



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104080449 A

(43) 申请公布日 2014. 10. 01

(21) 申请号 201280066774. 3

C07D 307/92 (2006. 01)

(22) 申请日 2012. 02. 17

A61P 3/04 (2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2014. 07. 11

A61P 3/10 (2006. 01)

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/CN2012/000190 2012. 02. 17

A61P 3/00 (2006. 01)

A61P 25/28 (2006. 01)

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02013/120229 EN 2013. 08. 22

A61P 35/00 (2006. 01)

A61P 43/00 (2006. 01)

(71) 申请人 舟山海中洲新生药业有限公司  
地址 316021 浙江省舟山市舟山市新城怡岛  
路 112 号

(72) 发明人 蒋志伟 李弦 徐海蓉 叶燕  
胡红伟 杨欢欢

(74) 专利代理机构 北京连和连知识产权代理有  
限公司 11278  
代理人 杨帆

(51) Int. Cl.  
A61K 31/343 (2006. 01)  
A61K 9/10 (2006. 01)  
A61J 3/00 (2006. 01)

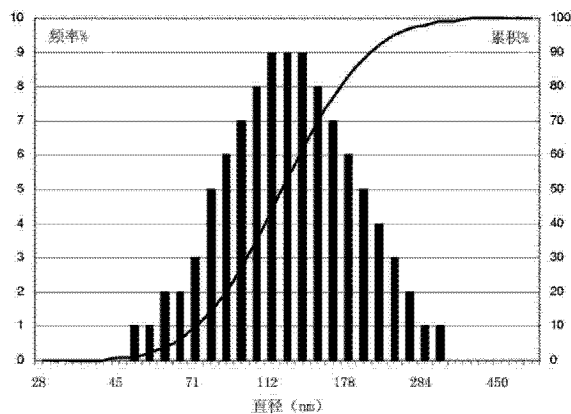
权利要求书6页 说明书24页 附图3页

### (54) 发明名称

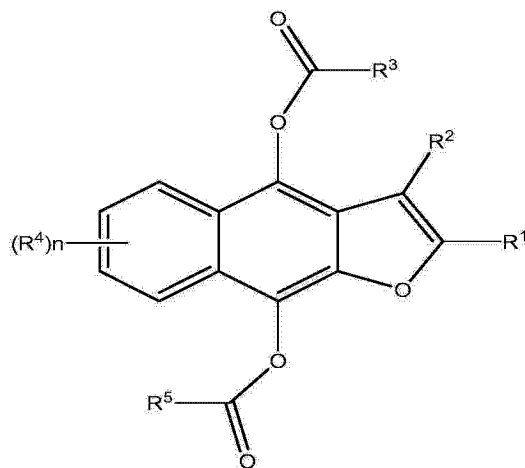
4,9- 二羟基 - 萘并 [2,3-b] 呋喃脂肪酸酯衍  
生物的纳米颗粒水悬液的制备方法

### (57) 摘要

本发明涉及一种制备 4,9- 二羟基 - 萘并 [2,3-b] 呋喃脂肪酸酯衍生物纳米颗粒水悬液的方法。本发明还涉及根据所述方法制备的纳米颗粒水悬液的组合物和其用途。



1. 一种用于制备式 I 化合物纳米颗粒水悬液的方法。式 I 化合物如式 I 所示：



I

或其药学上可接受的盐；

其中：

n 是 0-4；

R<sup>1</sup> 独立地为卤素；-NO<sub>2</sub>；-CN；-OR；-SR；-N<sup>+</sup>(R)<sub>3</sub>；-N(R)<sub>2</sub>；-C(O)R；-CO<sub>2</sub>R；-C(O)C(O)R；-C(O)CH<sub>2</sub>C(O)R；-S(O)R；-S(O)<sub>2</sub>R；-C(O)N(R)<sub>2</sub>；-SO<sub>2</sub>N(R)<sub>2</sub>；-OC(O)R；-N(R)C(O)R；-N(R)N(R)<sub>2</sub>；-N(R)C(=NR)N(R)<sub>2</sub>；-C(=NR)N(R)<sub>2</sub>；-C=NOR；-N(R)C(O)N(R)<sub>2</sub>；-N(R)SO<sub>2</sub>N(R)<sub>2</sub>；-N(R)SO<sub>2</sub>R；-OC(O)N(R)<sub>2</sub>；或者选自以下的任选取代的基团：C<sub>1-12</sub>脂肪族；3元至14元的脂肪环；3元至14元的杂环；6元至14元的芳香环；或者5元至14元的杂芳香环；或者：

R<sup>1</sup> 和 R<sup>2</sup> 通过它们的相连原子形成了选自以下的任选取代的环：3元至14元的脂肪环；3元至14元的杂环；6元至14元的芳香环；或者5元至14元的杂芳香环；

R<sup>2</sup> 独立地为氢；卤素；-NO<sub>2</sub>；-OR；-SR；-N<sup>+</sup>(R)<sub>3</sub>；-N(R)<sub>2</sub>；-C(O)R；-CO<sub>2</sub>R；-C(O)C(O)R；-C(O)CH<sub>2</sub>C(O)R；-S(O)R；-S(O)<sub>2</sub>R；-C(O)N(R)<sub>2</sub>；-SO<sub>2</sub>N(R)<sub>2</sub>；-OC(O)R；-N(R)C(O)R；-N(R)N(R)<sub>2</sub>；-N(R)C(=NR)N(R)<sub>2</sub>；-C(=NR)N(R)<sub>2</sub>；-C=NOR；-N(R)C(O)N(R)<sub>2</sub>；-N(R)SO<sub>2</sub>N(R)<sub>2</sub>；-N(R)SO<sub>2</sub>R；-OC(O)N(R)<sub>2</sub>；或者选自以下的任选取代的基团：C<sub>1-12</sub>脂肪族；3元至14元的脂肪环；3元至14元的杂环；6元至14元的芳香环；或者5元至14元的杂芳香环；或者：

R<sup>2</sup> 和 R<sup>1</sup> 通过它们的相连原子形成了选自以下的任选取代的环：3元至14元的脂肪环；3元至14元的杂环；6元至14元的芳香环；或者5元至14元的杂芳香环；

R<sup>3</sup> 和 R<sup>5</sup> 各自独立地选自任选取代的 C<sub>1-21</sub> 脂肪族；

各 R<sup>4</sup> 独立地为卤素；-NO<sub>2</sub>；-CN；-OR；-SR；-N<sup>+</sup>(R)<sub>3</sub>；-N(R)<sub>2</sub>；-C(O)R；-CO<sub>2</sub>R；-C(O)C(O)R；-C(O)CH<sub>2</sub>C(O)R；-S(O)R；-S(O)<sub>2</sub>R；-C(O)N(R)<sub>2</sub>；-SO<sub>2</sub>N(R)<sub>2</sub>；-OC(O)R；-N(R)C(O)R；-N(R)N(R)<sub>2</sub>；-N(R)C(=NR)N(R)<sub>2</sub>；-C(=NR)N(R)<sub>2</sub>；-C=NOR；-N(R)C(O)N(R)<sub>2</sub>；-N(R)SO<sub>2</sub>N(R)<sub>2</sub>；-N(R)SO<sub>2</sub>R；-OC(O)N(R)<sub>2</sub>；或者选自以下的任选取代的基团：C<sub>1-12</sub>脂肪族；3元至14元的脂肪环；3元至14元的杂环；6元至14元的芳香环；或者5元至14元的杂芳香环；或者：

相邻碳原子上的两个  $R^4$  基团通过它们的相连原子形成了选自以下的任选取代的环:3元至14元的脂肪环;3元至14元的杂环;6元至14元的芳香环;或者5元至14元的杂芳香环;

各  $R$  独立地为氢;或者选自以下的任选取代的基团: $C_{1-12}$  脂肪族;3元至14元的脂肪环;3元至14元的杂环;6元至14元的芳香环;或者5元至14元的杂芳香环;

该方法包括:(1)将式 I 化合物和任选的药学上可接受的表面活性剂溶解于能和水混溶的有机溶剂,形成一种有机溶液;(2)将可任选的药学上可接受的试剂和/或可任选的药学上可接受的表面活性剂溶解于水,形成一种水溶液;和(3)将有机溶液和水溶液混合,形成纳米颗粒水悬液,其中纳米颗粒的中值粒径(D50)在约10纳米到约5000纳米的范围中。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中式 I 化合物是4,9-二羟基-萘并[2,3-b]呋喃脂肪酸酯衍生物。

3. 根据权利要求1或2所述的方法,其中式 I 化合物选自以下化合物:2-乙酰-4,9-二羟基-萘并[2,3-b]呋喃辛酸酯、2-乙酰-4,9-二羟基-萘并[2,3-b]呋喃十二烷酸酯和2-乙酰-4,9-二羟基-萘并[2,3-b]呋喃己酸酯。

4. 根据权利要求1-3所述的任一方法,其中所述的能和水混溶的有机溶剂中可任选的药学上可接受的表面活性剂包括丙三醇单-(或双-)脂肪酸酯、卵磷脂、磷脂质(例如磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇、鞘磷脂、等等)、胆固醇、PEG-磷脂质、PEG-胆固醇、PEG-胆固醇衍生物、PEG-维生素A、PEG-维生素E、PEG-丙三醇单-(或双-)脂肪酸酯、乙二醇单脂肪酸酯、丙二醇单脂肪酸酯、3-二烷基( $C_{1-8}$ )氨基-丙二醇-二脂肪酸酯、聚(乙二醇)单脂肪酸酯、硬脂酸、山梨糖醇酯、聚氧乙烯烷基醚、蓖麻油聚氧乙烯衍生物、聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、泊洛沙姆、蔗糖硬脂酸酯和蔗糖二硬脂酸酯混合物、醋酸乙烯酯和乙烯吡咯烷酮的随机共聚物、脱氧胆酸、甘油脱氧胆酸、牛磺胆酸、以及上述的混合物。

5. 根据权利要求1-4所述的任一方法,其中所述的能和水混溶的有机溶剂中可任选的药学上可接受的表面活性剂包括PEG-磷脂质、PEG-胆固醇、PEG-胆固醇衍生物、PEG-维生素A、PEG-维生素E、PEG-丙三醇单-(或双-)脂肪酸酯、聚(乙二醇)单脂肪酸酯、聚氧乙烯烷基醚、蓖麻油聚氧乙烯衍生物、聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯、泊洛沙姆、以及上述的混合物。

6. 根据权利要求1-5所述的任一方法,其中所述的能和水混溶的有机溶剂包括乙醇、N-甲基-2-吡咯烷酮、2-吡咯烷酮、二甲亚砜、二甲基乙酰胺、聚氧乙烯、丙二醇、以及上述的混合物。

7. 根据权利要求1-6所述的任一方法,其中所述能和水混溶的有机溶剂包括二甲基乙酰胺、PEG300、PEG400、PEG4000、PEG20000、以及上述的混合物。

8. 根据权利要求1-7所述的任一方法,其中所述能和水混溶的有机溶剂溶液含有0.1-200mg/ml 式 I 化合物和0-500mg/ml 药学上可接受的表面活性剂。

9. 根据权利要求1-8所述的任一方法,其中所述能和水混溶的有机溶剂溶液含有3-50mg/ml 式 I 化合物和0-100mg/ml 药学上可接受的表面活性剂。

10. 根据权利要求1-9所述的任一方法,其中所述水溶液中任选的药学上可接受的试剂取自甘露醇、乳糖、麦芽糖醇、麦芽糖糊精、麦芽糖、葡萄糖结合剂、葡聚糖、右旋糖、果糖、

山梨糖醇、葡萄糖、蔗糖、明胶、海藻酸及其盐、苯甲酸钠、氯化钠、以及上述的混合物。

11. 根据权利要求 1-10 所述的任一方法,其中所述水溶液中任选的药学上可接受的表面活性剂取自 PEG- 磷脂质、PEG- 胆固醇、PEG- 胆固醇衍生物、PEG- 维生素 A、PEG- 维生素 E、PEG- 丙三醇单(或双)脂肪酸酯、聚(乙二醇)单脂肪酸酯、聚氧乙烯烷基醚、蓖麻油聚氧乙烯醚衍生物、聚山梨酯、白蛋白、泊洛沙姆、以及以上混合物。

12. 根据权利要求 1-11 所述的任一方法,其中所述水溶液选自含有 0-100mg/ml 白蛋白的生理盐水、含有 0-100mg/ml 泊洛沙姆的生理盐水、含有 0-100mg/ml 白蛋白的右旋糖水溶液、和含有 0-100mg/ml 泊洛沙姆的右旋糖水溶液。

13. 根据权利要求 1-12 所述的任一方法,其中将约 1 ~ 1000 倍体积的水溶液加入到式 I 化合物的有机溶液中,同时搅拌或涡旋形成纳米颗粒水悬液。此纳米颗粒水悬液的颗粒中值粒径(D50)在约 10 纳米到约 5000 纳米的范围内。

14. 根据权利要求 1-12 所述的任一方法,其中将式 I 化合物的有机溶液加入到约 1 ~ 1000 倍体积的水溶液中,同时搅拌或涡旋形成纳米颗粒水悬液。此纳米颗粒水悬液的颗粒中值粒径(D50)在约 10 纳米到约 5000 纳米的范围内。

15. 根据权利要求 1-14 所述的任一方法,所制备的纳米颗粒水悬液的中值粒径(D50)小于 5000 纳米。

16. 根据权利要求 1-15 所述的任一方法,所制备的纳米颗粒水悬液的中值粒径(D50)小于 2000 纳米。

17. 根据权利要求 1-16 所述的任一方法,所制备的纳米颗粒水悬液的中值粒径(D50)小于 500 纳米。

18. 根据权利要求 1-17 所述的任一方法,所制备的纳米颗粒水悬液的中值粒径(D50)小于 200 纳米。

19. 根据权利要求 1-18 所述的任一方法,所制备的式 I 化合物纳米颗粒水悬液和任选的药学上可接受的载体所组成的药物组合物。

20. 根据权利要求 19 所述的药物组合物,其中所述的式 I 化合物纳米颗粒水悬液包括:

约 0.1-20mg/ml 的式 I 化合物;

约 0-200mg/ml 的一种或多种药学上可接受的试剂;

约 0-200mg/ml 的一种或多种药学上可接受的表面活性剂;和

体积约 0.1-50%的和水混溶有机溶剂或溶剂混合物。

21. 根据权利要求 19 所述的药物组合物,其中所述的任选的药学上可接受的载体选自淀粉及其衍生物、甘露醇、乳糖、麦芽糖醇、麦芽糖糊精、麦芽糖、葡萄糖结合剂、葡聚糖、右旋糖、果糖、山梨糖醇、葡糖、蔗糖、羧甲基纤维素、羟丙基纤维素、微晶纤维素、乙基纤维素、甲基纤维素、其它合适的纤维素衍生物、明胶、海藻酸和其盐、胶体二氧化硅、交联羧甲基纤维素钠、交联维酮、镁铝硅酸盐、聚维酮、苯甲酸苄酯、氯丁醇、邻苯二甲酸二乙酯、硬脂酸钙、硬脂酸棕榈酸甘油酯、氧化镁、泊洛沙姆、聚乙烯醇、苯甲酸钠、月桂基硫酸钠、硬脂酰富马酸钠、硬脂酸、滑石粉、硬脂酸锌、金合欢胶、丙烯酸和甲基丙烯酸共聚物、树胶如瓜耳胶、药用油、硬脂酸棕榈酸甘油酯、氢化植物油、高岭土、碳酸镁、氧化镁、聚甲基丙烯酸酯、氯化钠、以及其它专业人员所熟悉的常规填充剂物质。

22. 根据权利要求 19-21 所述的任一药物组合物,其中所述式 I 化合物是 4,9-二羟基-萘并 [2,3-b] 呋喃脂肪酸酯衍生物。

23. 根据权利要求 19-22 所述的任一药物组合物,其中所述式 I 化合物选自 2-乙酰-4,9-二羟基-萘并 [2,3-b] 呋喃辛酸酯、2-乙酰基-4,9-二羟基-萘并 [2,3-b] 呋喃十二烷酸酯和 2-乙酰基-4,9-二羟基-萘并 [2,3-b] 呋喃己酸酯。

24. 根据权利要求 19-23 所述的任一药物组合物,其中所述药学上可接受的试剂选自甘露醇、乳糖、麦芽糖醇、麦芽糖糊精、麦芽糖、葡萄糖结合剂、葡聚糖、右旋糖、果糖、山梨糖醇、葡糖、蔗糖、明胶、海藻酸及其盐、苯甲酸钠、氯化钠、以及以上的混合物。

25. 根据权利要求 19-24 所述的任一药物组合物,其中所述药学上可接受的试剂选自右旋糖、葡糖、氯化钠、以及以上的混合物。

26. 根据权利要求 19-25 所述的任一药物组合物,其中所述的药学上可接受的表面活性剂选自丙三醇单-(或双-)脂肪酸酯、卵磷脂、磷脂质(例如磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇、鞘磷脂、等等)、胆固醇、PEG-磷脂质、PEG-胆固醇、PEG-胆固醇衍生物、PEG-维生素 A、PEG-维生素 E、PEG-丙三醇单-(或双-)脂肪酸酯、乙二醇单脂肪酸酯、丙二醇单脂肪酸酯、3-二烷基(C<sub>1-8</sub>)氨基-丙二醇-二脂肪酸酯、聚(乙二醇)单脂肪酸酯、硬脂酸、山梨糖醇酯、聚氧乙烯烷基醚、蓖麻油聚氧乙烯衍生物、聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、白蛋白、泊洛沙姆、蔗糖硬脂酸酯和蔗糖二硬脂酸酯混合物、醋酸乙烯酯和乙烯吡咯烷酮的随机共聚物、脱氧胆酸、甘油脱氧胆酸、牛磺胆酸、以及上述的混合物。

27. 根据权利要求 19-25 所述的任一药物组合物,其中所述的药学上可接受的表面活性剂选自 PEG-磷脂质、PEG-胆固醇、PEG-胆固醇衍生物、PEG-维生素 A、PEG-维生素 E、PEG-丙三醇单-(或双-)脂肪酸酯、乙二醇单脂肪酸酯、聚氧乙烯烷基醚、蓖麻油聚氧乙烯衍生物、聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯、白蛋白、泊洛沙姆、以及上述的混合物。

28. 根据权利要求 19-27 所述的任一药物组合物,其中所述的能和水混溶的有机溶剂包括乙醇、N-甲基-2-吡咯烷酮、2-吡咯烷酮、二甲亚砜、二甲基乙酰胺、聚氧乙烯、丙二醇、以及上述的混合物。

29. 根据权利要求 19-28 所述的任一药物组合物,其中所述的能和水混溶的有机溶剂包括二甲基乙酰胺、PEG300、PEG400、PEG4000、PEG20000、以及上述的混合物。

30. 根据权利要求 19-29 所述的任一药物组合物,其中所述的纳米颗粒水悬液的颗粒中值粒径(D50)小于约 5000 纳米。

31. 根据权利要求 19-30 所述的任一药物组合物,其中所述的纳米颗粒水悬液的颗粒中值粒径(D50)小于约 2000 纳米。

32. 根据权利要求 19-31 所述的任一药物组合物,其中所述的纳米颗粒水悬液的颗粒中值粒径(D50)小于约 500 纳米。

33. 根据权利要求 19-32 所述的任一药物组合物,其中所述的纳米颗粒水悬液的颗粒中值粒径(D50)小于约 200 纳米。

34. 用于制备权利要求 19-33 所述的任一药物组合物的一种试剂盒,试剂盒内容包括:

(a) 一种含有约 0.1 ~ 200mg/ml 式 I 化合物和 0 ~ 500mg/ml 药学上可接受的表面活性剂的和水混溶有机溶剂溶液,或制备该有机溶液的各组分;

(b) 一种含有约 0 ~ 200mg/ml 药学上可接受的试剂和 0 ~ 200mg/ml 药学上可接受的

表面活性剂的水溶液,或制备该水溶液的各组分;

(c) 指导如何混合有机溶液和水溶液制备纳米颗粒水悬液的说明,如试剂盒中未提供已配制的有机溶液,则也包括指导如何配制有机溶液的说明,如试剂盒中未提供已配制的水溶液,则还包括指导如何配制水溶液的说明。

35. 根据权利要求 34 所述的试剂盒,其中所述式 I 化合物是 4,9- 二羟基 - 萘并 [2,3-b] 呋喃脂肪酸酯衍生物。

36. 根据权利要求 34 或 35 所述的试剂盒,其中所述式 I 化合物选自 2- 乙酰 -4,9- 二羟基 - 萘并 [2,3-b] 呋喃辛酸酯、2- 乙酰 -4,9- 二羟基 - 萘并 [2,3-b] 呋喃十二烷酸酯和 2- 乙酰 -4,9- 二羟基 - 萘并 [2,3-b] 呋喃己酸酯。

37. 根据权利要求 34-36 所述的任一试剂盒,其中所述和水混溶有机溶剂中的药学上可接受的表面活性剂包括丙三醇单 - (或双 -) 脂肪酸酯、卵磷脂、磷脂质 (例如磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇、鞘磷脂、等等)、胆固醇、PEG- 磷脂质、PEG- 胆固醇、PEG- 胆固醇衍生物、PEG- 维生素 A、PEG- 维生素 E、PEG- 丙三醇单 - (或双 -) 脂肪酸酯、乙二醇单脂肪酸酯、丙二醇单脂肪酸酯、3- 二烷基 ( $C_{1-8}$ ) 氨基 - 丙二醇 - 二脂肪酸酯、聚 (乙二醇) 单脂肪酸酯、硬脂酸、山梨糖醇酯、聚氧乙烯烷基醚、蓖麻油聚氧乙烯衍生物、聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、泊洛沙姆、蔗糖硬脂酸酯和蔗糖二硬脂酸酯混合物、醋酸乙烯酯和乙烯吡咯烷酮的随机共聚物、脱氧胆酸、甘油脱氧胆酸、牛磺胆酸、以及上述的混合物。

38. 根据权利要求 34-37 所述的任一试剂盒,其中所述和水混溶有机溶剂中的药学上可接受的表面活性剂包括 PEG- 磷脂质、PEG- 胆固醇、PEG- 胆固醇衍生物、PEG- 维生素 A、PEG- 维生素 E、PEG- 丙三醇单 - (或双 -) 脂肪酸酯、聚 (乙二醇) 单脂肪酸酯、聚氧乙烯烷基醚、蓖麻油聚氧乙烯衍生物、聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯、泊洛沙姆、以及上述的混合物。

39. 根据权利要求 34-38 所述的任一试剂盒,其中所述和水混溶有机溶剂包括乙醇、N- 甲基 -2- 吡咯烷酮、2- 吡咯烷酮、二甲亚砜、二甲基乙酰胺、聚氧乙烯、丙二醇、以及上述的混合物。

40. 根据权利要求 34-39 所述的任一试剂盒,其中所述和水混溶有机溶剂包括二甲基乙酰胺、PEG300、PEG400、PEG4000、PEG20000、以及上述的混合物。

41. 根据权利要求 34-40 所述的任一试剂盒,其中所述水溶液中任选的药学上可接受的试剂选自甘露醇、乳糖、麦芽糖醇、麦芽糖糊精、麦芽糖、葡萄糖结合剂、葡聚糖、右旋糖、果糖、山梨糖醇、葡糖、蔗糖、明胶、海藻酸及其盐、苯甲酸钠、氯化钠、以及上述的混合物。

42. 根据权利要求 34-41 所述的任一试剂盒,其中所述水溶液中任选的药学上可接受的表面活性剂选自 PEG- 磷脂质、PEG- 胆固醇、PEG- 胆固醇衍生物、PEG- 维生素 A、PEG- 维生素 E、PEG- 丙三醇单 (或双) 脂肪酸酯、聚 (乙二醇) 单脂肪酸酯、聚氧乙烯烷基醚、蓖麻油聚氧乙烯衍生物、聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯、白蛋白、泊洛沙姆、以及上述的混合物。

43. 根据权利要求 34-42 所述的任一试剂盒,其中所述水溶液选自含有 0-100mg/ml 白蛋白的生理盐水水溶液、含有 0-100mg/ml 泊洛沙姆的生理盐水水溶液、含有 0-100mg/ml 白蛋白的右旋糖溶液和含有 0-100mg/ml 泊洛沙姆的右旋糖溶液。

44. 根据权利要求 34-43 所述的任一试剂盒,其中所述说明描述了操作步骤,如将约 1 ~ 1000 倍体积的水溶液在搅拌下加入到式 I 化合物的有机溶液中,或将式 I 化合物的有

机溶液在搅拌或涡旋下加入到约 1 ~ 1000 倍体积的水溶液中。

45. 一种治疗患有或易患有某种疾病、紊乱或病状的方法,所述方法包括向受试者施用治疗有效量的权利要求 19-33 所述任一组合物或根据权利要求 34-44 所述任一试剂盒所制备的组合物。

46. 根据权利要求 45 所述的方法,其中所述疾病、紊乱或病状是增殖性疾病、紊乱或病状。

47. 根据权利要求 45 所述的方法,其中所述疾病、紊乱或病状选自肥胖、肥胖相关疾病或紊乱、糖尿病、代谢性疾病、或退行性疾病。

48. 根据权利要求 46 所述的方法,其中所述疾病,紊乱或病状与线粒体功能障碍相关。

49. 根据权利要求 46 所述的方法,其中所述增殖性疾病是癌症。

50. 根据权利要求 46 所述的方法,进一步包括向受试者施用治疗有效量的第二化疗剂。

51. 根据权利要求 49 或 50 所述的方法,其中所述受试者在临床缓解期或者已经受手术治疗只有少量未切除的病灶。

52. 根据权利要求 49 所述的方法,其中所述癌症是实体瘤。

53. 根据权利要求 52 所述的方法,进一步包括采用放射治疗方法治疗癌症。

54. 根据权利要求 49 所述的方法,其中所述癌症选自结肠癌、肺癌、骨癌、胰腺癌、胃癌、食道癌、皮肤癌、脑癌、肝癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫癌、睾丸癌、前列腺癌、膀胱癌、肾癌、神经内分泌癌、乳腺癌、眼癌、鼻咽癌、胆囊癌、喉癌、口腔癌、阴茎癌、腺肿瘤、直肠癌、小肠癌、头和颈癌、多发性骨髓瘤、结肠直肠癌、卡波西肉瘤、尤因氏肉瘤、骨肉瘤、平滑肌肉瘤、神经胶质瘤、脑膜瘤、神经管细胞瘤、黑色素瘤、尿道癌和阴道癌。

55. 根据权利要求 54 所述的方法,其中所述癌症是转移性癌症。

56. 根据权利要求 54 所述的方法,其中所述受试者是哺乳动物。

57. 根据权利要求 54 所述的方法,其中所述治疗有效量是  $1\text{mg}/\text{m}^2$  至约  $5,000\text{mg}/\text{m}^2$  (I. V.) 或  $1\text{mg}/\text{m}^2$  至  $50,000\text{mg}/\text{m}^2$  (P.O.)。

58. 根据权利要求 57 所述的方法,其中所述治疗有效量是  $2\text{mg}/\text{m}^2$  至约  $3,000\text{mg}/\text{m}^2$  (I. V.) 或  $10\text{mg}/\text{m}^2$  至  $30,000\text{mg}/\text{m}^2$  (P.O.)。

## 4,9-二羟基-萘并[2,3-b]呋喃脂肪酸酯衍生物的纳米颗粒水悬液的制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种制备 4,9-二羟基-萘并[2,3-b]呋喃脂肪酸酯衍生物的纳米颗粒水悬液的方法。本发明还涉及根据所述方法制备的纳米颗粒水悬液的组合物。本发明进一步涉及根据所述方法制备的纳米颗粒水悬液的用途。

### 背景技术

[0002] 在制药工业界,将难溶于水的活性药物化合物配制成适用于口服、注射、和其它用药方式的制剂是一项艰难而迫切的任务。难溶于水的活性药物化合物的纳米颗粒制剂具备多种优点,如高口服生物利用度、低注射制剂毒性(如因有机溶剂使用量的减少)、与微小药物颗粒通过所涉及的疏松有孔脉管系统直接迁移相关的某些癌性肿瘤的被动靶向、以及用作肌肉注射的缓释用药。

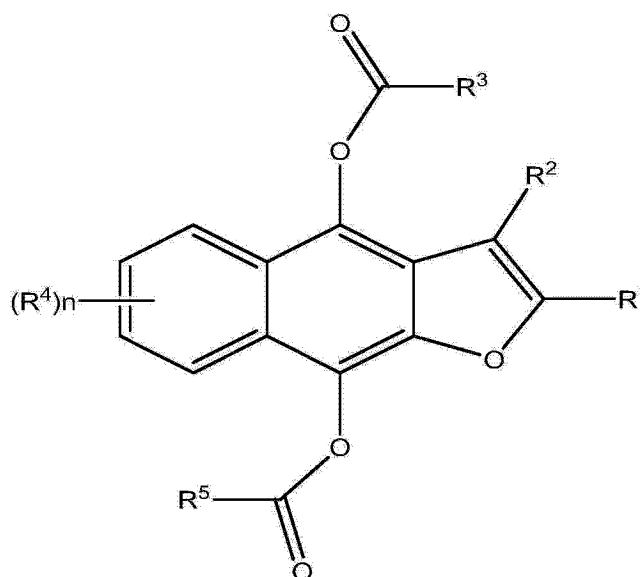
[0003] 正如在我们以前的 PCT 申请(CN2011/000357)中所披露的,4,9-二羟基-萘并[2,3-b]呋喃的治疗活性主要归因于其诱导活性氧(ROS)的能力。其前药,4,9-二羟基-萘并[2,3-b]呋喃的酯衍生物,不仅在药物组合物中稳定性优于其母体药物,而且可通过避免接触非目标用药组织使其毒性比母体药物低。

[0004] 然而,具有广泛治疗用途的一些 4,9-二羟基-萘并[2,3-b]呋喃的酯衍生物难溶于水,使其难以配制成合适制剂。因此,有必要研发 4,9-二羟基-萘并[2,3-b]呋喃的酯衍生物的制剂配制方法,使这一类化合物适用于各种疾病,紊乱和疾病的治疗。

### 发明内容

[0005] 除了别的以外,式 I 中显示了 4,9-二羟基-萘并[2,3-b]呋喃的脂肪酸酯衍生物:

[0006]



I

[0007] 或其药学上可接受的盐；

[0008] 其中， $n$ 、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、和  $R^5$  分别如本专利所定义。

[0009] 一方面，本发明提供了制备式 I 化合物的纳米颗粒水悬液的方法。该方法包括：(1) 将式 I 化合物和可任选的药学上可接受的表面活性剂溶解于能和水混溶的有机溶剂，形成一种有机溶液；(2) 将可任选的药学上可接受的试剂和 / 或可任选的药学上可接受的表面活性剂溶解于水，形成一种水溶液；和 (3) 将有机溶液和水溶液混合，形成纳米颗粒水悬液。

[0010] 此外，本发明提供了根据这里所述方法制备的式 I 化合物的纳米颗粒水悬液。

[0011] 另一个方面，本发明提供了可用于制备式 I 化合物的纳米颗粒水悬液的试剂盒。该试剂盒包括：(1) 溶于能和水混溶的有机溶剂的式 I 化合物和可任选的药学上可接受的表面活性剂有机溶液，或制备该溶液的各成分；(2) 溶于水的可任选的药学上可接受的试剂和 / 或可任选的药学上可接受的表面活性剂水溶液，或制备该溶液的各成分；和 (3) 指示如何混合有机溶液和水溶液形成纳米颗粒水悬液的说明，当试剂盒中未提供成品溶液而仅提供各组分时，还有指示如何制备有机溶液和 / 或水溶液的说明。

[0012] 另外，本发明提供了由根据本专利所述方法制备的纳米颗粒水悬液和可任选的药学上可接受的载体所组成的药物组合物。

[0013] 再者，本发明提供了包含如下内容的纳米颗粒水悬液：

[0014] 约 0.1–20mg/ml 式 I 化合物；

[0015] 约 0–200mg/ml 药学上可接受的试剂；

[0016] 约 0–200mg/ml 药学上可接受的表面活性剂；和

[0017] 体积约为 0.1–50% 能和水混溶的有机溶剂或有机溶剂混合物。

[0018] 还有，本发明提供了包含如下内容物的纳米颗粒水悬液：

[0019] 约 0.1–20mg/ml 2-乙酰-4,9-二羟基-萘并 [2,3-b] 呋喃脂肪酸酯；

[0020] 约 0–200mg/ml 药学上可接受的试剂；

[0021] 约 0–200mg/ml 药学上可接受的表面活性剂；和

[0022] 体积约为 0.1-50%能和水混溶的有机溶剂或有机溶剂混合物。

#### 附图说明

[0023] 图 1 显示了根据实施例 12 制备的纳米颗粒水悬液 NS-VIII-4.00 的颗粒分布情况。

[0024] 图 2 显示了在 ICR 小鼠上纳米颗粒水悬液 NS-I-4 的静脉注射药代动力学研究中, 化合物 I、其氧化药物、和其氧化活性代谢物在小鼠血浆中浓度与时间的关系, 详见实施例 13。图 2A 为化合物 I 的浓度与时间的关系; 图 2B 为 2-乙酰-萘并 [2,3-b] 呋喃-4,9-二酮 (如方案 1 中所示的氧化药物) 的浓度与时间的关系; 图 2C 为 2-(1-羟基) 乙基-萘并 [2,3-b] 呋喃-4,9-二酮 (如方案 1 中所示的氧化活性代谢物) 的浓度与时间的关系。

[0025] 图 3 显示了在 HCT116 异体移植瘤裸鼠模型中, 化合物 I 的抗癌疗效研究结果。图 3A 显示了三种不同化合物 I 浓度下的肿瘤体积与治疗时间的关系; 图 3B 显示了三种不同化合物 I 浓度下, 从荷瘤小鼠中剥离的肿瘤实体。

[0026] 定义

[0027] 除非另有说明, 应采用如下定义。

[0028] 本专利所用的术语“脂肪族”或“脂肪族基团”是指直链 (即, 无支链的) 或支链的、取代或未取代的烃链, 该烃链是完全饱和的或者包含一个或多个不饱和单元, 或者是单环烃或双环烃, 而单环烃或双环烃是完全饱和的或包含一个或多个不饱和单元但不是芳香族的 (在本专利中也可称为“脂肪环”、“环脂肪族”或“环烷基”), 该单环烃或双环烃具有和分子其它部分相连的单一附着点。

[0029] 本专利使用的术语“脂肪酸”或“脂肪羧酸”系指有脂肪族基团的羧酸。

[0030] 本专利使用的术语“水”系指纯水, 例如, 离子水。

[0031] 术语“水溶液”包括但不限于水、盐水溶液、葡萄糖溶液、含有一种或多种药学上可接受的试剂的以上所列水溶液, 和含有一种或多种药学上可接受的表面活性剂的以上所列水溶液。

[0032] 术语“D10”、“D50”、和“D90”系指颗粒直径, 在该直径以下的细颗粒的累积体积分别达到所有颗粒总体积的 10%、50%、和 90%。

[0033] 本专利和其中的权利要求中所用, 单数形式包括其复数形式, 除非上下文另有明确说明。因此, “一个化合物”包括该化合物的复数形式, 仅举一例。

[0034] 本专利采用的短语“药学上可接受的”是指, 在合理的医学判断下, 当与人类和动物的组织相接触时没有产生在效益和风险比合理情况下过多的毒性、刺激性、过敏性反应或者其他问题或并发症的化合物、材料、组合物和 / 或剂型。

[0035] 本专利采用的“前药”系指在体内转化成母体药物的药剂。在一些实施例中, 前药比母体药物更容易给药。在一些实施例中, 前药在药物组合物中的稳定性优于母体药物。在一些实施例中, 前药因不接触或少接触非目标用药组织, 所以比母体药物的毒性低。

[0036] 本专利采用的“施用”、“给药”或“注入”系指向患者直接施用化合物或组合物。

[0037] 本专利采用的短语“胃肠外给药”系指除了肠内和局部给药外的给药方式, 通常采用注射方式, 并且包括但不限于, 静脉内、肌内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、和胸骨内的注射和输注。

[0038] 本专利采用的短语“全身给药”、“全身施用”、“外周给药”和“外周施用”系指不通过直接注入中枢神经系统而施用化合物、药物、或其他物质,例如皮下给药,因此化合物、药物、或其他物质进入患者全身系统,从而进入代谢和其他类似过程。

[0039] 术语“缓和剂”系指主要用于缓解疾病症状和 / 或治疗方案产生的副作用的治疗,但不能治愈。

[0040] 本专利所用的术语“治疗有效量”是指在作为治疗方案的一部分进行给药时得到所要求的生物反应的物质(例如,治疗剂、组合物和 / 或制剂)的量。在一些实施例中,物质的治疗有效量是在给患有或易患上疾病、紊乱和 / 或病症的对象给药时足够用来治疗其疾病、紊乱和 / 或病症的量。正如本领域内拥有常规知识和技能人员所理解的那样,物质的有效量可能会有所不同,具体取决于如下这些因素,即所要求的生物效果、所用的物质、靶细胞或组织等。例如,治疗疾病、紊乱和 / 或病症的制剂中化合物的有效量是能达到一个或多个症状或特征的减轻、改善、缓解、抑制、防止、发作延迟、严重程度降低和 / 或发病率降低的量。在一些实施例中,治疗有效量是单一给药剂量;在一些实施例中,治疗有效量是多个单位剂量的叠加。

[0041] 本专利所用的术语“治疗”,“疗法”或“治病”术语系指任何用于使疾病、紊乱和 / 或病症的一个或多个症状或特征的部分或完全的减轻、改善、缓解、抑制、防止、发作延迟、严重程度降低和 / 或发病率降低的方法。也可对没有表现出疾病、紊乱和 / 或病症的迹象的对象进行治疗。在一些实施例中,可对仅表现出疾病、紊乱和 / 或病症的早期迹象的对象进行治疗,从而降低疾病、紊乱和 / 或病症相关的病理发展的风险。

[0042] 本专利所用的术语“单位剂量”系指适合于待治疗受试者制剂的物理离散单元。但是,应理解本发明制剂的每日总用量应由主治医师通过合理的医学判断来决定。任何特定受试者或生物体的具体有效剂量取决于多种因素,包括所治疗的病症、紊乱的严重程度、所用特定活性化合物的活性、所用具体组合物、受试者的年龄、体重、常规健康病状、性别和饮食、给药时间、所用特定活性化合物的排泄速率、所用特定化合物组合使用或配合使用的药物和 / 或其它疗法、和其他医学界公认的因素。特定的单位剂量可包含或不包含治疗剂的治疗有效量。

[0043] “患有”疾病,紊乱和 / 或病状的个体指诊断出和 / 或显示出有一种或多种疾病,紊乱和 / 或症状的个体。

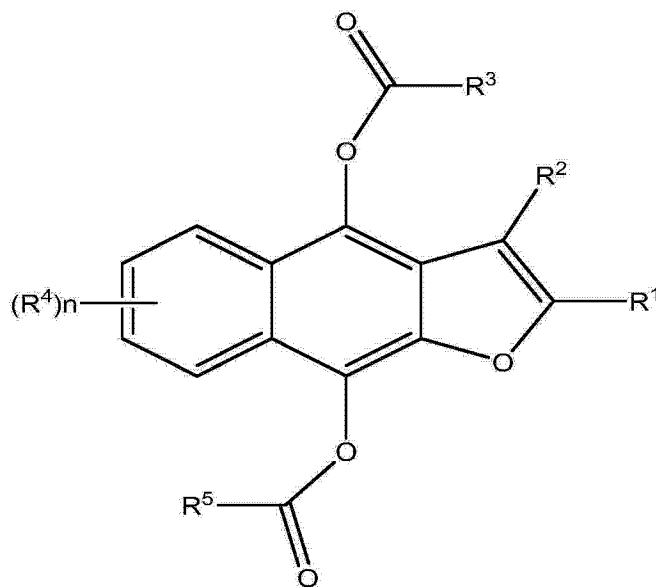
[0044] “易患”疾病,紊乱和 / 或病状的个体指尚未诊断出疾病,紊乱和 / 或症状的个体。在一些实施例中,易患疾病,紊乱和 / 或病状的个体可能表现出所述疾病,紊乱和 / 或病状的症状。在一些实施例中,易患疾病,紊乱和 / 或病状的个体可能不现出所述疾病,紊乱和 / 或病状的症状。在一些实施例中,易患疾病,紊乱和 / 或病状的个体可能会出现所述疾病,紊乱和 / 或病状。在一些实施例中,易患疾病,紊乱和 / 或病状的个体可能不会出现所述疾病,紊乱和 / 或病状。

## 具体实施方式

[0045] 制备纳米颗粒水悬液的方法

[0046] 除了别的以外,本发明涉及如下式 I 所示的 4,9-二羟基-萘并[2,3-b]呋喃脂肪酸酯衍生物的制剂配制:

[0047]



I

[0048] 或其药学上可接受的盐；

[0049] 其中：

[0050] n 是 0-4；

[0051]  $R^1$  独立地为卤素； $-NO_2$ ； $-CN$ ； $-OR$ ； $-SR$ ； $-N^+(R)_3$ ； $-N(R)_2$ ； $-C(O)R$ ； $-CO_2R$ ； $-C(O)C(O)R$ ； $-C(O)CH_2C(O)R$ ； $-S(O)R$ ； $-S(O)_2R$ ； $-C(O)N(R)_2$ ； $-SO_2N(R)_2$ ； $-OC(O)R$ ； $-N(R)C(O)R$ ； $-N(R)N(R)_2$ ； $-N(R)C(=NR)N(R)_2$ ； $-C(=NR)N(R)_2$ ； $-C=NOR$ ； $-N(R)C(O)N(R)_2$ ； $-N(R)SO_2N(R)_2$ ； $-N(R)SO_2R$ ； $-OC(O)N(R)_2$ ；或者选自以下的任选取代的基团： $C_{1-12}$ 脂肪族；3元至14元的脂肪环；3元至14元的杂环；6元至14元的芳香环；或者5元至14元的杂芳香环；或者：

[0052]  $R^1$  和  $R^2$  通过它们的相连原子形成了选自以下的任选取代的环：3元至14元的脂肪环；3元至14元的杂环；6元至14元的芳香环；或者5元至14元的杂芳香环；

[0053]  $R^2$  独立地为氢；卤素； $-NO_2$ ； $-OR$ ； $-SR$ ； $-N^+(R)_3$ ； $-N(R)_2$ ； $-C(O)R$ ； $-CO_2R$ ； $-C(O)C(O)R$ ； $-C(O)CH_2C(O)R$ ； $-S(O)R$ ； $-S(O)_2R$ ； $-C(O)N(R)_2$ ； $-SO_2N(R)_2$ ； $-OC(O)R$ ； $-N(R)C(O)R$ ； $-N(R)N(R)_2$ ； $-N(R)C(=NR)N(R)_2$ ； $-C(=NR)N(R)_2$ ； $-C=NOR$ ； $-N(R)C(O)N(R)_2$ ； $-N(R)SO_2N(R)_2$ ； $-N(R)SO_2R$ ； $-OC(O)N(R)_2$ ；或者选自以下的任选取代的基团： $C_{1-12}$ 脂肪族；3元至14元的脂肪环；3元至14元的杂环；6元至14元的芳香环；或者5元至14元的杂芳香环；或者：

[0054]  $R^2$  和  $R^1$  通过它们的相连原子形成了选自以下的任选取代的环：3元至14元的脂肪环；3元至14元的杂环；6元至14元的芳香环；或者5元至14元的杂芳香环；

[0055]  $R^3$  和  $R^5$  各自独立地选自任选取代的  $C_{1-21}$  脂肪族；

[0056] 各  $R^4$  独立地为卤素； $-NO_2$ ； $-CN$ ； $-OR$ ； $-SR$ ； $-N^+(R)_3$ ； $-N(R)_2$ ； $-C(O)R$ ； $-CO_2R$ ； $-C(O)C(O)R$ ； $-C(O)CH_2C(O)R$ ； $-S(O)R$ ； $-S(O)_2R$ ； $-C(O)N(R)_2$ ； $-SO_2N(R)_2$ ； $-OC(O)R$ ； $-N(R)C(O)R$ ； $-N(R)N(R)_2$ ； $-N(R)C(=NR)N(R)_2$ ； $-C(=NR)N(R)_2$ ； $-C=NOR$ ； $-N(R)C(O)N(R)_2$ ； $-N(R)SO_2N(R)_2$ ； $-N(R)SO_2R$ ； $-OC(O)N(R)_2$ ；或者选自以下的任选取

取代的基团 :C<sub>1-12</sub> 脂肪族 ;3 元至 14 元的脂肪环 ;3 元至 14 元的杂环 ;6 元至 14 元的芳香环 ;或者 5 元至 14 元的杂芳香环 ;或者 :

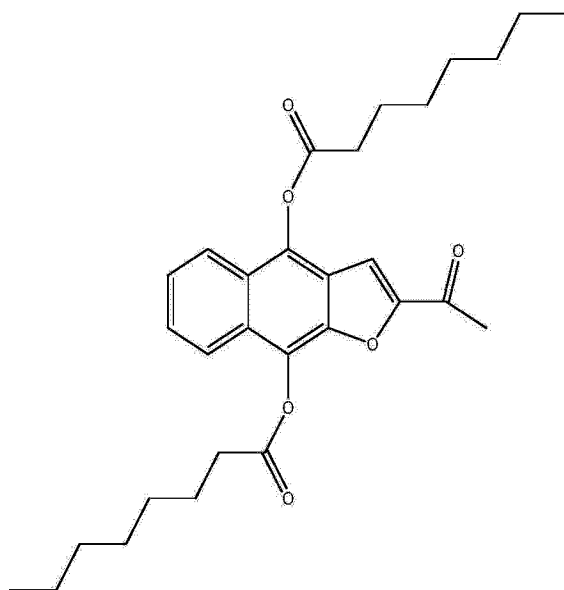
[0057] 相邻碳原子上的两个 R<sup>4</sup> 基团通过它们的相连原子形成了选自以下的任选取代的环 :3 元至 14 元的脂肪环 ;3 元至 14 元的杂环 ;6 元至 14 元的芳香环 ;或者 5 元至 14 元的杂芳香环 ;

[0058] 各 R 独立地为氢 ;或者选自以下的任选取代的基团 :C<sub>1-12</sub> 脂肪族 ;3 元至 14 元的脂肪环 ;3 元至 14 元的杂环 ;6 元至 14 元的芳香环 ;或者 5 元至 14 元的杂芳香环。

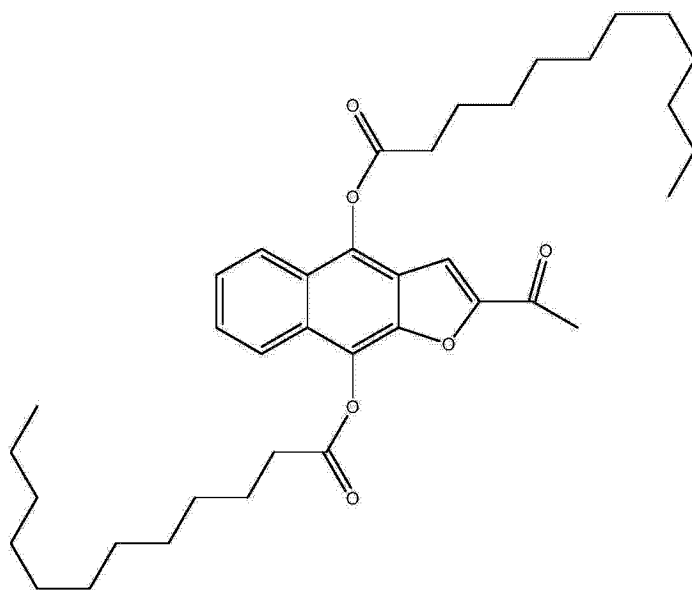
[0059] 示例性式 I 化合物列于下面的表 1 中。

[0060] 表 1

[0061]

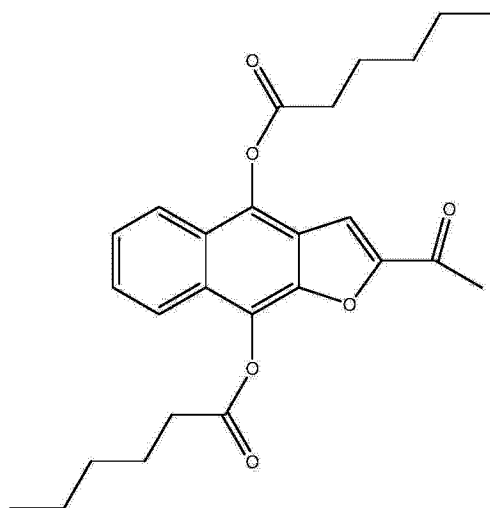


化合物 I



化合物 II

[0062]



化合物 III

[0063] 除其它以外,本发明提供了制备式 I 化合物纳米颗粒水悬液的方法。该方法包括: (1) 将式 I 化合物和可任选的药学上可接受的表面活性剂溶解于能和水混溶的有机溶剂, 形成一种有机溶液; (2) 将可任选的药学上可接受的试剂和 / 或可任选的药学上可接受的表面活性剂溶解于水, 形成一种水溶液; 和 (3) 将有机溶液和水溶液混合, 形成纳米颗粒水悬液, 其中纳米颗粒的中值粒径 (D50) 在约 10 纳米到约 5000 纳米的范围中。

[0064] 在一些实施例中, 式 I 化合物是 4, 9-二羟基-萘并 [2, 3-b] 呋喃脂肪酸酯衍生物。在某些实施例中, 式 I 化合物是 2-乙酰基-4, 9-二羟基-萘并 [2, 3-b] 呋喃脂肪酸酯。在某些实施例中, 式 I 化合物是 2-乙酰基-4, 9-二羟基-萘并 [2, 3-b] 呋喃辛酸酯。在某些实施例中, 式 I 化合物是 2-乙酰基-4, 9-二羟基-萘并 [2, 3-b] 呋喃十二烷酸酯。在某些实施例中, 式 I 化合物是 2-乙酰基-4, 9-二羟基-萘并 [2, 3-b] 呋喃己酸酯。

[0065] 在一些实施例中, 能和水混溶的有机溶剂包括乙醇、N-甲基-2-吡咯烷酮、2-吡咯烷酮、二甲亚砜、二甲基乙酰胺、聚乙二醇、丙二醇、以上述溶剂混合物。在某些实施例中, 能和水混溶的有机溶剂包括乙醇、N-甲基-2-吡咯烷酮、二甲基乙酰胺、聚乙二醇、丙二醇、以上述溶剂混合物。在一些实施例中, 能和水混溶的有机溶剂包括二甲基乙酰胺、聚乙二醇、以上述溶剂混合物。在另外一些实施例中, 能和水混溶的有机溶剂包括二甲基乙酰胺、PEG300、PEG400、以及其混合物。

[0066] 在一些实施例中, 在能和水混溶的有机溶剂中可任选的药学上可接受的表面活性剂包括丙三醇单-(或双-) 脂肪酸酯、卵磷脂、磷脂质 (例如磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇、鞘磷脂、等等)、胆固醇、PEG-磷脂质、PEG-胆固醇、PEG-胆固醇衍生物、PEG-维生素 A、PEG-维生素 E、PEG-丙三醇单-(或双-) 脂肪酸酯、乙二醇单脂肪酸酯、丙二醇单脂肪酸酯、3-二烷基 (C1-8) 氨基-丙二醇-二脂肪酸酯、聚(乙二醇) 单脂肪酸酯、硬脂酸、山梨糖醇酯、聚氧乙烯烷基醚、蓖麻油聚氧乙烯衍生物、聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、泊洛沙姆、蔗糖硬脂酸酯和蔗糖二硬脂酸酯混合物、醋酸乙烯酯和乙烯吡咯烷酮的随机共聚物、脱氧胆酸、甘油脱氧胆酸、牛磺胆酸、以及上述的混合物。在某些实施例中, 在能和水混溶的有机溶剂中可任选的药学上可接受的表面活性剂包括 PEG-磷脂质、PEG-胆固醇、PEG-胆固醇衍生物、PEG-维生素 A、PEG-维生素 E、PEG-丙三醇单-(或双-) 脂肪酸酯、聚(乙二醇) 单脂肪酸酯、聚氧乙烯烷基醚、蓖麻油聚氧乙烯衍生物、聚氧乙烯山

梨糖醇脂肪酸酯、泊洛沙姆、以及上述的混合物。

[0067] 在一些实施例中,能和水混溶的有机溶剂溶液中含有 0.1-200mg/ml 式 I 化合物和 0-500mg/ml 药学上可接受的表面活性剂。在某些实施例中,能和水混溶的有机溶剂溶液中含有 0.5-100mg/ml 式 I 化合物和 0-200mg/ml 药学上可接受的表面活性剂。在一些实施例中,能和水混溶的有机溶剂溶液中含有 3-50mg/ml 式 I 化合物和 0-100mg/ml 药学上可接受的表面活性剂。在另外一些实施例中,能和水混溶的有机溶剂溶液中含有 5-30mg/ml 式 I 化合物和 0-50mg/ml 药学上可接受的表面活性剂。

[0068] 在一些实施例中,水溶液中可任选的药学上可接受的试剂选自甘露醇、乳糖、麦芽糖醇、麦芽糖糊精、麦芽糖、葡萄糖结合剂、葡聚糖、右旋糖、果糖、山梨糖醇、葡糖、蔗糖、明胶、海藻酸和其盐、苯甲酸钠、氯化钠、以及上述的混合物。在某些实施例中,水溶液中可任选的药学上可接受的试剂选自甘露醇、麦芽糖醇、麦芽糖、右旋糖、果糖、山梨糖醇、葡糖、蔗糖、苯甲酸钠、氯化钠、以及上述的混合物。在一些实施例中,水溶液中可任选的药学上可接受的试剂选自右旋糖、葡糖、氯化钠、以及上述的混合物。在另外一些实施例中,水溶液中可任选的药学上可接受的试剂是氯化钠。

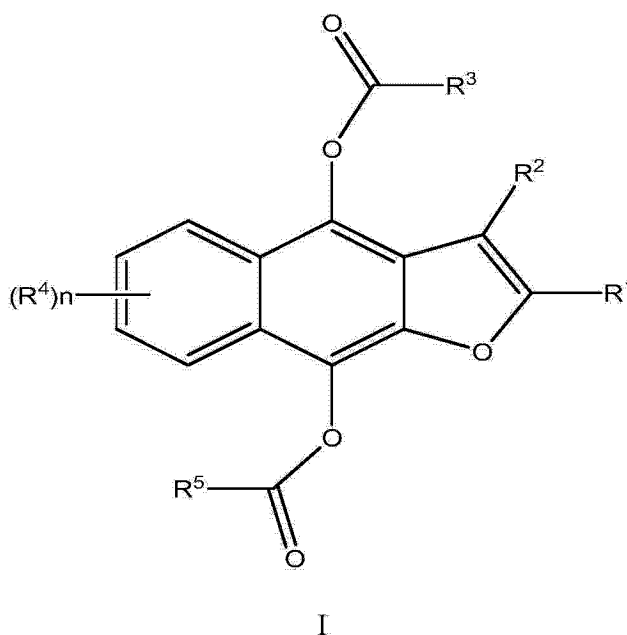
[0069] 在一些实施例中,水溶液中可任选的药学上可接受的表面活性剂选自丙三醇单-(或双-)脂肪酸酯、卵磷脂、磷脂质(例如磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇、鞘磷脂、等等)、胆固醇、PEG-磷脂质、PEG-胆固醇、PEG-胆固醇衍生物、PEG-维生素 A、PEG-维生素 E、聚乙二醇丙三醇单-(或双-)脂肪酸酯、乙二醇单脂肪酸酯、丙二醇单脂肪酸酯、3-二烷基(C1-8)氨基丙二醇二脂肪酸酯、聚(乙二醇)单脂肪酸酯、硬脂酸、山梨糖醇酯、聚氧乙烯烷基醚、蓖麻油聚氧乙烯醚衍生物、聚山梨酯、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮、白蛋白、泊洛沙姆、蔗糖硬脂酸酯和蔗糖二硬脂酸酯混合物、醋酸乙烯酯和乙烯吡咯烷酮的随机共聚物、脱氧胆酸、甘油脱氧胆酸、牛磺胆酸、以及上述的混合物。在某些实施例中,水溶液中可任选的药学上可接受的表面活性剂选自蓖麻油聚氧乙烯醚衍生物、聚山梨酯、白蛋白、泊洛沙姆、以及上述的混合物。在一些实施例中,水溶液中可任选的药学上可接受的表面活性剂选自白蛋白和泊洛沙姆。

[0070] 在一些实施例中,水溶液含有约 0-200mg/ml 可任选的药学上可接受的试剂和约 0-200mg/ml 的可任选的药学上可接受的表面活性剂。在某些实施例中,水溶液含有约 0-100mg/ml 可任选的药学上可接受的试剂和约 0-100mg/ml 的可任选的药学上可接受的表面活性剂。在一些实施例中,水溶液含有约 3-30mg/ml 可任选的药学上可接受的试剂和约 5-50mg/ml 的可任选的药学上可接受的表面活性剂。

[0071] 在一些实施例中,将大约 1 到 1000 倍体积的水溶液加入到式 I 化合物的有机溶液中,同时进行搅拌或涡旋。在某些实施例中,将大约 2 到 20 倍体积的水溶液加入到式 I 化合物的有机溶液中,同时进行搅拌或涡旋。在一些实施例中,将式 I 化合物的有机溶液加入到大约 1 到 1000 倍体积的水溶液中,同时进行搅拌或涡旋。在另外一些实施例中,将式 I 化合物的有机溶液加入到大约 2 到 20 倍体积的水溶液中,同时进行搅拌或涡旋。

[0072] 在一些实施例中,根据所述方法制备的纳米颗粒水悬液的中值粒径(D50)小于约 5000 纳米。在某些实施例中,纳米颗粒水悬液的中值粒径(D50)小于 2000 纳米。在一些实施例中,纳米颗粒水悬液的中值粒径(D50)小于 500 纳米。在另外一些实施例中,纳米颗粒水悬液的中值粒径(D50)小于 200 纳米。

- [0073] 纳米颗粒水悬液的组合物
- [0074] 除其它以外,本发明提供了包含如下内容的纳米颗粒水悬液:
- [0075] 约 0.1-20mg/ml 的式 I 化合物;
- [0076] 约 0-200mg/ml 的药学上可接受的试剂;
- [0077] 约 0-200mg/ml 的药学上可接受的表面活性剂;和
- [0078] 约 0.1-50% 体积的能和水混溶的有机溶剂或溶剂混合物;
- [0079] 除了别的以外,式 I 的化合物是活性药物化合物,如式 I 中所示:
- [0080]



- [0081] 或其药学上可接受的盐;
- [0082] 其中, R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup> 和 n 分别如本专利所定义。
- [0083] 在一些实施例中, R<sup>1</sup> 是 -C(O)R, 其中 R 是任选取代的 C<sub>1-12</sub> 脂肪族基团。在一些实施例中, R<sup>2</sup> 和 R<sup>4</sup> 是各自独立的氢或卤素。在一些实施例中, R<sup>3</sup> 和 R<sup>5</sup> 是各自独立的 C<sub>5-17</sub> 脂肪族。
- [0084] 在一些实施例中, R<sup>1</sup> 是 -C(O)CH<sub>3</sub>。在一些实施例中, R<sup>2</sup> 和 R<sup>4</sup> 是氢。在一些实施例中, R<sup>3</sup> 和 R<sup>5</sup> 是正庚基。
- [0085] 除了别的以外, 药学上可接受的试剂选自, 但不限于, 甘露醇、乳糖、麦芽糖醇、麦芽糖糊精、麦芽糖、葡萄糖结合剂、葡聚糖、右旋糖、果糖、山梨糖醇、葡糖、蔗糖、明胶、海藻酸和其盐、苯甲酸钠、氯化钠、以及上述的混合物。优选的药学上可接受的试剂选自甘露醇、麦芽糖醇、麦芽糖、右旋糖、果糖、山梨糖醇、葡糖、蔗糖、苯甲酸钠、氯化钠、以及上述的混合物。更为优选的药学上可接受的试剂选自甘露醇、麦芽糖醇、麦芽糖、右旋糖、山梨糖醇、葡糖、氯化钠、以及上述的混合物。最为优选的药学上可接受的试剂是氯化钠。
- [0086] 除了别的以外, 药学上可接受的表面活性剂选自丙三醇单-(或双-) 脂肪酸酯、卵磷脂、磷脂质(例如磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇、鞘磷脂、等等)、PEG- 磷脂质、PEG- 胆固醇、PEG- 胆固醇衍生物、PEG- 维生素 A、PEG- 维生素 E、聚乙二醇丙三醇单-(或双-) 脂肪酸酯、乙二醇单脂肪酸酯、丙二醇单脂肪酸酯、3- 二烷基 (C1-8) 氨基丙二醇二脂肪酸酯、聚(乙二醇)单脂肪酸酯、硬脂酸、山梨糖醇酯、聚氧乙烯烷基醚、蓖麻油聚氧乙烯

醚衍生物、聚山梨酯、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮、白蛋白、泊洛沙姆、蔗糖硬脂酸酯和蔗糖二硬脂酸酯混合物、醋酸乙烯酯和乙烯吡咯烷酮的随机共聚物、脱氧胆酸、甘油脱氧胆酸、牛磺胆酸、以及上述的混合物。优选的表面活性剂选自卵磷脂、磷脂质（例如磷脂酰胆碱，磷脂酰乙醇胺，磷脂酰肌醇，鞘磷脂，等等）、PEG- 磷脂质、PEG- 胆固醇、PEG- 胆固醇衍生物、PEG- 维生素 A、PEG- 维生素 E、PEG- 丙三醇单-（或双-）脂肪酸酯、聚（乙二醇）单脂肪酸酯、聚氧乙烯烷基醚、蓖麻油聚氧乙烯醚衍生物、聚山梨酯、白蛋白、泊洛沙姆、以及上述的混合物。更为优选的表面活性剂选自 PEG- 磷脂质、PEG- 胆固醇、PEG- 胆固醇衍生物、PEG- 维生素 A、PEG- 维生素 E、聚乙二醇丙三醇单-（或双-）脂肪酸酯、聚（乙二醇）单脂肪酸酯、聚氧乙烯烷基醚、蓖麻油聚氧乙烯醚衍生物、聚山梨酯、白蛋白、泊洛沙姆、以及上述的混合物。最优选的表面活性剂是泊洛沙姆 188。

[0087] 除了别的以外，优选的能和水混溶的有机溶剂选自乙醇、N- 甲基-2- 吡咯烷酮、2- 吡咯烷酮、二甲亚砜、二甲基乙酰胺、聚乙二醇、丙二醇、以及上述的混合物。更为优选的能和水混溶的有机溶剂选自乙醇、N- 甲基-2- 吡咯烷酮、二甲基乙酰胺、聚乙二醇、丙二醇、以及上述的混合物。最为优选的能和水混溶的有机溶剂是二甲基乙酰胺和聚乙二醇 300 的混合物。

[0088] 在一些实施例中，本发明的纳米颗粒水悬液包含如下内容：约 0.1-20mg/ml 的式 I 化合物；约 0-200mg/ml 药学上可接受的试剂；约 0-200mg/ml 药学上可接受的表面活性剂；和约 0.1-50% 体积的能和水混溶的有机溶剂或溶剂混合物。在某些实施例中，本发明的纳米颗粒水悬液包含如下内容：约 0.2-10mg/ml 的式 I 化合物；约 1-100mg/ml 药学上可接受的试剂；约 0-100mg/ml 药学上可接受的表面活性剂；和约 0.5-40% 体积的能和水混溶的有机溶剂或溶剂混合物。在一些实施例中，本发明的纳米颗粒水悬液包含如下内容：约 0.3-8mg/ml 的式 I 化合物；约 1-80mg/ml 药学上可接受的试剂；约 1-80mg/ml 药学上可接受的表面活性剂；和约 1-3% 体积的能和水混溶的有机溶剂或溶剂混合物。

[0089] 在一些实施例中，根据所述方法制备的纳米颗粒水悬液的颗粒中值粒径 (D50) 小于 5000 纳米。在某些实施例中，纳米颗粒水悬液的颗粒中值粒径 (D50) 小于 2000 纳米。在一些实施例中，纳米颗粒水悬液的颗粒中值粒径 (D50) 小于 500 纳米。在另外一些实施例中，纳米颗粒水悬液的颗粒中值粒径 (D50) 小于 200 纳米。

[0090] 本发明进一步提供能被拥有本领域普通技能人员制备式 I 化合物纳米颗粒水悬液的试剂盒。在一些实施例中，所述试剂盒内包括：含有 0.1-200mg/ml 式 I 化合物和 0-500mg/ml 药学上可接受的表面活性剂的能和水混溶有机溶剂溶液，或制备这样有机溶液所需的各组份；含有 0-200mg/ml 药学上可接受的试剂和 0-200mg/ml 药学上可接受的表面活性剂的水溶液，或制备这样水溶液所需的各组份；和指示有机溶液和水溶液混合形成纳米颗粒水悬液的步骤说明，或当试剂盒中未提供成品溶液而仅提供各组份时提供指示制备有机溶液和 / 或水溶液的额外步骤说明。在某些实施例中，所述试剂盒内包括：含有 0.5-100mg/ml 式 I 化合物和 0-100mg/ml 药学上可接受的表面活性剂的能和水混溶有机溶剂溶液，或制备这样有机溶液所需的各组份；含有 5-100mg/ml 药学上可接受的试剂和 5-100mg/ml 药学上可接受的表面活性剂的水溶液，或制备这样水溶液所需的各组份；和指示有机溶液和水溶液混合形成纳米颗粒水悬液的步骤说明，或当试剂盒中未提供成品溶液而仅提供各组份时提供指示制备有机溶液和 / 或水溶液的额外步骤说明。

[0091] 纳米颗粒水悬液的用途

[0092] 本发明提供了根据本专利所述方法制备的纳米颗粒水悬液。纳米颗粒水悬液可以在体外或体内使用。在一些实施例中，本发明的纳米颗粒水悬液为研究或临床用途在体外使用（例如，确定患者的疾病是否对式 I 化合物敏感，研究作用机制，阐明细胞内途径或过程）。在一些实施例中，本发明的纳米颗粒水悬液作为药物用于体内。

[0093] 纳米颗粒水悬液可用于胃肠外给药，或用于肠内和局部给药，或口服给药。在一些实施例中，纳米颗粒水悬液用于胃肠外给药。在一些实施例中，纳米颗粒水悬液用于肠道给药。在一些实施例中，纳米颗粒水悬液用于局部给药。在一些实施例中，纳米颗粒水悬液用于口服给药。

[0094] 在一些实施例中，本发明提供了一种治疗患有或易患某种疾病、紊乱、或病状的方法，该方法包含向受试者施用根据本专利所述方法制备的含有治疗有效量的式 I 化合物的纳米颗粒水悬液。

[0095] 在一些实施例中，本发明提供了一种治疗患有或易患增殖性疾病、紊乱、或病状的方法，该方法包含向受试者施用根据本专利所述方法制备的含有治疗有效量的式 I 化合物的纳米颗粒水悬液。在一些实施例中，所述增殖性疾病是良性肿瘤。在一些实施例中，所述增殖性疾病是恶性肿瘤。在一些实施例中，所述增殖性疾病是炎性疾病。在一些实施例中，所述增殖性疾病是一种自身免疫性疾病。在一些实施例中，所述增殖性疾病是糖尿病视网膜病变。

[0096] 式 I 化合物的纳米颗粒水悬液可用作治疗肿瘤。在一些实施例中，肿瘤是良性肿瘤。在其它实施例中，肿瘤是恶性肿瘤。

[0097] 在一些实施例中，本发明提供了治疗患有或易患癌症受试者的一种方法，所述方法包括向所述受试者施用根据本专利所述方法制备的治疗有效量的式 I 化合物的纳米颗粒水悬液。在一些实施例中，所述癌症是血液恶性肿瘤。在一些实施例中，所述癌症是实体瘤。可采用含有式 I 化合物的纳米颗粒水悬液治疗的癌症包括结肠癌、肺癌、骨癌、胰腺癌、胃癌、食道癌、皮肤癌、脑癌、肝癌、卵巢癌、子宫颈癌、子宫癌、睾丸癌、前列腺癌、膀胱癌、肾癌、神经内分泌癌、乳腺癌、眼癌、鼻咽癌、胆囊癌、喉癌、口腔癌、阴茎癌、腺肿瘤、直肠癌、小肠癌、头颈部癌、多发性骨髓瘤、结肠直肠癌、卡波西肉瘤、尤因氏肉瘤、骨肉瘤、平滑肌肉瘤、神经胶质瘤、脑膜瘤、神经管细胞瘤、黑色素瘤、尿道癌、阴道癌、等等。

[0098] 血液恶性肿瘤是影响血液、骨髓和 / 或淋巴结的癌症。可采用含有式 I 化合物的纳米颗粒水悬液治疗的恶性血液病包括，但不限于，急性淋巴细胞白血病 (ALL)、急性髓性白血病 (AML)、慢性髓细胞性白血病 (CML)、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、毛细胞白血病、霍奇金淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤、皮肤 T- 细胞淋巴瘤 (CTCL)、外周 T 细胞淋巴瘤 (PTCL)、套细胞淋巴瘤、B 细胞淋巴瘤、T 细胞 - 急性淋巴细胞白血病 (T-ALL)、急性早幼粒细胞白血病和多发性骨髓瘤。

[0099] 含有式 I 化合物的纳米颗粒水悬液可用于治疗难治或复发性恶性肿瘤。在一些实施例中，所述癌症是难治性和 / 或复发性恶性血液疾病。例如，耐特定化学治疗剂的癌细胞。

[0100] 在一些实施例中，本发明提供了通过使用根据本专利所述方法制备的治疗有效量的式 I 化合物的纳米颗粒水悬液抑制或减少肿瘤干细胞的存活和 / 或自我更新的方法。

[0101] 式 I 化合物的纳米颗粒水悬液也可用于治疗和 / 或杀死体外或体内细胞。在一些实施例中,达到细胞毒性浓度的式 I 化合物的纳米颗粒水悬液通过与细胞接触杀死细胞。在一些实施例中,采用亚致死浓度的式 I 化合物的纳米颗粒水悬液治疗细胞。在一些实施例中,式 I 化合物的浓度范围为 0.1nM 至 100  $\mu$ M。在一些实施例中,式 I 化合物的浓度范围为 0.01  $\mu$ M 至 100  $\mu$ M。在一些实施例中,式 I 化合物的浓度范围为 0.1  $\mu$ M 至 50  $\mu$ M。在一些实施例中,式 I 化合物的浓度范围为 1  $\mu$ M 至 10  $\mu$ M。在一些实施例中,式 I 化合物的浓度范围为 1  $\mu$ M 至 10  $\mu$ M,更常用的是 1  $\mu$ M 至 5  $\mu$ M。

[0102] 可采用式 I 化合物的纳米颗粒水悬液试验或杀死任何类型的细胞。该类细胞可来自动物、植物、细菌或真菌,并处在任何分化或发育阶段。在一些实施例中,细胞是动物细胞。在一些实施例中,细胞是脊椎动物细胞。在一些实施例中,细胞是哺乳动物细胞。在一些实施例中,细胞是人体细胞。细胞可来自于任何发育阶段的男性或女性。在一些实施例中,细胞是灵长类动物细胞。在其它实施例中,细胞来自啮齿动物(如小鼠、大鼠、豚鼠、仓鼠、沙鼠)。在一些实施例中,细胞来自家养动物,如狗、猫、牛、羊、猪等。细胞也可来自于基因工程改造过的动物或植物,例如转基因小鼠。

[0103] 依据本发明所采用的细胞可能是野生型或突变型细胞,也可能是遗传工程改造的细胞。在一些实施例中,细胞是正常细胞。在一些实施例中,细胞是血液细胞。在一些实施例中,细胞是白血细胞。在某些具体实施例中,细胞是白血细胞前体(例如,干细胞、祖细胞、胚细胞)。在一些实施例中,细胞是肿瘤细胞。在一些实施例中,细胞是癌细胞。在一些实施例中,细胞是来自血液恶性肿瘤的细胞。在其它实施例中,细胞来自实体瘤细胞。例如,细胞可来自患者肿瘤(例如,来自活检或手术切除)。在一些实施例中,细胞来自受试者的血液样品或来自骨髓活检。在一些实施例中,细胞来自淋巴结活检。细胞毒性测试对于确定特定组合法是否对某患者有效非常有用。此类测试在确定治疗恶性肿瘤所需的剂量时也非常有用。测试患者癌症对式 I 化合物的纳米颗粒水悬液是否敏感可避免对不敏感患者用药。此类测试也可降低式 I 化合物剂量,如果患者癌症对式 I 化合物非常敏感。

[0104] 在一些实施例中,细胞来自肿瘤细胞系。例如,在一些实施例中,细胞是造血祖细胞,例如 CD34+ 骨髓细胞。在一些实施例中,细胞是 A549、DLD1、SW480、LOVO、HT-29、U-20S、MES-SA、SK-MEL-28、Panc-1、DU-145、CNE、U251、Eca-109、MGC80-3、SGC-7901、QGY-7701、BEL-7404、PLC/PRF/5、Huh-7、MOLT-3(急性淋巴细胞 T 细胞)、SKNLP(神经母细胞瘤)、PC9(腺癌)、H1650(腺癌)、H1975(腺癌)、H2030(腺癌)、H3255(腺癌)、TC71(尤因氏肉瘤)、HTP-15(胶质母细胞瘤)、A431(上皮癌)、HeLa 细胞(子宫颈腺癌)、或 WD0082(高分化脂肪肉瘤)细胞。在一些实施例中,细胞系是耐特定化学治疗剂的。

[0105] 在一些实施例中,本发明提供了一种治疗患有或易患肥胖症或与肥胖相关的疾病或紊乱的方法,所述方法包括向受试者施用治疗有效量的式 I 化合物的纳米颗粒水悬液。

[0106] 在一些实施例中,本发明提供了一种治疗患有或易患糖尿病的方法,所述方法包括向受试者施用治疗有效量的式 I 化合物的纳米颗粒水悬液。

[0107] 在一些实施例中,本发明提供了一种治疗患有或易患代谢疾病、紊乱、或病状的方法,所述方法包括向受试者施用治疗有效量的式 I 化合物的纳米颗粒水悬液。

[0108] 在一些实施例中,本发明提供了一种治疗患有或易患退行性疾病、紊乱、或病状的方法,所述方法包括向受试者施用治疗有效量的式 I 化合物的纳米颗粒水悬液。

[0109] 在一些实施例中,本发明提供了一种治疗患有或易患线粒体功能障碍有关的疾病、紊乱、或病状的方法,所述方法包括向受试者施用治疗有效量的式 I 化合物的纳米颗粒水悬液。

[0110] 在一些实施例中,本发明提供了一种治疗患有或易患心血管疾病、紊乱、或病状的方法,所述方法包括向受试者施用治疗有效量的式 I 化合物的纳米颗粒水悬液。在一些实施例中,所述疾病、紊乱、或病状选自高血压、充血性心脏衰竭、心脏发作、高血压性心脏病、动脉粥样硬化、冠状动脉疾病、心绞痛、局部缺血、缺血性中风的患者组。

[0111] 在一些实施例中,式 I 化合物的纳米颗粒水悬液用于治疗 W02009/036059 和 W02006/088315 中所述其它疾病、紊乱、或病状,而且两个文献的全部内容均通过引用并入本专利。

[0112] 在一些实施例中,本发明的纳米颗粒水悬液可用于组合疗法,即,该纳米颗粒水悬液可与一个或多个所需治疗剂或医疗程序同时、先于、或延后使用。组合方案中采用的特定疗法组合(治疗剂或程序)将考虑所需治疗剂和/或程序的相容性以及所需达到的治疗效果。

[0113] 在一些实施例中,可与本发明中纳米颗粒水悬液组合使用的其它疗法或抗癌剂包括外科手术、放射疗法( $\gamma$ -辐射、中子束放射疗法、电子束放射疗法、质子疗法、近距离放射疗法、和全身性放射性同位素等等)、内分泌治疗、生物反应调节剂(干扰素、白介素、和肿瘤坏死因子(TNF)、等等)、高温和冷冻疗法、减弱任何不良影响药剂(例如,止吐药)、以及其它已经批准的化疗药物,包括但不限于,烷基化药(氮芥、苯丁酸氮芥、环磷酰胺、美法仑、异环磷酰胺)、抗代谢物(甲氨蝶呤)、嘌呤拮抗剂和嘧啶拮抗剂(6-巯基嘌呤、5-氟尿嘧啶、阿糖胞苷、吉西他滨)、纺锤体毒药(长春碱、长春新碱、长春瑞滨、紫杉醇)、鬼臼毒素(依托泊苷、伊立替康、托泊替康)、抗生素(多柔比星、博来霉素、丝裂霉素)、亚硝基脲(卡莫司汀、洛莫司汀)、无机离子(顺铂、卡铂)、酶(天冬酰胺酶)、和激素(他莫昔芬、亮丙瑞林、氟他胺、和甲地孕酮)、等等。此外,本发明还包括当前尚在临床试验且最终获得 FDA 批准的细胞毒性剂或抗癌剂(包括但不限于,埃博霉素及其类似物、和格尔德霉素和其类似物)。有关更多癌症疗法详情,请参阅第十八版,2006 年《Merck 手册》,全文通过引用并入本专利。

[0114] 在一些实施例中,发明的纳米颗粒水悬液在治疗临床缓解对象时有效。在一些实施例中,受试者已经经受手术方式治疗,但尚存在少量未切除病灶。

[0115] 如有所需,本发明纳米颗粒水悬液中式 I 化合物每日有效剂量可以通过以适当时间间隔的一日两次、一日三次、一日四次、一日五次、一日六次或一日多次等方式服用,较优的,每次用药以单位剂量形式出现。

[0116] 本发明的纳米颗粒水悬液中式 I 化合物的实际剂量可根据特定患者、药物成分和给药方式而变化,使所用式 I 化合物剂量既能获得所需治疗效果但又不对患者造成毒性。

[0117] 所选择的剂量水平取决于多种因素,包括所用本发明纳米颗粒水悬液中特定式 I 化合物的活性、给药途径、给药时间、所用特定化合物的排泄或代谢速率、治疗持续时间、与特定化合物组合使用的其它药物、化合物和/或材料、患者的年龄、性别、体重、身体状况、一般健康状态和既往病史、以及其他医学领域常见因素。

[0118] 具有本领域常规技能的医师或兽医可容易确定和开出所需有效量药物组合物的

处方。例如,医师或兽医开始提供纳米颗粒水悬液中式 I 化合物的量低于所需治疗效果的剂量,随后逐渐增加,直至获得期望疗效。

[0119] 在一些实施例中,向受试者长期提供式 I 化合物的纳米颗粒水悬液。长期治疗包括较长时间内任何形式的重复给药,例如,一个月或多个月的重复给药,一个月和一年间的重复给药,一年或多年的重复给药。在一些实施例中,长期治疗包括在患者存活期内重复提供含有式 I 化合物的纳米颗粒水悬液。在一些实施例中,长期治疗涉及常规给药,例如每日一次或多次,每周一次或多次,或每月一次或多次。在一般情况下,适当剂量如纳米颗粒水悬液中式 I 化合物的每日剂量是能产生疗效的最低剂量。通常情况下,有效剂量取决于上述因素。当用于所指明的药效时,针对患者的纳米颗粒水悬液中式 I 化合物的剂量范围从每日每公斤体重约 0.0001 至约 100 毫克。优选剂量范围从每日每公斤体重约 0.001 至约 50 毫克,更优选剂量范围从每日每公斤体重约 0.01 至 10 毫克。然而,也可使用更低或更高的剂量。在一些实施例中,因年龄、疾病进展、体重或其它因素等造成生理机能出现变化,可更改对患者施用的剂量。

[0120] 在一些实施例中,纳米颗粒水悬液中式 I 化合物的治疗有效量从  $1\text{mg}/\text{m}^2$  至  $5,000\text{mg}/\text{m}^2$  (I. V.) 或从  $1\text{mg}/\text{m}^2$  至  $50,000\text{mg}/\text{m}^2$  (PO)。在一些实施例中,纳米颗粒水悬液中式 I 化合物的治疗有效量从  $2\text{mg}/\text{m}^2$  至  $3,000\text{mg}/\text{m}^2$  (I. V.) 或从  $10\text{mg}/\text{m}^2$  至  $30,000\text{mg}/\text{m}^2$  (PO)。

[0121] 在一些实施例中,按照医药专业内常规已知方法,将治疗有效量的式 I 化合物的纳米颗粒水悬液与至少一种赋形剂或载体或稀释剂混合制成适当剂型,再以这一剂型形式施用式 I 化合物。这一癌症剂型可直接注射到肿瘤中,注射到血液或体腔中,或口服,或通过贴膏在皮肤上用药。

[0122] 示例

[0123] 实例 1

[0124] 2-乙酰-萘并 [2,3-b] 呋喃-4,9-二酮的制备

[0125] 1.3-丁烯-2-酮的制备

[0126] 在 1 升圆底烧瓶中,加 600 毫升 4-羟基-2-丁酮、100 毫升水、50 毫升甲醇和 20 毫升 85% 磷酸溶液。在室温下搅拌混合物 30 分钟,随后减压 (100-300 毫米汞柱) 蒸馏,收集 65-80°C 馏分。在收集的馏分中,加 80 克氯化钠,在 4°C 温度下搅拌混合物 1 小时,随后采用分液漏斗分离顶部有机层。有机层用无水硫酸钠干燥,并置于 4°C 条件下待用。

[0127] 2.2-乙酰基-萘并 [2,3-b] 呋喃-4,9-二酮的制备

[0128] 在 500 毫升圆底烧瓶中,加 16.1 克 (0.23 摩尔) 3-丁烯-2-酮和 40 毫升二氯甲烷。在冰-盐浴中冷却下,15 分钟内逐滴加入经 10 毫升二氯甲烷稀释的 36.7 克 (0.23 摩尔) 溴。混合物经 50 毫升水清洗后,无水硫酸钠干燥,随后蒸发除去二氯甲烷。将 43.4 克 (0.19 摩尔) 残余物转移到 1 升圆底烧瓶中,加 40 毫升 DMF 稀释,并在冰-盐浴中冷却。在剧烈搅拌下,15 分钟内逐滴加入经 50 毫升 DMF 稀释的 27.3 克 (0.18 摩尔) 1,8-二氮杂双环 [5.4.0] 十一碳-7-烯 (DBU)。加入 31.4 克 (0.18 摩尔) 2-羟基-1,4-萘并醌,撤去冰-盐浴,敞口放置。在剧烈搅拌下,30 分钟内逐滴加入经 50 毫升 DMF 稀释的 25.8 克 (0.17 摩尔) DBU。搅拌 4 小时后,加入 500 毫升冰冷却水。过滤粗制品,并用水、5% 碳酸氢钠水溶液、水、2% 的乙酸水溶液、冰浴冷却乙醇依次洗涤。粗品在乙酸乙酯中结晶,得到纯产物 (21.8 克,收率 50.1%),产物经  $^1\text{H}$  NMR 和质谱鉴定。 $^1\text{H}$  NMR (在 DMSO 中) 2.61 (s, 3H),

7.91-7.95(m, 2H), 8.06(s, 1H), 8.13-8.17(m, 2H)。质量 (M+H) 为 241。

#### [0129] 实例 2

[0130] 2-乙酰-4,9-双(辛酰氧)-萘并[2,3-b]呋喃(化合物 I)的制备

[0131] 在 1 升圆底烧瓶中,加入 30 克(125 毫摩尔)2-乙酰基-萘并[2,3-b]呋喃-4,9-二酮(按照实例 1 中所述方法制备)、300 毫升二甲基甲酰胺、87.1 毫升三乙胺(625 毫摩尔)、30 克(470 毫摩尔)锌粉、3 克四丁基溴化铵、109 克(625 毫摩尔)连二亚硫酸钠。用氮气或气密方式将混合物与空气隔绝,室温下剧烈搅拌 20 分钟。在 30 分钟内用注射器逐滴加入 81.3 克(500 毫摩尔)辛酰氯,随后在室温下继续搅拌混合物 3 小时。过滤反应混合物,50 毫升二甲基甲酰胺萃取固体。合并滤液,加入 1000 毫升 5%的乙酸水溶液,搅拌 1 小时。过滤收集粗固体产物,200 毫升水洗涤两次,先在乙醇中结晶,再在丙酮/水(8:1)中结晶,得到 15.0 克(30.4 毫摩尔,收率 24.3%)产物。产物经  $^1\text{H}$  NMR 鉴定。 $^1\text{H}$  NMR(在  $\text{CDCl}_3$  中)  $\delta$  0.93-0.97(m, 6H), 1.37-1.39(m, 9H), 1.42-1.47(m, 4H), 1.51-1.59(m, 3H), 1.90-2.00(m, 4H), 2.65(s, 3H), 2.83-2.91(m, 4H), 7.46(s, 1H), 7.51-7.61(m, 2H), 7.99-8.02(m, 2H)。

#### [0132] 实例 3

[0133] 2-乙酰基-4,9-双(十二烷酰氧)-萘并[2,3-b]呋喃(化合物 II)的制备

[0134] 在 250 毫升的圆底烧瓶中,加入 5 克(20.8 毫摩尔)2-乙酰基-萘并[2,3-b]呋喃-4,9-二酮(按照实例 1 中所述方法制备)、100 毫升二甲基甲酰胺、11.6 毫升三乙胺(83.3 毫摩尔)、5 克(78.1 毫摩尔)锌粉、1 克溴化四丁基铵、和 18.1 克(104.2 毫摩尔)连二亚硫酸钠。用氮气或气密方式将混合物与空气隔绝,室温下剧烈搅拌 20 分钟。在 30 分钟内用注射器逐滴加入 13.7 毫升(62.5 毫摩尔)月桂酰氯,随后在室温下继续搅拌 5 小时。过滤反应混合物,150 毫升乙酸乙酯萃取固体三次。合并滤液转移到分液漏斗中,用 150 毫升 3%柠檬酸水溶液洗涤两次,将所得的水相合并,用 100 毫升乙酸乙酯反萃取。合并有机相,200 毫升水洗涤 4 次,然后用无水硫酸钠干燥。过滤并在降压下蒸发有机溶液至干。残余物在乙醇中结晶,得到 4.1 克(6.76 毫摩尔,收率 32.5%)产物。产物经  $^1\text{H}$  NMR 鉴定。 $^1\text{H}$  NMR(在  $\text{CDCl}_3$  中)  $\delta$  0.89-0.93(m, 6H), 1.28-1.60(m, 32H), 1.90-2.00(m, 4H), 2.65(s, 3H), 2.83-2.91(m, 4H), 7.46(s, 1H), 7.51-7.61(m, 2H), 7.99-8.02(m, 2H)。

#### [0135] 实例 4

[0136] 2-乙酰-4,9-双(己酰氧)-萘并[2,3-b]呋喃(化合物 III)的制备

[0137] 在 250 毫升的圆底烧瓶中,加入 5 克(20.8 毫摩尔)2-乙酰基-萘并[2,3-b]呋喃-4,9-二酮(按照实例 1 中所述方式进行制备)、100 毫升甲基甲酰胺、14.6 毫升三乙胺(104.2 毫摩尔)、5 克(78.1 毫摩尔)锌粉、1 克溴化四丁基铵和 18.1 克(104.2 毫摩尔)亚硫酸氢钠。用氮气或气密方式将混合物与空气隔离,室温下剧烈搅拌 20 分钟。在 30 分钟内采用注射器逐滴添加 19.2 克(83.3 毫摩尔)己酸酐,随后在室温下剧烈搅拌混合物 5 小时。过滤反应混合物,150 毫升乙酸乙酯萃取固体三次。将合并滤液转移到分液漏斗中,用 150 毫升 3%柠檬酸水溶液洗涤两次,将所得的水相合并,采用 100 毫升乙酸乙酯反相萃取。采用 200 毫升水洗涤合并有机相 4 次,然后用无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发有机溶液,在降压下干燥。在乙醇中结晶残余物,得到 4.2 克(9.59 毫摩尔,收率 46.1%)产物。产物经  $^1\text{H}$  NMR 和质谱鉴定。 $^1\text{H}$  NMR(在  $\text{CDCl}_3$  中)  $\delta$  0.89-0.93  $\delta$  0.89-0.93(t, J =

7, 6H), 1.45-1.61 (m, 8H), 1.91-2.01 (m, 4H), 2.65 (s, 3H), 2.83-2.91 (m, 4H), 7.46 (s, 1H), 7.51-7.61 (m, 2H), 7.99-8.02 (m, 2H)。质量 (M+H) 为 439。

#### [0138] 实例 5

##### [0139] 纳米颗粒水悬液 (NS-I) 的制备

[0140] 在 20 毫升试剂瓶中, 加入 240 毫克 2-乙酰-4, 9-双(辛酰氧)-萘并[2, 3-b]呋喃(化合物 I) 和 10 毫升 PEG400。将混合物加热至 80℃ 并剧烈搅拌至澄清。澄清混合物分成两个部分, 分别用 11 倍和 5 倍体积的 3% (重量/体积) 泊洛沙姆 188 生理盐水溶液稀释。所得混合物分别为 2mg/ml 化合物 I 纳米颗粒水悬液 (NS-I-2) 和 4mg/ml 化合物 I 纳米颗粒水悬液 (NS-I-4), 其中化合物 I 浓度通过 HPLC 分析进行确认。在制备后的不同时间点上, NS-I-2 和 NS-I-4 经水稀释 30 ~ 100 倍, 随后用 Winner801 (中国山东省济南市微纳颗粒仪器股份有限公司生产) 进行微粒分布分析。如下为微粒分布数据信息。

##### [0141]

| 制备后的时间点 | 纳米颗粒水悬液 NS-I-2 |          |          | 纳米颗粒水悬液 NS-I-4 |          |          |
|---------|----------------|----------|----------|----------------|----------|----------|
|         | D10 (纳米)       | D50 (纳米) | D90 (纳米) | D10 (纳米)       | D50 (纳米) | D90 (纳米) |
| 0 分钟    | 100.4          | 168.3    | 281.5    | 81.0           | 136.8    | 231.0    |
| 30 分钟   | 77.8           | 147.2    | 279.1    | 75.5           | 132.5    | 232.4    |
| 1 小时    | 89.4           | 153.7    | 263.8    | 97.5           | 150.0    | 230.6    |
| 2 小时    | 85.1           | 154.1    | 279.1    | 75.6           | 131.0    | 226.5    |
| 3 小时    | 103.3          | 170.2    | 280.3    | 91.4           | 146.8    | 235.1    |

##### [0142]

|      |       |       |       |      |       |       |
|------|-------|-------|-------|------|-------|-------|
| 4 小时 | 101.0 | 166.5 | 274.9 | 82.8 | 140.9 | 239.2 |
|------|-------|-------|-------|------|-------|-------|

#### [0143] 实例 6

##### [0144] 纳米颗粒水悬液 (NS-II) 的制备

[0145] 在 20 毫升试剂瓶中, 加入 240 毫克 2-乙酰-4, 9-双(辛酰氧)-萘并[2, 3-b]呋喃(化合物 I)、24 毫克柠檬酸、和 10 毫升 PEG400。将混合物加热至 80℃ 并剧烈搅拌至澄清。澄清混合物用 5 倍体积 3% (重量/体积) 泊洛沙姆 188 磷酸缓冲盐水 (pH7.4) 溶液稀释, 得到 4mg/ml 化合物 I 纳米颗粒水悬液 (NS-II-4), 并经 HPLC 分析确认其浓度。在制备后的不同时间点上, NS-II-4 用水稀释 30 ~ 100 倍, 随后采用 Winner801 (中国山东省济南市微纳颗粒仪器股份有限公司生产) 进行微粒分布分析。如下为微粒分布数据信息。

##### [0146]

| 制备后的时间 | 纳米颗粒水悬液 NS-II-4 |          |          |
|--------|-----------------|----------|----------|
|        | D10 (纳米)        | D50 (纳米) | D90 (纳米) |
| 0 分钟   | 44.5            | 93.3     | 195.5    |
| 30 分钟  | 43.5            | 90.4     | 187.9    |
| 1 小时   | 51.2            | 95.8     | 178.5    |
| 2 小时   | 44.2            | 86.5     | 169.7    |

## [0147] 实例 7

## [0148] 纳米颗粒水悬液 (NS-III) 的制备

[0149] 在 20 毫升试剂瓶中,加入 50 毫克 2-乙酰-4,9-双(十二烷酰氧)-萘并[2,3-b]呋喃(化合物 II)和 10 毫升 PEG400。将混合物加热至 80℃并剧烈搅拌至澄清。澄清混合物用 4 倍体积的 6% (重量/体积) 泊洛沙姆 188 生理盐水溶液稀释,得 1mg/ml 化合物 II 纳米颗粒水悬液 (NS-III),并经 HPLC 分析确认其浓度。在制备后的不同时间点上,NS-III 用水稀释 10 ~ 20 倍,随后用 Winner801(中国山东省济南市微纳颗粒仪器股份有限公司生产)进行微粒分布分析。如下为微粒分布数据信息。

[0150]

| 制备后的时间 | 纳米颗粒水悬液 NS-III |          |          |
|--------|----------------|----------|----------|
|        | D10 (纳米)       | D50 (纳米) | D90 (纳米) |
| 0 分钟   | 84.3           | 148.6    | 262.2    |
| 30 分钟  | 81.5           | 160.5    | 315.9    |

## [0151] 实例 8

## [0152] 纳米颗粒水悬液 (NS-IV) 的制备

[0153] 在 20 毫升试剂瓶中,加入 50 毫克 2-乙酰-4,9-双(己酰氧)-萘并[2,3-b]呋喃(化合物 III)和 10 毫升 PEG400。将混合物加热至 80℃并剧烈搅拌至澄清。澄清混合物用 4 倍体积的 6% (重量/体积) 泊洛沙姆 188 生理盐水溶液稀释,得 1mg/ml 化合物 III 纳米颗粒水悬液 (NS-IV),并经 HPLC 分析确认其浓度。在制备后的不同时间点上,NS-IV 用水稀释 10 ~ 20 倍,随后用 Winner801(中国山东省济南市微纳颗粒仪器股份有限公司生产)进行微粒分布分析。如下为微粒分布数据信息。

[0154]

| 制备后的时间 | 纳米颗粒水悬液 NS-IV |          |          |
|--------|---------------|----------|----------|
|        | D10 (纳米)      | D50 (纳米) | D90 (纳米) |
| 0 分钟   | 102.4         | 161.1    | 254.1    |
| 30 分钟  | 138.4         | 194.5    | 274.0    |
| 1 小时   | 146.2         | 211.5    | 306.2    |

## [0155] 实例 9

## [0156] 纳米颗粒水悬液 (NS-V) 的制备

[0157] 在 20 毫升试剂瓶中,加入 40 毫克 2-乙酰-4,9-双(辛酰氧)-萘并[2,3-b]呋喃(化合物 I)和 2100 毫克 PEG4000。加热混合物至 80℃,并伴有间隔性涡旋直到混合物澄清。澄清混合物用 4 倍体积的生理盐水稀释得 4mg/ml 化合物 I 纳米颗粒水悬液(NS-V),并经 HPLC 分析确认其浓度。在制备后的不同时间点上,NS-V 经水稀释 30 ~ 60 倍,随后采用 Winner801(中国山东省济南市微纳颗粒仪器股份有限公司生产)进行微粒分布分析。如下为微粒分布数据信息。

[0158]

| 制备后的时间 | 纳米颗粒水悬液 NS-V |          |          |
|--------|--------------|----------|----------|
|        | D10 (纳米)     | D50 (纳米) | D90 (纳米) |
| 0 分钟   | 73.4         | 125.0    | 212.7    |
| 30 分钟  | 86.2         | 139.1    | 224.9    |

## [0159] 实例 10

## [0160] 纳米颗粒水悬液 (NS-VI) 的制备

[0161] 在 20 毫升试剂瓶中,加入 40 毫克 2-乙酰-4,9-双(辛酰氧)-萘并[2,3-b]呋喃(化合物 I)和 2100 毫克 PEG20000。加热混合物至 80℃,并伴有间隔性涡旋直到混合物澄清。澄清混合物用 4 倍体积的生理盐水稀释得 4mg/ml 化合物 I 纳米颗粒水悬液(NS-VI),并经 HPLC 分析确认其浓度。在制备后的不同时间点上,NS-VI 用水稀释 30 ~ 60 倍,随后用 Winner801(中国山东省济南市微纳颗粒仪器股份有限公司生产)进行微粒分布分析。如下为微粒分布数据信息。

[0162]

| 制备后的时间 | 纳米颗粒水悬液 NS-VI |          |          |
|--------|---------------|----------|----------|
|        | D10 (纳米)      | D50 (纳米) | D90 (纳米) |
|        |               |          |          |

[0163]

|       |       |       |       |
|-------|-------|-------|-------|
| 0 分钟  | 64.5  | 127.7 | 252.8 |
| 30 分钟 | 155.8 | 199.5 | 254.6 |

## [0164] 实例 11

## [0165] 纳米颗粒水悬液 (NS-VII) 的制备

[0166] 在 4 毫升试剂瓶中, 100 毫克 2-乙酰-4,9-双(辛酰氧)-萘并[2,3-b]呋喃(化合物 I) 溶于 0.5 毫升二甲基乙酰胺 (DMA), 得 167mg/ml 化合物 I DMA 溶液。随后 0.272 毫升该溶液加入到在 80℃ 熔融的 2100 毫克 PEG4000 中(置于 20 毫升试剂瓶中)。继续加热保持 80℃ 温度并间隔性涡旋至混合物澄清, 得 20mg/ml 化合物 I 的混合溶剂 (DMA/PEG4000, 1:9, V/V) 溶液。澄清混合溶液用 4 倍体积生理盐水稀释, 得 4mg/ml 化合物 I 纳米颗粒水悬液 (NS-VII), 并经 HPLC 分析确认其浓度。在制备后的不同时间点上, NS-VII 用水稀释 30 ~ 60 倍, 随后采用 Winner801(中国山东省济南市微纳颗粒仪器股份有限公司生产) 进行微粒分布分析。如下为微粒分布数据信息。

[0167]

| 制备后的时间 | 纳米颗粒水悬液 NS-VII |          |          |
|--------|----------------|----------|----------|
|        | D10 (纳米)       | D50 (纳米) | D90 (纳米) |
| 0 分钟   | 70.9           | 118.6    | 198.2    |
| 30 分钟  | 74.1           | 124.6    | 209.5    |

## [0168] 实例 12

## [0169] 纳米颗粒水悬液 (NS-VIII) 的制备

[0170] 在 4 毫升试剂瓶中, 160 毫克 2-乙酰-4,9-双(辛酰氧)-萘并[2,3-b]呋喃(化合物 I) 溶于 1.0 毫升二甲基乙酰胺 (DMA), 得 141mg/ml 化合物 I 的 DMA 溶液。随后 0.567 毫升的此溶液转入 20 毫升试剂瓶中, 加入 3.433 毫升 PEG300, 得 20mg/ml 化合物 I 的 DMA/PEG300 (1:6.87) 溶液。在不断涡旋中, 快速(少于 2 秒) 加入 8 毫升 2% 泊洛沙姆 188 的生理盐水溶液, 得到 6.67mg/ml 化合物 I 纳米颗粒水悬液 (NS-VIII-6.67)。NS-VIII-6.67 含有 4.17% DMA, 28.65% PEG300 和 1.33% 泊洛沙姆 188, 用生理盐水进一步稀释获得 4.00mg/ml 化合物 I 纳米颗粒水悬液 (NS-VIII-4.00), 该水溶液中含有 2.50% DMA, 17.18% PEG300 和 0.80% 泊洛沙姆 188。经 HPLC 分析确认 NS-VIII-6.67 和 NS-VIII-4.00 中化合物 I 的浓度。在制备后的不同时间点上, NS-VIII-6.67 和 NS-VIII-4.00 用水稀释 30 ~ 60 倍, 随后采用 Winner801(中国山东省济南市微纳颗粒仪器股份有限公司生产) 进行微粒分布分析(有关 NS-VIII-4.00 微粒分布的细节信息, 详见图 1)。如下为微粒分布数据信息。

[0171]

| 制备后的时间 | 纳米颗粒水悬液<br>NS-VIII-6.67 |          |          | 纳米颗粒水悬液<br>NS-VIII-4.00 |          |          |
|--------|-------------------------|----------|----------|-------------------------|----------|----------|
|        | D10 (纳米)                | D50 (纳米) | D90 (纳米) | D10 (纳米)                | D50 (纳米) | D90 (纳米) |
| 0 分钟   | 80.98                   | 124.90   | 192.44   | 65.63                   | 110.19   | 185.29   |
| 2 小时   | 92.68                   | 138.64   | 207.85   | 65.82                   | 112.34   | 192.02   |
| 4 小时   | 68.01                   | 130.31   | 249.68   | 70.95                   | 119.97   | 203.32   |

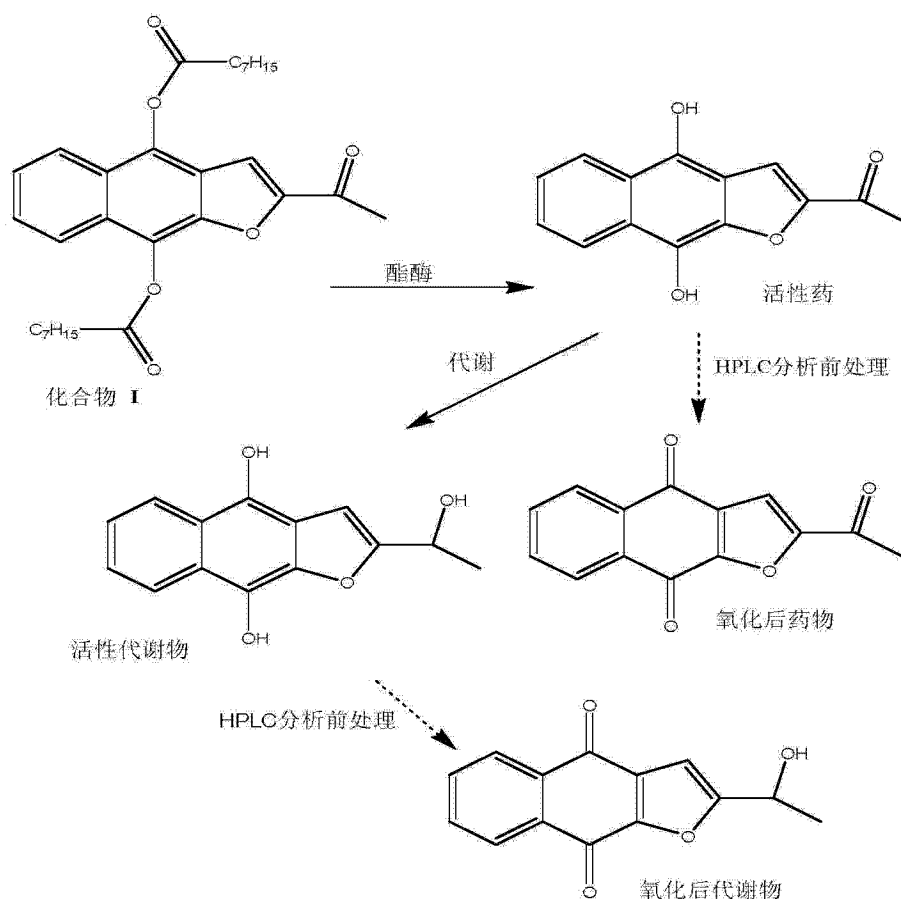
## [0172] 实例 13

[0173] 纳米颗粒水悬液 NS-I-4 在 ICR 小鼠的药代动力学研究

[0174] 根据实施例 5 所述方法制备纳米颗粒水悬液 NS-I-4, 然后采用静脉注射方法, 将 NS-I-4 以 30 毫克 / 公斤剂量注射到 ICR 小鼠中。在药物注射后不同时间点 (5 分钟, 10 分钟, 30 分钟, 1 小时, 2 小时, 3 小时, 4 小时, 6 小时), 从给药小鼠中抽取血液样本, 随后在 4℃ 温度和 6,000rpm 转速离心 10 分钟。提取上清液血浆样本, 随后加 9 倍体积内含 0.5% 三氟甲烷磺酸乙腈, -20℃ 冷冻 3 小时以上, 在 4℃ 温度和 12,000rpm 转速离心处理, 提取上清液用 HPLC 进行分析。

[0175] 通过静脉注射方式注入 ICR 小鼠的化合物 I, 由酯酶降解成活性药物 2-乙酰-4,9-二羟基-萘并 [2,3-b] 呋喃, 然后进一步代谢成活性代谢物 2-(1-羟基)乙基-4,9-二羟基-萘并 [2,3-b] 呋喃 (见方案 1)。在 HPLC 分析之前所进行的血液样本处理中, 活性药物 2-乙酰-4,9-二羟基-萘并 [2,3-b] 呋喃和活性代谢物 2-(1-羟基)乙基-4,9-二羟基-萘并 [2,3-b] 呋喃分别氧化成 2-乙酰-萘并 [2,3-b] 呋喃-4,9-二酮和 2-(1-羟基)乙基-萘并 [2,3-b] 呋喃-4,9-二酮 (见方案 1)。

[0176]



[0177] 方案1:化合物I经酯酶水解成活性药物,随后进一步代谢成活性代谢物。在HPLC分析的预处理过程中,活性药物和代谢物被空气中氧气分别氧化成氧化药物和氧化代谢产物。

[0178] 本研究中所使用的Waters高效液相色谱(HPLC)系统包括:1525双泵、2998光电二极管阵列检测器、2707自动进样器、Breeze2控制和分析软件。本研究使用的HPLC柱:Phenomenex LUNA C18(250X4.60毫米,5微米)。HPLC流动相:缓冲液A,80%水-20%乙腈;缓冲液B,10%水-70%乙腈-20%四氢呋喃。HPLC流动相梯度:0-3分钟,50%缓冲液B至50%缓冲液B;3-10分钟,50%缓冲液B至100%缓冲液B;10-20分钟,100%缓冲液B至100%缓冲液B;20-22分钟,100%缓冲液B至50%缓冲液B;22~25分钟,50%缓冲液B至50%缓冲液B;流速为1毫升/分钟。

[0179] 如下为药代动力学研究的参数结果。有关化合物I、氧化药物和氧化活性代谢物与时间的关系,请参阅图2。

[0180]

| 主要参数              | 单位     | 化合物 I   | 2-乙酰-萘并            | 2-(1-羟基)乙              |
|-------------------|--------|---------|--------------------|------------------------|
|                   |        |         | [2, 3-b]呋喃-4, 9-二酮 | 基-萘并[2, 3-b]呋喃-4, 9-二酮 |
| AUC (0-t)         | mg/L*h | 254.686 | 7.417              | 3.801                  |
| AUC (0-∞)         | mg/L*h | 254.694 | 8.529              | 3.999                  |
| t <sub>1/2z</sub> | h      | 0.396   | 3.073              | 0.88                   |
| T <sub>max</sub>  | h      | 0.167   | 0.167              | 0.5                    |
| V <sub>z</sub>    | L/kg   | 0.067   | 15.597             | 19.051                 |
| CL <sub>z</sub>   | L/h/kg | 0.118   | 3.517              | 15.004                 |
| C <sub>max</sub>  | mg/L   | 287.735 | 6.128              | 1.695                  |
| MRT (0-t)         | h      | 0.628   | 1.248              | 1.438                  |
| MRT (0-∞)         | h      | 0.629   | 2.446              | 1.628                  |

## [0181] 实例 14

[0182] 裸鼠移植瘤模型上化合物 I 抗癌药效研究

[0183] HCT116 肿瘤细胞在 37℃ 和含有 5% 二氧化碳的空气环境中以单层细胞形式在 DMEM 培养基中培养。DMEM 培养基补充有 10% 热灭活的胎牛血清、100U/ 毫升青霉素、100 微克 / 毫升链霉素和 L- 谷氨酰胺 (2 毫摩尔)。每周肿瘤细胞经胰蛋白酶-EDTA 处理进行常规扩增培养。然后在指数生长期收获细胞并计数, 用于肿瘤接种。

[0184] 从中国科学院上海实验动物中心购入雌性和重约 20±1 克的 Balb/c 裸鼠。每只裸鼠的右侧侧腹皮下接种 0.1 毫升含有 HCT116 肿瘤细胞 (10×10<sup>6</sup>) 的 PBS 溶液。当肿瘤平均大小达到 100 立方毫米时, 就开始用药试验。如下面表格所示, 共有三个试验组 (每组 6 只老鼠):

[0185]

| 试验组名称 | 裸鼠数量 | 测试项                                           | 给药方案    | 剂量                          |
|-------|------|-----------------------------------------------|---------|-----------------------------|
| 对照组   | 6    | 含 2.5% (w/v) 泊洛沙姆 188 的生理盐水/PEG400 (5:1) 混合溶剂 | iv, bid | 10 ml/kg,<br>0 mg/kg 化合物 I  |
| 低剂量   | 6    | 根据实施例 5 所述方法制备的 NS-I-2                        | iv, bid | 10 ml/kg,<br>20 mg/kg 化合物 I |
| 高剂量   | 6    | 根据实施例 5 所述方法制备的 NS-I-4                        | iv, bid | 10 ml/kg,<br>40 mg/kg 化合物 I |

[0186] 每周两次采用卡尺测量肿瘤的二维尺寸,然后用如下公式:  $V = 0.5ab^2$ , 其中 a 和 b 分别为肿瘤的长径和短径, 计算所测肿瘤体积 (以立方毫米为单位)。肿瘤体积 (立方毫米) 与时间 (天) 的关系图如图 3A 所示。给药 22 天后, 处死三个试验组的裸鼠, 分离小鼠身上移植肿瘤, 称重和拍照 (见图 3B)。

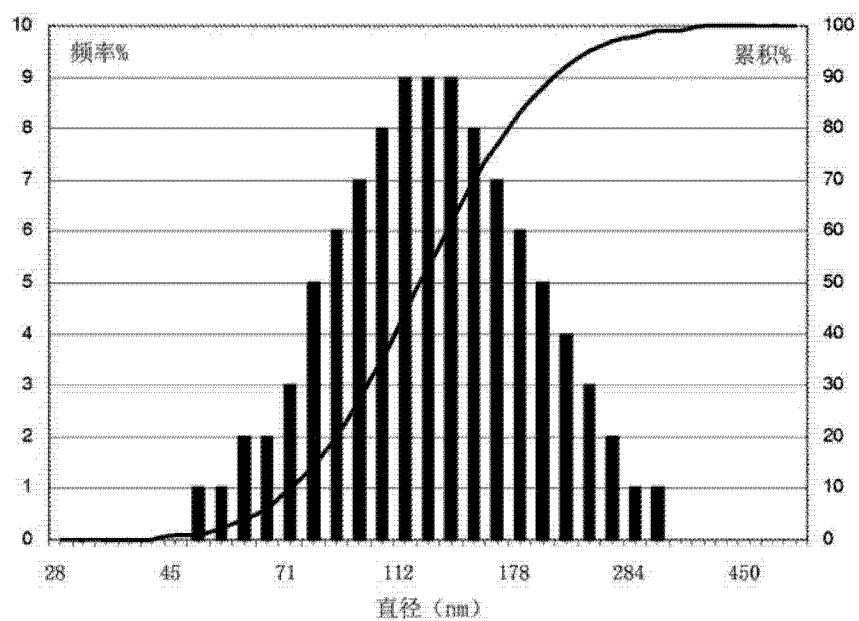


图 1

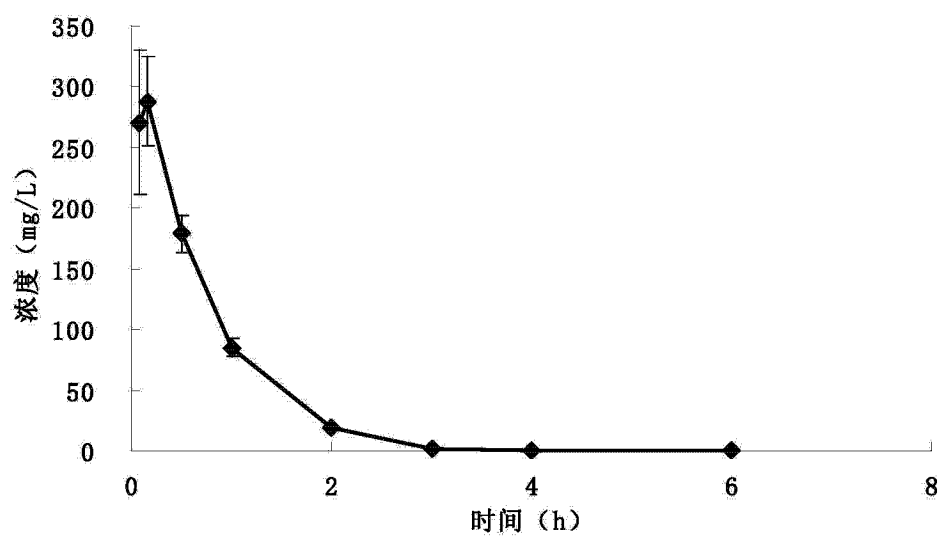


图 2A

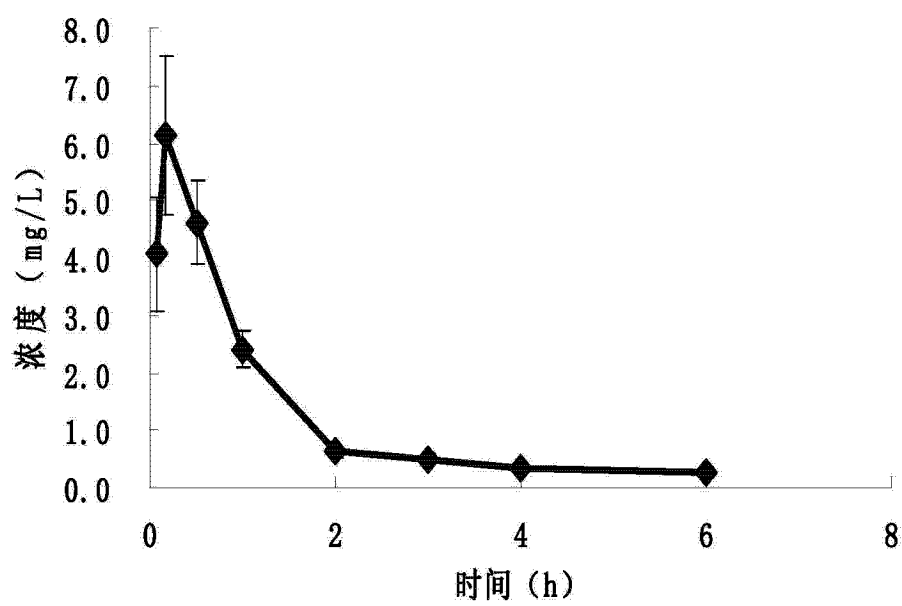


图 2B

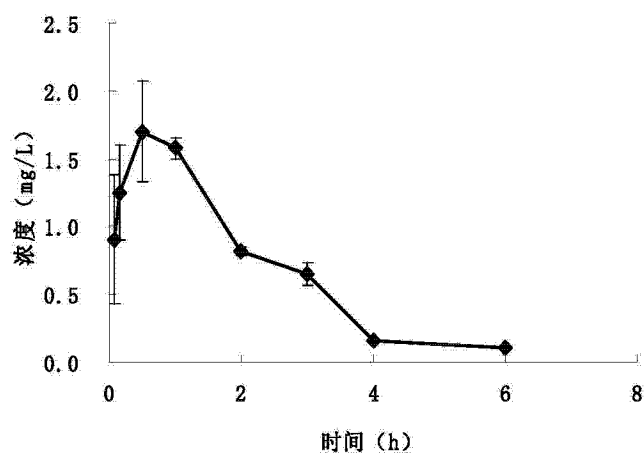


图 2C

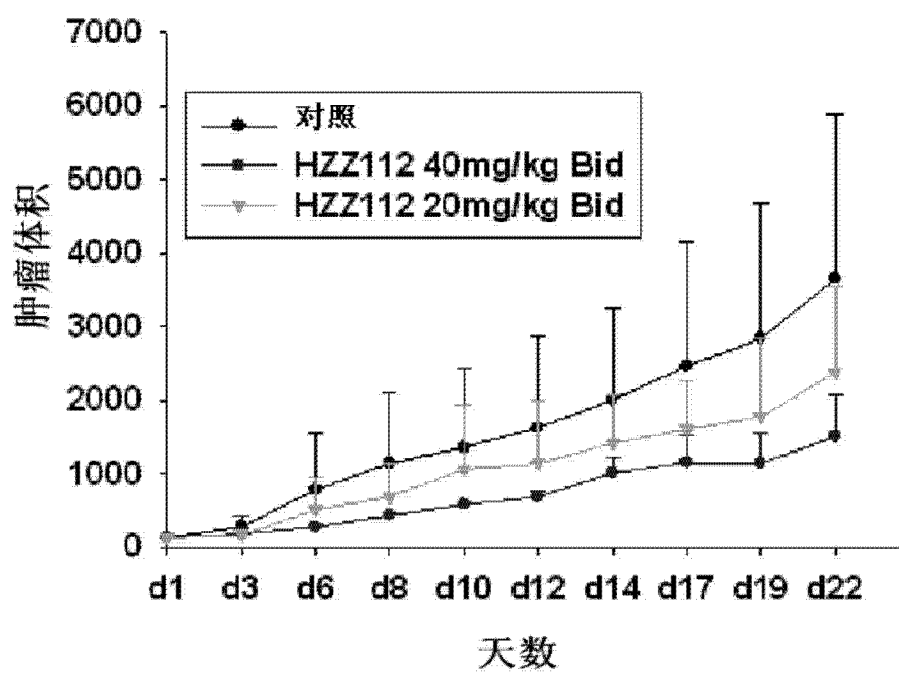


图 3A

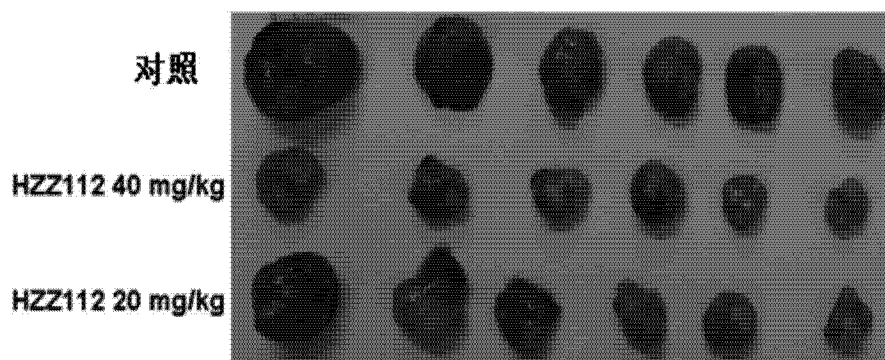


图 3B