



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105793268 A

(43)申请公布日 2016.07.20

(21)申请号 201480065649.X

(22)申请日 2014.12.02

(30)优先权数据

61/910,718 2013.12.02 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.05.31

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/CN2014/092834 2014.12.02

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/081857 EN 2015.06.11

(71)申请人 香港浸会大学

地址 中国香港九龙九龙塘

申请人 伊利诺伊大学董事会

(72)发明人 张宏杰 D·D·苏扎多

H·H·S·方

(74)专利代理机构 北京派特恩知识产权代理有限公司 11270

代理人 康艳青 姚开丽

(51)Int.Cl.

G07D 498/18(2006.01)

A61K 31/535(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61P 35/02(2006.01)

权利要求书2页 说明书12页 附图2页

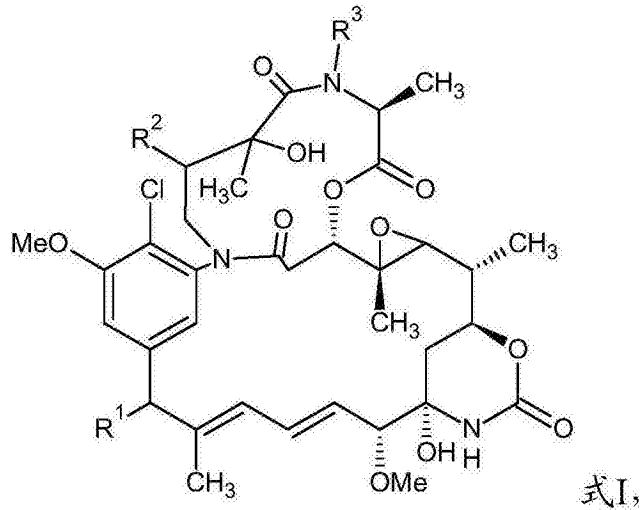
(54)发明名称

具有两个稠合大环的抗癌性美登木素类化合物

(57)摘要

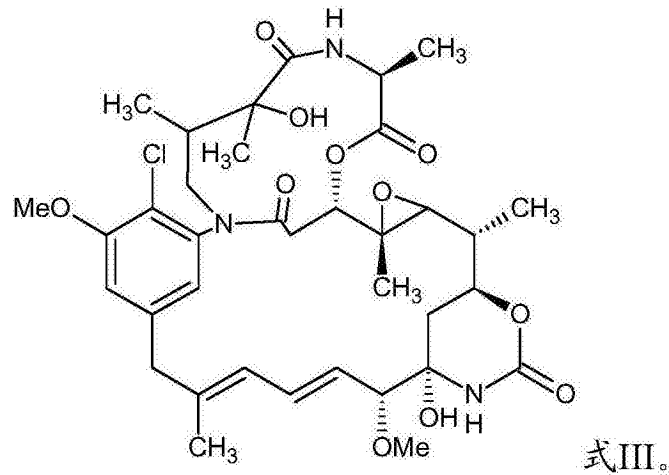
本发明提供具有提高的肿瘤抑制活性的美登木素类化合物。具体地说,本发明提供使用具有两个稠合大环的美登木素类化合物治疗癌症、尤其是结肠癌的方法。

1. 一种具有下列结构的化合物：

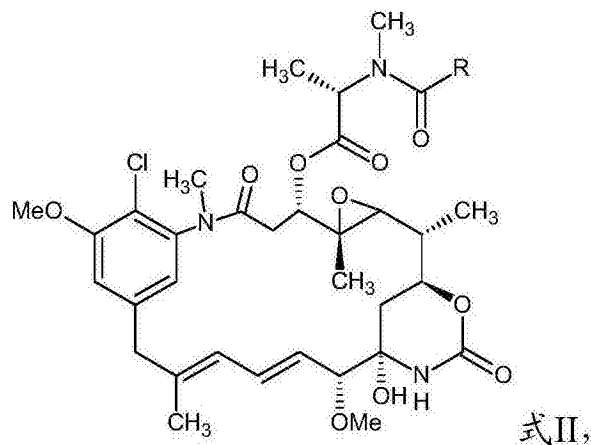


其中R¹、R²和R³独立地选自由下列各项组成的组：氢和具有1-6个碳原子的烷基。

2. 权利要求1所述的化合物，其中所述化合物具有下列结构：



3. 一种具有下列结构的化合物：



其中R是具有至少3个碳原子且不超过8个碳原子的被取代的或未被取代的链烷基。

4. 权利要求3所述的化合物，其中R是CH₂CH₂CH₃。

5. 一种治疗癌症的方法，其包括：每天施用有效剂量的根据权利要求1-4中任一项所述的至少一种化合物。

6. 根据权利要求5所述的方法,其中所述有效剂量是每kg患者体重至少1.6 μ g。
7. 根据权利要求5所述的方法,其中所述有效剂量是每kg患者体重约3.2 μ g。
8. 根据权利要求5所述的方法,其中所述有效剂量是每kg患者体重约0.004mg。
9. 根据权利要求5所述的方法,其中所述有效剂量是每kg患者体重约20 μ g。
10. 根据权利要求5所述的方法,其中所述有效剂量是每kg患者体重约40 μ g。
11. 根据权利要求5所述的方法,其中所述有效剂量是每kg患者体重约0.05mg。
12. 根据权利要求5所述的方法,其中所治疗的癌症是结肠癌。
13. 根据权利要求5所述的方法,其中所治疗的癌症是口腔表皮样癌。
14. 根据权利要求5所述的方法,其中所治疗的癌症是早幼粒细胞白血病。
15. 根据权利要求5所述的方法,其中所治疗的癌症是前列腺癌。
16. 根据权利要求5所述的方法,其中所治疗的癌症是乳腺癌。
17. 根据权利要求5所述的方法,其中所治疗的癌症是肺癌。

具有两个稠合大环的抗癌性美登木素类化合物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2013年12月2日提交的美国临时专利申请系列号61/910,718的优先权,并且其公开内容通过引用合并于此。

[0003] 关于联邦资助研究的声明

[0004] 本发明是在由福格蒂国际中心(Fogarty International Center)所管理的国立卫生研究院(National Institutes of Health)资助的基金1U01-TW01015-01的政府支持下完成的。美国政府拥有本发明中的某些权利。

技术领域

[0005] 本发明提供具有提高的肿瘤抑制活性的美登木素类化合物(maytansinoid)。具体地说,本发明提供使用具有两个稠合大环的美登木素类化合物治疗癌症、尤其是结肠癌的方法。

背景技术

[0006] 美登木素(Maytansine)是被发现具有抗癌性质的化合物,但在临床上被证明毒性太大而不能在人中使用。美登木素是从美登木属(Maytenus)(在非洲许多地方有生长的多刺灌木)的多个种中分离的祥霉素(ansamycin)抗生素,有显著的体内肿瘤抑制活性。(Kupchan等(1972年2月),“Maytansine, a Novel Antileukemic Ansa Macrolide from Maytenus ovatus(美登木素,来自卵叶美登木(Maytenus ovatus)的一种新型抗白血病桥环大环内酯),”*Journal of the American Chemical Society* 94(4):1354-1356.)据信美登木素与微管蛋白在根霉素结合位点处结合,从而抑制微管组装,诱导微管拆解,并破坏有丝分裂。美登木素是有高细胞毒性的天然产物,其不可接受的全身毒性使得该化合物没有通过人临床试验而发展成为抗癌药。

[0007] 美登木素类化合物是美登木素的衍生物,是在植物和微生物中发现的强效抗肿瘤剂。先前在Kupchan等(1978),“Structural Requirements for Antileukemic Activity among the Naturally Occurring and Semisynthetic Maytansinoids(在天然存在的和半合成的美登木素类化合物中对于抗白血病活性的结构要求),”*Journal of Medicinal Chemistry* 21(1):31-37;和WO 2005/099754中已经描述了具有作为抗癌药潜力的美登木素类化合物和其类似物。现有已知的美登木素类化合物多数含有单个大环,尽管已知少数具有两个大环的美登木素类化合物。(Larson等(1999),“Two New Maytansinoids from Maytenus buchananii(来自布昌南美登木的两种新的美登木素类化合物),”62(2):361-363;和Cassady等(2004),“Recent Developments in the Maytansinoid Antitumor Agents(美登木素类化合物抗肿瘤剂的最新进展),”*Chem.Pharm.Bull.*52(1):1-26.)两种此类美登木素类化合物特利奴定(trenudine)和特利福洛林(treflorine)含有两个稠合大环,它们保留了针对KB细胞和P388淋巴细胞性白血病的抗肿瘤活性。(Powell等(1982),*Journal of the American Chemical Society* 104(18):4929-34.)

[0008] 本发明的目标是提供在人体中具有提高的抗肿瘤活性和/或具有减少的全身毒性的新型美登木素类化合物,并用于癌症治疗。

发明内容

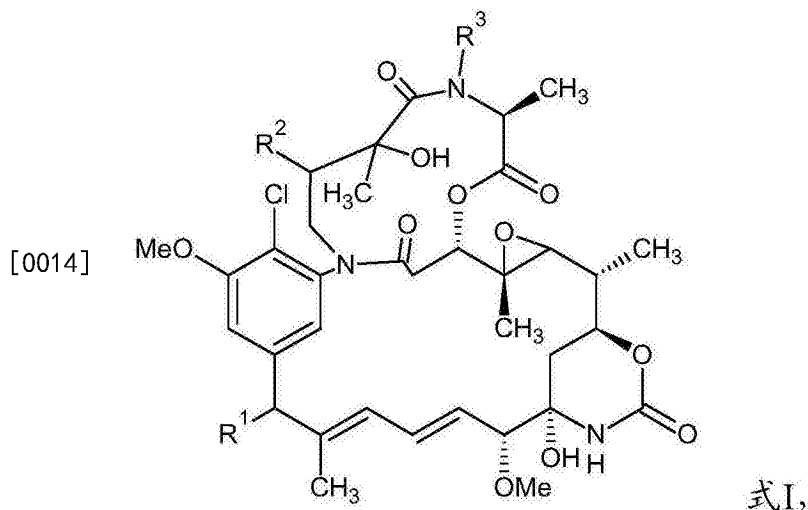
[0009] 本发明的目的是提供具有抗肿瘤活性的美登木素类化合物。与美登木素和已知的美登木素类化合物相比,本发明的化合物具有提高的抗肿瘤活性和/或减小的毒性。

[0010] 本发明提供在结构中具有两个稠合大环而非一个大环的美登木素类化合物。已知的美登木素类化合物和其类似物具有一个大环。本发明的美登木素类化合物中另外一个大环的存在产生了比其它美登木素衍生物更有益的抗癌效应。

[0011] 少花翅子藤(*Loeseneriella pauciflora*)是属于卫茅科(Celastraceae)(或爬藤卫茅科(staff vine family)或苦甜藤科(bittersweet family);在克朗奎斯特系统中同义于Canotiaceae、Chingithamnaceae、Euonymaceae、毛药树科(Goupiaceae)、五翼果科(Lophopyxidaceae)和异卫矛科(Siphonodontaceae))的植物,卫矛科是具有约90-100个属和1,300个种的藤蔓、灌木和小树的科,属于卫茅目(Celastrales)。绝大多数的属是热带的,仅南蛇藤属(*Celastrus*)(爬藤卫茅)和卫矛属(*Euonymus*)(美卫矛(spindle))广泛生长在温带气候。本发明的另一实施方案提供包含一种或多种美登木素类化合物的组合物。

[0012] 本发明的化合物显示出相比于美登木素针对癌细胞KB、Co1-2、LNCaP、Lu-1和MCF-7有提高的肿瘤抑制活性。

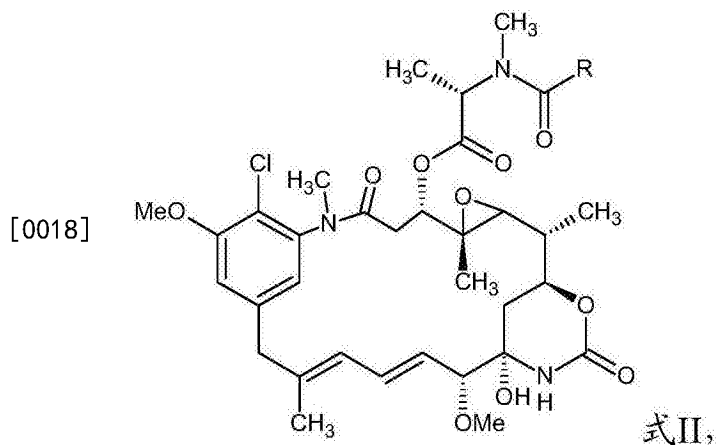
[0013] 在本发明的第一个方面,提供了具有下列结构的化合物:



[0015] 其中 R^1 、 R^2 和 R^3 独立地选自由下列各项组成的组:氢和具有1-6个碳原子的烷基。

[0016] 在本发明的第一个方面的第一个实施方案中,提供了具有式I的结构化合物,其中 R^1 是氢, R^2 是甲基,并且 R^3 是氢。

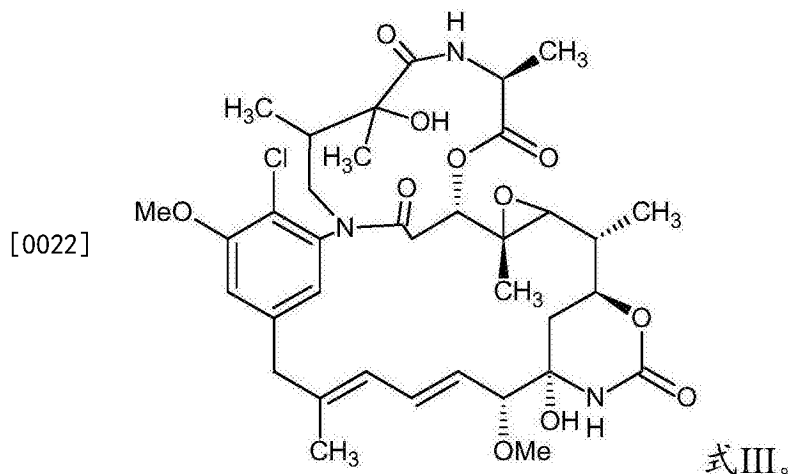
[0017] 在本发明的第一个方面的第二个实施方案中,提供了具有下列结构的化合物:



[0019] 其中R是具有至少3个碳原子且不超过8个碳原子的被取代的或未被取代的链烷基。

[0020] 在本发明的第一个方面的第二个实施方案的一个实施例中,提供了具有式II的化合物,其中R是 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 。

[0021] 在本发明的第一个方面的第三个实施方案中,提供了具有下列结构的化合物:



[0023] 在本发明的第一个方面的第四个实施方案中,提供了来自植物少花翅子藤的具有一种或多种美登木素类化合物的提取物,其中所述提取物表现出抗肿瘤活性。

[0024] 在本发明的第二个方面,提供了一种治疗癌症的方法,其包括:每天施用有效剂量的根据本发明的任一个实施例或实施方案的至少一种化合物。

[0025] 在本发明的第二个方面的第一个实施方案中,有效剂量是每kg患者体重约 $20\mu\text{g}$,优选每kg患者体重约 $40\mu\text{g}$,或优选每kg患者体重约 0.05mg 。

[0026] 在本发明的第二个方面的第二个实施方案中,有效剂量是每kg患者体重至少 $1.6\mu\text{g}$,优选每kg患者体重约 $3.2\mu\text{g}$ 或优选每kg患者体重约 0.004mg 。

[0027] 在本发明的第二个方面的第三个实施方案中,所治疗的癌症是结肠癌、口腔表皮样癌、早幼粒细胞白血病、前列腺癌、乳腺癌或肺癌。

附图说明

[0028] 当结合附图时,根据本发明的以下描述,本发明的上述和其它目的和特征将变得显而易见,在附图中:

[0029] 图1示出了用紫杉醇和翅子藤素(loeseneriellin)B治疗3周后,HCT116-肿瘤异种移植物的肿瘤生长曲线;

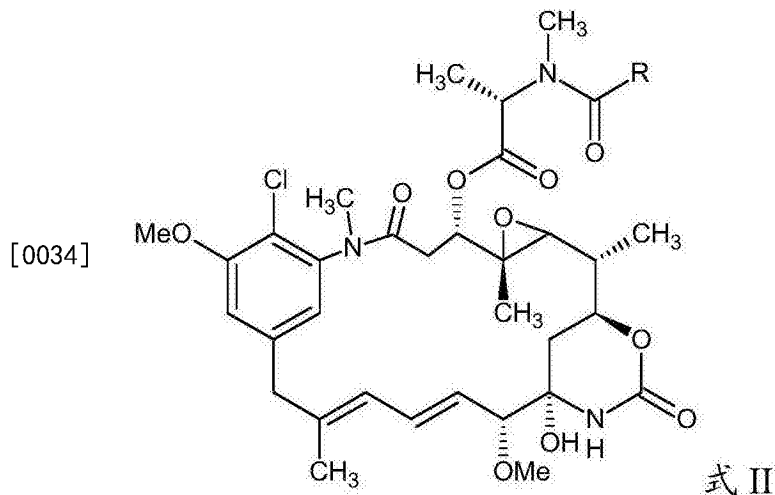
[0030] 图2示出了用紫杉醇和翅子藤素B治疗3周后,切除的肿瘤重量;

[0031] 图3示出了用紫杉醇和翅子藤素B治疗3周后,带有HCT116-肿瘤异种移植物的小鼠的体重。

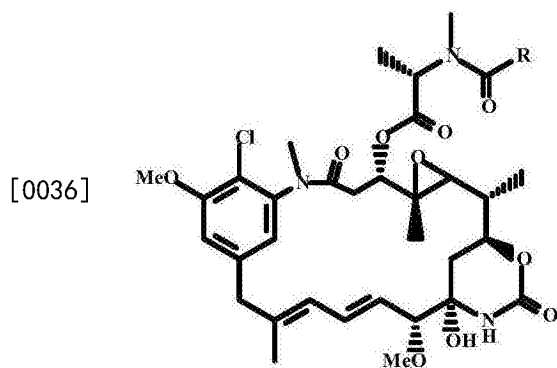
具体实施方式

[0032] 对少花翅子藤(*Loeseneriella pauciflora*(DC.)A.C.Sm)(卫矛科)的茎皮进行生物测定指导下的分级分离而得到了本发明的新的美登木素类化合物。“生物测定指导下的分级分离”是指复杂混合物最终至各组分的顺序减少。测试提取物的生物学效应并使其经历一个或若干个分级分离程序。在每个分离步骤后,对每一组分进行生物测定用以选择有活性的组分以供进一步研究。当将混合物的复杂性减少到少许化合物时,将纯化该组分以获得有生物活性的化合物,所述有生物活性的化合物将进行化学鉴定和进一步的生物活性评价。

[0033] 本发明提供了具有下列结构的化合物:



[0035] 其中R是具有至少3个碳原子的直链烷基。所述烷基任选地被醇、氨基醇、胺、酰胺或醚中的一个或多个取代。在一个实施方案中,本发明提供了式II的化合物翅子藤素A,其中R是 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 。翅子藤素A、美登木素和其它常见的美登木素类化合物的结构如下:



[0037] 美登木素: $\text{R} = \text{CH}_3$

[0038] 美登普林(Maytanprine): $\text{R} = \text{CH}_2\text{CH}_3$

[0039] 美登布亭(Maytanbutine): $R=CH(CH_3)_2$

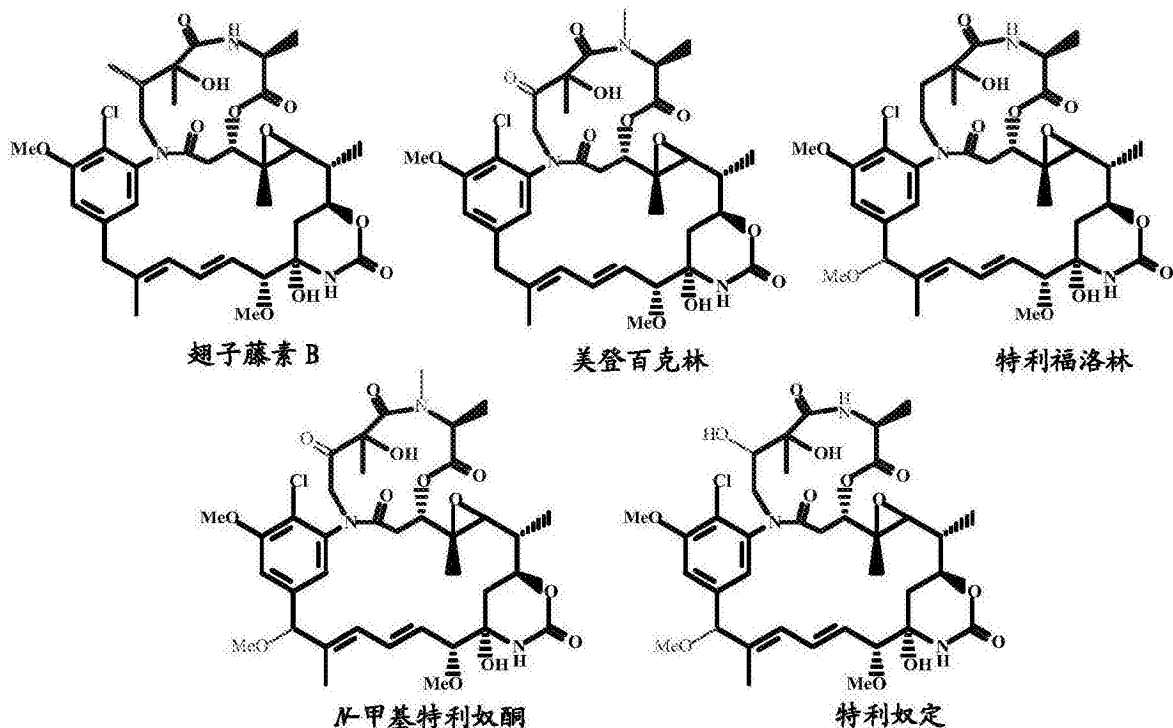
[0040] 美登凡林(Maytanvaline): $R=CH_2CH(CH_3)_2$

[0041] 翅子藤素A: $R=CH_2CH_2CH_3$

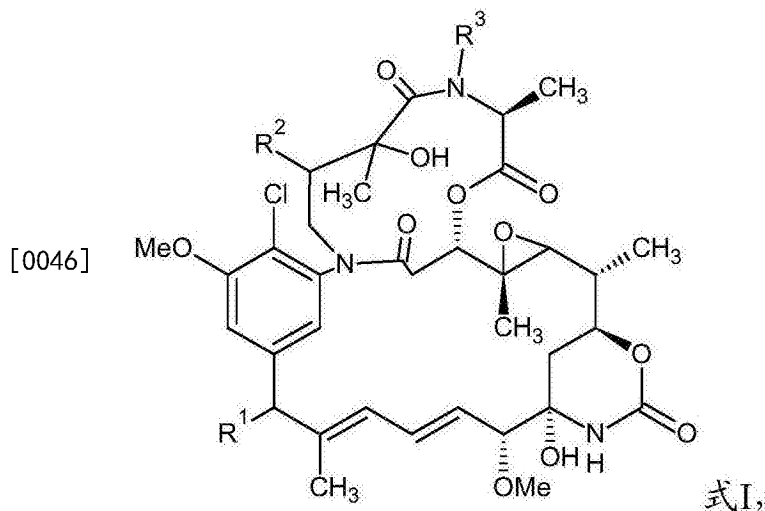
[0042] 本发明的美登木素类化合物具有两个稠合的大环,这在自然界中罕有发现。具有“大环”的化合物是指含有大的环的有机化合物。在脂环族化合物的有机化学中,大约12个碳原子的闭合链通常被认为是大的环的最小尺寸;冠醚是类似定义的。大环化合物可以是单一的连续的原子串,如环十二烷 $[(CH_2)_{12}]$,或可以在大环(macrocycle或macroring)内包含多于一条的链或其它环系(亚环单元(subcyclic unit))。另外,大环可以由赋予环系相当大的刚度的芳香环构成。

[0043] 自1972年从卵叶美登木中发现美登木素是一种强效的细胞毒性剂起,已经从包括植物、微生物和苔藓在内的自然界中又鉴定出了53种美登木素类化合物。然而,仅4种美登木素类化合物结构被报道含有两个稠合大环。本发明还提供了包含稠合双大环的式III的化合物翅子藤素B。翅子藤素B与显示在下文的4种现有的具有两个大环的化合物(美登百克林(maytanbicyclinol)、特利福洛林、*N*-甲基特利奴酮(*N*-methyltrenudone)、特利奴定)的主要结构差异在于翅子藤素B在甲基和C-5'之间形成碳-碳键。

[0044]



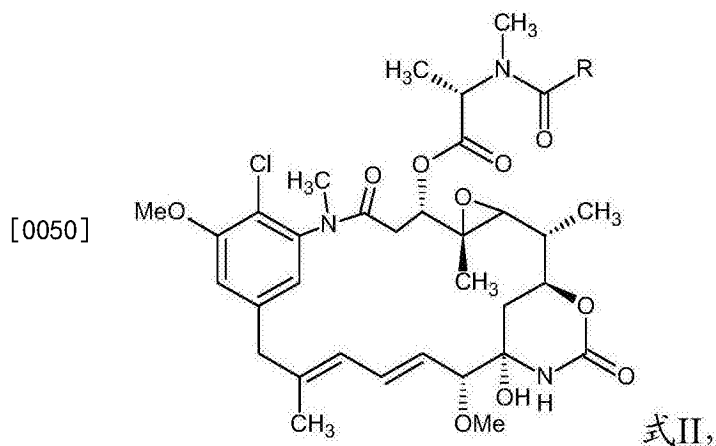
[0045] 在本发明的第一个方面的第一个实施方案中,本发明提供了具有下列结构的化合物:



[0047] 其中R¹、R²和R³独立地选自由下列各项组成的组：氢和具有1-6个碳原子的烷基。

[0048] 在一个实施方案中，本发明提供了式I的化合物，其中R¹是氢，R²是甲基，并且R³是氢。

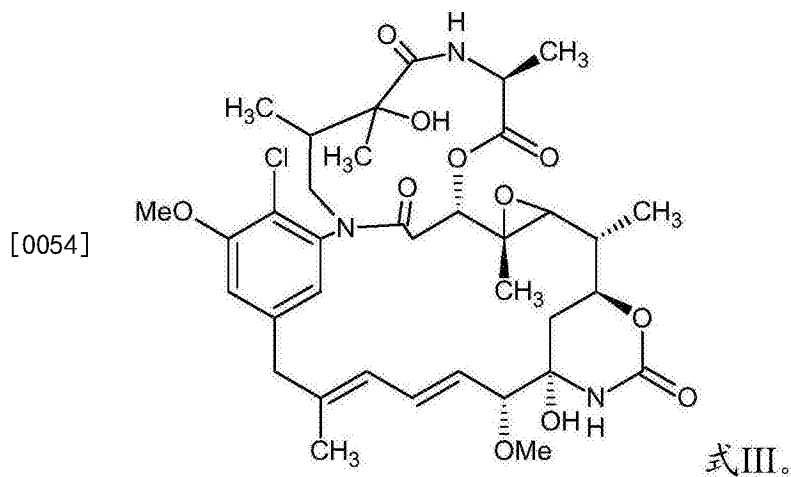
[0049] 在本发明的第一个方面的第二个实施方案中，提供了具有下式的化合物：



[0051] 其中R是具有至少3个碳原子且不超过8个碳原子的被取代的或未被取代的烷基。

[0052] 在本发明的第一个方面的第二个实施方案的一个实施例中，本发明提供了式II的化合物，其中R是CH₂CH₂CH₃。

[0053] 在本发明的第一个方面的第三个实施方案中，提供了具有下列结构的化合物：



[0055] 在本发明的第一个方面的第四个实施方案中,提供了来自植物少花翅子藤的具有一种或多种美登木素类化合物的提取物,其中所述提取物表现出抗肿瘤活性。

[0056] 在本发明的第二个方面,提供了一种治疗癌症的方法,其包括:每天施用有效剂量的根据本发明的任一个实施例或实施方案的至少一种化合物。

[0057] 在本发明的第二个方面的第一个实施方案中,有效剂量是每kg患者体重约20 μ g,优选每kg患者体重约40 μ g,或优选每kg患者体重约0.05mg。

[0058] 在本发明的第二个方面的第二个实施方案中,有效剂量是每kg患者体重至少1.6 μ g,优选每kg患者体重约3.2 μ g或优选每kg患者体重约0.004mg。

[0059] 在本发明的第二个方面的第三个实施方案中,所治疗的癌症是结肠癌、口腔表皮样癌、早幼粒细胞白血病、前列腺癌、乳腺癌或肺癌。

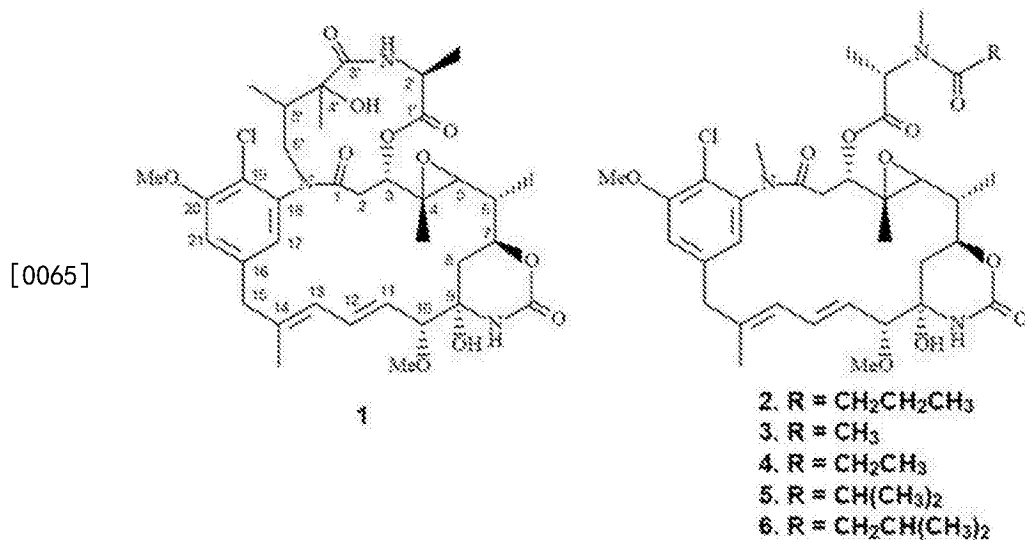
[0060] 实施例

[0061] 实施例1-美登木素类化合物在细胞培养物中的活性

[0062] 作为国际生物多样性合作组(International Cooperative Biodiversity Group)(ICBG)项目的一部分,从菊芳国家公园(Cuc Phuong National Park)(越南宁平(Ninh Binh)省儒关区(Nho Quan District))采集少花翅子藤(*Loeseneriella pauciflora*(DC.)A.C.Sm)(卫矛科),所述ICBG项目通过与越南、老挝和美国的机构协作来发现抗癌、抗人免疫缺陷病毒(抗-HIV)、抗疟疾和抗结核(抗-TB)天然产物,从而解决生物多样性保护、经济增长和促进健康的相关问题。在初始生物测定中,少花翅子藤的氯仿提取物表现出针对KB、Col-2、LNCaP、LU-1、HUVEC细胞的强效抑制活性,其IC₅₀值小于0.16 μ g/ml。因此从越南国家公园(Vietnamese National Park)再次采集这种植物的5.9kg干燥茎皮样品用以鉴定抗癌化合物。因此,通过生物测定指导的分级分离研究从这种植物中分离出两种新的(1-2)和四种已知的美登木素类化合物(3-6)。

[0063] 用MeOH提取再次采集的少花翅子藤的茎皮(5.9kg)得到提取物(360g)。通过使用硅胶和RP-18硅胶柱色谱和随后的制备型HPLC对该MeOH提取物进行生物测定指导的分级分离,分离得到了两种新的美登木素类化合物翅子藤素B(1)和翅子藤素A(2),以及其它四种已知的美登木素类化合物:美登木素(3)、美登普林(4)、美登布亭(5)和美登凡林(6)。

[0064] 翅子藤素B(1)是以白色粉末形式获得,根据正HRESIMS($[M+H]^+$ m/z 734.30282,计算值为734.30556)和NMR研究该化合物具有分子式C₃₆H₄₈ClN₃O₁₁。通过其与美登木素化合物的¹H和¹³C NMR数据的比较,该化合物被快速阐明为美登木素类化合物。在1和常见的美登木素类化合物的¹H NMR谱之间观察到尤其是H-3、H-17和侧链上的质子信号的差异。对包括¹H-¹H COSY、HMQC、HMBC和ROESY谱在内的2D NMR数据的分析揭示1中的侧链通过连接到C-18的氮原子而形成了新环。因此将翅子藤素B的结构确定为1(式III)。



[0066] 针对KB、Co1-2、LNCaP、Lu-1和MCF-7细胞系评价分离的化合物(1-6)的体外抗肿瘤活性。所有化合物均表现出极高的针对肿瘤细胞系的细胞毒活性,IC₅₀值小于0.6ng/mL。新的双大环化合物翅子藤素B(1)显示出与美登木素(3)相当的生物活性。然而,由于非常不同的立体化学,双大环美登木素类化合物可能具有与单大环美登木素衍生物不同的抗癌治疗窗。

[0067] 表1. 化合物1-6在肿瘤细胞培养物中的抗肿瘤活性^a

[0068]

化合物	KB	Lu1	Col2	LNCaP	MCF-7
1 翅子藤素 B	0.15	0.71	0.20	0.25	0.68
2 翅子藤素 A	0.10	0.38	0.18	0.18	0.19
3 美登木素	0.17	0.77	0.19	0.32	0.69
4 美登普林	0.061	0.35	0.16	0.16	0.17
5 美登布亭	0.050	0.13	0.061	0.054	0.13
6 美登凡林	0.11	0.69	0.15	0.16	0.27

[0069] ^a结果表示为以nM计的IC₅₀值[将细胞生长抑制50%所需的浓度],并且从一式三份的试验获得数据。长春花碱和紫杉醇用作阳性对照(长春花碱在40ng/mL显示针对KB、Lu-1、Co12、LNCaP和MCF-7分别91%、54%、87%、89%和70%的抑制;紫杉醇在20ng/mL显示分别针对KB、Lu-1、Co12、LNCaP和MCF-7分别93%、56%、76%、89%和71%的抑制。)

[0070] 一般试验程序. 在Perkin-Elmer 241型偏光计上测量旋光度。通过在铬板上施加膜在装配有Specac Silver Gate ATR系统的Jasco FT/IR-410光谱仪上运行IR谱。在Bruker Avance-500MHz频谱仪上记录1D和2D NMR谱。柱色谱使用硅胶(200-400目,Natland International公司),并且反相快速色谱使用RP-18硅胶(40-63μ,EM Science)。在装配有Waters 996光电二极管检测器的Waters 600E输送系统泵上和Phenomenex LUNA C18柱(10 μ,250×50mm)上进行反相HPLC,这还使得提取每种纯化化合物的UV谱数据。在涂有0.25mm硅胶60的Whatman玻璃板上进行薄层色谱分析。在ThermoFinnigan LTQFT光谱仪上记录HRTOFMS谱。

[0071] 植物材料. 于2000年8月15日在菊芳国家公园距Bong/公园中心1km的第二河谷林中初步采集少花翅子藤(*Loeseneriella pauciflora*(DC.)A.C.Sm)(卫矛科)的茎皮样品(SV-2194),采集地的坐标读数为105° 43.10'N和20° 14.60'E,海拔为200m。采集凭证标本N.M.Cuong、D.T.Kien和M.V.Sinh 975号,所述凭证标本保藏于菊芳国家公园的植物标本馆和芝加哥菲尔德博物馆(Field Museum,Chicago)的植物标本馆(保藏号2228062)。随后从位于同一区域的植物再次采集用于目前分离工作的更大量的由同一植物部分(茎皮)组成的植物样品(样品SVA2194,5.9kg)。凭证标本N.M.Cuong 1653号保藏于越南菊芳国家公园的植物标本馆。

[0072] 分类学鉴定. 通过与保藏在菲尔德博物馆的植物标本馆处的少花翅子藤(*Loeseneriella pauciflora*(DC.)A.C.Sm.)的经鉴定的植物标本以及文献参考资料[Ding Hou in *Flora Malesiana* I,6(3):399(1964)]比较来进行来源材料的分类学鉴定(NMC等,975和NMC等,1653)。

[0073] 细胞培养物. 用储存在位于芝加哥的伊利诺伊大学药物化学和生药学系(Department of Medicinal Chemistry and Pharmacognosy,University of Illinois at Chicago)(伊利诺伊州,芝加哥)的冷冻细胞活化人口腔表皮样癌KB细胞系、人早幼粒细胞白血病HL-60细胞系、人前列腺癌LNCaP细胞系、人乳腺癌MCF-7细胞系、人结肠癌Co12细胞系和人肺癌Lu1细胞系。将Co12细胞维持在MEME培养基中。将KB细胞维持在DMEM培养基中。将LNCaP细胞维持在含有无激素10%热活化FBS(胎牛血清)的、补充有0.1nM睾酮的RPMI1640培养基中。在MEME培养基中培养Lu1细胞。将MCF-7细胞维持在含有10mg/L胰岛素的MEME培养基中。在每种情况下,加入PSF(100单位/mL青霉素G、100μg/mL硫酸链霉素、250ng/mL两性霉素B)。所有培养基均补充了10%热灭活FBS。

[0074] 细胞培养组合生物测定. 使用已建立的程序在人口腔表皮样癌(KB)细胞系中测试提取物、组分和化合物。另外,针对包括我们的细胞毒性筛选组合的其它人癌细胞系评价所有纯化合物。根据已建立的程序使用磺基罗丹明B进行涉及结肠癌(Co1-2)、前列腺癌(LNCaP)和肺癌(Lu1)细胞系的细胞毒性测定。

[0075] 实施例2-美登木素类化合物在中空纤维测试中的活性

[0076] 中空纤维测试在本领域中熟知用于提供对治疗效果的初步指示(Mi等(2002),*J.Nat.Prod.*65:842-850)。在中空纤维测试中,使目前在细胞培养中采用的人肿瘤细胞系在半渗透的中空纤维内部生长以形成异质实体瘤模型。将含有人肿瘤细胞的中空纤维移植在宿主小鼠的腹膜内或皮下区室中,并用目标测试化合物治疗所述小鼠(Hollingshead等(1995),*Life Sciences* 57(2):131-141)。通过评价测试化合物对肿瘤细胞生长的抑制与在宿主中的毒性反应,从而以节约成本和时间的有效的方式提供对治疗效果的初步估计。

[0077] 测试从少花翅子藤(卫矛科)分离的翅子藤素B的体内中空纤维研究。为了进行比较,使用紫杉醇(泰素(Taxol))进行类似的体内中空纤维研究。中空纤维实验揭示翅子藤素B能够以低至0.05mg/kg的剂量将腹膜内区室处植入的Co12和MCF7细胞的生长抑制超过65%(表2)。体内中空纤维数据清楚地证明该化合物的抗癌效力。

[0078] 表2.翅子藤素B的中空纤维体内数据

[0079]

化合物	肿瘤细胞	剂量 (mg/kg)	抑制(%)	P 值
-----	------	---------------	-------	-----

[0080]

翅子藤素 B	Lu1-IP	0.05	34.9	0.09
	Lu1-SC	0.05	0	
	Lu1-IP	0.1	20.9	0.24
	Lu1-SC	0.1	0	
	Col2-IP	0.05	65.5	0.009
	Col2-SC	0.05	0	
	Col2-IP	0.1	70.5	0.008
	Col2-SC	0.1	1.4	
	MCF7-IP	0.05	57.2	0.058
	MCF7-SC	0.05	0	
	MCF7-IP	0.1	75.5	0.008
	MCF7-SC	0.1	0	
	MCF7-IP	0.2	84.6	0.007
	MCF7-SC	0.2	40.1	0.25
紫杉醇(泰素)	Lu1-IP	2.0	39.9	0.052
	Lu1-SC	2.0	0	
	Col2-IP	2.0	62.9	0.006
	Col2-SC	2.0	6.9	
	MCF7-IP	2.0	71.3	0.007
	MCF7-SC	2.0	0	

[0081] 在从测试动物剂量向人体临床剂量的转换计算中,基于估算在针对成年健康志愿者中治疗的初步临床试验中的最大安全起始剂量的行业指南(Guidance for Industry Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers),该指南由美国卫生与公众服务部(U.S.Department of Health and Human Services),食品药品监督管理局(Food and Drug Administration),药物评价和研究中心(Center for Drug Evaluation and Research)于2005年7月发布;第7页:表1:

[0082] 人等效剂量(mg/kg)=动物剂量(mg/kg)×(动物Km/人Km),其中小鼠Km是3且人Km是37。

[0083] 因此,每kg鼠体重0.05mg对应于每kg人患者体重0.004mg。

[0084] 实施例3-美登木素类化合物在HCT116异种移植小鼠模型中的活性

[0085] 为了进一步评估美登木素类化合物翅子藤素B的抗癌活性,使用若干裸小鼠(BalC/nu/nu,雄性,5-6周龄,购自Charles River Laboratories)测试翅子藤素B针对HCT116癌细胞的抗肿瘤活性,与紫杉醇比较。将HCT116癌细胞(2×10^7 个细胞于100 μ L悬液中)皮下植入到每只小鼠的后肋中。10天后,在植入部位处出现实体瘤。然后将小鼠分成4组:一个翅子藤素B的高剂量(40 μ g/kg:7只小鼠)组和一个翅子藤素B的低剂量(20 μ g/kg:7

只小鼠)组,一个剂量(5mg/kg:10只小鼠)的紫杉醇和一个剂量的载体(阴性对照:10只小鼠)。按在静脉注射部位处每天注射的计划进行21天。

[0086] 在从测试动物剂量向人体临床剂量的转换计算中,基于估算在针对成年健康志愿者中治疗的初步临床试验中的最大安全起始剂量的行业指南,该指南由美国卫生与公众服务部,食品药品监督管理局,药物评价和研究中心于2005年7月年发布;第7页:表1,每kg鼠体重20 μ g对应于每kg人患者体重1.6 μ g。相应地,每kg鼠体重40 μ g对应于每kg人患者体重3.2 μ g。

[0087] 在实验中,观察到用翅子藤素B治疗的小鼠中的HCT116肿瘤比用载体治疗的小鼠中的HCT116肿瘤生长更慢(图1-3)。21天给药后,与对照组相比,用低剂量翅子藤素B治疗将测量到的平均肿瘤尺寸(L \times W \times W)抑制了38.3%(p值=0.002),用高剂量翅子藤素B治疗将测量到的平均肿瘤尺寸(L \times W \times W)抑制了41.7%(p值=0.003)。翅子藤素B在低得多的剂量下显示与紫杉醇类似的肿瘤抑制。在两种剂量下均没有观察到翅子藤素B组有明显的体重减轻。

[0088] 图1-3显示翅子藤素B对HCT116-肿瘤异种移植物生长的抑制。在第10天,当肿瘤尺寸达到大约100mm³(L \times W \times W)时,开始治疗。每天向荷瘤小鼠分别(静脉内)施用两种剂量的翅子藤素B(20 μ g/kg和40 μ g/kg)、紫杉醇(5mg/kg)和载体,持续3周(图1)。图2显示治疗3周后切除的肿瘤重量;相对于对照的P值(抑制%):翅子藤素B高剂量=0.003(41.7%),翅子藤素B低剂量=0.002(38.3%),且紫杉醇=0.0004(37.6%);图3显示小鼠的生长体重。图3显示3周治疗后,有HCT116-肿瘤异种移植物生长的小鼠的体重。显示用阳性对照(紫杉醇)、翅子藤素B治疗后或不治疗的情况下,体重变化不明显。

[0089] 现已出于清晰理解的目的通过阐释和实施例方式详细全面地描述了本发明,因此对于本领域普通技术人员显而易见的是,可以在条件、配方和其他参数的宽泛和等效的范围内通过修改或改变本发明来实施本发明,而不影响本发明的范围或其任何具体的实施方案,并且这些修改或改变意在涵盖在所附权利要求的范围内。所采用的术语和表述用以描述而非限制性,并且这些术语和表述的使用并不意在排除所显示和描述的特征的任何等同或其部分,而要认识到可在所要求保护的本发明的范围内做出各种修改。因此,应当理解,尽管已经通过优选的实施方案和可选的特征具体地公开了本发明,但本领域技术人员可采用本文所公开的概念的修改和变化,并且这些修改和变化被认为在本发明的范围内。

[0090] 如本文中所使用,“包括”与“包含”、“含有”或“特征在于”同义,并且是包含性的或开放式的且不排除额外的、未述及的要素或方法步骤。如本文中所使用,“由……组成”不包括没有在权利要求要素中具体指出的任何要素、步骤或成分。如本文中所使用,“基本上由……组成”不排除不实质性地影响权利要求的基本和新颖特性的材料或步骤。在本文中的每种情况下,术语“包括”、“基本上由……组成”和“由……组成”中的任一个均可被另外两个术语中的任一个代替。

[0091] 当在本文中公开了一组材料、组合物、组分或化合物时,要理解那些组和其所有子组的所有个别成员是被单独地公开了。当在本文中使用马库什(Markush)组或其它群组时,该组的所有个别成员以及该组的所有可能组合和子组合均意在被个别地包括在本公开中。除非另外说明,否则在本文中描述或例示的组分的每一种制剂或组合均可用来实施本发明。无论何时在说明书中给出范围,例如,温度范围、时间范围或组成范围,所有中间范围和子范围以及包括在所给范围内的所有个别值均意在包括在本公开中。在本公开和权利要求

书中,“和/或”的意思是另外的或备选地。而且,任何以单数形式使用的术语也涵盖复数形式。

[0092] 本文中所引用的所有参考文献均整体地通过引用合并于此,达到其与说明书的公开内容没有不一致的程度。本文中所提供的一些参考文献通过引用并入以提供关于本发明的起始材料来源、额外的起始材料、额外的试剂、额外的合成方法、额外的分析方法、额外的生物学材料、额外的细胞和额外的用途的来源的细节。本文中所使用的所有标题均仅为方便起见。本说明书中所提及的所有专利和出版物指示本发明所属领域的技术人员的技能水平,并且通过引用并入本文,其并入程度如同具体地且个别地指示将每个别的出版物、专利或专利申请通过引用并入一样。本文中所引用的参考文献整体地通过引用并入本文中以指示到它们的公布或提交日期时的技术状态并且意在需要时可将该信息用于本文中,以排除处于现有技术水平的具体实施方案。例如,当要求保护物质的组合物时,应当理解,本文中的物质组合物权利要求并不意涵盖在申请人的发明之前的现有技术中已知且可获得的化合物组合物,包括在本文引用的参考文献中对其进行充分公开的化合物的组合物。

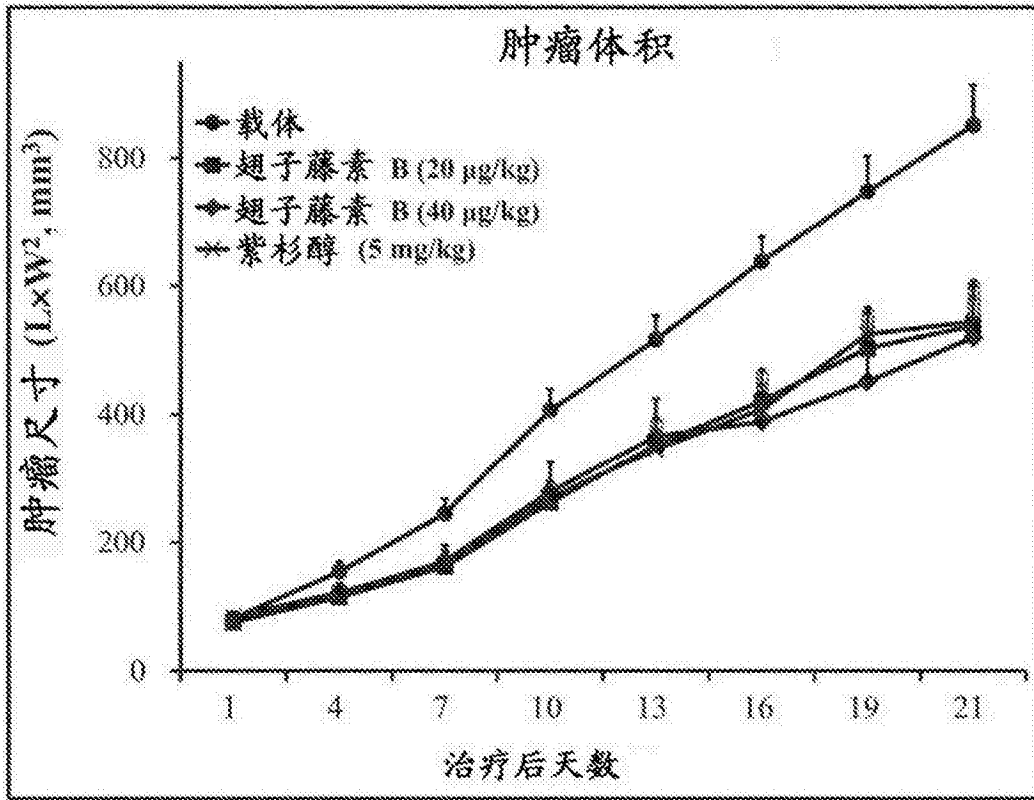


图1

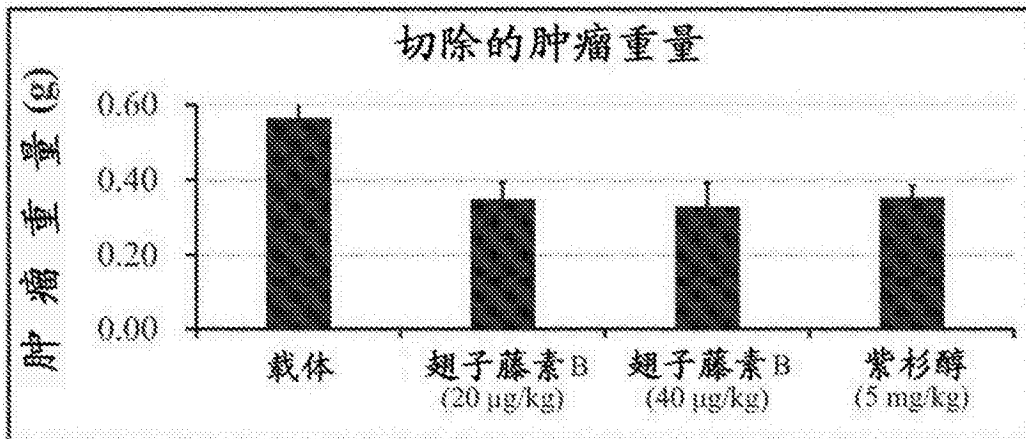


图2

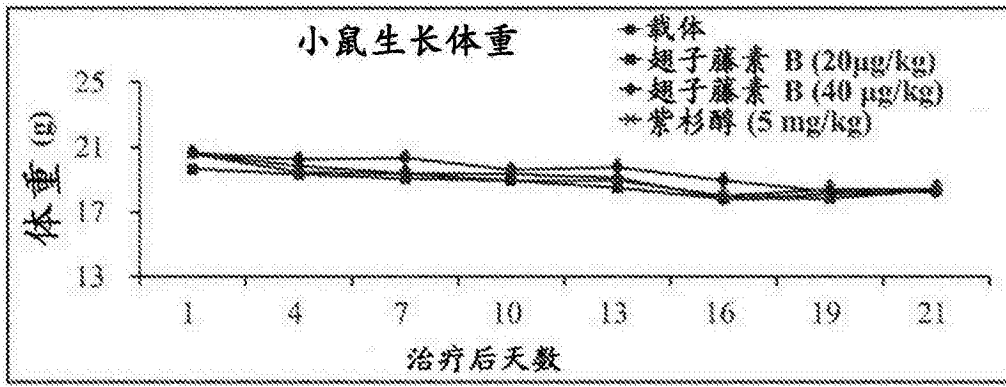


图3