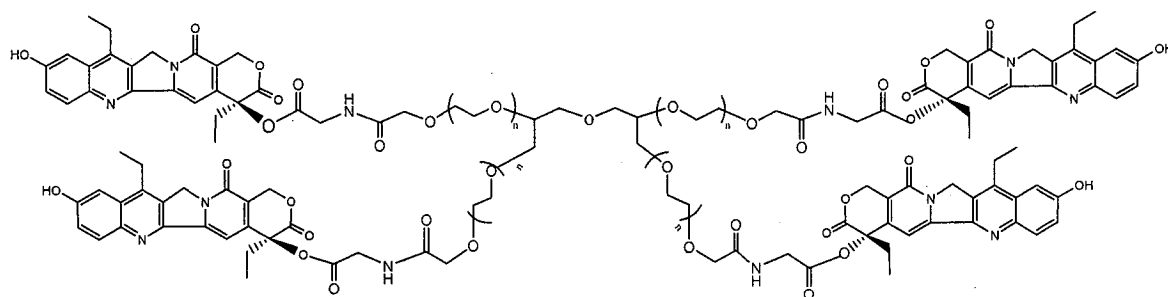




和



18. 权利要求 1 的用途,其中式 (I) 化合物为



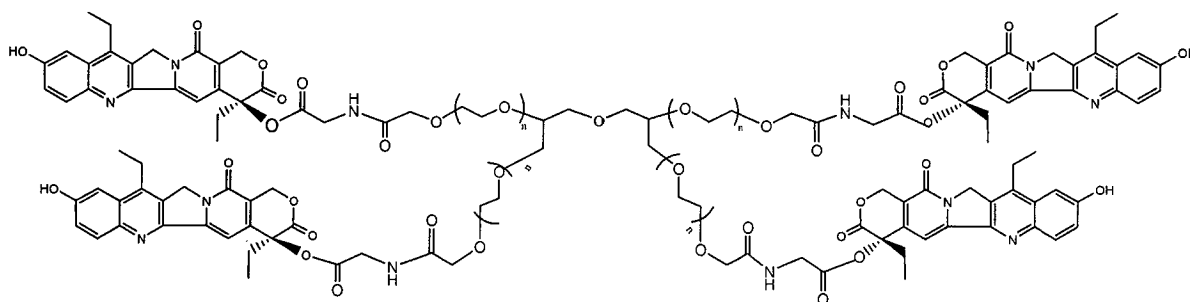
19. 权利要求 1 的用途,其中所述化合物以 0.1 至 $45\text{mg}/\text{m}^2$ /剂量的量给药,其中该量为式 (I) 化合物中包含的 7-乙基-10-羟基喜树碱的重量。

20. 权利要求 1 的用途,其中所述化合物以 1.25 至 $16.5\text{mg}/\text{m}^2$ /剂量的量给药,其中该量为式 (I) 化合物中包含的 7-乙基-10-羟基喜树碱的重量。

21. 权利要求 1 的用途,其中所述化合物与第二化学治疗药物组合同时或顺序给药。

22. 权利要求 1 的化合物或其药学可接受的盐在制备用于治疗哺乳动物中抵抗性或顽固性癌症的药物中的用途:

其中权利要求 1 的化合物具有以下结构



该化合物的给药量为 1.25 至 16.5mg/m²/ 剂量；

n 为 28 至 341, 以使该化合物的聚合物部分的总分子量为 5,000 至 60,000 道尔顿；且所述有效量为该化合物中包含的 7- 乙基 -10- 羟基喜树碱的重量。

23. 权利要求 22 的用途, 其中所述癌症对于喜树碱或依立替康为抵抗性的或顽固性的, 且 n 为 227, 以使该化合物的聚合物部分的总分子量为 40,000 道尔顿。

24. 权利要求 1 的用途, 其中所述抵抗性和顽固性癌症表达低氧诱导性因子 -1 α 。

25. 权利要求 1 的用途, 其中所述化合物每周给药 1 次持续 3 周然后停用 1 周。

26. 权利要求 1 的用途, 其中所述化合物每 3 周给药 1 次。

27. 权利要求 23 的用途, 其中所述化合物每周给药 1 次持续 3 周然后停用 1 周。

28. 权利要求 23 的用途, 其中所述化合物每 3 周给药 1 次。

29. 权利要求 23 的用途, 其中所述化合物以 5 或 10mg/m²/ 剂量的量给药, 其中该量为化合物中包含的 7- 乙基 -10- 羟基喜树碱的重量。

30. 权利要求 23 的用途, 其中所述对于依立替康治疗为抵抗性的或顽固性的癌症为顽固性结肠直肠癌、顽固性急性淋巴细胞性白血病、顽固性淋巴瘤、顽固性肺癌、顽固性乳腺癌、顽固性胰腺癌、顽固性卵巢癌、顽固性胃癌。

31. 权利要求 23 的用途, 其中所述抵抗性的或顽固性的癌症表达低氧诱导性因子 -1 α 。

用 7- 乙基 -10- 羟基喜树碱的多臂聚合缀合物治疗抵抗性 或顽固性癌症

[0001] 相关申请的交叉参考

[0002] 本申请要求 2007 年 2 月 9 日提交的美国临时专利申请 60/900, 592 的优先权, 其内容在此引入作为参考。

技术领域

[0003] 本发明涉及治疗抵抗性或顽固性癌症的方法。尤其是, 本发明涉及使用 7- 乙基 -10- 羟基喜树碱的聚乙二醇缀合物治疗对于喜树碱或 CPT-11 是抵抗性 (resistant) 的或顽固性 (refractory) 的癌症的方法。

[0004] 发明背景

[0005] 几年来, 已经报导许多常见癌症表现出对于治疗的抵抗性 (resistance) 或顽固性现象。一些癌症根本不响应或开始响应但很短时间后变得抵抗治疗。其它癌症对于包括早期成功的治疗周期后的后续治疗周期的治疗没有响应。在其它情况中, 癌症在完成有效治疗的几年后复发。如果对于化学治疗、放射治疗或其它癌症治疗的抵抗或顽固现象能够被预防或克服, 那么这将是医药领域中的重大进步。

[0006] 许多抗癌药物对于治疗癌症的作用已经得到了发展。非常不幸, 那些可能的抗癌药物中许多都表现出由于不同机理的药物抵抗。初期短期的治疗响应后, 一些肿瘤对于某些抗癌药物没有响应。在一些情况中, 尽管癌症初期对于抗癌药物有响应, 但肿瘤的缩小逆转且肿瘤开始再次生长。

[0007] 一种有效的抗癌药物是喜树碱。已知喜树碱及相关类似物为 DNA 拓扑异构酶 I 抑制剂。依立替康 (CPT-11, **Camptosar®**) 是现在上市的具有一些抗癌活性的 DNA 拓扑异构酶 I 抑制剂。虽然还没有上市, 但认为 CPT-11 的活性代谢产物, 7- 乙基 -10- 羟基喜树碱也具有一些抗癌活性。与其它抗癌药物相同, 使用喜树碱和喜树碱衍生物观察到了药物抵抗。例如, 对于 9- 氨基或 9- 硝基取代的喜树碱的抵抗已经在常见癌症中有所报导。参见美国专利 6, 194, 579。

[0008] 已经有多种提议用于克服与抗癌药物相关的药物抵抗或顽固现象。一种早期用于克服与喜树碱或喜树碱类似物相关的障碍的尝试涉及开发更低毒性的 CPT 衍生物。其它尝试包括使用可能的药物抵抗阻断剂, 例如表皮生长因子受体拮抗剂和 Na^+/K^+ ATP 酶抑制剂。参见美国专利公开号 2002/0012663 和 2006/0135468。

[0009] 尽管有这些尝试和发展, 但仍需要提供治疗抵抗性或顽固性癌症的方法。本发明解决了该需求。

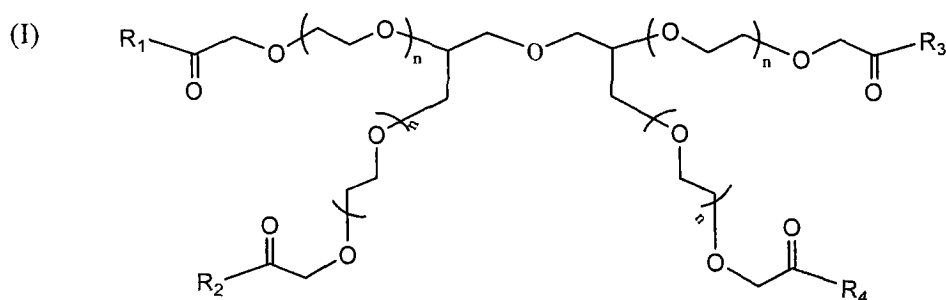
[0010] 发明概述

[0011] 为了克服上述问题并改善对于癌症治疗的治疗, 本发明提供了在哺乳动物中治疗抵抗性或顽固性癌症的方法。

[0012] 在本发明的一个方面中, 提供了在哺乳动物中治疗抵抗性或顽固性癌症的方法, 包括:

[0013] 向所述哺乳动物给药有效量的式 (I) 化合物或其药学可接受的盐：

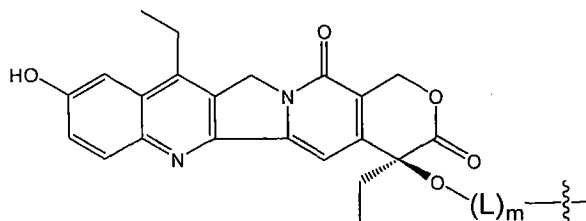
[0014]



[0015] 其中

[0016] R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 独立地为 OH 或

[0017]



[0018] 其中

[0019] L 为双官能连接基；

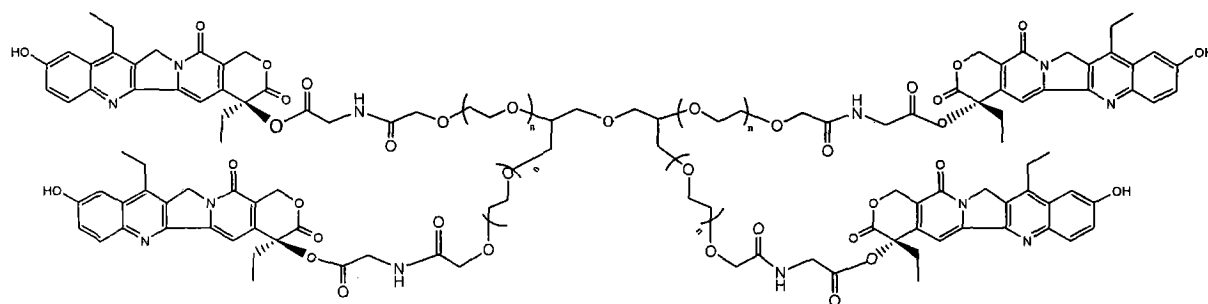
[0020] m 为 0 或正整数；且

[0021] n 为正整数；

[0022] 条件是 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 不全为 OH。

[0023] 在本发明的一个具体的方面中，治疗抵抗性或顽固性癌症的 7-乙基-10-羟基喜树碱的聚合前药使用具有下述结构的四臂 PEG-7-乙基-10-羟基喜树碱缀合物：

[0024]



[0025] 其中 n 为约 28 至约 341，优选约 114 至约 227，且更优选约 227。

[0026] 能够使用本文所述的方法治疗的抵抗性或顽固性癌症包括：实体瘤、淋巴瘤、肺癌、小细胞肺癌、急性淋巴细胞性白血病 (ALL)、乳腺癌、结肠直肠癌、胰腺癌、恶性胶质瘤、卵巢癌和胃癌。上述列举并不排除其它情况，且当然本领域技术人员将知道其它本文没有具体列出的抵抗性或顽固性癌症也包括在本发明的范围内。

[0027] 本发明的一个方面提供了治疗对于化学治疗抵抗或顽固的癌症的方法。在一个具体方面中，本发明的治疗对于对喜树碱 (CPT) 或 CPT-11 相关治疗抵抗或顽固性的癌症是有效的。或者，本发明提供了治疗表现出拓扑异构酶 I 介导的抵抗或顽固现象的癌症的方法。

[0028] 在另一方面，本发明提供了治疗对于下述治疗抵抗或顽固的癌症的方法，所述治

疗涉及给药 CPT 或 CPT-11 的聚合前药形式,如 CPT 或 CPT-11 的聚乙二醇缀合物。

[0029] 本发明的 7-乙基-10-羟基喜树碱的聚合前药对于抵抗性或顽固性癌症在治疗开始或随后的治疗周期是有效的。本发明可治疗对于 CPT-11 敏感的顽固性癌症,即在第一周期的治疗 (first round treatment) 被抑制但在第二或随后周期的治疗中产生抗性。7-乙基-10-羟基喜树碱的聚合前药还能对于治疗中断后的复发癌症提供有效治疗。

[0030] 在本发明的另一方面中,基于缀合物的非聚合部分,7-乙基-10-羟基-喜树碱的聚合前药以约 0.1 至约 45mg/m²/ 剂量 (dose) 的量给药。本文所述的聚合前药对于每个治疗周期每 3 周给药 1 次,或对于每个周期每周 1 次持续 3 周,然后对每个周期停止 1 周,直到观察到所需结果。

[0031] 本发明的一个优点是病人可以同时或顺序用有效量的 7-乙基-10-羟基喜树碱的聚合前药与其它抗癌治疗药物组合治疗,以提供协同作用。

[0032] 本发明的另一个优点为与现有技术药物制剂相比本文所述的前药制剂降低了毒性和 / 或克服了遇到的困难。

[0033] 其它和进一步的优点从下述说明书和附图中是明显的。

[0034] 出于本发明的目的,术语“残基”应理解为是指化合物 (即其涉及 7-乙基-10-羟基喜树碱,氨基酸等) 的一部分,其在经过用其它化合物的取代反应后保留。

[0035] 出于本发明的目的,术语“含聚合物的残基 (polymeric containing residue)”或“PEG 残基”各自应该理解为是指聚合物或 PEG 的一部分,其在经过与含 7-乙基-10-羟基喜树碱的化合物反应后保留。

[0036] 出于本发明的目的,本文所用的术语“烷基”是指饱和的脂肪烃,包括直链、支链和环状烷基。术语“烷基”也包括烷硫基-烷基 (alkyl-thio-alkyl)、烷氧基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、C₁₋₆ 烃基。优选地,烷基具有 1-12 个碳。更优选,其为低级烷基,具有约 1-7 个碳,且更优选约 1-4 个碳。烷基可以是取代的或未取代的。当被取代时,取代基优选包括:卤素、氧基、叠氮基、硝基、氰基、烷基、烷氧基、烷硫基、烷硫基-烷基、烷氧基烷基、烷基氨基、三卤甲基、羟基、巯基、羟基、氰基、烷基甲硅烷基、环烷基、环烷基烷基、杂环烷基、杂芳基、烯基、炔基、C₁₋₆ 烃基、芳基和氨基。

[0037] 出于本发明的目的,本文所用的术语“取代的”是指加入一个下述部分或用一下述部分替换官能团或化合物中所含的一个或多个原子:卤素、氧基、叠氮基、硝基、氰基、烷基、烷氧基、烷硫基、烷硫基-烷基、烷氧基烷基、烷基氨基、三卤甲基、羟基、巯基、羟基、氰基、烷基甲硅烷基、环烷基、环烷基烷基、杂环烷基、杂芳基、烯基、炔基、C₁₋₆ 烃基、芳基和氨基。

[0038] 本文使用的术语“烯基”是指含有至少一个碳-碳双键的基团,包括直链、支链和环状基团。优选地,所述烯基具有约 2-12 个碳。更优选地,其为低级烯基,具有约 2-7 个碳,更优选地约 2-4 个碳。所述烯基可以是取代的或未取代的。当取代时,取代基优选包括:卤素、氧基、叠氮基、硝基、氰基、烷基、烷氧基、烷硫基、烷硫基-烷基、烷氧基烷基、烷基氨基、三卤甲基、羟基、巯基、羟基、氰基、烷基甲硅烷基、环烷基、环烷基烷基、杂环烷基、杂芳基、烯基、炔基、C₁₋₆ 烃基、芳基和氨基。

[0039] 本文使用的术语“炔基”是指含有至少一个碳-碳三键的基团,包括直链、支链和环状基团。优选地,所述炔基具有约 2-12 个碳。更优选地,其为低级炔基,具有约 2-7 个碳,

更优选约 2-4 个碳。所述炔基可以为取代的或未取代的。当取代时,取代基优选包括:卤素、氧基、叠氮基、硝基、氰基、烷基、烷氧基、烷硫基、烷硫基-烷基、烷氧基烷基、烷基氨基、三卤甲基、羟基、巯基、羟基、氰基、烷基甲硅烷基、环烷基、环烷基烷基、杂环烷基、杂芳基、烯基、炔基、 C_{1-6} 烃基、芳基和氨基。”炔基”的实例包括炔丙基、丙炔和 3-己炔。

[0040] 本文使用的术语“芳基”是指含有至少一个芳环的芳香烃环体系。该芳香环任选为稠合的,或与其它芳香烃环或非芳香烃环连接。芳基的实例包括,例如,苯基、萘基、1,2,3,4-四氢萘和联苯基。芳基的优选实例包括苯基和萘基。

[0041] 本文使用的术语“环烷基”是指 C_{3-8} 环烃。环烷基的实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。

[0042] 本文使用的术语“环烯基”是指含有至少一个碳-碳双键的 C_{3-8} 环烃。环烯基的实例包括环戊烯基、环戊二烯基、环己烯基、1,3-环己二烯基、环庚烯基、环庚三烯基和环辛烯基。

[0043] 本文使用的术语“环烷基烷基”是指被 C_{3-8} 环烷基取代的烷基。环烷基烷基的实例包括环丙基甲基和环戊基乙基。

[0044] 本文使用的术语“烷氧基”是指具有指定碳原子数且通过氧桥与母体分子部分相连的烷基。烷氧基的实例包括,例如,甲氧基、乙氧基、丙氧基和异丙氧基。

[0045] 本文使用的“烷基芳基”是指被烷基取代的芳基。

[0046] 本文使用的“芳烷基”是指被芳基取代的烷基。

[0047] 本文使用的术语“烷氧基烷基”是指被烷氧基取代的烷基。

[0048] 本文使用的术语“烷硫基-烷基”是指烷基-S-烷基硫醚,例如甲硫基甲基或甲硫基乙基。

[0049] 本文使用的术语“氨基”是指本领域已知的通过用有机基团替换一个或多个氢基团而从氮衍生的含氮基团。例如,术语“酰基氨基”和“烷基氨基”分别是具有酰基和烷基取代基的特定 N-取代的有机基团。

[0050] 本文使用的术语“烷基羰基”是指被烷基取代的羰基。

[0051] 本文使用的术语“卤素”或“卤”是指氟、氯、溴和碘。

[0052] 本文使用的术语“杂环烷基”是指含有至少一个杂原子的非芳香环体系,所述杂原子选自:氮、氧和硫。杂环烷基环可任选与其它杂环烷基环和/或非芳香烃环稠合,或与它们相连。优选的杂环烷基具有 3-7 元。杂环烷基的实例包括,例如,哌嗪、吗啉、哌啶、四氢呋喃、吡咯烷和吡唑。优选的杂环烷基包括哌啶基、哌嗪基、吗啉基和吡咯烷基。

[0053] 本文使用的术语“杂芳基”是指含有至少一个杂原子的芳香环体系,所述杂原子选自:氮、氧和硫。杂芳基环可以与一个或多个杂芳基环、芳香或非芳香烃环或杂环烷基环稠合,或与它们相连。杂芳基的实例包括,例如,吡啶、呋喃、噻吩、5,6,7,8-四氢异喹啉和噻啶。杂芳基的优选实例包括噻吩基、苯并噻吩基、吡啶基、喹啉基、吡嗪基、嘧啶基、咪唑基、苯并咪唑基、呋喃基、苯并呋喃基、噻唑基、苯并噻唑基、异噻唑基、噻二唑基、异噻唑基、苯并异噻唑基、三唑基、四唑基、吡咯基、吡唑基和苯并吡唑基。

[0054] 本文使用的术语“杂原子”是指氮、氧和硫。

[0055] 在一些实施方案中,取代的烷基包括:羧基烷基、氨基烷基、二烷基氨基、羟基烷基和巯基烷基;取代的烯基包括:羧基烯基、氨基烯基、二烯基氨基、羟基烯基和巯基烯基;取

代的炔基包括：羧基炔基、氨基炔基、二炔基氨基、羟基炔基和巯基炔基；取代的环烷基包括如 4-氯环己基的部分；芳基包括如萘基的部分；取代的芳基包括如 3-溴苯基的部分；芳烷基包括如甲苯基的部分；杂烷基包括如乙基噻吩的部分；取代的杂烷基包括如 3-甲氧基-噻吩的部分；烷氧基包括如甲氧基的部分；且苯氧基包括包括如 3-硝基苯氧基的部分。

[0056] 出于本发明的目的，“正整数”应该理解为包括等于或大于 1 的整数，且本领域技术人员将理解其在普通领域技术人员理解的合理范围内。

[0057] 出于本发明的目的，术语“有效量”和“足量”应该指实现所需效果或治疗效果的量，该效果是本领域普通技术人员能够理解的。

附图说明

[0058] 图 1 表示如实施例 1 所述在治疗 CPT-11 顽固性结肠直肠肿瘤中四臂 PEG-Gly-7-乙基-10-羟基喜树碱的抗癌活性。

[0059] 图 2 表示如实施例 2 所述在治疗 CPT-11 顽固性结肠直肠肿瘤中四臂 PEG-Gly-7-乙基-10-羟基喜树碱的抗癌活性。

[0060] 图 3 表示如实施例 3 所述在对于 CPT 顽固性的细胞中四臂 PEG-Gly-7-乙基-10-羟基喜树碱的体外细胞毒性。

[0061] 图 4 表示如实施例 3 所述在对于 CPT 非顽固性的细胞中四臂 PEG-Gly-7-乙基-10-羟基喜树碱的体外细胞毒性。

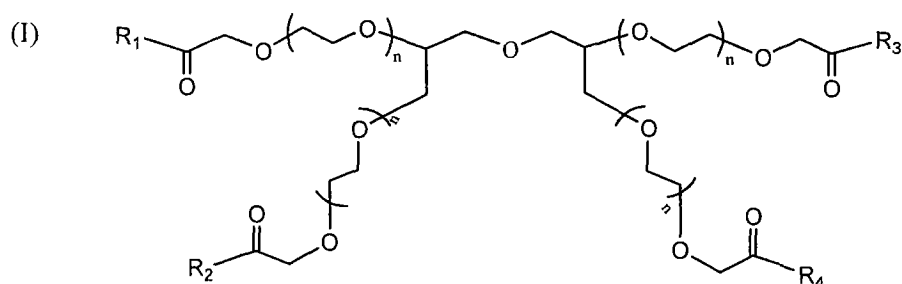
[0062] 发明详述

[0063] A. 概述

[0064] 在本发明的一个方面中，提供了在哺乳动物中治疗抵抗性或顽固性癌症的方法，包括：

[0065] 向由此需要的哺乳动物给药有效量的式 (I) 化合物或其药学可接受的盐：

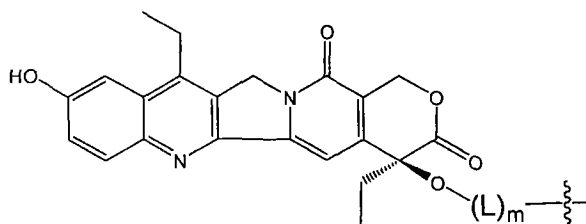
[0066]



[0067] 其中

[0068] R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 独立地为 OH 或

[0069]



[0070] 其中

[0071] L 为双官能连接基；

[0072] m 为 0 或正整数, 优选 1；且

[0073] n 为正整数；

[0074] 条件是 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 不全为 OH。

[0075] 在另一个实施方案中, R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 中的 1 个、2 个或 3 个可以为 CH_3 。

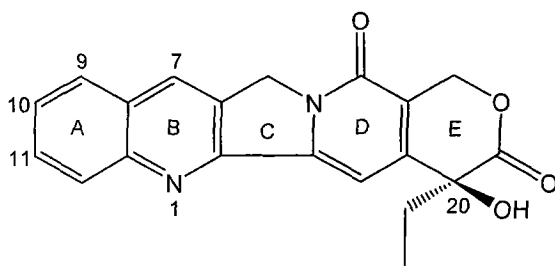
[0076] 出于本发明的目的, 顽固性或抵抗性癌症被定义为对于以前的治疗或疗法没有响应的癌症。在一个优选方面, 所述癌症对于 CPT-11 治疗是顽固性或抵抗性的。所述癌症可以是在治疗开始时就是抵抗性或顽固性的, 或治疗中可能变为抵抗性或顽固性的。顽固性癌症包括在治疗开始时没有响应, 或初始短期有响应但对治疗没有响应的肿瘤。顽固性癌症还包括对于抗癌治疗有响应, 但对于随后的治疗周期没有响应的肿瘤。出于本发明的目的, 顽固性癌症还包括看起来被抗癌治疗抑制, 但中断治疗后最多 5 年 (有时高达 10 年或更长时间) 复发的肿瘤。抗癌治疗可使用单独的化学治疗药物, 单独的放射或其组合。为了说明并不是为了限制, 将理解顽固性癌症与抵抗性癌症可互换使用。

[0077] 出于本发明的目的, 抵抗性或顽固性癌症的成功治疗应理解是指: 在抗癌治疗期间和 / 或之后与没有本文所述的治疗相比, 抵抗性或顽固性症状或病症被预防、最小化或缓解。被最小化、缓解或预防的顽固性病症可以通过本领域技术人员考虑的临床指标证实。在一个实施例中, 当与不存在本文所述的治疗时相比, 当肿瘤生长和 / 或复发中实现至少 5% 或优选 10%, 更优选 20% 或更高 (即, 30、40、50% 或更高) 抑制或下降时 (包括本领域技术人员考虑的其它临床指标), 应该认为成功治疗了顽固性或抵抗性癌症。表示顽固性癌症的严重度和程度改变的临床指标可由临床医师确定。在一些方面, 抵抗性或顽固性癌症可以为下述一种或多种: 实体瘤、淋巴瘤、小细胞肺癌、急性淋巴细胞性白血病 (ALL)、胰腺癌、恶性胶质瘤、卵巢癌、胃癌等。这些方法在哺乳动物中用于 (除了其它以外) 治疗瘤疾病、降低肿瘤负荷、预防肿瘤转移和预防肿瘤 / 瘤生长复发。在某一方面, 所述抵抗性或顽固性癌症为实体瘤或转移癌。在一个具体方面, 所述抵抗性或顽固性癌症为结肠直肠癌。

[0078] 本发明提供了治疗对于化疗抵抗或顽固的癌症的方法。在一个优选方面, 本发明提供了治疗对于喜树碱 (CPT) 或喜树碱类似物治疗抵抗或顽固的癌症的方法。或者, 本文所述的方法可有效治疗对于 CPT 或与聚合物 (例如聚乙二醇) 缀合的 CPT 类似物抵抗或顽固的癌症的方法。在更优选的方面, 本发明提供了治疗对于喜树碱或 CPT-11 治疗抵抗或顽固的癌症的方法。

[0079] 喜树碱和一些相关的类似物具有下述结构:

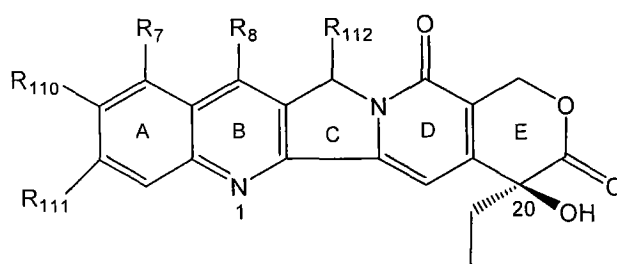
[0080]



[0081] 从该母核结构,已经制备了一些已知的类似物。例如,A环在10-位和/或11-位可以被OH取代。A环还可以被直链或支链 C_{1-30} 烷基或 C_{1-17} 烷氧基取代,任选通过杂原子(即-O或-S)与环相连。B环可以在7-位被直链或支链 C_{1-30} 烷基(优选 C_2 烷基)、 C_{5-8} 环烷基、 C_{1-30} 烷氧基、苯基烷基等,烷基氨基甲酸酯、烷基卡巴肼、苯基肼衍生物等取代。其它取代可能在C、D和E环中。参见,例如,美国专利号5,004,758;4,943,579;4,473,692;RE32,518,其内容在此引入作为参考。10-羟基喜树碱、11-羟基喜树碱和10,11-二羟基喜树碱类似物是天然产物,其为*C. Acuminata*及其亲缘类中较少含有的成分之一。这些化合物的其它取代,即7-烷基-、7-取代的烷基-、7-氨基-、7-氨基烷基-、7-芳烷基-、9-烷基-、9-芳烷基-喜树碱等衍生物,使用已知合成技术制得。一些喜树生物碱具有下述结构:

[0082]

(II)



[0083] 在上述结构中, R_7 为下述之一: NO_2 、 NH_2 、 N_3 、氢、卤素(F、Cl、Br、I)、 $COOH$ 、OH、 $O-C_{1-8}$ 烷基、SH、 $S-C_{1-3}$ 烷基、CN、 CH_2NH_2 、 $NH-C_{1-3}$ 烷基、 CH_2-NH-C_{1-3} 烷基、 $N(C_{1-3}烷基)_2$ 、 $CH_2N(C_{1-3}烷基)$),

[0084] O-, NH- 和 $S-CH_2CH_2N(CH_2CH_2OH)_2$,

[0085] O-, NH- 和 $S-CH_2CH_2CH_2N(CH_2CH_2OH)_2$,

[0086] O-, NH- 和 $S-CH_2CH_2N(CH_2CH_2CH_2OH)_2$,

[0087] O-, NH- 和 $S-CH_2CH_2CH_2N(CH_2CH_2CH_2OH)_2$,

[0088] O-, NH- 和 $S-CH_2CH_2N(C_{1-3}烷基)_2$,

[0089] O-, NH- 和 $S-CH_2CH_2CH_2N(C_{1-3}烷基)_2$,

[0090] CHO 或 C_{1-3} 烷基。

[0091] 在上述结构(II)中, R_8 可以为H或 C_{1-8} 烷基(优选 C_2 烷基)或 $CH_2NR_9R_{10}$,其中

[0092] (a) R_9 和 R_{10} 独立地为:氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、 C_{3-7} 环烷基- C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、羟基- C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-6} 烷基;或者

[0093] (b) R_9 可以为氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、 C_{3-7} 环烷基- C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、羟基- C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-6} 烷基,且 R_{10} 可以为 $-COR_{11}$,其中 R_{11} 为氢、 C_{1-6} 烷基、全卤- C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、 C_{3-7} 环烷基- C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、羟基- C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-6} 烷基;或

[0094] (c) R_9 和 R_{10} 与和它们相连的氮原子一起形成含有O、S或 NR_{12} 基团的饱和的3-7元杂环,其中 R_{12} 为氢、 C_{1-6} 烷基、全卤- C_{1-6} 烷基、芳基、被一个或多个选自下述的基团取代的芳基: C_{1-6} 烷基、卤素、硝基、氨基、 C_{1-6} 烷基氨基、全卤- C_{1-6} 烷基、羟基- C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-6} 烷基和 $-COR_{13}$,其中 R_{13} 为氢、 C_{1-6} 烷基、全卤- C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、芳

基和被一个或多个下述基团取代的芳基： C_{1-6} 烷基、全卤 $-C_{1-6}$ 烷基、羟基 $-C_{1-6}$ 烷基或 C_{1-6} 烷氧基 $-C_{1-6}$ 烷基；

[0095] R_{110} - R_{111} 各自独立地选自：氢；卤素；酰基；烷基（如， C_{1-6} 烷基）；取代的烷基；烷氧基（如， C_{1-6} 烷氧基）；取代的烷氧基；烯基；炔基；环烷基；羟基；氰基；硝基；叠氮基；酰氨基；肼；氨基；取代的氨基（如，单烷基氨基和二烷基氨基）；羟基羰基（hydroxycarbonyl）；烷氧基羰基；烷基羰基氧基；烷基羰基氨基；氨基甲酰基氧基；芳基磺酰基氧基；烷基磺酰基氧基； $-C(R_{117}) = N-(O)_j-R_{118}$ ，其中 R_{117} 为 H、烷基、烯基、环烷基或芳基，j 为 0 或 1，且 R_{118} 为 H、烷基、烯基、环烷基或杂环基；和 $R_{119}C(O)O-$ ，其中 R_{119} 为卤素、氨基、取代的氨基、杂环基、取代的杂环基或 $R_{120}-O-(CH_2)_k-$ ，其中 k 为 1-10 的整数，且 R_{120} 为烷基、苯基、取代的苯基、环烷基、取代的环烷基、杂环基或取代的杂环基；或

[0096] R_7 与 R_{110} 一起或 R_{110} 与 R_{111} 一起形成取代的或未取代的亚甲基二氧基、亚乙基二氧基或亚乙基氧基；且

[0097] R_{112} 为 H 或 OR' ，其中 R' 为烷基、烯基、环烷基、卤代烷基或羟基烷基。

[0098] 该芳基可以为苯基和萘基。当 R_9 和 R_{10} 与和它们相连的氮原子一起时，适合的杂环包括：氮丙啶、氮杂环丁烷、吡咯烷、哌啶、六亚甲基亚胺（hexamethylenimine）、咪唑烷、吡唑烷、异噁唑烷、哌嗪、N-甲基哌嗪、四氢氮杂 **革**、N-甲基四氢氮杂 **革**、噻唑烷等。

[0099] 在本发明的另一方面，本发明的治疗包括向患有抵抗性或顽固性癌症（表现拓扑异构酶 I 介导的抵抗或顽固现象）的哺乳动物给药有效量的本文所述的化合物。

[0100] 在另一些方面，本发明提供了治疗抵抗性或顽固性癌症的方法，其涉及单独放射治疗或放射治疗与第二种化学治疗组合。放射治疗的标准方法是本领域中已知的，且因此使用本文所述的化合物的组合治疗可以无需过多实验而实现。

[0101] 在另一个方面，本发明的治疗包括单独给药有效量的本文所述的化合物，或同时或顺序（sequentially）与第二化学治疗药物组合给药。7-乙基-10-羟基喜树碱的多臂聚合前药可以与化学治疗药物同时给药，或在给药化学治疗药物后再给药。因此，本发明中使用的化合物在给药第二化学治疗药物的过程中或之后给药。

[0102] 例如，第二化学治疗药物的非限制性列表包括：

[0103] (i) DNA 拓扑异构酶抑制剂：阿霉素、安吡啶、喜树碱、CPT-11、柔红霉素、放线菌素 D、多柔比星、去羟桅子甙（eniposide）、表柔比星、依托泊苷、伊达比星或米托蒽醌；

[0104] (ii) 微管抑制药，如紫杉烷、包括紫杉醇、多西紫杉醇、长春新碱、长春碱、诺考达唑、埃博霉素（epothilones）和诺维本；

[0105] (iii) DNA 损伤药：放线菌素、安吡啶、蒽环类抗生素、博来霉素、白消安、喜树碱、卡铂、苯丁酸氮芥、顺铂、环磷酰胺（cyclophosphamide）、环磷酰胺（cytoxan）、放线菌素 D、柔红霉素、多西紫杉醇、多柔比星、表柔比星、六甲蜜胺、奥沙利铂、异环磷酰胺、美法仑、甲氯乙胺（merchlorehtamine）、丝裂霉素、米托蒽醌、亚硝基脲、普卡霉素、丙卡巴肼、泰素、泰索帝、替尼泊苷、三亚乙基硫代磷酰胺或依托泊苷（VP16）；

[0106] (iv) 抗代谢药：叶酸（folate）拮抗剂；和

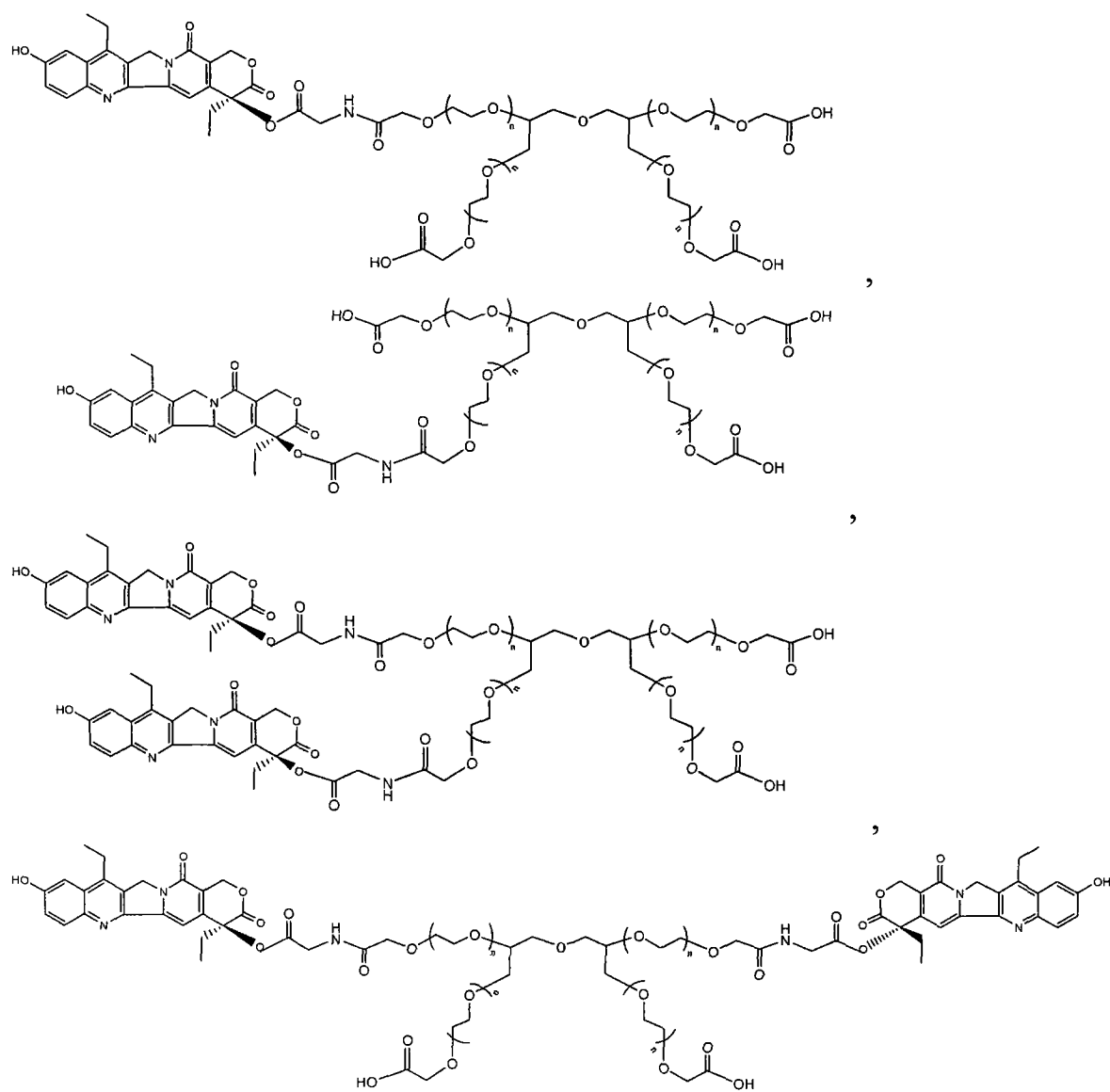
[0107] (v) 核苷类似物：5-氟尿嘧啶；阿糖胞苷（cytosine arabinoside）、阿扎胞苷、6-巯基嘌呤、硫唑嘌呤；5-碘代-2'-脱氧尿苷；6-巯鸟嘌呤、2-脱氧助间型霉素、克拉屈滨、阿糖胞苷（cytarabine）、氟达拉滨、巯基嘌呤、硫鸟嘌呤、喷司他丁、AZT（齐多夫定）、

ACV、伐昔洛韦 (valacyclovir)、泛昔洛韦 (famciclovir)、阿昔洛韦、西多福韦、喷昔洛韦、更昔洛韦、利巴韦林、ddC、ddI (扎西他滨)、拉米夫定 (lamivudine)、阿巴卡韦、阿德福韦、去羟肌苷、d4T (司他夫定)、3TC、BW 1592、PMEA/bis-POM PMEA、ddT、HPMPC、HPMPG、HPMPA、PMEA、PMEG、dOTC;DAPD、Ara-AC、喷司他丁、二氢-5-氮杂胞苷、噻唑呋林 (tiazofurin)、桑霉素、Ara-A (阿糖腺苷)、6-MMPR、5-FUDR (氟尿苷)、阿糖胞苷 (Ara-C;阿糖胞苷)、5-氮杂胞苷 (阿扎胞苷)、HBG[9-(4-羟基丁基)鸟嘌呤]、(1S,4R)-4-[2-氨基-6-环丙基-氨基]-9H-嘌呤-9-基]-2-环戊烯-1-甲醇琥珀酸盐 ("159U89")、尿苷、胸腺嘧啶脱氧核苷、碘苷、3-去氮杂尿苷、安西他滨、二氢-5-氮杂胞苷、曲西立滨、利巴韦林、氟达拉滨 (fludarabine)、阿昔洛韦、1-β-D-阿拉伯呋喃糖基-E-5-(2-溴乙烯基)尿嘧啶、2'-氟碳环-2'-脱氧鸟苷;6'-氟碳环-2'-脱氧鸟苷;1-(β-D-阿拉伯呋喃糖基)-5(E)-(2-碘乙烯基)尿嘧啶;{(1r-1α,2β,3α)-2-氨基-9-(2,3-二(羟基甲基)环丁基)-6H-嘌呤-6-酮}洛布卡韦、9H-嘌呤-2-胺、9-((2-(1-甲基乙氧基)-1-((1-甲基乙氧基)-甲基)乙氧基)甲基)-(9Cl);三氟胸腺嘧啶脱氧核苷、9->(1,3-二羟基-2-丙氧基)-甲基鸟嘌呤 (更昔洛韦)、5-乙基-2'-脱氧尿苷;E-5-(2-溴乙烯基)-2'-脱氧尿苷;5-(2-氯乙基)-2'-脱氧尿苷、布昔洛韦、6-脱氧阿昔洛韦;9-(4-羟基-3-羟基甲基丁-1-基)鸟嘌呤、E-5-(2-碘乙烯基)-2'-脱氧尿苷、5-乙基-1-β-D-阿拉伯呋喃糖基尿嘧啶、1-β-D-阿拉伯呋喃糖基胸腺嘧啶;2'-去甲-2'-脱氧鸟苷;和1-β-D-阿拉伯呋喃糖基腺嘌呤。

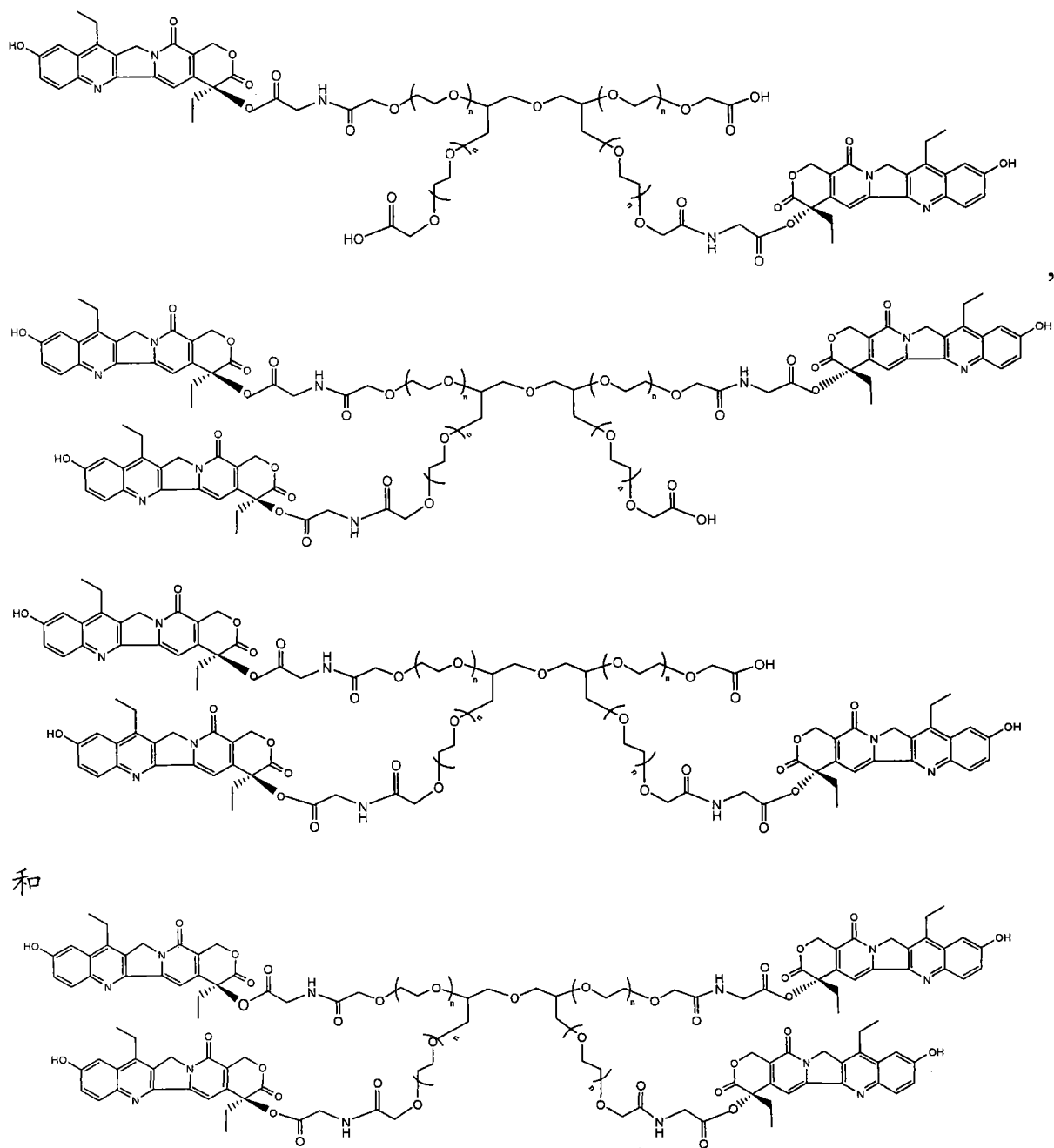
[0108] 其它可能的抗癌药选自:六甲蜜胺、氮鲁米特、安吡啶、阿那曲唑、门冬酰胺酶、bcg、比卡鲁胺、博来霉素、布舍瑞林、白消安、亚叶酸钙、喜树碱、卡培他滨、卡铂、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、顺铂、克拉屈滨、氯膦酸盐、秋水仙碱、天冬酰胺酶 (crisantaspase)、环磷酰胺、环丙孕酮、阿糖胞苷、达卡巴嗪、放线菌素 D、柔红霉素、己二烯雌酚、己烯雌酚、多西紫杉醇、多柔比星、表柔比星、雌二醇、雌莫司汀、依托泊苷、依西美坦、非格司亭、氟达拉滨、氟氢可的松、氟尿嘧啶、氟甲睾酮、氟他胺、吉西他滨、高金雀花碱 (genistein)、戈舍瑞林、羟基脲、伊达比星、异环磷酰胺、伊马替尼、干扰素、依立替康、伊浓替康 (ironotecan)、来曲唑、亚叶酸、醋酸亮丙瑞林、左旋咪唑、洛莫司汀、氮芥、甲羟孕酮、甲地孕酮、美法仑、巯基嘌呤、美司钠、甲氨蝶呤、丝裂霉素、米托坦、米托蒽醌、尼鲁米特、诺考达唑、奥曲肽、奥沙利铂、紫杉醇、帕米膦酸二钠、喷司他丁、普卡霉素、吡非尔钠、丙卡巴肼、雷替曲塞、美罗华、链佐星、苏拉明、他莫昔芬、替莫唑胺、替尼泊苷、睾酮、硫鸟嘌呤、塞替派、二氯环戊二烯钛、托泊替康、曲妥单抗、维甲酸、长春碱、长春新碱、长春地辛和长春瑞滨。其它许多抗癌药物列于美国专利公开号 2006/0135468 中,其内容在此引入作为参考。本领域普通技术人员能够理解,递送第二化学治疗药物的量和方案可以根据要治疗的病况适当的改变,且本领域普通技术人员识别第二化学治疗药物的可接受的量和给药方案。本领域普通技术人员能够成功确定这些第二药物的剂量范围,而不需要过多实验。

[0109] 在本发明的某一实施方案中,使用下述化合物治疗抵抗性或顽固性癌症:

[0110]

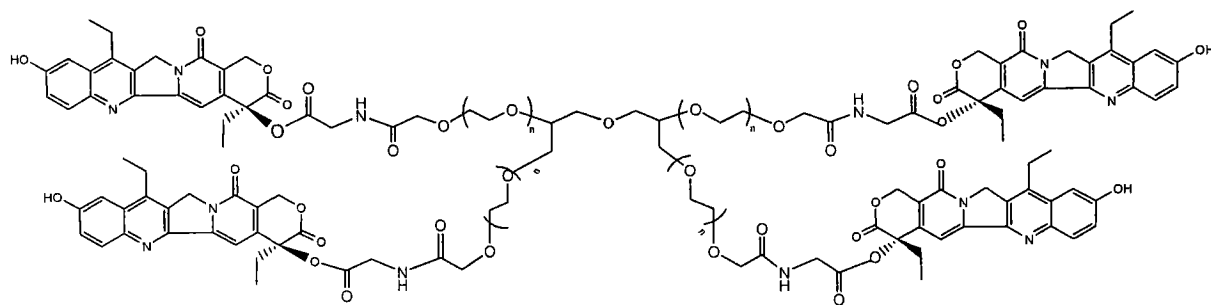


[0111]



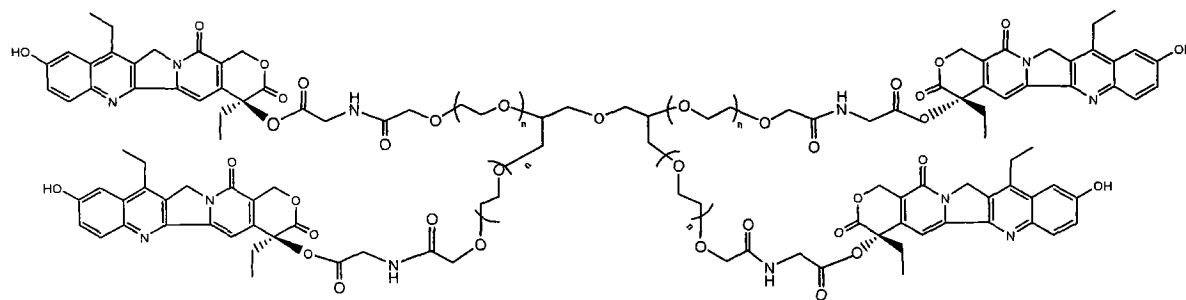
[0112] 一个尤其优选的化合物为：

[0113]



[0114] 其中聚合物的所有四臂通过甘氨酸与 7-乙基-10-羟基喜树碱缀合,且 n 为约 28 至约 341, 优选约 114 至约 227, 或更优选约 227。本发明的一个优选实施方案 (化合物 9) 的分子量为约 40,000da, 且具有下述结构：

[0115]



[0116] 不受任何理论的限制,认为本文所述的方法在 CPT-11 顽固性肿瘤的治疗中的不可预期的功效至少部分归因于本文所述的聚合化合物的优异的药代动力学和生物分布性质。本文所述的化合物的不可预期的功效也部分基于新颖的药物体内作用机理。已有报导,托泊替康(另一种 TOP1 抑制剂)抑制低氧诱导性因子(hypoxia-inducible factor)(HIF)-1 α ,导致血管发生明显降低和明显的肿瘤生长抑制。与该观察一致,认为本发明的治疗诱导细胞中 HIF-1 α 下降,然后由于 EPR 作用将本文所述的化合物聚集到 CPT-11 顽固性(或敏感性)肿瘤中。然而,认为 CPT-11 不能诱导 CPT-11 顽固性肿瘤中的 HIF-1 α 降低,导致更多的血管发生。在该方面,高血管瘤的治疗能够从本发明所述的化合物的聚集(由于增强的 EPR 效果)中得到益处。

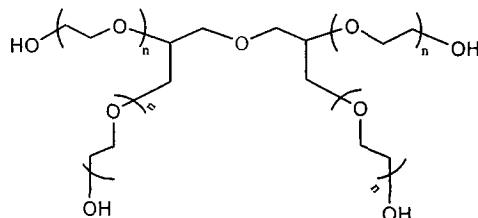
[0117] 也已经报导 CPT-11 抵抗性肿瘤可具有较低水平的 TOP1,因为低水平的 TOP1 与组织培养中的 CPT-11 抵抗相关。根据本文所述治疗的 7-乙基-10-羟基喜树碱的聚合酯衍生物也可使 7-乙基-10-羟基喜树碱比 CPT-11 于体内更高地暴露于细胞。药物浓度可足以杀死细胞,即使是低水平的 TOP1。或者,不同水平的羧基酯酶可为 CPT-11 抵抗的另一起作用因素,且对于从本文所述的 7-乙基-10-羟基喜树碱缀合物的聚合酯衍生物释放 7-乙基-10-羟基喜树碱,不需要该酶。

[0118] B. 7-乙基-10-羟基-喜树碱的多臂聚合缀合物

[0119] 1. 多臂聚合物

[0120] 7-乙基-10-羟基喜树碱的聚合前药包括通过双官能连接基连接至 7-乙基-10-羟基喜树碱的 20-OH 的四臂 PEG。在本发明的一个方面中,缀合前,7-乙基-10-羟基-喜树碱的聚合前药包括四臂 PEG,其具有下述结构:

[0121]



[0122] 其中 n 为正整数。

[0123] 聚合物描述于 NOF Corp. Drug Delivery System catalog, Ver. 8, 2006 年四月中,其内容在此引入作为参考。

[0124] 在本发明的一个优选实施方案中,聚合物的聚合度(n)为约 28 至约 341 以提供总分子量为约 5,000Da 至约 60,000Da 的聚合物,优选约 114 至约 227 以提供总分子量为 20,000Da 至 40,000Da 的聚合物。(n)表示在聚合物链中重复单元的数量,且其依赖于聚

合物的分子量。在本发明的一个特别优选的实施方案中, n 为约 227 以提供总分子量为约 40,000Da 的聚合物部分。

[0125] 2. 双官能连接基

[0126] 在本发明的一些方面, L 是氨基酸残基。所述氨基酸可以选自任何已知天然存在的 L-氨基酸, 例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、蛋氨酸、半胱氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、脯氨酸和 / 或其组合, 仅指出小部分。另一方面, L 可以是肽残基。肽的大小可以变化, 例如从大约 2 到大约 10 个氨基酸残基。

[0127] 天然存在的氨基酸的衍生物和类似物, 以及多种本领域已知的非天然存在的疏水的或非疏水的氨基酸 (D 或 L), 也在本发明考虑的范围之内。简单举例, 氨基酸类似物和衍生物包括:

[0128] 2-氨基己二酸, 3-氨基己二酸, β -丙氨酸, β -氨基丙酸,

[0129] 2-氨基丁酸, 4-氨基丁酸, 哌啶酸 (piperidinic acid), 6-氨基己酸,

[0130] 2-氨基庚酸, 2-氨基异丁酸, 3-氨基异丁酸,

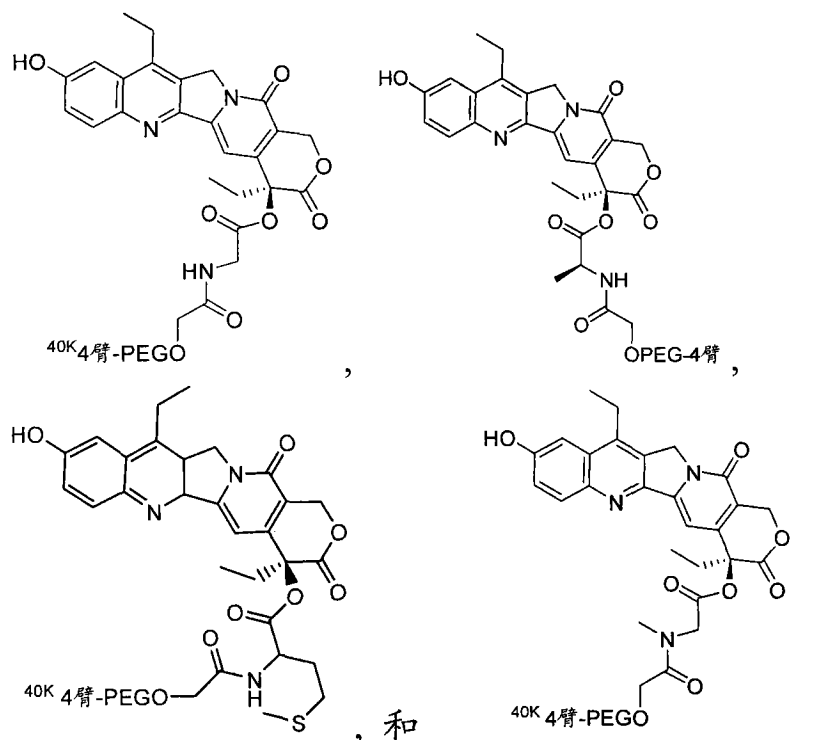
[0131] 2-氨基庚二酸, 2,4-氨基丁酸, 锁链素 (desmosine), 2,2-二氨基庚二酸,

[0132] 2,3-二氨基丙酸, N-乙基甘氨酸, N-乙基天冬酰胺, 3-羟基脯氨酸,

[0133] 4-羟基脯氨酸, 异锁链素, 别异亮氨酸, N-甲基甘氨酸或肌氨酸,

[0134] N-甲基-异亮氨酸, 6-N-甲基赖氨酸, N-甲基缬氨酸, 正缬氨酸, 正亮氨酸, 鸟氨酸和许多其它物质, 其列于 63 Fed. Reg., 29620, 29622 中, 在此引入作为参考。一些优选的 L 基包括: 甘氨酸、丙氨酸、蛋氨酸或肌氨酸残基。例如, 所述化合物可以为:

[0135]



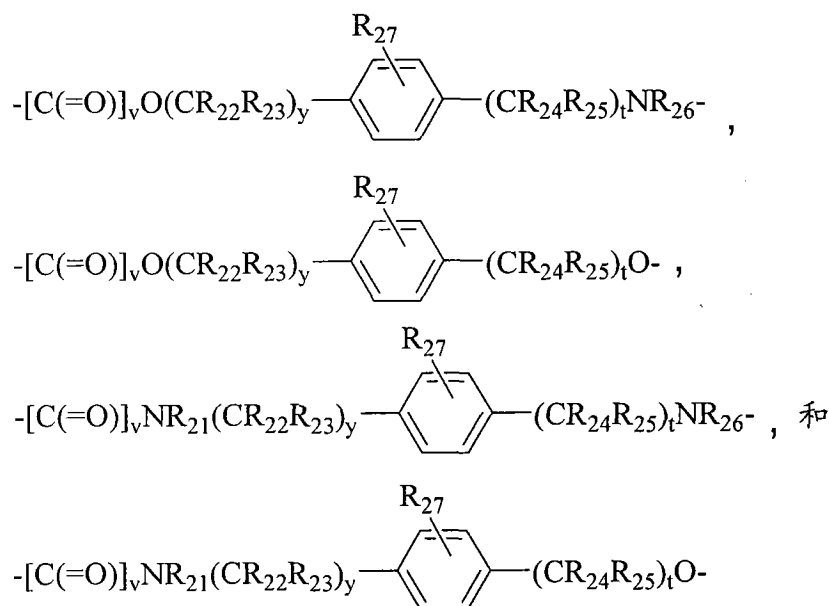
[0136] 为了方便描述而不是为了限制, 示出四臂 PEG 中的一臂。四臂 PEG 中的一臂, 至多 4 臂可与 7-乙基-10-羟基-喜树碱缀合。

[0137] 更优选地, 本发明的化合物包括甘氨酸残基作为连接基 (L)。

[0138] 或者,喜树碱类似物与聚合物连接后,L选自:

- [0139] $-[C(=O)]_v(CR_{22}R_{23})_t-$,
 [0140] $-[C(=O)]_v(CR_{22}R_{23})_tO-$,
 [0141] $-[C(=O)]_v(CR_{22}R_{23})_tNR_{26}-$,
 [0142] $-[C(=O)]_vO(CR_{22}R_{23})_t-$,
 [0143] $-[C(=O)]_vO(CR_{22}R_{23})_tO-$,
 [0144] $-[C(=O)]_vO(CR_{22}R_{23})_tNR_{26}-$,
 [0145] $-[C(=O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23})_t-$,
 [0146] $-[C(=O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23})_tO-$,
 [0147] $-[C(=O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23})_tNR_{26}-$,
 [0148] $-[C(=O)]_v(CR_{22}R_{23}O)_t-$,
 [0149] $-[C(=O)]_vO(CR_{22}R_{23}O)_t-$,
 [0150] $-[C(=O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23}O)_t-$,
 [0151] $-[C(=O)]_v(CR_{22}R_{23}O)_t(CR_{24}R_{25})_y-$,
 [0152] $-[C(=O)]_vO(CR_{22}R_{23}O)_t(CR_{24}R_{25})_y-$,
 [0153] $-[C(=O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23}O)_t(CR_{24}R_{25})_y-$,
 [0154] $-[C(=O)]_v(CR_{22}R_{23}O)_t(CR_{24}R_{25})_yO-$,
 [0155] $-[C(=O)]_v(CR_{22}R_{23})_t(CR_{24}R_{25}O)_y-$,
 [0156] $-[C(=O)]_vO(CR_{22}R_{23}O)_t(CR_{24}R_{25})_yO-$,
 [0157] $-[C(=O)]_vO(CR_{22}R_{23})_t(CR_{24}R_{25}O)_y-$,
 [0158] $-[C(=O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23}O)_t(CR_{24}R_{25})_yO-$,
 [0159] $-[C(=O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23})_t(CR_{24}R_{25}O)_y-$,
 [0160] $-[C(=O)]_v(CR_{22}R_{23})_tO-(CR_{28}R_{29})_{t'}-$,
 [0161] $-[C(=O)]_v(CR_{22}R_{23})_tNR_{26}-(CR_{28}R_{29})_{t'}-$,
 [0162] $-[C(=O)]_v(CR_{22}R_{23})_tS-(CR_{28}R_{29})_{t'}-$,
 [0163] $-[C(=O)]_vO(CR_{22}R_{23})_tO-(CR_{28}R_{29})_{t'}-$,
 [0164] $-[C(=O)]_vO(CR_{22}R_{23})_tNR_{26}-(CR_{28}R_{29})_{t'}-$,
 [0165] $-[C(=O)]_vO(CR_{22}R_{23})_tS-(CR_{28}R_{29})_{t'}-$,
 [0166] $-[C(=O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23})_tO-(CR_{28}R_{29})_{t'}-$,
 [0167] $-[C(=O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23})_tNR_{26}-(CR_{28}R_{29})_{t'}-$,
 [0168] $-[C(=O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23})_tS-(CR_{28}R_{29})_{t'}-$,
 [0169] $-[C(=O)]_v(CR_{22}R_{23}CR_{28}R_{29}O)_tNR_{26}-$,
 [0170] $-[C(=O)]_v(CR_{22}R_{23}CR_{28}R_{29}O)_t-$,
 [0171] $-[C(=O)]_vO(CR_{22}R_{23}CR_{28}R_{29}O)_tNR_{26}-$,
 [0172] $-[C(=O)]_vO(CR_{22}R_{23}CR_{28}R_{29}O)_t-$,
 [0173] $-[C(=O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23}CR_{28}R_{29}O)_tNR_{26}-$,
 [0174] $-[C(=O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23}CR_{28}R_{29}O)_t-$,
 [0175] $-[C(=O)]_v(CR_{22}R_{23}CR_{28}R_{29}O)_t(CR_{24}R_{25})_y-$,
 [0176] $-[C(=O)]_vO(CR_{22}R_{23}CR_{28}R_{29}O)_t(CR_{24}R_{25})_y-$,

- [0177] $-[C(=O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23}CR_{28}R_{29}O)_t(CR_{24}R_{25})_y-$,
 [0178] $-[C(=O)]_v(CR_{22}R_{23}CR_{28}R_{29}O)_t(CR_{24}R_{25})_yO-$,
 [0179] $-[C(=O)]_v(CR_{22}R_{23})_t(CR_{24}R_{25}CR_{28}R_{29}O)_y-$,
 [0180] $-[C(=O)]_v(CR_{22}R_{23})_t(CR_{24}R_{25}CR_{28}R_{29}O)_yNR_{26}-$,
 [0181] $-[C(=O)]_vO(CR_{22}R_{23}CR_{28}R_{29}O)_t(CR_{24}R_{25})_yO-$,
 [0182] $-[C(=O)]_vO(CR_{22}R_{23})_t(CR_{24}R_{25}CR_{28}R_{29}O)_y-$,
 [0183] $-[C(=O)]_vO(CR_{22}R_{23})_t(CR_{24}R_{25}CR_{28}R_{29}O)_yNR_{26}-$,
 [0184] $-[C(=O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23}CR_{28}R_{29}O)_t(CR_{24}R_{25})_yO-$,
 [0185] $-[C(=O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23})_t(CR_{24}R_{25}CR_{28}R_{29}O)_y-$,
 [0186] $-[C(=O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23})_t(CR_{24}R_{25}CR_{28}R_{29}O)_yNR_{26}-$,
 [0187]



[0188] 其中：

[0189] R_{21} – R_{29} 独立地选自氢、氨基、取代的氨基、叠氨基、羧基、氰基、卤素、羟基、硝基、甲基硅烷基醚、磺酰基、巯基、 C_{1-6} 烷基巯基、芳基巯基、取代的芳基巯基、取代的 C_{1-6} 烷硫基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-19} 支链烷基、 C_{3-8} 环烷基、 C_{1-6} 取代的烷基、 C_{2-6} 取代的烯基、 C_{2-6} 取代的炔基、 C_{3-8} 取代的环烷基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、 C_{1-6} 杂烷基、取代的 C_{1-6} 杂烷基、 C_{1-6} 烷氧基、芳氧基、 C_{1-6} 杂烷氧基、杂芳氧基、 C_{2-6} 烷酰基、芳基羰基、 C_{2-6} 烷氧基羰基、芳氧基羰基、 C_{2-6} 烷酰基氧基、芳基羰基氧基、 C_{2-6} 取代的烷酰基、取代的芳基羰基、 C_{2-6} 取代的烷酰基氧基、取代的芳氧基羰基、 C_{2-6} 取代的烷酰基氧基和取代的芳基羰基氧基；

[0190] (t)、(t') 和 (y) 独立地选自 0 或正整数，优选约 1 至约 10；且

[0191] (v) 为 0 或 1。

[0192] 在一些优选实施方案中，L 可以包括：

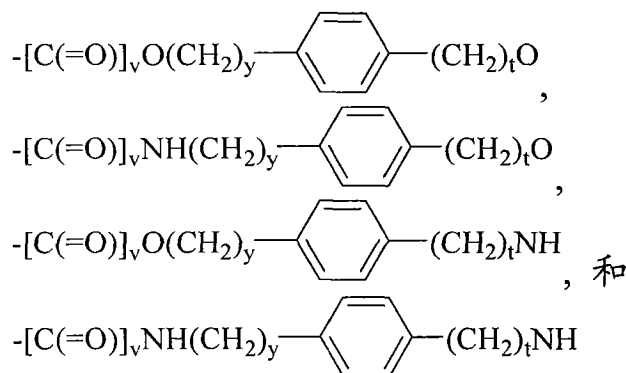
[0193] $-[C(=O)]_v(CH_2)_t-$,

[0194] $-[C(=O)]_v(CH_2)_tO-$,

[0195] $-[C(=O)]_v(CH_2)_tNR_{26}-$,

- [0196] $-[C(=O)]_vO(CH_2)_t-$,
 [0197] $-[C(=O)]_vO(CH_2)_tO-$,
 [0198] $-[C(=O)]_vO(CH_2)_tNH-$,
 [0199] $-[C(=O)]_vNH(CH_2)_t-$,
 [0200] $-[C(=O)]_vNH(CH_2)_tO-$,
 [0201] $-[C(=O)]_vNH(CH_2)_tNH-$,
 [0202] $-[C(=O)]_v(CH_2O)_t-$,
 [0203] $-[C(=O)]_vO(CH_2O)_t-$,
 [0204] $-[C(=O)]_vNH(CH_2O)_t-$,
 [0205] $-[C(=O)]_v(CH_2O)_t(CH_2)_y-$,
 [0206] $-[C(=O)]_vO(CH_2O)_tH_2)_y-$,
 [0207] $-[C(=O)]_vNH(CH_2O)_t(CH_2)_y-$,
 [0208] $-[C(=O)]_v(CH_2O)_t(CH_2)_yO-$,
 [0209] $-[C(=O)]_v(CH_2)_t(CH_2O)_y-$,
 [0210] $-[C(=O)]_vO(CH_2O)_t(CH_2)_yO-$,
 [0211] $-[C(=O)]_vO(CH_2)_t(CH_2O)_y-$,
 [0212] $-[C(=O)]_vNH(CH_2O)_t(CH_2)_yO-$,
 [0213] $-[C(=O)]_vNH(CR_{22}R_{23})_t(CH_2O)_y-$,
 [0214] $-[C(=O)]_v(CH_2)_tO-(CH_2)_t-$,
 [0215] $-[C(=O)]_v(CH_2)_tNH-(CH_2)_t-$,
 [0216] $-[C(=O)]_v(CH_2)_tS-(CH_2)_t-$,
 [0217] $-[C(=O)]_vO(CH_2)_tO-(CH_2)_t-$,
 [0218] $-[C(=O)]_vO(CH_2)_tNH-(CH_2)_t-$,
 [0219] $-[C(=O)]_vO(CH_2)_tS-(CH_2)_t-$,
 [0220] $-[C(=O)]_vNH(CR_{22}R_{23})_tO-(CH_2)_t-$,
 [0221] $-[C(=O)]_vNH(CH_2)_tNH-(CH_2)_t-$,
 [0222] $-[C(=O)]_vNH(CH_2)_tS-(CH_2)_t-$,
 [0223] $-[C(=O)]_v(CH_2CH_2O)_tNR_{26}-$,
 [0224] $-[C(=O)]_v(CH_2CH_2O)_t-$,
 [0225] $-[C(=O)]_vO(CH_2CH_2O)_tNH-$,
 [0226] $-[C(=O)]_vO(CH_2CH_2O)_t-$,
 [0227] $-[C(=O)]_vNH(CH_2CH_2O)_tNH-$,
 [0228] $-[C(=O)]_vNH(CH_2CH_2O)_t-$,
 [0229] $-[C(=O)]_v(CH_2CH_2O)_t(CH_2)_y-$,
 [0230] $-[C(=O)]_vO(CH_2CH_2O)_t(CH_2)_y-$,
 [0231] $-[C(=O)]_vNH(CH_2CH_2O)_t(CH_2)_y-$,
 [0232] $-[C(=O)]_v(CH_2CH_2O)_t(CH_2)_yO-$,
 [0233] $-[C(=O)]_v(CH_2)_t(CH_2CH_2O)_y-$,
 [0234] $-[C(=O)]_v(CH_2)_t(CH_2CH_2O)_yNH-$,

- [0235] $-[C(=O)]_vO(CH_2CH_2O)_t(CH_2)_yO-$,
 [0236] $-[C(=O)]_vO(CH_2)_t(CH_2CH_2O)_y-$,
 [0237] $-[C(=O)]_vO(CH_2)_t(CH_2CH_2O)_yNH-$,
 [0238] $-[C(=O)]_vNH(CH_2CH_2O)_t(CH_2)_yO-$,
 [0239] $-[C(=O)]_vNH(CH_2)_t(CH_2CH_2O)_y-$,
 [0240] $-[C(=O)]_vNH(CH_2)_t(CH_2CH_2O)_yNH-$,
 [0241]



[0242] 其中 (t)、(t') 和 (y) 独立地选自 0 或正整数, 优选为约 1 至约 10 ; 且

[0243] (v) 为 0 或 1。

[0244] 在本发明的一些方面中, 所述化合物包括 1 至约 10 个单位的双官能连接基。在本发明的一些优选方面中, 所述化合物包括 1 个单位的双官能连接基, 且因此 m 为 1。

[0245] 其它连接基见于 Greenwald 等人 (Bioorganic & Medicinal Chemistry, 1998, 6 : 551-562) 的表 1, 其内容在此引入作为参考。

[0246] C. 合成方法

[0247] 大体上, 本文所述的聚合的 7-乙基-10-羟基喜树碱前药通过使 1 或更多当量的活化的多臂聚合物与例如, 每个活性位点 1 或更多当量的氨基酸-(20)-7-乙基-10-羟基喜树碱化合物反应而制备, 反应条件为足以使氨基与聚合物的羧酸反应并形成连接。合成的细节描述于美国专利申请号 11/704, 607 中, 题目为“Multi-arm Polymeric Conjugates of 7-Ethyl-10-hydroxycamptothecin For Treatment of Breast, Colorectal, Pancreatic, Ovarian and Lung Cancers”, 其内容在此整体引入作为参考。根据合成方法制备的化合物的 HPLC 分析表明平均 4 个 7-乙基-10-羟基喜树碱分子与 1 个四臂 PEG 分子缀合 (4% 重量)。

[0248] D. 组合物 / 制剂

[0249] 包含本发明聚合缀合物的药物组合物可以通过本领域已知方法制备, 例如使用多种已知的混合、溶解、制粒、研磨、乳化、胶囊化、包埋 (entrapping) 或冻干方法。组合物可与一种或多种包括赋形剂和辅料的生理可接受载体一起配制, 所述载体有助于将活性化合物加工成可用于医药的制剂。适宜的制剂取决于所选的给药途径。本发明的许多方面中优选胃肠外途径。

[0250] 对于注射, 非限制性地包括静脉内、肌内和皮下注射, 本发明化合物可以在水溶液中配制, 优选在生理相容的缓冲液例如生理盐水缓冲液或极性溶剂 (包括但不限于吡咯烷酮或二甲亚砜) 中。

[0251] 化合物优选配制为用于胃肠外给药,例如通过推注 (bolus injection) 或连续输液。用于注射的制剂可以单位剂型存在,例如在安瓿或多剂量容器中。有用的组合物包括但不限于在油性或水性媒介中的悬浮剂、溶液或乳剂,还可包括填充剂例如助悬剂、稳定剂和 / 或分散剂。用于胃肠外给药的药物组合物包括水溶形式的水溶液,例如但非限制的为活性化合物的盐。另外,活性化合物的悬浮液可以在亲脂性媒介中制备。适宜的亲脂性媒介包括脂肪油例如芝麻油、合成脂肪酸酯例如油酸乙酯和三酸甘油酯,或材料例如脂质体。水性注射悬浮液可包含增加悬浮液粘度的物质,例如羧甲基纤维素钠、山梨糖醇或者葡聚糖。任选的,悬浮液还可包含适宜的稳定剂和 / 或增加化合物溶解度的试剂以制备高浓度溶液。或者,活性成分可以是粉末形式以在使用前用适宜的媒介,例如无菌、无热原的水配制。

[0252] 对于口服给药,化合物可通过将活性化合物与本领域已知的药学可接受的载体组合配制。这些载体能使本发明化合物配制为片剂、丸剂、锭剂、糖衣丸、胶囊、液体、凝胶剂、糖浆、糊剂、浆液、溶液、悬浮剂、用于稀释在患者饮用水中的浓溶液和悬浮剂、用于稀释在患者食物中的预混合剂等,用于患者口服摄取。用于口服的药物制剂可以在按需要加入其它适宜辅料后,使用固体赋形剂、任选地研磨所得混合物,和将混合物制粒,得到片剂或糖衣芯 (dragee core) 而制备。特别的,有用的赋形剂是,填充剂如糖,包括乳糖、蔗糖、甘露糖醇或山梨糖醇,纤维素制剂例如玉米淀粉、小麦淀粉、米淀粉和马铃薯淀粉及其他原料例如明胶、西黄蓍胶、甲基纤维素、羟丙基 - 甲基纤维素、羧基 - 甲基纤维素钠、和 / 或聚乙烯吡咯烷酮 (PVP)。如果需要,还可加入崩解剂,例如交联的聚乙烯吡咯烷酮、琼脂、或者海藻酸。还可使用盐,例如海藻酸钠盐。

[0253] 对于吸入给药,本发明化合物可以使用加压包装或喷雾器和适宜的推进剂,以气雾剂喷雾形式方便地递送。

[0254] 化合物还可以使用例如常规栓剂基质例如可可脂或其它甘油酯,配制为直肠组合物例如栓剂或保留灌肠剂。

[0255] 除了前述制剂,化合物还可配制为长效制品。这样的长效制剂可以通过植入 (例如皮下或肌肉内) 或肌肉内注射给药。对于这一给药途径,本发明的化合物可以与适宜的聚合的或疏水材料 (例如在乳剂中与药理学上可接受的油)、与离子交换树脂配制,或作为微溶衍生物如 (但不限于) 微溶盐。

[0256] 另外,化合物可使用持续释放 (sustained-release) 系统而输送,例如包含治疗剂的固体疏水聚合物的半渗透基质。已经制备出多种持续释放材料,且为本领域技术人员所熟知。持续释放的胶囊可以根据其化学性质,持续数周至超过 100 天释放化合物。根据特定化合物的化学性质和生物稳定性,还可采用其它的稳定策略。

[0257] 也可以使用其它递送系统,如脂质体和乳剂。

[0258] E. 剂量

[0259] 治疗有效量是指有效预防、减轻或缓解对于抗癌药物 (如喜树碱或相关类似物,例如, CPT-11) 抵抗或顽固现象的化合物的量。治疗有效量的确定在本领域技术人员的能力范围内,尤其根据本发明的内容确定。

[0260] 对于本发明的方法使用的任何化合物,治疗有效量可以由体外试验开始推定。随后可以配制供动物模型使用的剂量以实现包括有效剂量的周期浓度范围。这样的信息随后

可用于更加精确地确定用于患者的剂量。

[0261] 给药的组合物（如，用作前药）的量，将依赖于其中包括的母体分子。大体上，治疗方法中所用的前药的量为在哺乳动物中有效实现所需治疗结果的量。当然，不同前药化合物的剂量根据母体化合物、体内水解速率、聚合物的分子量等而有所变化。而且，当然，剂量可根据剂型和给药途径变化。

[0262] 然而，大体上，本文描述的 7-乙基-10-羟基喜树碱的聚合酯衍生物的给药量对于全身递送为约 0.1 至约 30mg/kg/ 剂量 (dose)，且优选约 0.2 至约 10mg/kg/ 剂量，且优选约 0.6 至约 6mg/kg/ 剂量。

[0263] 上述范围是说明性的，且本领域技术人员将根据临床经验和治疗效果确定所选前药的最佳剂量。然而，确切的制剂、给药途径和剂量可根据病人情况由个体医师选择。而且，本文所述的化合物的毒性和治疗效果可以使用本领域已知的方法通过细胞培养或实验动物中的标准药学方法确定。

[0264] 在一个实施方案中，本发明的治疗包括向患有抵抗性或顽固性癌症（例如抵抗 CPT 和 CPT-11 治疗）的哺乳动物给药约 0.3 至约 6mg/kg/ 剂量的本文所述的化合物。

[0265] 或者，且优选，给药该化合物的量可基于人或其它哺乳动物的体表面积。因此，本发明的治疗包括给药约 0.1 至约 45mg/m² 体表面积 / 剂量的本文所述的化合物。优选地，本文所述的化合物的量为约 0.2 至约 25mg/m² 体表面积 / 剂量。一些优选的剂量包括下述之一：1.25, 2.0, 2.5, 3.3, 5, 10, 和 16.5mg/m² / 剂量。优选地，给药量可以为约 1.25 至约 16.5mg/m² 体表面积 / 剂量。或者，它们可以为约 2.5 至约 13mg/m² 体表面积 / 剂量，或约 2 至约 5mg/m² 体表面积 / 剂量。

[0266] 治疗方案可以基于每 3 周一次给药的单一剂量，或作为多周治疗方案的一部分分成多剂量。因此，治疗方案可以包括对于一个治疗周期每 3 周给药 1 次，或者对于一个周期每周给药 1 次持续 3 周然后停用 1 周。

[0267] 精确剂量将依赖于病况的阶段和严重程度，以及要治疗的患者的个体特征，且是本领域普通技术人员能够理解的。还考虑到持续治疗直到观察到满意的结果，其在 1 个周期后（虽然可能需要约 3 至约 6 个周期或更多个周期）就能实现。

[0268] 在一些优选实施方案中，治疗方案包括以每 3 周约 1.25 至约 16.5mg/m² 体表面积 / 剂量给药，重复约 3 个周期或更多周期。每个周期的给药量可更优选为约 2.5 至约 16.5mg/m² 体表面积 / 剂量。或者，本文所述的化合物可以每周给药持续 3 周，然后停用 1 周，且重复约 3 个周期或更多周期直到观察到所需结果。

[0269] 在一个具体实施方案中，在治疗结肠癌中，每 3 周给药 7-乙基-10-羟基喜树碱的聚合酯衍生物一个剂量，10mg/m²。当使用 2 个或更多治疗周期时治疗周期的剂量可以设计为逐步升高的剂量方案。聚合药物优选通过 IV 输注给药。

[0270] 在本发明的所有方面，当给药聚合缀合物时，所述剂量基于 7-乙基-10-羟基喜树碱的量，而不是给予的聚合缀合物的量。考虑给予 1 个或多个周期的治疗直到得到所需临床结果。当然，本发明化合物的精确量、频率和给药时间将根据患者的性别、年龄和医药状况以及主治医师确定的疾病的严重程度而变化。

[0271] 另一个方面包括将本文所述的治疗与其它抗癌治疗组合以提供协同或加和作用。在一个具体实施方案中，本文所述的化合物可以与 **Erbix®**（西妥昔单抗）组合给药。

400mg/m² Erbitux®加本文所述的化合物可以按初始剂量给药,然后每周 250mg/m²,直到疾病发展。Erbitux®剂量的详细信息描述于包装说明中,其内容在此引入作为参考。

[0272] 实施例

[0273] 下述实施例是为了进一步理解本发明,而不是为了以任何方式限制本发明的有效范围。

[0274] 实施例 1. 四臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羟基-喜树碱)在异种移植对于 CPT-11 顽固的人结肠直肠肿瘤的小鼠中的治疗效果

[0275] 检测四臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羟基喜树碱)抵抗裸小鼠中生长的顽固性人 HT-29 结肠直肠肿瘤的治疗效果。通过皮下注射 1×10^6 细胞/小鼠到右腹侧将人 HT-29 结肠直肠肿瘤植入到裸小鼠中。当肿瘤达到平均体积为 100mm³ 时,用 CPT-11 (40mg/kg/剂量;q2dx4) 治疗小鼠。监测小鼠的肿瘤生长。在第 15 天,带有肿瘤的小鼠对于 CPT-11 治疗没有响应(肿瘤体积 $\geq 3x$ 的 CPT-11 治疗开始时的初始肿瘤体积),认为成为 CPT-11 顽固性。随机选择这些小鼠并分为 2 组。从第 16 天,一组用 MTD 的 CPT-11 (40mg/kg/剂量;q2dx5) 治疗,且另一组用 MTD 的四臂 ^{40K}PEG-Gly-(7-乙基-10-羟基喜树碱)(化合物 9) (10mg/kg/剂量;q2dx5) 治疗。通过尾静脉给药药物。

[0276] 结果示于图 1 中。在继续用 CPT-11 治疗的 CPT-11 顽固性小鼠中肿瘤继续生长。相比于第 15 天,在第 42 天肿瘤体积增加了 255%。在用四臂 ^{40K}PEG-Gly-(7-乙基-10-羟基-喜树碱)(化合物 9) 治疗的小鼠中,与第 15 天相比,在第 42 天肿瘤体积下降了 25%。由于过度肿瘤负荷($> 1,650\text{mm}^3$)用 CPT-11 治疗的动物在第 42 天和第 54 天分别死亡了 29%和 100%。在用四臂 ^{40K}PEG-Gly-(7-乙基-10-羟基喜树碱)治疗的组中,仅有 1/7 在第 63 天死亡。第 72 天以前,58%的用四臂 ^{40K}PEG-Gly-(7-乙基-10-羟基喜树碱)治疗的小鼠的肿瘤 $< 1,650\text{mm}^3$ 。结果表明四臂 ^{40K}PEG-Gly-(7-乙基-10-羟基喜树碱)在治疗 CPT-11 顽固性癌症中具有治疗活性。图 1 中的数据表示均值 $\pm$ 标准差(n = 7)。

[0277] 不受任何理论的限制,使用本文所述化合物的治疗不可预期地避免了 CPT-11 治疗相关的抵抗。本文所述的治疗提供了通过避免和减少可能的药物抵抗更有效地治疗癌症的方法。在癌症治疗中,与基于 CPT-11 的治疗相比,患者和医师可从对本文化合物的抵抗意外减少中受益。

[0278] 实施例 2:在第二周期治疗(Second Round Treatment)中四臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羟基-喜树碱)在异种移植对于 CPT-11 顽固的人结肠直肠肿瘤的小鼠中的治疗效果

[0279] 通过皮下注射 1×10^6 细胞/小鼠到右腹侧将人 HT-29 结肠直肠肿瘤植入到裸小鼠中。当肿瘤达到平均体积为 100mm³ 时,用 CPT-11 (40mg/kg/剂量;q2d x 4) 治疗小鼠。监测小鼠的肿瘤生长。在第 15 天,选择对于 CPT-11 治疗有响应的小鼠(肿瘤体积 $< 3x$ 的 CPT-11 治疗开始时的初始肿瘤体积的小鼠,即认为对 CPT-敏感的小鼠),并随机分为 2 组。从第 16 天,一组进一步用 MTD 的 CPT-11 (40mg/kg/剂量;q2d x 5) 治疗,且另一组用 MTD 的四臂 ^{40K}PEG-Gly-(7-乙基-10-羟基喜树碱) (10mg/kg/剂量;q2d x 5) 治疗。通过尾静脉静脉给药药物。

[0280] 结果示于图 2 中,与第 1 天相比,在第 54 天,在用 CPT-11 治疗的小鼠中,肿瘤体积增加了 1298%。用四臂 ^{40K}PEG-Gly-(7-乙基-10-羟基喜树碱)治疗的小鼠的肿瘤体积适

度增长了 193%。而且,在 CPT-11 治疗组中,由于过度肿瘤负荷,在第 61 天,60%动物死亡。在第 61 天,四臂 ^{40}K PEG-Gly-(7-乙基-10-羟基喜树碱)(化合物 9)治疗组中没有记录到死亡。结果表明四臂 ^{40}K PEG-Gly-(7-乙基-10-羟基喜树碱)超越了 CPT-11 的治疗活性,且在 CPT-11 顽固性癌症中对于第二周期治疗和随后周期的治疗有明显效果。图 2 中的数据表示均值 $\pm$ 标准差 ($n = 10$)。

[0281] 实施例 3. 四臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羟基-喜树碱)在 CPT 顽固性细胞系中的体外细胞毒性

[0282] CPT-顽固性细胞系 (CEM/C2) 和相应的非顽固性母细胞系 (CEM) 用 PEG-Gly-(7-乙基-10-羟基喜树碱)、7-乙基-10-羟基喜树碱和 CPT-11 处理。CEM/C2 和 CEM 从 NCI 得到。CEM 细胞系为急性成淋巴细胞性白血病细胞系。使用 MTS 实验检测每种药物的体外细胞毒性。简言之,将细胞置于 96-孔板中 (每孔 8×10^4),然后在 37°C 用连续稀释的四臂 ^{40}K PEG-Gly-(7-乙基-10-羟基喜树碱)(化合物 9)、CPT 或游离 7-乙基-10-羟基喜树碱处理 2 天。孵育后期,加入 MTS 染料,并于 37°C 孵育 2-3 小时,然后在 490nm 检测形成的有色产物 (甲 酞)。根据下式计算每个药物浓度的生存百分数: $[\text{OD 检测样品} - \text{背景}] / [\text{OD 对照 (不处理)} - \text{背景}]$ 。通过绘制对数 (药物) 作为生存 (存活) 百分数函数的图得到 S 形剂量响应曲线,并使用 GraphPad Prism 软件计算 IC_{50} 值。

[0283] 结果示于图 3 和 4 中。细胞毒性 (产生 IC_{50} 的每种化合物的 μM) 表示每种化合物的体外抗肿瘤能力。该研究用于测定四臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羟基喜树碱)在 CPT-顽固性癌症中的治疗效果。在对于 CPT 顽固的急性成淋巴细胞性白血病细胞系中,四臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羟基-喜树碱)的功效是 CPT-11 的约 10 倍,如图 3 所示。而且,所有四臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羟基喜树碱)、CPT-11 和 7-乙基-10-羟基喜树碱在母细胞系 (CEM) 中表现出相似能力,如图 4 所示。结果表明四臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羟基喜树碱)具有治疗对拓扑异构酶 I 抑制剂 (如 CPT) 有抗性的癌症的能力。

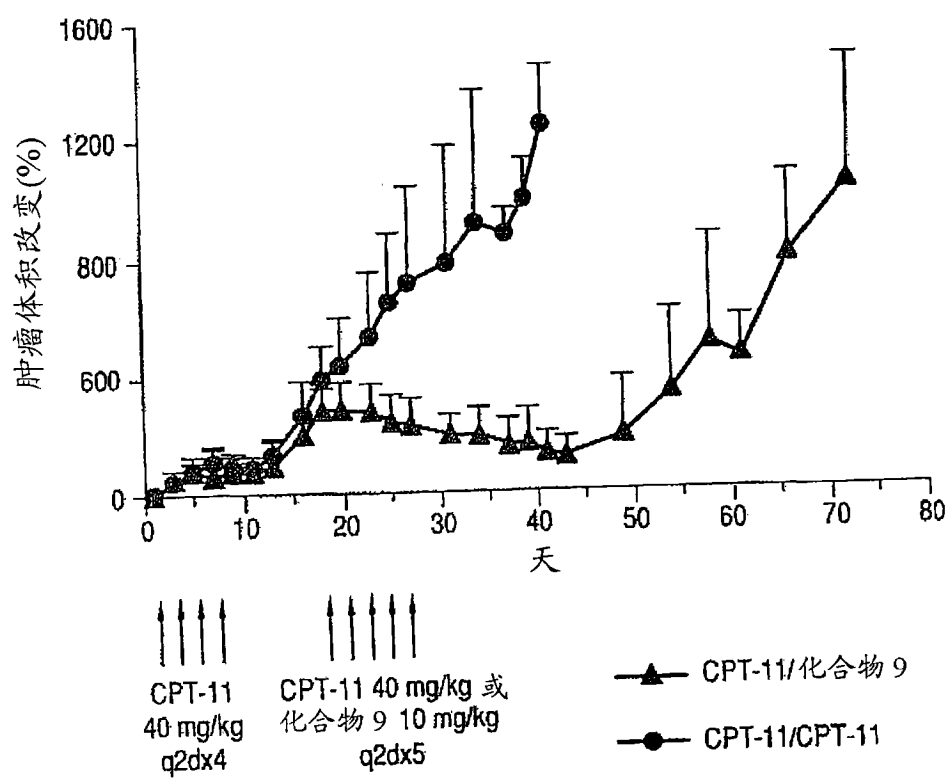


图 1

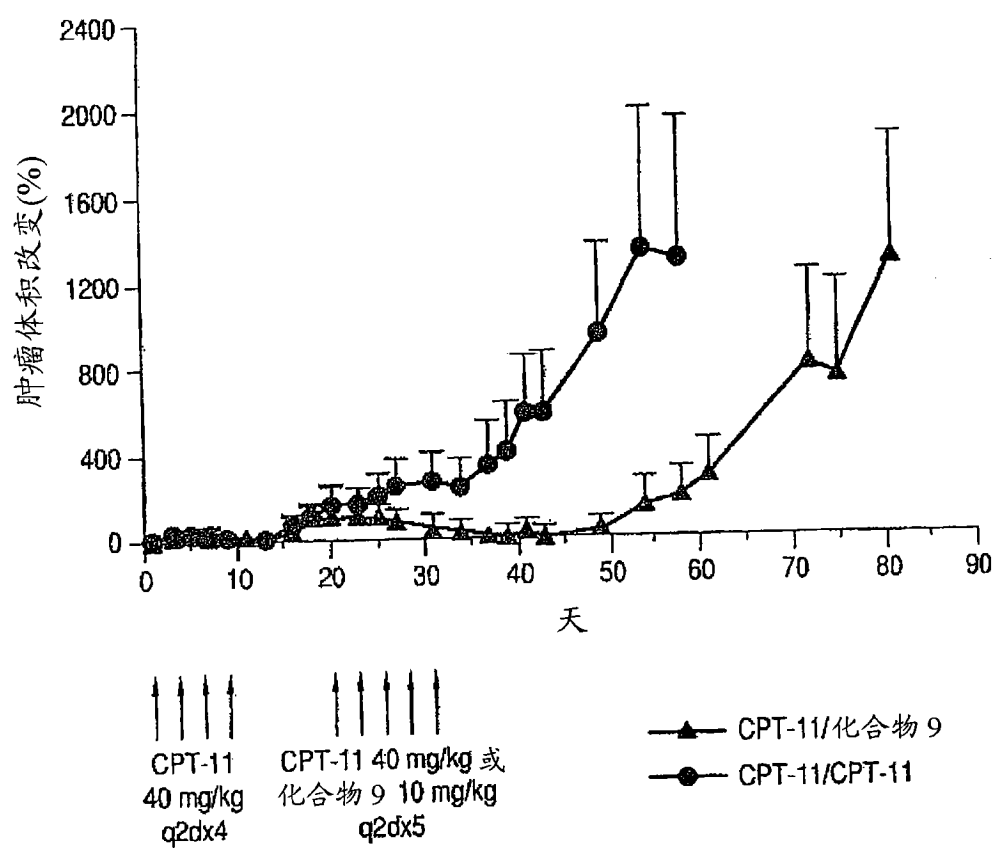


图 2

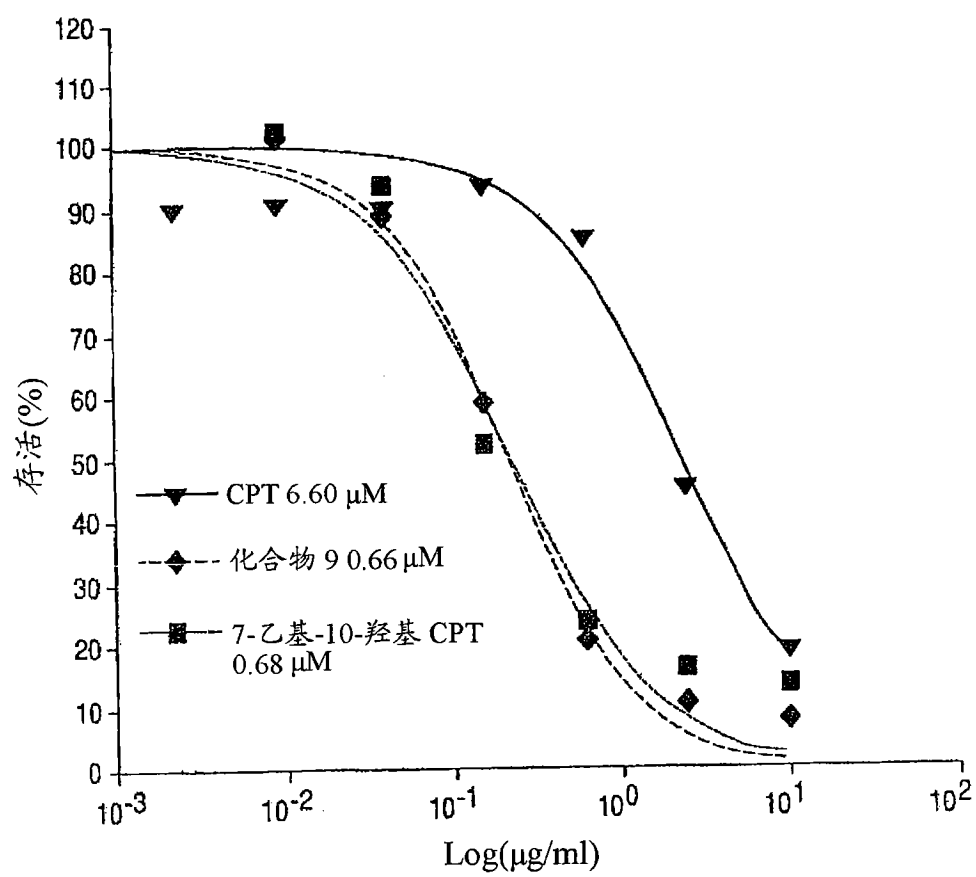


图 3

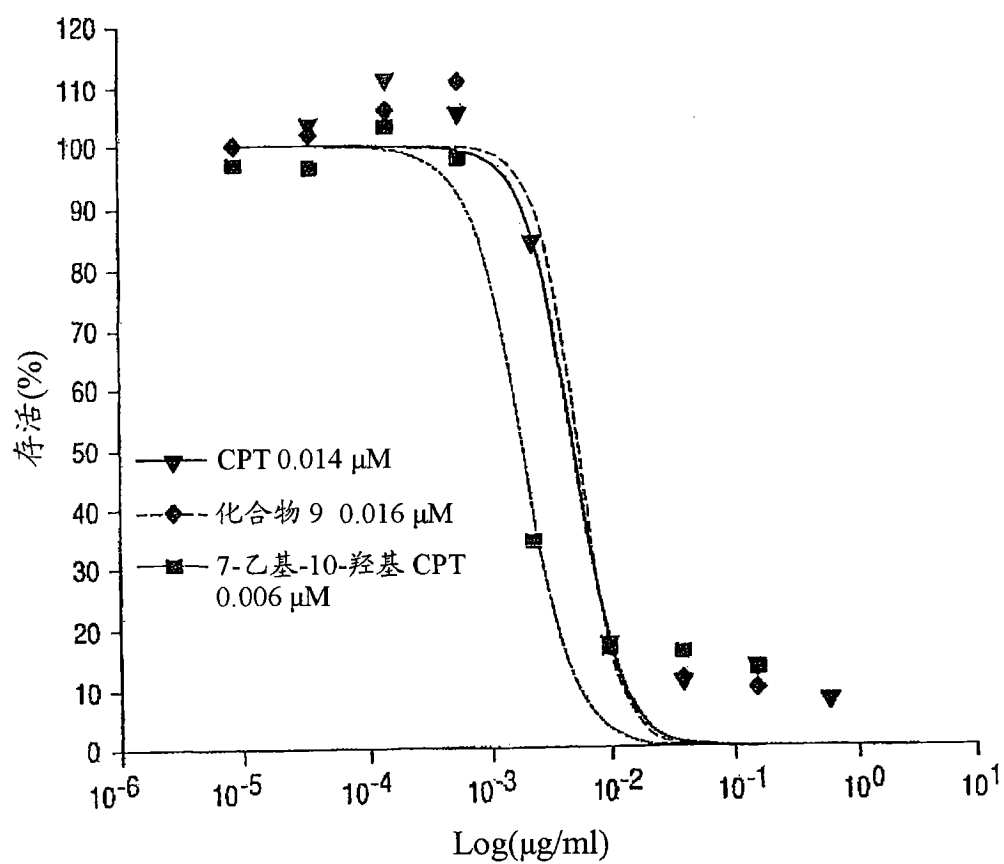


图 4