

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：96104772

A61K 31/4745 (2006.01)

※ 申請日期：96.2.9

※IPC 分類：A61K 47/48 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

用於乳癌、大腸直腸癌、胰臟癌、卵巢癌及肺癌之治療的 7-乙基-10 羥喜樹鹼之多臂聚合性共軛物

MULTI-ARM POLYMERIC CONJUGATES OF 7-ETHYL-10-HYDROXYCAMPTOTHECIN FOR TREATMENT OF BREAST, COLORECTAL, PANCREATIC, OVARIAN AND LUNG CANCERS

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

安龍製藥公司 / ENZON PHARMACEUTICALS, INC.

代表人：(中文/英文)

瑪格麗特 M. 阿爾伯斯 / ALBANESE, MARGARET M.

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國新澤西州橋水郡 202/206 號公路 685 號

685 Route 202/206 Bridgewater NJ 08807 U.S.A.

國籍：(中文/英文)

美國 / U.S.A.

三、發明人：(共 4 人)

姓名：(中文/英文)

1. 趙洪 / ZHAO, HONG

2. 馬莉亞 貝倫 盧比歐 / RUBIO, MARIA BELEN

3. 蒲賈 塞普拉 / SAPRA, PUJA

4. 烏德春 / WU, DECHUN

國籍：(中文/英文)

1. 美國 / U.S.A.

2. 西班牙 / SPAIN

3. 印度 / INDIA

4. 美國 / U.S.A.

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，
其事實發生日期為： 年 月 日。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

- 1.美國、2006.2.9、60/772,464
- 2.美國、2006.6.9、60/804,391
- 3.美國、2006.9.15、60/844,938
- 4.美國、2006.11.6、60/864,516

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

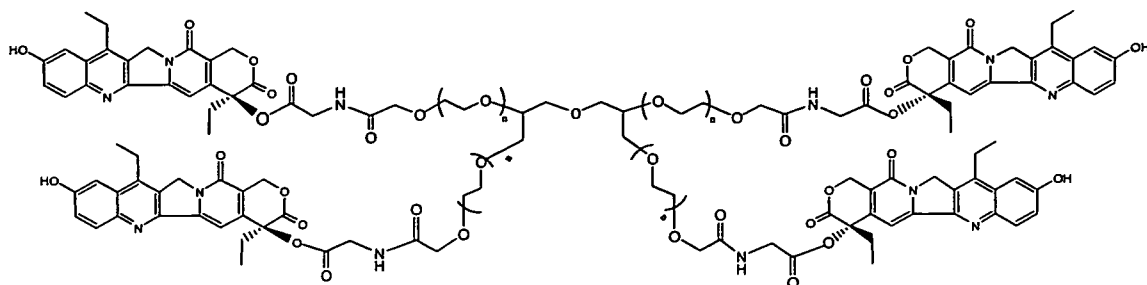
國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

五、中文發明摘要：

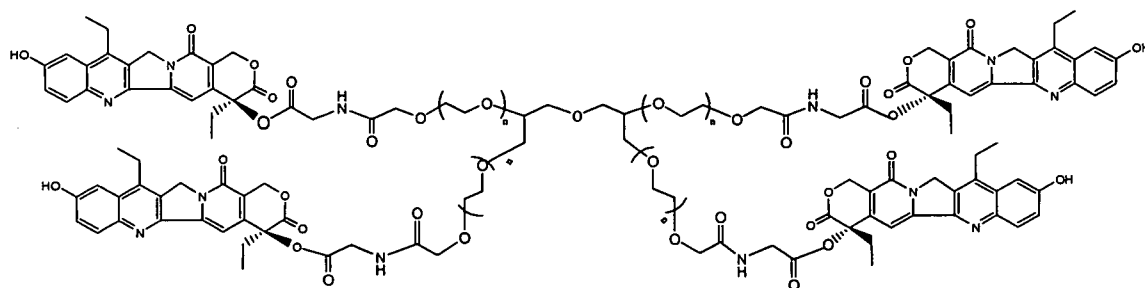
本發明揭露一種 4 臂聚乙二醇-7-乙基-10-羥喜樹鹼共軛物，例如，



本發明也揭露製造共軛物的方法以及利用共軛物治療哺乳動物的方法。

六、英文發明摘要：

A four arm-polyethylene glycol-7-ethyl-10- hydroxy camptothecin conjugate, such as,



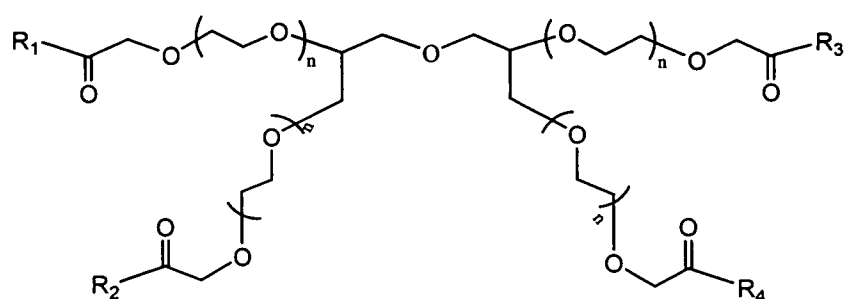
is disclosed. Methods of making the conjugates and methods of treating mammals using the same are also disclosed.

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無)

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

九、發明說明：

相關申請案之交互參照

本申請案主張美國臨時專利申請案序號 60/772,464(申請日 2006 年 2 月 9 日)、60/804,391(申請日 2006 年 6 月 9 日)、60/844,938(申請日 2006 年 9 月 15 日)及 60/864,516(申請日 2006 年 11 月 6 日)的優先權利益，其完整內容以引用方式納入本文中。

【發明所屬之技術領域】

本發明是有關於 7-乙基-10-羥喜樹鹼共軛物的多臂聚合性前藥。特別地，本發明是有關於 7-乙基-10-羥喜樹鹼的 4 臂聚乙二醇共軛物及其用途。

【先前技術】

在數年的期間，許多將生物有效性物質投予哺乳動物的方法已被提出。當所要的醫藥作用劑在水溶液中是不溶時，問題就會產生。生物鹼通常是特別難以溶解的。

喜樹鹼是一種由原產於中國的喜樹 (*Camptotheca accuminata*) 及原產於印度的青脆枝 (*Nothapodytes foetida*) 所製造的水不溶性細胞毒性生物鹼。喜樹鹼及相關的類似物已知是有潛力的抗癌作用劑，並且已顯示試管內及活體內的治療活性。

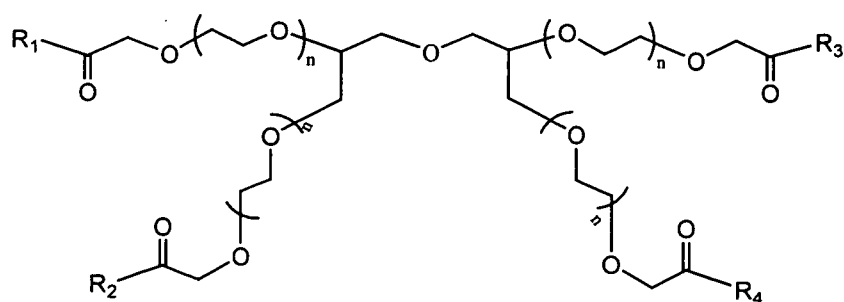
喜樹鹼以及類似物已知是 DNA 拓普異構酶 I 抑制劑。例如，一種喜樹鹼類似物是愛萊諾迪肯 (Irinotecan; CPT-11, Camptosar®)，其也是 DNA 拓普異構酶 I 抑制劑，並且也已顯示抗癌活性。7-乙基-10-羥喜樹鹼是 CPT-11 的一

種活性代謝物。

【發明內容】

為了克服上述問題並且改善經由聚乙二醇化的藥物傳遞之技術，本發明提供經由適當連接子而直接使用多臂聚乙二醇以共軛到藥物分子的新方法。在這個方法中，不需要將費力的分支分子部分併入到聚乙二醇中。此外，藥物分子彼此之間是相當遠的。因此，與聚乙二醇的共軛效率是大幅地增加。聚乙二醇共軛物的溶解度相較於末端分支方法也是改善的。

本發明的一種形態係提供式 (I) 化合物：

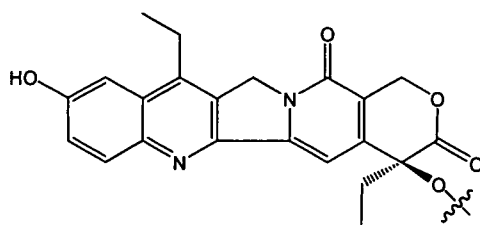


其中

R_1 、 R_2 、 R_3 及 R_4 獨立地是 OH 或 $(\text{L})_m\text{-D}$ ；

L 是雙功能性的連接子；

D 是喜樹鹼或喜樹鹼類似物的殘基，例如：



m 是 0 或正整數；以及

n 是正整數；

限制條件為 R_1 、 R_2 、 R_3 及 R_4 不全是 OH。

在本發明的這個形態中，喜樹鹼或喜樹鹼類似物是與聚合物反應，使其 20-OH 基團形成具有 4 臂聚合物的共軛物。

在本發明的較佳形態中， L 是胺基酸殘基。在本發明的特定較佳形態中， n 是從約 28 至約 341，以及較佳是約 227。

本發明也提供製造共軛物的方法以及利用本發明的化合物之治療方法。

從以下的說明及圖示中，優點將是顯而易見的。

為了本發明之目的，名詞“殘基”應理解為是指所提到的化合物（也就是，喜樹鹼類似物、7-乙基-10-羥喜樹鹼、胺基酸等）之部分，其在與另一化合物經歷取代反應之後其仍然繼續存在。

為了本發明之目的，名詞“包含聚合物的殘基”或“聚乙二醇殘基”應個別理解為是指聚合物或聚乙二醇的部分，在經歷與包含喜樹鹼或喜樹鹼類似物的化合物反應之後其仍然繼續存在。

為了本發明之目的，名詞“烷基”應理解為包括直鏈、支鏈、取代（例如，鹵-、烷氧基-、硝基-）的 C_{1-12} ，但較佳是 C_{1-4} 烷基、 C_{3-8} 環烷基或經取代的環烷基等。

為了本發明之目的，名詞“經取代的”應理解為包括

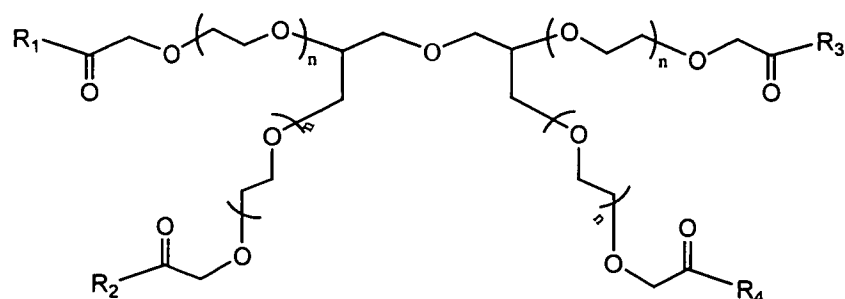
以一個或多個不同的原子加入或取代一個或多個包含在官能基或化合物內的原子。

為了本發明之目的，經取代的烷基包括羧烷基、胺烷基、二烷胺基、羥烷基及巰烷基；經取代的烯基包括羧烯基、胺烯基、二烯胺基、羥烯基及巰烯基；經取代的炔基包括羧炔基、胺炔基、二炔胺基、羥炔基及巰炔基；經取代的環烷基包括例如 4-氯環己基的分子部分；芳基包括例如萘基的分子部分；經取代的芳基包括例如 3-溴苯基的分子部分；芳烷基包括例如甲苯基的分子部分；雜烷基包括例如乙基噻吩的分子部分；經取代的雜烷基包括例如 3-甲氧基-噻吩的分子部分；烷氧基包括例如甲氧基的分子部分；以及苯氧基包括例如 3-硝基苯氧基的分子部分。鹵應理解為包括氟、氯、碘及溴。

為了本發明之目的，名詞“有效量”及“足夠量”應指可達到所要效果或治療效果的量，就效果本身而論是由一般熟悉於此技藝者所理解。

【實施方式】

在本發明的一個具體實例中係提供式 (I) 化合物：

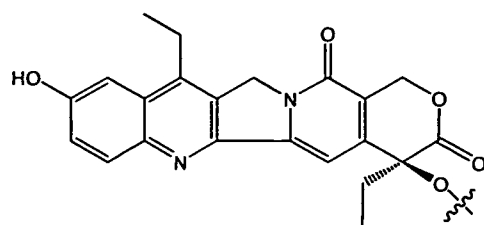


其中

R_1 、 R_2 、 R_3 及 R_4 獨立地是 OH 或 $(L)_m-D$ ；

L 是雙功能性的連接子；

D 是喜樹鹼或喜樹鹼類似物的殘基，例如：



m 是 0 或正整數，較佳是從約 1 到約 10，以及更佳是 1；以及

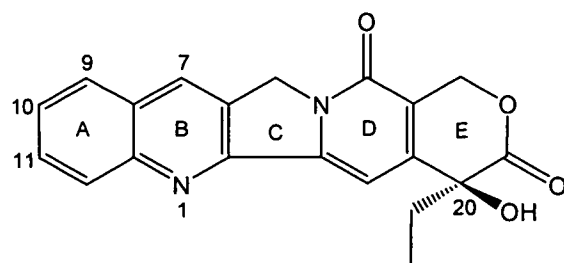
n 是正整數，較佳是從約 28 到約 341，更佳是約 227；

限制條件為 R_1 、 R_2 、 R_3 及 R_4 不全是 OH。

A. 喜樹鹼及相關的喜樹鹼類似物：

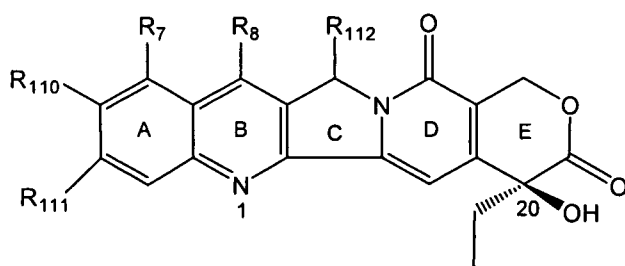
喜樹鹼是一種由原產於中國的喜樹及原產於印度的青脆枝所製造的水不溶性細胞毒性生物鹼。喜樹鹼以及相關的化合物及類似物已知是有潛力的抗癌或抗腫瘤作用劑，並且已顯示可在實驗室動物的試管內及活體內具有這些活性。

喜樹鹼及特定相關的類似物共享以下結構：



從這個核心結構中，許多已知的類似物已被製備。例如，在 10-及 11-位置的任一或兩者中的 A 環可被 OH 取代。A 環也可被直鏈或分支的 C_{1-30} 烷基或 C_{1-17} 烷氧基取代，視需要藉由雜原子（也就是，-O 或-S）而連結到環。在 7-位置中的 B 環可被直鏈或分支的 C_{1-30} 烷基（較佳是 C_2 烷基）、 C_{5-8} 環烷基、 C_{1-30} 烷氧基、苯烷基等、氨基甲酸烷基酯、烷基二卡肼、苯肼衍生物等取代。在 C、D 及 E 環中的其他取代是可能的。例如，參見美國專利第 5,004,758、4,943,579、RE 32,518 號，其內容以引用方式納入本文中。如同在此技藝中之人士將理解者，10-羥喜樹鹼、11-羥喜樹鹼以及 10,11-二羥喜樹鹼類似物是在喜樹及其親屬樹種中以微量成分之一的形式天然存在。對於這些化合物的其他取代，也就是，7-烷基-、7-經取代的烷基-、7-胺基-、7-胺烷基-、7-芳烷基-、9-烷基-、9-芳烷基-喜樹鹼等衍生物，可利用已知的合成技術無須過度實驗而製得。部分喜樹屬的生物鹼具有以下所示的結構：

(II)



在以上所示的結構中， R_7 是 NO_2 、 NH_2 、 N_3 、氫、鹵（F、Cl、Br、I）、 $COOH$ 、 OH 、 $O-C_{1-8}$ 烷基、 SH 、 $S-C_{1-3}$

烷基、CN、 CH_2NH_2 、 $\text{NH}-\text{C}_{1-3}$ 烷基、 $\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}_{1-3}$ 烷基、 $\text{N}(\text{C}_{1-3}$ 烷基) $_2$ 、 $\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_{1-3}$ 烷基)、O-、NH-及 $\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})_2$ 、O-、NH-及 $\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})_2$ 、O-、NH-及 $\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})_2$ 、O-、NH-及 $\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})_2$ 、O-、NH-及 $\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_{1-3}$ 烷基) $_2$ 、O-、NH-及 $\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_{1-3}$ 烷基) $_2$ 、CHO 或 C_{1-3} 烷基之一。

在以上所示的結構 (II) 中， R_8 可以是 H 或 C_{1-8} 烷基 (較佳是 C_2 烷基) 或 $\text{CH}_2\text{NR}_9\text{R}_{10}$ ，其中：

(a) R_9 及 R_{10} 獨立地是氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 環烷基、 C_{3-7} 環烷基- C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、羥基- C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-6} 烷基；可選擇地

(b) R_9 可以是氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 環烷基、 C_{3-7} 環烷基- C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、羥基- C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-6} 烷基，以及 R_{10} 可以是 $-\text{COR}_{11}$ ，其中 R_{11} 是氫、 C_{1-6} 烷基、過鹵- C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 環烷基、 C_{3-7} 環烷基- C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、羥基- C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-6} 烷基；或

(c) R_9 及 R_{10} 與它們附屬的氮原子一起形成飽和的 3-7 員雜環，其可包含 O、S 或 NR_{12} 基團，其中 R_{12} 是氫、 C_{1-6} 烷基、過鹵- C_{1-6} 烷基、芳基、以選自由 C_{1-6} 烷基、鹵素、硝基、胺基、 C_{1-6} 烷胺基、過鹵- C_{1-6} 烷基、羥基- C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-6} 烷基以及 $-\text{COR}_{13}$ 所組成的族群中之一個或多個基團取代的芳基，其中 R_{13} 是氫、 C_{1-6} 烷

基、過鹵- C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、芳基及以一個或多個 C_{1-6} 烷基、過鹵- C_{1-6} 烷基、羥基- C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-6} 烷基取代的芳基；

R_{110} - R_{111} 各自獨立地是選自由氫；鹵；鹽基；烷基（例如， C_{1-6} 烷基）；經取代的烷基；烷氧基（例如， C_{1-6} 烷氧基）；經取代的烷氧基；烯基；炔基；環烷基；羥基；氰基；硝基；疊氮基；鹽胺基；肼；胺基；經取代的胺基（例如，單烷胺基及二烷胺基）；羥羰基；烷氧羰基；烷羰氧基；烷羰胺基；氨基甲鹽氧基；芳磺鹽氧基；烷磺鹽氧基； $-C(R_{117})=N-(O)_j-R_{118}$ ，其中 R_{117} 是 H、烷基、烯基、環烷基或芳基， j 是 0 或 1，以及 R_{118} 是 H、烷基、烯基、環烷基或雜環；以及 $R_{119}C(O)O-$ ，其中 R_{119} 是鹵素、胺基、經取代的胺基、雜環、經取代的雜環或 $R_{120}-O-(CH_2)_k-$ ，其中 k 是 1-10 的整數，以及 R_{120} 是烷基、苯基、經取代的苯基、環烷基、經取代的環烷基、雜環或經取代的雜環所組成的族群中；或

R_7 與 R_{110} 或 R_{110} 與 R_{111} 一起形成取代或未經取代的亞甲二氧基、伸乙二氧基或乙烯氧基；以及

R_{112} 是 H 或 OR' ，其中 R' 是烷基、烯基、環烷基、鹵烷基或羥烷基。

較佳的芳基是苯基及萘基。適合的雜環（當 R_9 及 R_{10} 與它們附屬的氮原子一起時）包括：吡啶、四氫吡啶、吡咯啉、哌啶、六甲伸乙亞胺、咪唑啉、吡唑啉、異噁唑啉、哌嗪、N-甲基哌嗪、四氫吡嗪因（tetrahydroazepine）、N-

甲基-四氫吡啶庚因、噻唑啉等。在共軛之後，剩下的喜樹鹼類似物是指未共軛的化合物之殘基。

為了容易說明並且非為限制，說明以 7-乙基-10-羥喜樹鹼作為喜樹鹼類似物作為較佳及說明性的化合物。應理解的是，所主張的本發明包括所有該等衍生物及類似物，只要類似物具有 OH（例如，20-OH 基）以用作為聚合物連接的點即可。喜樹鹼或喜樹鹼類似物可以是外消旋混合物或光學純的異構物。較佳地，例如 20(S)喜樹鹼或喜樹鹼類似物之實質上純的及活性的形式是用於多臂聚合性的前藥中。

B. 雙功能性連接子：

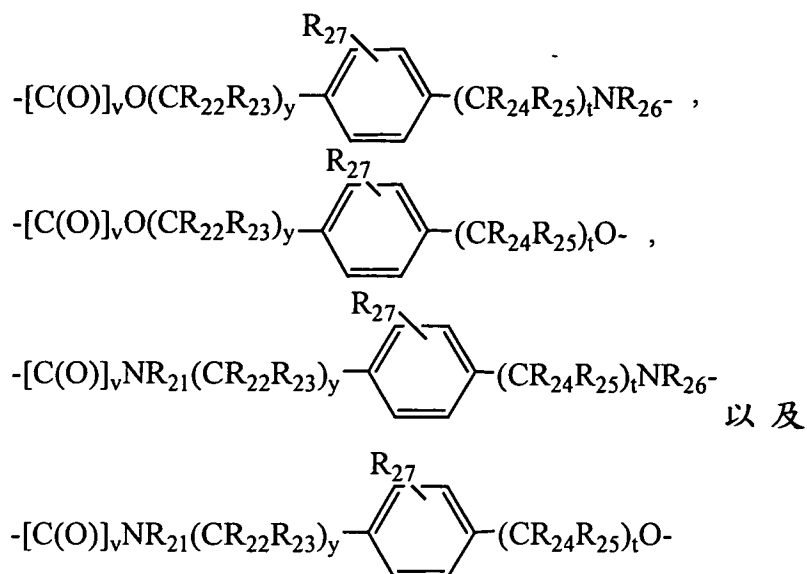
在本發明的特定較佳形態中，L 是胺基酸的殘基。可從任何已知的天然存在的 L-胺基酸中被選出的胺基酸是，僅列舉一些，例如，丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、甘胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、甲硫胺酸、半胱胺酸、苯丙胺酸、酪胺酸、色胺酸、天冬胺酸、麩胺酸、離胺酸、精胺酸、組胺酸、脯胺酸、及/或其組合等等。在另一形態中，L 可以是肽殘基。肽的大小範圍可是，例如，從約 2 至約 10 個胺基酸殘基。

天然存在的胺基酸之衍生物及類似物，以及各種在此技藝中已知的非天然存在的胺基酸（D 或 L），無論是疏水性或非疏水性，也被涵蓋在本發明的範疇之內。僅作為例子，胺基酸類似物及衍生物包括：2-胺基己二酸、3-胺基己二酸、 β -丙胺酸、 β -胺基丙酸、2-胺基丁酸、4-胺基

丁酸、哌啶酸、6-氨基己酸、2-氨基庚酸、2-氨基異丁酸、3-氨基異丁酸、2-氨基庚二酸、2,4-氨基丁酸、鎖鏈離胺素、2,2-二氨基庚二酸、2,3-二氨基丙酸、N-乙基甘胺酸、N-乙基天冬醯胺酸、3-羥基脯胺酸、4-羥基脯胺酸、異鎖鏈離胺素、別-異白胺酸、N-甲基甘胺酸或肌胺酸、N-甲基-異白胺酸、6-N-甲基-離胺酸、N-甲基纈胺酸、正纈胺酸、正白胺酸、鳥胺酸及其他不勝枚舉，其等列舉在 63 Fed. Reg. 29620、29622，係以引用方式納入本文中。一些較佳的 L 基團包括甘胺酸、丙胺酸、甲硫胺酸或肌胺酸殘基。更佳地，本發明的化合物包括甘胺酸殘基以作為連接子基團 (L)。

在本發明的另一形態中，於喜樹鹼類似物及聚合物間附著之後的 L 是選自由：

- [C(O)]_vNR₂₁(CR₂₂R₂₃O)_t-、
- [C(O)]_vNR₂₁(CR₂₂R₂₃O)_t(CR₂₄R₂₅)_yO-、
- [C(O)]_vNR₂₁(CR₂₂R₂₃O)_t(CR₂₄R₂₅)_y-、
- [C(O)]_vNR₂₁(CR₂₂R₂₃)_tO-、
- [C(O)]_vNR₂₁(CR₂₂R₂₃)_t(CR₂₄CR₂₅O)_yNR₂₆-、
- [C(O)]_vO(CR₂₂R₂₃)_tNR₂₆-、
- [C(O)]_vO(CR₂₂R₂₃)_tO-、
- [C(O)]_vNR₂₁(CR₂₂R₂₃)_tNR₂₆-、
- [C(O)]_vNR₂₁(CR₂₂R₂₃)_t(CR₂₄CR₂₅O)_y-、
- [C(O)]_vNR₂₁(CR₂₂R₂₃O)_t(CR₂₄CR₂₅)_yNR₂₆-、



其中

R_{21} - R_{26} 是獨立地選自由氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-19} 分支的烷基、 C_{3-8} 環烷基、 C_{1-6} 經取代的烷基、 C_{2-6} 經取代的烯基、 C_{2-6} 經取代的炔基、 C_{3-8} 經取代的環烷基、芳基、經取代的芳基、芳烷基、 C_{1-6} 雜烷基、經取代的 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、苯氧基以及 C_{1-6} 雜烷氧基所組成的族群中；

R_{27} 是選自由氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-19} 分支的烷基、 C_{3-8} 環烷基、 C_{1-6} 經取代的烷基、 C_{2-6} 經取代的烯基、 C_{2-6} 經取代的炔基、 C_{3-8} 經取代的環烷基、芳基、經取代的芳基、芳烷基、 C_{1-6} 雜烷基、經取代的 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、苯氧基、 C_{1-6} 雜烷氧基、 NO_2 、鹵烷基以及鹵素所組成的族群中；

t 及 y 是從約 1 到約 4 之個別選擇的正整數；以及

v 是 0 或 1。

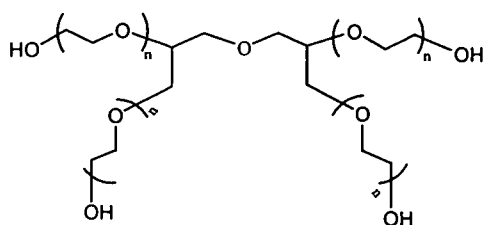
在本發明的一些較佳形態中，化合物包括一個單元的

雙功能性連接子，並且因此 m 是 1。

其他的連接子可在 Greenwald 等人 (*Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 1998, 6: 551-562) 的表 1 中找到，其內容以引用方式納入本文中。

C. 多臂聚合物：

多臂 PEG 是在 NOF 公司。藥物傳遞系統目錄本第 8 版 (2006 年 4 月) 中所說明者，其揭露以引用方式納入本文中。一種特別較佳的多臂 PEG 具有以下結構：



其中 n 是正整數。

在本發明的一個較佳具體實例中，對於聚合物的聚合作用程度 (n) 是從約 28 至約 341，以提供具有總分子量從約 5,000 Da 至約 60,000 Da 的聚合物，以及較佳是從約 114 至約 227，以提供具有總分子量從約 20,000 Da 至 40,000 Da 的聚合物。這代表在聚合物鏈中的重複單元之數目，並且是取決於聚合物的分子量而定。在本發明的一個特別較佳具體實例中， n 是約 227。

D. 前藥的合成：

一般而言，本發明的前藥是藉由將一或多當量活化的多臂聚合物與例如每個活性位置一或多當量的喜樹鹼-胺基酸共軛物，在足以有效使胺基經歷與聚合物的羧酸反應並

形成連結的條件下反應而製備。

更特別地，方法可包括：

1) 提供一當量包含可利用的 20-羥基之喜樹鹼或喜樹鹼類似物，以及一或多當量包含可利用的羧酸基團之雙功能性連接子；

2) 在惰性溶劑中（例如，DCM（或 DMF、氯仿、甲苯或其混合物）），於偶聯試劑（例如，1-(3-二甲基胺丙基)-3-乙基碳化二亞胺（EDC）（或 1,3-二異丙基碳化二亞胺（DIPC）、任何適合的二烷基碳化二亞胺、Mukaiyama 試劑（例如，2-鹵-1-烷基-吡啶鎢鹵化物）或丙烷膦酸環酐（PPACA）等等））以及適合的鹼（例如，DMAP）之存在下，將兩個反應物反應以形成喜樹鹼-雙功能性連接子中間產物；以及

3) 在惰性溶劑中（例如，DCM（或 DMF、氯仿、甲苯或其混合物）），於偶聯試劑（例如，1-(3-二甲基胺丙基)-3-乙基碳化二亞胺（EDC）、PPAC（或 1,3-二異丙基碳化二亞胺（DIPC）、任何適合的二烷基碳化二亞胺、Mukaiyama 試劑（例如，2-鹵-1-烷基-吡啶鎢鹵化物）或丙烷膦酸環酐（PPACA）等等））以及適合的鹼（例如，DMAP），其可得自，例如，市售來源（例如，Sigma 化學）或利用已知的技術在 0°C 至多達 22°C 的溫度下合成，之存在下將每個活性位置一或多當量具有胺基的所得中間產物（在實施例中是 2 當量）與一當量活化的聚合物（例如，PEG-酸）反應。

在一較佳形態中，7-乙基-10-羥喜樹鹼的 10-羥基是在步驟 1) 之前被保護。

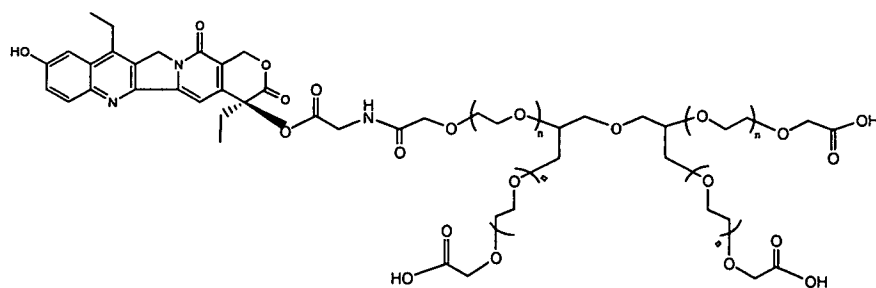
用於喜樹鹼或喜樹鹼類似物的 OH 基（例如，7-乙基-10-羥喜樹鹼中的 10-羥基）之芳香保護基是較佳的，因為其 7-乙基-10-羥喜樹鹼中間產物具有較佳的溶解度，並且可高效率及有效地以高純度的形式而純化。例如，包含矽烷基的保護基例如 TBDPSCl、TBDMSCl 及 TMSCl 可用於保護喜樹鹼或喜樹鹼類似物中的 10-羥基。

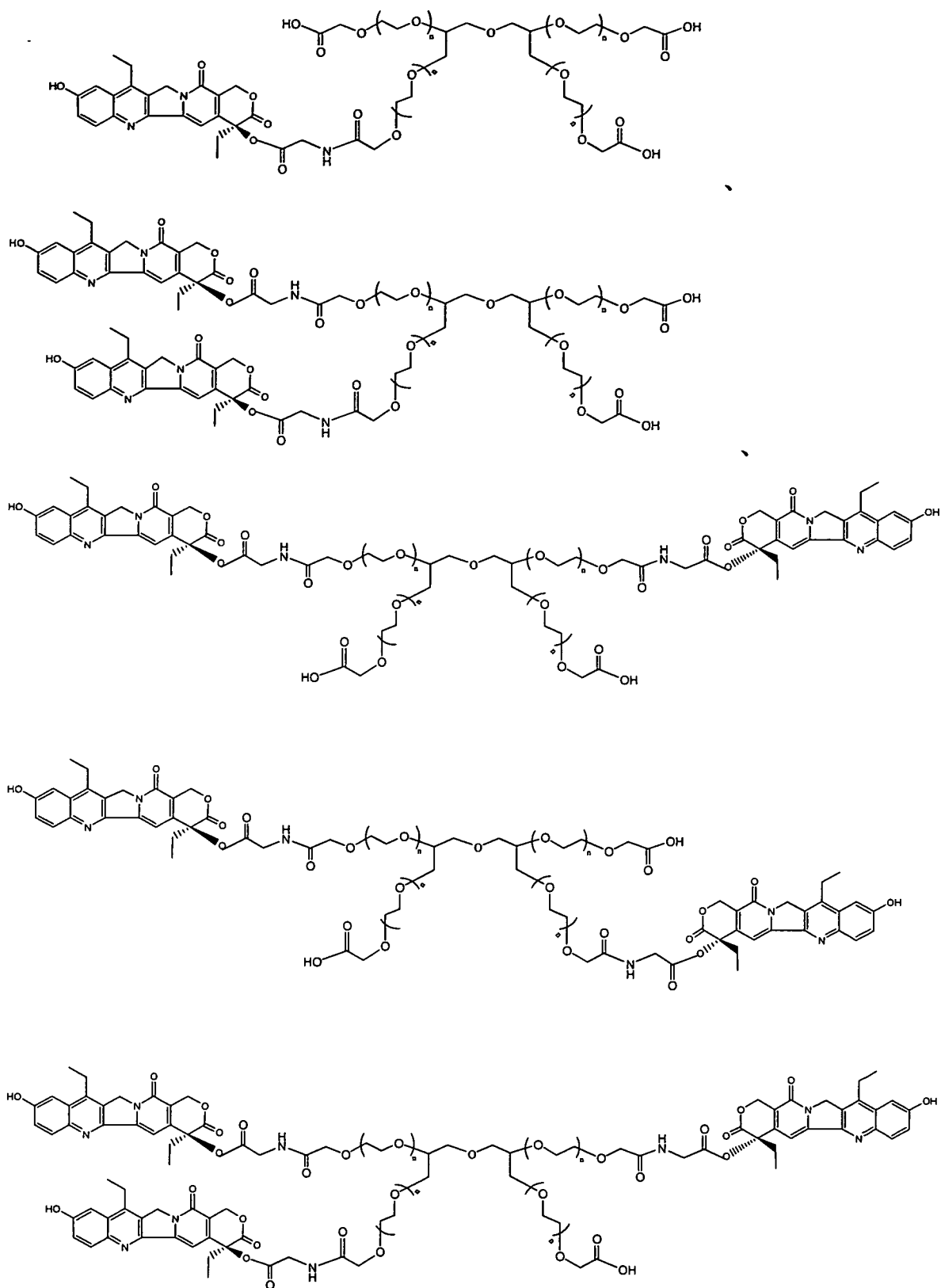
活化的聚合物（也就是，包含 1-4 個末端羧酸基團的聚合物）可例如藉由將 NOF Sunbright 型或其他具有末端 OH 基的分支聚合物，利用一般熟悉於此技藝者所熟知的標準技術轉換成對應的羧酸衍生物而製備。例如，參見此處的實施例 1-2 以及共同讓與的美國專利第 5,605,976 號，其內容在此以引用方式納入本文中。

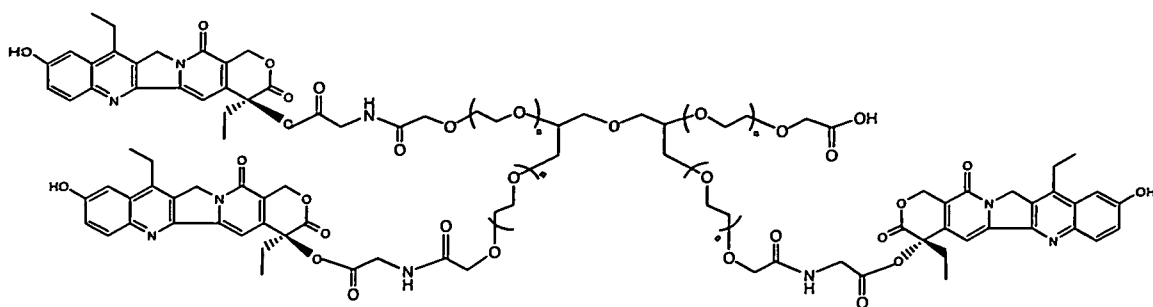
第一及第二偶聯作用劑可以是相同或不同的。

較佳雙功能性連接子基團的例子包括甘胺酸、丙胺酸、甲硫胺酸、肌胺酸等，以及合成是在實施例中顯示。可替代及特定的合成是在實施例中提供。

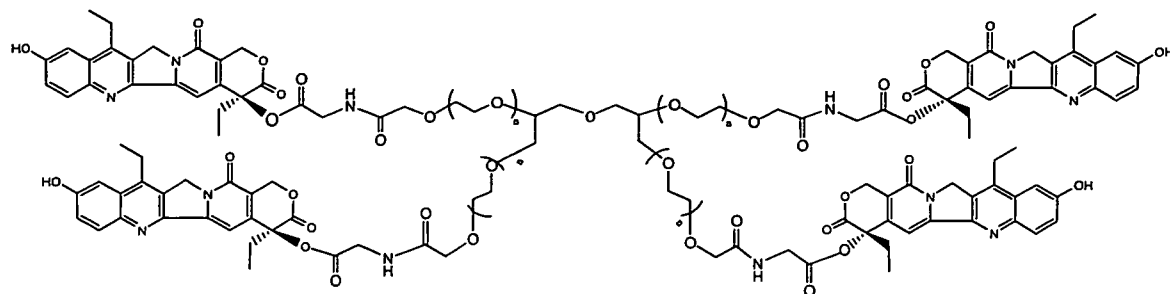
例如，本發明的化合物是在以下之中：





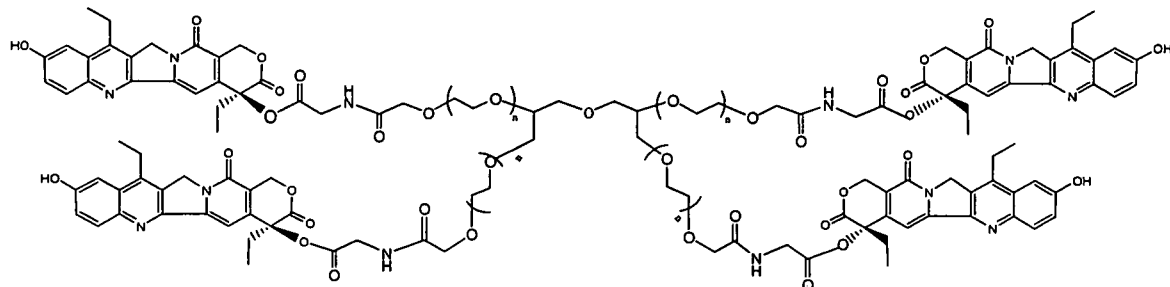


、與



。

特別較佳的化合物是：



其中聚合物的所有 4 臂都經由甘胺酸而共軛到 7-乙基-10-羥喜樹鹼。根據本發明的這個形態所進行的化合物之 HPLC 分析顯示，平均而言，4 個 7-乙基-10-羥喜樹鹼分子是共軛到 1 個 PEG 分子（4 重量％）。

E. 組成物/調配物：

包含本發明聚合共軛物的醫藥組成物可藉由在此技藝

中熟知的方法而製造，例如，利用各種已知的混合、溶解、粒化、磨細（levigating）、乳化、包膠（encapsulating）、陷入（entrapping）或冷凍乾燥方法。組成物可結合一種或多種生理上可接受的載劑（包括賦形劑及輔助劑）而調配，其可促進將活性化合物加工成可醫藥上使用的製備物。適當的調配物是根據所選擇的投予途徑而定。非腸胃道途徑在本發明的許多形態中是較佳的。

對於注射，包括但並不限於靜脈、肌肉內及皮下注射，本發明的化合物可在水溶液中調配，溶液較佳是在生理上相容的緩衝溶液（例如，生理鹽緩衝溶液）或極性溶劑（包括但並不限於，吡咯烷酮或二甲基亞碸）。

化合物也可例如藉由快速注射或連續式注入而調配成非腸胃道投予。用於注射的調配物可以單位劑型而呈現，例如，在安瓿或多劑的容器中。有用的組成物包括，但並不限於，懸浮液、溶液、或在油性或水溶性載劑中的乳液，並且可包含附屬物，例如，懸浮劑、穩定劑及/或分散劑。用於非腸胃道投予的醫藥組成物包括水可溶解形式的水溶液，例如，但並不限於，活性化合物的鹽（較佳）。此外，活性化合物的懸浮液也可在親脂性載劑中製備。適合的親脂性載劑包括脂肪油，例如，芝麻油、合成的脂肪酸酯（例如，油酸乙酯及三甘油酯）或例如微脂粒的材料。水溶性注射懸浮液可包含增加懸浮液黏度的物質，例如，羧甲基纖維素鈉、山梨糖醇或右旋糖聚糖。視需要地，懸浮液也可包含適合的穩定劑及/或可增加化合物溶解度的作用劑，

以使製備高濃縮溶液成為可能。可替代地，活性成分可以是粉末的形式，用以在使用之前以適合的載劑（例如，無菌、無熱原的水）構成。

對於口服投予，化合物可藉由將活性化合物與在此技藝中熟知的醫藥上可接受的載劑結合而調配。該等載劑可使本發明的化合物被調配成錠劑、丸劑、菱形錠、糖衣錠、膠囊、液體、凝膠、糖漿、糊劑、漿體、溶液、懸浮液、用於在患者的飲用水中稀釋的濃縮溶液及懸浮液、用於在患者的餐飲中稀釋的預混物等，以被患者口服攝取。口服使用的醫藥製備物可利用固體賦形劑，視需要研磨所得到的混合物並且處理顆粒混合物（在加入其他想要的適合輔助物之後）以獲得錠劑或糖衣錠核心而製得。有用的賦形劑特別是充填劑（例如，糖類，包括乳糖、蔗糖、甘露糖醇或山梨糖醇）、纖維素製備物（例如，玉米澱粉、小麥澱粉、稻米澱粉及馬鈴薯澱粉）以及其他物質（例如，明膠、特拉加康斯膠、甲基纖維素、羥丙基-甲基纖維素、羧甲基纖維素鈉及/或聚乙炔吡咯烷酮（PVP））。如果需要的話，可添加崩散劑，例如，交聯的聚乙炔吡咯烷酮、瓊脂或藻酸。也可使用鹽類，例如，藻酸鈉。

對於藉由吸入的投予，本發明的化合物可便利地以氣溶膠噴劑的形式，利用加壓包或噴霧器以及適合的推進劑而傳遞。

化合物也可利用例如傳統的栓劑基底（例如，可可油或其他甘油酯），而調配於直腸組成物（例如，栓劑或保

留灌腸劑)。

除了前述的調配物之外，也可將化合物調配成儲存製備物。該等長作用的調配物可藉由植入（例如，皮下或肌肉內）或藉由肌肉內注射而投予。本發明的化合物可與適當的聚合性或疏水性物質調配（例如，在乳液中與藥學上可接受的油）、與離子交換樹脂調配、或調配為難溶性衍生物（例如，但並不限於，難溶性鹽），以用於這個投予途徑。

其他的傳遞系統，例如，微脂粒及乳液，也可被使用。

此外，化合物也可利用持續釋放系統而傳遞，例如，包含治療作用劑的固體疏水性聚合物之半通透基質。許多持續釋放的材料已被建立，並且是在此技藝中之人士所熟知的。根據它們的化學特性，持續釋放的膠囊可釋放化合物數週至多達超過 100 天。根據特定化合物的化學特性及生物穩定性，可使用其他的穩定化策略。

F. 劑量：

治療有效量是指有效於預防、減輕或緩和可受喜樹鹼或相關類似物（也就是，7-乙基-10-羥喜樹鹼）影響的症狀之化合物的量。治療有效量的測定是充分在熟悉於此技藝者的能力內，特別是依照此處之揭露。

對於在本發明方法中所使用的任何化合物，治療有效量可從試管內的分析中初步估計。接著可調配劑量以用於動物模式，以便達成可包括有效劑量的循環濃度範圍。該等資訊可接著用於更精確地測定有效於患者的劑量。

此處所說明的化合物之毒性及治療功效，可藉由在細胞培養或實驗動物中的標準藥學程序，利用在此技藝中熟知的方法而測定。當然，劑量可根據劑型及投予途徑而改變。確實的調配物、投予途徑以及劑量，可由個別醫師考量患者的症狀而選擇。然而，一般而言，對於本發明化合物的全身性傳遞，目前較佳的劑量範圍將從約 1 至約 100 mg/kg/週，以及較佳是從約 2 至約 60 mg/kg/週。

組成物可每天投予一次或分成多個劑量，其可作為多週治療方法的部分而給予。精確的劑量將取決於症狀的階段及嚴重性、腫瘤對於聚合物-前藥組成物的敏感性以及要被治療的患者之個人特質而定，如同將由一般熟悉於此技藝者所理解。

G. 治療方法：

有鑑於以上說明，本發明也提供治療哺乳動物的方法，其包括將治療有效量的式 (I) 之本發明化合物投予至有需要的患者，其中 D 是生物活性的分子部分，也就是，喜樹鹼類似物。在本發明的較佳形態中，D 是 7-乙基-10-羥喜樹鹼的殘基。

本發明的另一形態係提供在哺乳動物中治療各種醫療症狀的方法。相較於其他疾病，組成物是特別有效於在哺乳動物中治療新生物 (neoplasm) 疾病、減少腫瘤負擔、預防新生物轉移以及預防腫瘤/新生物生長的復發。在另一形態中，被治療的癌症可以是以下一種或多種：固態腫瘤、淋巴瘤、肺癌、小細胞肺癌、急性淋巴細胞白血病 (ALL)、胰

臟癌、神經膠母細胞瘤、卵巢癌、胃癌等。

被投予的組成物的量（例如，使用作為前藥）將取決於包括在其中的母體分子而定。一般而言，用於治療方法中的前藥的量是可以在哺乳動物中有效達到所要治療結果的量。天然地，各種前藥化合物的劑量將取決於母體化合物、活體內水解速率、聚合物的分子量等而有稍微改變。一般而言，喜樹鹼的聚合性酯衍生物以及相關組成物是以範圍從約 1 至約 100 mg/kg/週的量而投予，以及較佳是從約 2 至約 60 mg/kg/週的量而投予。以上所列舉的範圍是說明性的，以及熟悉於此技藝者將根據臨床經驗及治療指示而決定所選擇的前藥之最適給藥。

在本發明的另一形態中，治療方法包括將有效量的此處所說明之化合物，投予患有可藉由拓普異構酶干擾而治療的症狀之有需要的哺乳動物或患者。

實施例

以下的實施例係用以提供本發明進一步的理解，但絕非欲以任何方式限制本發明的有效範圍。在實施例中列出的畫底線及粗體數字係對應於第 1-5 圖所示者。

一般方法：所有的反應都是在乾燥的氮氣或氬氣氣氛下進行。使用市售的試劑而無進一步純化。所有的 PEG 化合物在使用之前，都在真空下或從甲苯中藉由共沸蒸餾而乾燥。除非有其他不同的指明，否則 ^{13}C NMR 光譜是在 75.46 MHz，利用 Varian Mercury[®] 300 NMR 光譜儀，並且以氘化的氯仿及甲醇作為溶劑而獲得。化學位移 (δ) 是以從

四甲基矽烷 (TMS) 起的百萬分之一 (ppm) 低磁場而報導。

HPLC 方法：反應混合物以及中間產物及最終產物的純度，是藉由 Beckman Coulter System Gold® HPLC 儀器而監測。它使用 ZOBAX® 300SB C8 反相管柱 (150×4.6 mm) 或 Phenomenex Jupiter® 300A C18 反相管柱 (150×4.6 mm)，具有多波長的 UV 偵測器，利用 10-90% 乙腈於 0.05% 三氟醋酸 (TFA) 中的梯度，流速 1 mL/min。

實施例 1： ⁴⁰k 4 臂-PEG-tBu 酯 (化合物 2)：

將 ⁴⁰k 4 臂-PEG-OH (12.5 g, 1 eq.) 與 220 mL 的甲苯共沸，以移除 35 mL 的甲苯/水。將溶液冷卻至 30°C，並且加入 1.0 M 於第三-丁醇中的第三-丁醇鉀 (3.75 mL, 3 eq × 4 = 12 eq.)。將混合物於 30°C 攪拌 30 min，然後加入溴醋酸第三-丁基酯 (0.975 g, 4 eq. × 4 = 16 eq.)。將反應在 30°C 維持 1 小時，然後冷卻至 25°C。將 150 mL 的乙醚緩慢加入以將產物沈澱。將所得的懸浮液冷卻至 17°C，並且在 17°C 保持半小時。將粗產物過濾，並將濕的濾餅以乙醚清洗兩次 (2×125 mL)。將分離的濕濾餅溶解在 50 mL 的 DCM，並將產物以 350 mL 的乙醚沈澱，並且過濾。將濕的濾餅以乙醚清洗兩次 (2×125 mL)。將產物在真空下以 40°C 乾燥 (產率 = 98%，12.25 g)。¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃)：δ 27.71, 68.48-70.71 (PEG), 80.94, 168.97。

實施例 2： ⁴⁰k 4 臂-PEG 酸 (化合物 3)：

將 ⁴⁰k 4 臂-PEG-tBu 酯 (化合物 2, 12 g) 溶解在 120 mL

的 DCM，然後加入 60 mL 的 TFA。將混合物於室溫攪拌 3 小時，然後將溶劑在真空下於 35°C 移除。將所得的油狀殘留物溶解在 37.5 mL 的 DCM。將粗產物以 375 mL 的乙醚沈澱。將濕的濾餅溶解在 30 mL 的 0.5% NaHCO₃。將產物以 DCM 萃取兩次 (2×150 ml)。將結合的有機層在 2.5 g 的 MgSO₄ 上乾燥。將溶劑在真空下於室溫移除。將所得的殘留物溶解在 37.5 mL 的 DCM，並將產物以 300 mL 的乙醚沈澱，並且過濾。將濕的濾餅以乙醚清洗兩次 (2×125 ml)。將產物在真空下以 40°C 乾燥 (產率 = 90%，10.75 g)。¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃): δ 67.93–71.6 (PEG), 170.83。

實施例 3：TBDPS-(10)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼) (化合物 5)：

將 Et₃N (4.3 mL, 30.58 mmol, 6 eq.) 及 TBDPSCl (7.8 mL, 30.58 mmol, 6 eq.) 加到 7-乙基-10-羥喜樹鹼 (化合物 4, 2.0 g, 5.10 mmol, 1 eq.) 於 100 mL 無水 DCM 的懸浮液中。將反應混合物加熱以迴流隔夜，然後以 0.2 N HCl 溶液 (2×50 mL)、飽和的 NaHCO₃ 溶液 (100 mL) 及濃鹽水 (100 mL) 清洗。將有機層在 MgSO₄ 上乾燥、過濾並且在真空下蒸發。將殘留物溶解在無水 DCM 中，並且藉由加入己烷而沈澱。重複以 DCM/己烷沈澱以除去過量的 TBDPSCl。將固體濾出並且在真空下乾燥，得到 2.09 g 的產物 (65% 產率)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0.90 (3 H, t, J = 7.6 Hz), 1.01 (3 H, t, J = 7.3 Hz), 1.17 (9H, s), 1.83–1.92 (2H, m), 2.64 (2H, q, 6.9 Hz), 3.89 (1 H, s, OH), 5.11

(2H, s), 5.27 (1H, d, $J = 16.1$ Hz), 5.72 (1H, d, $J = 16.4$ Hz), 7.07 (2 H, d, $J = 2.63$ Hz), 7.36-7.49 (7 H, m), 7.58 (1 H, s), 7.75-7.79 (4H, m), 8.05 (1 H, d, $J = 9.4$ Hz)。 ^{13}C NMR (75.4 MHz, CDCl_3): δ 7.82, 13.28, 19.52, 22.86, 26.48, 31.52, 49.23, 66.25, 72.69, 97.25, 110.09, 117.57, 125.67, 126.57, 127.65, 127.81, 130.02, 131.69, 131.97, 135.26, 143.51, 145.05, 147.12, 149.55, 149.92, 154.73, 157.43, 173.72。

實施例 4：TBDPS-(10)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(20)-Gly-Boc (化合物 6)：

將 EDC(1.72 g, 8.99 mmol, 1.5 eq.) 及 DMAP(329 mg, 2.69 mmol, 0.45 eq.) 加到 TBDPS-(10)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼) (化合物 5, 3.78 g, 5.99 mmol, 1 eq.) 及 Boc-Gly-OH (1.57 g, 8.99 mmol, 1.5 eq.) 於 100 mL 無水 DCM 中的 0°C 溶液。將反應混合物於 0°C 攪拌，直到 HPLC 顯示原料完全消失為止 (大約 1 小時 45 分鐘)。將有機層以 0.5% NaHCO_3 溶液 (2×50 mL)、水 (1×50 mL)、0.1 N HCl 溶液 (2×50 mL) 及濃鹽水 (1×50 mL) 清洗；並且在 MgSO_4 上乾燥。在過濾以及在真空下蒸發之後，得到 4.94 g 的粗產物 (定量的產率)。將粗固體用於下一個反應而無進一步純化。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 0.89 (3 H, t, $J = 7.6$ Hz), 0.96 (3 H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.18 (9H, s), 1.40 (9H, s), 2.07-2.29 (3H, m), 2.64 (2H, q, 7.5 Hz), 4.01-4.22 (2H, m), 5.00 (1 H, br s), 5.01 (2H, s), 5.37 (1H, d, $J = 17.0$ Hz), 5.66 (1H, d, $J = 17.0$ Hz), 7.08 (1 H, d, $J = 2.34$ Hz), 7.16 (1H, s),

7.37-7.50 (7 H, m), 7.77 (4H, d, $J = 7.6$ Hz), 8.05 (1 H, d, $J = 9.4$ Hz)。 ^{13}C NMR (75.4 MHz, CDCl_3): δ 7.52, 13.30, 19.50, 22.86, 26.45, 28.21, 31.64, 42.28, 49.14, 67.00, 76.65, 79.96, 95.31, 110.13, 118.98, 125.75, 126.45, 127.68, 127.81, 130.03, 131.54, 131.92, 135.25, 143.65, 144.91, 145.19, 147.08, 149.27, 154.75, 155.14, 157.10, 166.98, 169.17。

實施例 5：TBDPS-(10)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(20)-Gly•HCl (化合物 7)：

將 5 mL 的 4 M HCl 於二噁烷中的溶液加到 TBDPS-(10)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(20)-Gly-Boc (化合物 6, 1 g, 1.27 mmol) 於 5 mL 無水二噁烷的溶液中。將反應混合物於室溫中攪拌，直到 HPLC 顯示原料完全消失為止 (1 小時)。將反應混合物加到 50 mL 的乙醚中，並且過濾所得到的固體。將固體溶解在 50 mL DCM，並以濃鹽水清洗 (藉由加入飽和的 NaHCO_3 溶液而將 pH 調整至 2.5)。將有機層在 MgSO_4 上乾燥、過濾並且在真空下蒸發。將殘留物溶解在 5 mL 的 DCM，並且藉由加入 50 mL 乙醚而沈澱。過濾得到 770 mg (84% 產率) 的最終產物。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 0.84 (3 H, t, $J = 7.6$ Hz), 1.05 (3 H, t, $J = 7.3$ Hz), 1.16 (9H, s), 2.15-2.30 (3H, m), 2.59 (2H, q, 7.6 Hz), 4.16 (1H, d, $J = 17.9$ Hz), 4.26 (1H, d, $J = 17.9$ Hz), 5.13 (2H, s), 5.46 (1H, d, $J = 17.0$ Hz), 5.60 (1H, d, $J = 17.0$ Hz), 7.11 (1 H, d, $J = 2.34$ Hz), 7.30 (1H, s), 7.40-7.51 (6 H, m), 7.56 (1H, dd, $J = 2.34, 9.4$ Hz), 7.77 (4H, dd, $J = 7.6, 1.6$ Hz), 7.98 (1 H, d,

$J = 9.1 \text{ Hz}$)。 ^{13}C NMR (75.4 MHz, CDCl_3): δ 8.09, 13.72, 20.26, 23.61, 26.94, 31.83, 41.01, 50.71, 67.62, 79.51, 97.03, 111.65, 119.69, 127.13, 128.97, 128.99, 129.11, 131.43, 131.96, 133.00, 133.03, 136.51, 145.62, 145.81, 147.24, 148.29, 150.58, 156.27, 158.68, 167.81, 168.34。

實施例 6： ^{40}k 4 臂-PEG-Gly-(20)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(10)-TBDPS (化合物 8)：

將 TBDPS-(10)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(20)-Gly•HCl (化合物 7, 207 mg, 0.29 mmol, 每個活性位置 2.0 eq.)、DMAP (175 mg, 1.44 mmol, 10 eq.) 及 PPAC (0.85 mL 的 50 % 溶液於 EtOAc 中, 1.44 mmol, 10 eq.)，加到 ^{40}k 4 臂-PEGCOOH (化合物 3, 1.4 g, 0.036 mmol, 1 eq.) 於 14 mL 的無水 DCM 溶液中。將反應混合物在室溫中攪拌隔夜，然後在真空下蒸發。將所得到的殘留物溶解在 DCM，並將產物以乙醚沈澱，並且過濾。將殘留物以 DMF/IPA 再結晶，得到產物 (1.25 g)。 ^{13}C NMR (75.4 MHz, CDCl_3): δ 7.45, 13.20, 19.39, 22.73, 26.42, 31.67, 40.21, 49.01, 66.83, 95.16, 110.02, 118.83, 125.58, 126.40, 127.53, 127.73, 129.96, 131.49, 131.76, 131.82, 135.12, 143.51, 144.78, 145.13, 146.95, 149.21, 154.61, 156.92, 166.70, 168.46, 170.30。

實施例 7： ^{40}k 4 臂-PEG-Gly(20)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼) (化合物 9)：

將 TBAF (122 mg, 0.46 mmol, 4 eq.) 於 THF 及 0.05 M HCl 溶液 (12.5 mL) 的 1:1 混合物中之溶液，加到化

化合物 ^{40k} 4 臂 -PEG-Gly-(20)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(10)-TBDPS (化合物 8, 1.25 g)。將反應混合物在室溫中攪拌 4 小時，然後以 DCM 萃取兩次。將結合的有機相在 MgSO₄ 上乾燥、過濾並且在真空下蒸發。將殘留物溶解在 7 mL 的 DMF，並以 37 mL IPA 沈澱。將固體過濾出，並以 IPA 清洗。重複以 DMF/IPA 的沈澱。最後，將殘留物溶解在 2.5 mL 的 DCM，並且藉由加入 25 mL 的乙醚而沈澱。將固體過濾出，並且在真空烘箱中以 40°C 乾燥隔夜 (860 mg)。
¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃): δ 7.48, 13.52, 22.91, 31.67, 40.22, 49.12, 66.95, 94.82, 105.03, 118.68, 122.54, 126.37, 128.20, 131.36, 142.92, 144.20, 144.98, 147.25, 148.29, 156.44, 156.98, 166.82, 168.49, 170.39。這個 NMR 數據顯示沒有 PEG-COOH 的訊號，代表所有的 COOH 都被反應。以同由螢光偵測所測定的裝載經發現是 3.9，其與 7-乙基-10-羥喜樹鹼在聚合物的 4 個分支的每一個上之完全裝載一致。以更大的規模重複進行這個實驗，得到一致的結果。

實施例 8：Boc-(10)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼) (化合物 10)：

將二-第三-丁基重碳酸酯 (1.764 g, 1.3 eq.) 及無水吡啶 (15.2 mL, 30 eq.) 在氮氣下於室溫加到 7-乙基-10-羥喜樹鹼 (化合物 4, 2.45 g, 1 eq.) 於 250 mL 無水 DCM 的懸浮液中。將懸浮液於室溫中攪拌隔夜。將薄霧狀的溶液經由賽力特 (celite) (10 g) 而過濾，並將濾液以 0.5 N HCl 清洗三次 (3×150 mL) 及以 NaHCO₃ 飽和溶液清洗一

次 (1×150 ml)。將溶液在 MgSO_4 上乾燥 (1.25 g)。將溶劑在真空下以 30℃ 移除。將產物在真空下以 40℃ 乾燥 (產率 = 82%, 2.525 g)。 ^{13}C NMR (75.4 MHz, CDCl_3) δ 173.53, 157.38, 151.60, 151.28, 150.02, 149.70, 147.00, 146.50, 145.15, 131.83, 127.19, 127.13, 124.98, 118.53, 113.88, 98.06, 84.26, 72.80, 66.18, 49.33, 31.62, 27.73, 23.17, 13.98, 7.90。

實施例 9：Boc-(10)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(20)-Ala-Bsmoc (化合物 11)：

將 EDC (0.51g, 2.67 mmol) 及 DMAP (0.065g, 0.53 mmol) 於 0℃ 時加到 Boc-(10)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼) (化合物 10, 0.85g, 1.71 mmol) 及 Bsmoc-Ala (0.68g, 2.30 mmol) 於無水 CH_2Cl_2 (20 mL) 的溶液中。將混合物在氮氣下於 0℃ 攪拌 45 分鐘，然後回溫至室溫。當反應的完成藉由 HPLC 確認時，將反應混合物以 1% NaHCO_3 (2×50 ml)、 H_2O (50 mL) 及 0.1 N HCl (2×50 mL) 清洗。將有機相以無水 MgSO_4 乾燥並且過濾。將溶劑在減壓下移除。將所得到的固體在真空下以低於 40℃ 乾燥隔夜，得到 1.28 g 的產物，產率為 95%。 ^{13}C NMR (75.4 MHz, CDCl_3) δ : 171.16, 166.83, 157.16, 154.78, 151.59, 151.33, 149.82, 147.17, 146.68, 145.35, 145.15, 139.08, 136.88, 133.60, 131.83, 130.45, 130.40, 130.33, 127.40, 127.08, 125.32, 125.14, 121.38, 120.01, 114.17, 95.90, 84.38, 77.19, 76.64, 67.10, 56.66, 53.45, 49.96, 49.34, 31.7, 27.76, 17.94, 14.02,

7.53。ESI-MS, 786.20 $[M + H]^+$ 。

實施例 10： Boc-(10)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(20)-Ala
(化合物 12)：

將 Boc-(10)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(20)-Ala-Bsmoc (化合物 11, 4.2 g, 5.35 mmol) 及 4-哌啶基哌啶 (1.17g, 6.96 mmol) 於無水 CH_2Cl_2 (200 ml) 中的溶液，在室溫攪拌 5 小時。然後將這個混合物以 0.1 N HCl (2×40 ml) 清洗，然後將有機層在無水 MgSO_4 上乾燥。將這個溶液過濾，並且藉由真空蒸餾而將溶劑移除，得到 2.8 g 的產物，具有 93 % 的純度，係由 HPLC 所測定。將這個產物藉由以乙醚研製 (3×20 ml)，然後以乙酸乙酯研製 (4×20 ml) 而進一步純化，得到 1.52 g (2.70 mmol)，具有純度 97%。 ^{13}C NMR (75.4 MHz, CDCl_3) δ 168.39, 166.63, 156.98, 151.20, 151.15, 149.69, 146.67, 146.56, 145.37, 144.53, 131.66, 127.13, 124.99, 119.80, 113.82, 96.15, 84.21, 77.67, 67.16, 49.48, 49.06, 31.56, 27.74, 23.14, 15.98, 13.98, 7.57。

實施例 11： ^{40}k 4 臂-PEG-Ala-(20)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(10)-Boc (化合物 13)：

將 Boc-(10)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(20)-Ala (化合物 12, 1.50 g, 2.5 mmol) 及 4 臂 PEG-COOH (化合物 3, 10.01 g, 1.0 mmol) 於室溫中加到無水 CH_2Cl_2 (100 mL)。將溶液冷卻至 0°C，然後加入 EDC (0.29 g, 1.5 mmol) 及 DMAP (0.30 g, 2.5 mmol)。將混合物在氮氣下於 0°C 攪拌 1 小時。接著將其保持在室溫中隔夜。將溶劑在減壓下蒸發。

將殘留物溶解在 40 mL 的 DCM，並將粗產物以乙醚沈澱（300 mL）。將得自過濾的濕固體於 65°C 溶解在 DMF/IPA 的混合物中（60/240 mL）。在 2-3 小時之內使溶液冷卻至室溫，並且將產物沈澱。接著，將固體過濾出，並以乙醚清洗（2×200 mL）。將濕的濾餅在真空下以低於 40°C 乾燥隔夜，得到 8.5 g 的產物。

實施例 12： ⁴⁰k 4 臂-PEG-Ala-(20)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)（化合物 14）：

將 ⁴⁰k 4 臂-PEG-Ala-(20)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(10)-Boc（化合物 13，7.98 g）於室溫加到 30% TFA 於無水 CH₂Cl₂ 的溶液中（130 mL）。將混合物攪拌 3 小時，或直到原料的消失係藉由 HPLC 確認為止。將溶液在真空下於 35°C 儘可能移除。將殘留物溶解在 50 mL 的 DCM，並將粗產物以乙醚（350 mL）沈澱，並且過濾。將濕的固體於 65°C 溶解在 DMF/IPA 的混合物中（50/200 mL）。使溶液在 2-3 小時之內冷卻至室溫，並將產物沈澱。接著將固體過濾出，並以乙醚清洗（2×200 mL）。將濕的濾餅在真空下以低於 40°C 乾燥隔夜，得到 6.7 g 的產物。¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃) δ：170.75, 169.30, 166.65, 157.00, 156.31, 148.36, 147.19, 145.03, 144.29, 143.00, 131.49, 128.26, 126.42, 122.47, 118.79, 105.10, 94.57, 78.08, 77.81, 77.20, 71.15, 70.88, 70.71, 70.33, 70.28, 70.06, 69.93, 69.57, 66.90, 49.14, 47.14, 31.53, 22.95, 17.78, 13.52, 7.46。

實施例 13： Boc-(10)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(20)-Met-

Bsmoc (化合物 15) :

將 EDC (1.64 g, 8.59 mmol) 及 DMAP (0.21 g, 1.72 mmol) 於 0°C 時加到 Boc-(10)-7-乙基-10-羥喜樹鹼 (化合物 10, 2.73 g, 5.53 mmol) 及 Bsmoc-Met (3.19 g, 8.59 mmol) 於無水 CH₂Cl₂ (50 mL) 的溶液中。將混合物在氮氣下於 0°C 攪拌 45 分鐘, 然後回溫至室溫。當反應的完成係藉由 HPLC 確認時, 將反應混合物以 1% NaHCO₃ (2×100 ml)、H₂O (100 mL) 及 0.1 N HCl (2×100 mL) 清洗。將有機相以無水 MgSO₄ 乾燥, 並且過濾。將溶劑在減壓下移除。將所得到的固體在真空下已低於 40°C 乾燥隔夜, 得到 4.2 g 的產物, 具有 88% 的產率。¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃) δ: 170.3, 166.8, 157.1, 155.2, 151.4, 151.2, 149.7, 147.0, 146.6, 145.3, 145.1, 138.9, 136.6, 133.5, 131.7, 130.5, 130.3, 130.2, 127.3, 127.0, 125.3, 125.1, 121.2, 119.8, 114.1, 96.1, 84.3, 76.7, 67.0, 56.7, 53.5, 53.4, 49.3, 31.6, 31.0, 29.7, 27.7, 23.1, 15.4, 13.9, 7.4; ESI-MS, 846.24 [M + H]⁺。

實施例 14 : Boc-(10)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(20)-Met-NH₂•HCl (化合物 16) :

將 Boc-(10)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(20)-Met-Bsmoc (化合物 15, 4.1 g, 4.85 mmol) 及 4-哌啶基哌啶 (1.06 g, 6.31 mmol) 於無水 CH₂Cl₂ (200 mL) 的溶液在室溫中攪拌 5 小時。接著將這個混合物以 0.1 N HCl (2×40 ml) 清洗, 然後將有機層在無水 MgSO₄ 上乾燥。將這個溶液過濾, 並將溶劑藉由真空蒸餾而移除, 得到 2.8 g 的產物, 具有約 97

%的純度，係由 HPLC 所測定。將這個產物藉由以乙醚（3 × 20 ml）研製，然後以乙酸乙酯（4 × 20 ml）研製而進一步純化，得到 1.54 g，具有 97% 的純度。¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃) δ: 167.2, 166.5, 156.9, 151.12, 150.9, 149.8, 146.3, 145.9, 145.8, 144.9, 131.3, 127.2, 127.0, 125.1, 119.6, 113.8, 96.7, 84.3, 78.2, 67.0, 60.4, 52.2, 49.4, 31.4, 29.6, 29.1, 27.7, 23.2, 15.1, 13.9, 7.7。

實施例 15：^{40k} 4 臂-PEG-Met-(20)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(10)-Boc（化合物 17）：

將 Boc-(10)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(20)-Met（化合物 16，1.48 g，2.25 mmol）及 4 臂-PEG-COOH（化合物 3，9.0 g，0.9 mmol）於室溫加到無水 CH₂Cl₂（80 mL）的溶液中。將溶液冷卻至 0°C，然後加入 EDC（0.26 g，1.35 mmol）及 DMAP（0.27 g，2.25 mmol）。將混合物在氮氣下於 0°C 攪拌 1 小時。接著將其保持在室溫中隔夜。將反應混合物以 70 ml 的 CH₂Cl₂ 稀釋、以 30 ml 的 0.1 N HCl/1M NaCl 水溶液萃取。在有機層以 MgSO₄ 乾燥之後，將溶劑在減壓下蒸發。將殘留物溶解在 40 mL 的 CH₂Cl₂，並將粗產物以乙醚沈澱（300 mL）。將源於過濾中所得到的濕固體於 65°C 溶解在 270 mL 的 DMF/IPA 中。使溶液在 2-3 小時之內冷卻至室溫，並將產物沈澱。接著將固體過濾出，並以乙醚清洗（2 × 400 mL）。重複上述在 DMF/IPA 中的結晶步驟。將濕的濾餅在真空下以低於 40°C 乾燥隔夜，得到 7.0 g 的產物。¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃) δ: 169.8, 169.6, 166.5,

156.9, 151.2, 151.1, 149.9, 147.0, 146.6, 145.0, 131.7, 127.1, 126.8, 124.9, 119.7, 113.8, 95.5, 84.1, 70.1, 69.9, 66.9, 50.7, 49.2, 31.5, 31.2, 29.6, 27.6, 23.1, 15.3, 13.9, 7.5。

實施例 16：^{40k} 4 臂-PEG-Met-(20)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼) (化合物 18)：

將二甲基亞碲 (2.5 mL) 及 4 臂-PEG-Met-(20)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(10)-Boc (化合物 17, 6.0 g) 在室溫加到 30% TFA 於無水 CH₂Cl₂ (100 mL) 的溶液中。將混合物攪拌 3 小時，或直到原料的消失係藉由 HPLC 確認為止。將溶劑在真空下於 35°C 儘可能移除。將殘留物溶解在 50 mL 的 CH₂Cl₂，並將粗產物以乙醚 (350 mL) 沈澱，並且過濾。將濕的固體於 65°C 溶解在 DMF/IPA (60/300 mL) 的混合物中。使溶液在 2-3 小時之內冷卻至室溫，並將產物沈澱。接著將固體過濾出，並以乙醚 (2×200 mL) 清洗。將濕的濾餅在真空下以低於 40°C 乾燥隔夜，得到 5.1 g 的產物。¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃) δ: 169.7, 166.6, 157.0, 156.3, 148.4, 147.3, 145.0, 144.4, 142.9, 131.5, 128.3, 126.4, 122.5, 118.7, 105.2, 94.7, 78.1, 67.0, 50.7, 49.2, 31.6, 31.3, 29.7, 23.0, 15.3, 13.5, 7.5；7-乙基-10-羥喜樹鹼與 PEG 的比例：2.1% (重量)。

實施例 17：Boc-(10)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(20)-Sar-Boc (化合物 19)：

將 Boc-Sar-OH (432 mg, 2.287 mmol) 加到 Boc-(10)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼) (化合物 10, 750 mg, 1.52 mmol)

於 75 mL DCM 的溶液中，並且冷卻至 0°C。加入 DMAP(432 mg, 2.287 mmol) 及 EDC (837 mg, 0.686 mmol) ，並將反應混合物從 0°C 至室溫攪拌 1.5 小時。然後將反應混合物以 0.5% NaHCO₃ 清洗 (75 mL×2)、以水清洗 (75 mL×2)，並且最終以 0.1 N HCl 清洗 (75 mL×1)。將二氯甲烷層在 MgSO₄ 上乾燥，並將溶劑在真空下蒸發以及乾燥。產率 = 0.900 mg (89%)。結構係由 NMR 所確認。

實施例 18：7-乙基-10-羥喜樹鹼-(20)-Sar•TFA (化合物 20)：

將 Boc-(10)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(20)-Sar-Boc (化合物 19, 900 mg, 1.357 mmol) 加到 4 mL TFA 及 16 mL DCM 的溶液中，並且在室溫攪拌 1 小時。將反應混合物與甲苯於 30°C 蒸發。將殘留物溶解在 10 mL 的 CHCl₃，並且以乙醚沈澱。將產物過濾並且乾燥。得到 700 mg (1.055 mmol, 78%)。¹³C NMR (67.8 MHz, CDCl₃) δ 168.26, 167.07, 158.84, 158.71, 148.82, 147.94, 147.22, 146.34, 144.04, 131.18, 130.08, 128.97, 124.46, 119.78, 106.02, 97.23, 79.84, 79.34, 66.87, 50.84, 49.86, 31.81, 23.94, 15.47, 13.84, 8.08。

實施例 19：TBDMS-(10)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(20)-Sar•HCl (化合物 21)：

將 7-乙基-10-羥喜樹鹼-(20)-Sar•TFA (化合物 20, 2.17 g, 3.75 mmol, 1 eq.) 於無水 DMF (30 mL) 中的溶液，以 200 mL 的無水 DCM 稀釋。加入 Et₃N (2.4 mL, 17.40 mmol, 4.5 eq.)，然後再加入 TBDMSCl (2.04 g, 13.53 mmol, 3.5 eq.)。將反應混合物在室溫攪拌，直到 HPLC 顯示原

料消失為止（大約 1 小時）。將有機層以 0.5% NaHCO₃ 清洗兩次，以水清洗一次，並且以濃鹽水飽和的 0.1 N HCl 溶液清洗兩次；然後在 MgSO₄ 上乾燥。在過濾以及在真空下將溶劑蒸發之後，將所得到的油溶解在 DCM。加入乙醚得到固體，將該固體利用細或中的布氏漏斗而過濾（2.00 g，87% 產率）。固體的 HPLC 顯示 96% 的純度。¹H NMR 及 ¹³C NMR 確認了結構。¹H NMR (300 MHz, CD₃OD): δ 0.23 (6H, s), 0.96 (9H, s), 0.98 (3 H, t, J = 7.3 Hz), 1.30 (3 H, t, J = 7.6 Hz), 2.13-2.18 (2H, m), 2.67 (3H, s), 3.11 (2 H, q, J = 7.6 Hz), 4.10 (1H, d, J = 17.6 Hz), 4.22 (1H, d, J = 17.6 Hz), 5.23 (2 H, s), 5.40 (1 H, d, J = 16.7 Hz), 5.55 (1H, d, J = 16.7 Hz), 7.32 (1H, s), 7.38-7.43 (2H, m), 8.00 (1H, d, J = 9.1 Hz). ¹³C NMR (75.4 MHz, CD₃OD): δ -4.14, 8.01, 14.10, 19.30, 23.98, 26.16, 31.78, 33.52, 49.46, 50.95, 67.66, 79.80, 97.41, 111.96, 119.99, 127.75, 129.28, 129.67, 131.57, 145.24, 146.86, 147.16, 148.02, 150.34, 156.69, 158.72, 167.02, 168.27。

實施例 20：⁴⁰K 4 臂-PEG-Sar-(20)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(10)-TBDMS（化合物 22）：

將 TBDMS-(10)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-Sar•HCl（化合物 21，1.53 g，2.5 mmol，2.5 eq.）於 20 mL 無水 DMF 的溶液，加到 ⁴⁰K 4 臂-PEG-COOH（化合物 3，10 g，0.25 mmol，1 eq.）於 150 mL 無水 DCM 的溶液中，並將混合物冷卻至 0°C。將 EDC（767 mg，4 mmol，4 eq.）及 DMAP（367 mg，

3 mmol, 3 eq.) 加到這個溶液中，並使反應混合物緩慢回溫至室溫，並且在室溫中攪拌隔夜。接著，將反應混合物在真空下蒸發，並將殘留物溶解在最少量的 DCM 中。在加入乙醚之後形成固體，並且將固體在真空下過濾。將殘留物溶解在 30 mL 的無水 CH_3CN ，並且藉由加入 600 mL 的 IPA 而沈澱。將固體過濾出，並以 IPA 及乙醚清洗，得到產物 (9.5 g)。結構係由 NMR 所確認。

實施例 21： ^{40}K 4 臂-PEG-Sar-(20)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼) (化合物 23)：

方法 A： 將 ^{40}K 4 臂-PEG-Sar-(20)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(10) TBDMS (化合物 22) 溶解在 TFA 於 H_2O (200 mL) 的 50% 混合物中。將反應混合物在室溫攪拌 10 小時，然後以 100 mL 的 H_2O 稀釋，並以 DCM 萃取 (2×300 mL)。將結合的有機相以 H_2O 清洗 (2×100 mL)、在 MgSO_4 上乾燥、過濾並且在真空下蒸發。將殘留物溶解在 100 mL 的無水 DMF，以加熱槍溫和地加熱，並且藉由緩慢加入 400 mL 的 DMF 而沈澱。將固體過濾出，並以 20% DMF 於 IPA 及乙醚清洗。將固體溶解在 DCM，並以乙醚沈澱 (6.8 g)。結構係由 NMR 確認。

方法 B： 將 ^{40}K 4 臂-PEG-Sar-(20)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)-(10)-TBDMS (1 g) 溶解在 10 mL 的 1N HCl 溶液中。將反應混合物在室溫攪拌 1 小時 (由 HPLC 檢測)，然後以 DCM 萃取 (2×40 mL)。將有機層在 MgSO_4 上乾燥、過濾並且在真空下蒸發。將所得到的亮黃色殘留物溶解在

10 mL 的 DMF（以加熱槍稍微加熱），然後加入 40 mL 的 IPA。將所得到的固體過濾出，並且在真空烘箱中以 40℃ 乾燥隔夜。結構係由 NMR 所確認。

生物學數據

實施例 22：毒性數據

4-臂 PEG 共軛的 7-乙基-10-羥喜樹鹼之最大耐受劑量（MTD）是利用裸鼠而研究。對於死亡及疾病的徵候監測小鼠 14 天，並且當體重喪失 > 20% 治療前的體重時將小鼠犧牲。

表 1 顯示每個化合物對於單劑及多劑投予之最大耐受劑量。對於多劑投予，每個劑是每隔一天給予小鼠共 10 天，並且觀察小鼠另外 4 天，因此總共是 14 天。

表 1：在裸鼠中的 MTD 數據

化合物	劑量水平 (mg/kg)	存活/總數	評論
化合物 9 單劑	25	5/5	
	30	5/5	
	35	4/5	使小鼠安樂死因為 >20% 的體重喪失
化合物 9 多劑*	10	5/5	
	15	3/5	使小鼠安樂死因為 >20% 的體重喪失
	20	0/5	使小鼠安樂死因為 >20% 的體重喪失

當以單劑給予時，對於 4 臂-PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)（化合物 9）發現到 MTD 是 30 mg/kg，以及當以多劑給予時，發現到 MTD 是 10 mg/kg（q2dx5）。

實施例 23：試管內的數據

在表 2 中，細胞毒性(可導致 IC_{50} 的每個化合物的 mM)提供每個化合物的試管內抗腫瘤效價之指標。這個研究是用於測定 4-臂聚乙二醇化的 7-乙基-10-羥喜樹鹼共軛物的聚乙二醇化作用之效果。PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)、7-乙基-10-羥喜樹鹼及 CPT-11 的試管內細胞毒性，是利用 MTS 分析而測定。將細胞於 37°C 以藥物培養 72 小時。在培養之後，加入 MTS 染劑，以及有色產物（甲脯(formazan)）的形成是在 490 nm 測量。

4-臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)及 CPT-11 的 IC_{50} 值顯示在所有測試的腫瘤細胞中，4-臂-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)比 CPT-11 具有更高的試管內抑制。此外，4-臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)也比天然的 7-乙基-10-羥喜樹鹼具有明顯更高的試管內抑制測試的腫瘤細胞，除了 HT29 腫瘤細胞之外。

PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)共軛物是比 Camptosar®更有效大約 10 至 600 倍。在 COLO 205、HT-29 及 OVCAR-3 細胞系中，PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)共軛物是比 Pegamotecan（一種喜樹鹼的聚乙二醇化前藥）更靈敏 8 至 16 倍。

表 2：IC₅₀ (μM) 數據

腫瘤類型	細胞系	7-乙基-10-羥喜樹鹼	化合物 9	CPT-11
結腸直腸	Colo 205	0.2 ± 0.2	1.0 ± 0.6	11 ± 1.4
	HT29	0.1 ± 0.04	0.5 ± 0.3	27 ± 8.6
肺臟	A549	1.0 ± 0.1	2.7 ± 0.4	67 ± 17
胰臟	PANC-1	0.56 ± 0.38	0.67 ± 0.14	34 ± 16
	MIA PaCa-2	0.18	0.09	67 ± 46
	ASPC-1	0.64 ± 0.13	1.6 ± 1.1	33 ± 1.0
	BxPC-3	0.54 ± 0.58	0.24 ± 0.04	44 ± 44
卵巢	OVCAR-3	0.1 ± 0.02	0.3 ± 0.2	20 ± 7.1
	OV90	0.1 ± 0.02	0.6 ± 0.7	18 ± 4.8
	OVCAR-8	0.03 ± 0.01	0.5 ± 0.1	9.0 ± 1.3
	A2780	0.02 ± 0.01	0.2 ± 0.2	8.0 ± 3.5
	SK-OV-3	0.2 ± 0.1	0.9 ± 0.01	52 ± 8.5

4 臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼) (化合物 9) 的 IC₅₀ 是以 7-乙基-10-羥喜樹鹼的當量方面而表示。

所示的數值是平均值±SD (n=3)；當沒有顯示 SD 時，所示的數值是二重複的平均值。

包含各種胺基酸的 PEG-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)共軛物對表 3 所摘述的一些癌細胞系具有有效的試管內細胞毒性。所有的 PEG-7-乙基-10-羥喜樹鹼共軛物都顯示有效的試管內抗腫瘤活性，其超過小分子前藥 CPT-11 及 Pegamotecan 的活性。

表 3：各種 PEG-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)共軛物的 IC₅₀ (μM) 數值

化合物	結腸直腸		卵巢	肺臟
	Colo 205	HT29	OVCAR-3	A549
化合物 12 (Ala)	0.03	0.16	0.14	4.4
化合物 23 (Sar)	0.04	0.27	0.17	11
化合物 18 (Met)	0.03	0.14	0.13	1.6
7-乙基-10-羥喜樹鹼	0.08	0.08	ND	ND
CPT-11	20	56	41	13

實施例 24：活體內數據-在乳房腫瘤異種移植小鼠中的單劑功效

4-臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)共軛物 (化合物 9) 對生長在裸鼠中的皮下人類乳腺癌 (MX-1) 之功效，是以下述方式測定。在環境適應至少一週之後，將腫瘤藉由將來自供體小鼠的小腫瘤片段移植到裸鼠左副脅區域上的單一皮下位置而建立。每週兩次觀察腫瘤移植位置，並且觸診測量一次。每隻小鼠的腫瘤體積是藉由以卡鉗測量二維而測定，並且利用計算公式：腫瘤體積 = (長度 × 寬度²) 而計算。當腫瘤達到約 100 mm³ 的平均體積時，將小鼠分開至它們的實驗組，其係由未處理的對照組、根據此處實施例 7 所製得的 4-臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)、如 Conover 等人 (*Anti-Cancer Drug Design*, 1999, 14: 499-506) 之說明所製備的 PEG-Ala-CPT (其內文以引用方式納入本文中) 以及 CPT-11 所組成。藥物是經由尾靜脈以 20 mg/kg 小鼠體重的單劑而靜脈投予。共軛物的劑量是指等同於 7-乙基-10-羥喜樹鹼的量。小鼠的重量及腫瘤大小是在研究一開始以及單劑投予後的第 31 天測量。

表 4 顯示在 20 mg/kg 小鼠體重的單劑靜脈注射後第 31 天，在 MX-1 乳房腫瘤細胞異種移植的小鼠中測量的腫瘤減小。腫瘤的整體生長是以平均腫瘤體積 (TV) 計算。同時也計算治療組與對照組 (T/C) 的百分比。腫瘤退化的百分比代表每個化合物的活體內活性。4-臂 PEG-GLY-7-乙基-10-羥喜樹鹼共軛物顯示明顯的抗-腫瘤活性，其具有 100

％的小鼠存活率以及 100％的治癒。CPT-11 以及鹽溶液對照組都顯示 0％存活率的無保護作用。所有的數據都摘述於表 4。

表 4：在 MX-1 乳房腫瘤異種移植小鼠模式中的單劑功效比較

化合物	平均 TV±SD (mm³)	中數 TV (mm³)	F/I (%)	TV±SD 的變化 (%)	TGI (%)	退化 (%)	治癒 (%)	存活率 (%)	T/C (%)
對照組	1136 ± 686	785	1259	1399 ± 658	0	0	0	0	---
化合物 9	7 ± 9	3	7	-94 ± 10	99	100	100	100	0.3
PEG-Ala-CPT	43 ± 41	40	42	-40 ± 93	96	50	33	100	5
CPT-11	845 ± 50	845	843	1424 ± 432	26	0	0	0	108

結果顯示 4-臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)是比 PEG-Ala-CPT 或 CPT-11 更明顯有效於治療乳癌。

在乳房 MX-1 腫瘤模式中，以 4 臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)的治療導致幾乎 100％的腫瘤生長抑制，以及所有動物的完全治癒。在等同的劑量水平時，以 CPT-11 的治療則產生 26％的腫瘤生長抑制。

實施例 25：活體內數據-在乳房腫瘤異種移植小鼠中的多劑功效

這個實施例測定一系列 4-臂 PEG-胺基酸(衍生物)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)共軛物對生長在裸鼠中的人類乳腺癌 (MX-1) 之功效。將小鼠分成數個組別，每個接受 4 臂-PEG-Ala-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)、4 臂-PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)、4 臂-PEG-Met-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)、4 臂-

PEG-Sar-(7-乙基-10-羥喜樹鹼) (每個都是如此處的說明而製得)、CPT-11 或鹽溶液對照組。將小鼠給藥 5 mg/kg/天，連續 6 天 (每 2 天 [q×2d]×6)。小鼠的重量及腫瘤大小係監測至第一劑投予以及後續投予之後的第 31 天。

表 5 顯示在 5 mg/kg/劑的靜脈注射六天 (q2d×6) 之後的第 31 天，在 MX-1 乳房腫瘤細胞異種移植的小鼠中測量的腫瘤減小。所有的 4-臂 PEG-胺基酸(衍生物)-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)共軛物都顯示明顯的抗腫瘤活性，其具有 100% 的小鼠存活率以及 100% 的復原。CPT-11 及鹽溶液對照組都顯示 0% 存活率的無保護作用。所有的數據都摘述於表 5。

表 5：在 MX-1 乳房腫瘤異種移植小鼠模式中的多劑功效比較

化合物	平均 TV±SD (mm ³)	中數 TV (mm ³)	F/I (%)	TV±SD 的變化 (%)	TGI (%)	退化 (%)	治癒 (%)	存活率 (%)	T/C (%)
對照組	1136 ± 686	785	1259	1399 ± 658	0	0	0	0	---
化合物 12 (Ala)	10 ± 11	9.6	10	-91 ± 11	99	100	67	100	1.2
化合物 9 (Gly)	12 ± 18	6.6	14	-91 ± 10	99	100	100	100	0.8
化合物 18 (Met)	8 ± 9	5.6	7.8	-94 ± 7	99	100	100	100	0.7
化合物 23 (Sar)	12 ± 10	14.6	13	-87 ± 12	99	100	100	100	1.9
CPT-11	632 ± 698	340	594	423 ± 243	44	0	0	0	43

數據顯示 7-乙基-10-羥喜樹鹼的 4-臂 PEG-胺基酸衍生物是比 CPT-11 更明顯有效於治療乳癌。

實施例 26：在小及大乳房腫瘤異種移植小鼠中的活體內功效

4 臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)的抗腫瘤功效是在帶有小的 (約 100 mm³) 或大的 (約 450 mm³) 已建立之人類乳腺腫瘤 MX-1 的裸鼠中評估。抗腫瘤的治療活性是在小鼠中同時以單劑或多劑攝生法而測定。在具有小乳房腫瘤異種移植的小鼠中，以單劑的 4 臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼) (20 mg/kg) 之治療導致 100% 的 TGI。以多劑的 4 臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼) (20 mg/kg q2d×5) 之治療也導致 100% 的 TGI。單劑 (20 mg/kg) 投予 CPT-11 並不能抑制腫瘤生長，以及多劑的 CPT-11 (20 mg/kg q2d×5) 在第 31 天時導致 44% 的 TGI。

在帶有大乳房腫瘤的小鼠中，以單一 MTD 的 4 臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼) (30 mg/kg) 之治療導致 96% 的 TGI。在第 54 天時六隻小鼠中的四隻被治癒。以單一 MTD 的 CPT-11 (80 mg/kg) 之治療在第 13 天導致 70% 的 TGI。使所有的動物在第 20 天犧牲，因為過量的腫瘤負擔所致。在其 MTD 以多劑的 4 臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼) (10 mg/kg q2d×5) 之治療也導致 96% 的 TGI，以及第 54 天時六隻小鼠中的五隻被治癒。當在其 MTD 以多劑給予時 (40 mg/kg q2d×5)，CPT-11 在第 13 天時導致約 95% 的 TGI。然而，腫瘤卻在約 5 週之後在六隻小鼠中

的四隻中再次生長。當以如 4 臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)的等同劑量水平給予時 (10 mg/kg q2dx5)，CPT-11 具有有效的 TGI 直到治療中斷為止，其後腫瘤再次生長。結果是列於第 6A 及 6C 圖。抗腫瘤效果並非歸因於一般的毒性作用，因為當在 MTD 給予時，以 4 臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)或 CPT-11 之治療，在治療期間並沒有明顯減少動物的體重，如同第 6B 及 6D 圖所示。

在以單劑或多劑注射的 MX-1 乳房腫瘤模式中，4 臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)在小 (100 mm³) 及大 (450 mm³) 體積已建立的腫瘤中有效抑制腫瘤生長。在 MX-1 乳房腫瘤異種移植的小鼠中，大小從約 75 mm³ 至約 450 mm³ 的腫瘤是成功地被治療。

實施例 27：活體內數據-在結腸直腸腫瘤異種移植小鼠中的單劑功效

在這個實施例中，腫瘤減小是在以 HT-29 結腸直腸腫瘤細胞異種移植的小鼠中，在單劑靜脈注射 30 mg/kg 的 4-臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)或 CPT-11 之後的第 4、8、11、15、18 及 22 天而測量。CPT 11 也給藥 80 mg/kg。結果是列於第 7 圖。4-臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)共軛物顯示明顯的抗腫瘤活性。鹽溶液對照組顯示 0% 存活率的無保護作用。結果顯示 4-臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)是比 CPT-11 明顯有效於治療結腸直腸癌。

實施例 28：活體內數據-在結腸直腸腫瘤異種移植小鼠中的多劑功效

腫瘤減小是在以 HT-29 結腸直腸腫瘤細胞異種移植的小鼠中，在靜脈注射 10 mg/kg/劑的 4-臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)或 CPT-11 共 5 天之後的第 4、8、11、15、18 及 22 天而測量。CPT 11 也給藥 40 mg/kg/劑共 5 天。結果是列於第 8 圖。相似的結果在多劑投予中獲得。此外，4-臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)的多劑投予也顯示比 CPT-11 明顯的治療功效。結果顯示多劑的 4-臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)是比 CPT-11 更明顯有效於治療結腸直腸癌。如同在 MX-1 腫瘤異種移植的小鼠中所觀察到的，以 4 臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)或 CPT-11 之治療，在治療期間並沒有明顯減少小鼠的體重。

實施例 29：活體內數據-在胰臟腫瘤異種移植小鼠中的單劑功效

在這個實施例中，腫瘤減小是在以 MiaPaCa-2 胰臟腫瘤細胞異種移植的小鼠中，在單劑靜脈注射 30 mg/kg 的 4-臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)或 CPT-11 之後的第 4、8、11、15、18 及 22 天而測量。CPT 11 也給藥 80 mg/kg。結果是列於第 9 圖。4-臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)共軛物顯示明顯的抗腫瘤活性。鹽溶液對照組及 CPT-11 顯示無保護作用。結果顯示 4-臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)是比 CPT-11 明顯有效於治療胰臟癌。以單劑的 4 臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)之治療導致 71% 的 TGI，而單劑注射 CPT-11 的治療則導致 0% 的 TGI。

實施例 30：活體內數據-在胰臟腫瘤異種移植小鼠中

的多劑功效

腫瘤減小是在以 MiaPaCa-2 胰臟腫瘤細胞異種移植的小鼠中，在靜脈注射 10 mg/kg/劑的 4-臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)或 CPT-11 共 5 天之後的第 4、8、11、15、18 及 22 天而測量。CPT 11 也給藥 40 mg/kg/劑共 5 天。結果是列於第 10 圖。4-臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)的多劑投予顯示比 CPT-11 明顯的治療功效。結果顯示多劑的 4-臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)是比 CPT-11 更有效於治療胰臟癌。以多劑的 4 臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)之治療導致 95% 的 TGI，而 CPT-11 則導致 34% 的 TGI。

實施例 31：試管內的代謝

PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)共軛物的試管內代謝是在大鼠肝細胞中觀察。將 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)與大鼠肝細胞在 pH 7.5、37°C 培養 2 小時。如第 11 圖所示，7-乙基-10-羥喜樹鹼及 7-乙基-10-羥喜樹鹼-葡萄糖苷酸（7-乙基-10-羥喜樹鹼-G）是被鑑定出的主要代謝物，其與 7-乙基-10-羥喜樹鹼在活體內的已知代謝途徑一致。

實施例 32：PEG 共軛物的性質

表 6 顯示四種不同 PEG-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)共軛物在水溶性鹽溶液中的溶解度。所有的 4-臂 PEG-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)共軛物都顯示達 4 mg/mL 7-乙基-10-羥喜樹鹼的當量之優異溶解度。在人類血漿中，7-乙基-10-羥喜樹鹼是從 PEG 共軛物中以 22 至 52 分鐘的倍增時間而穩定釋放，以及釋放似乎是 pH 及濃度依賴性的，如同在以下實

施例 33 中之說明。

表 6：PEG-7-乙基-10-羥喜樹鹼共軛物的性質

化合物	在鹽溶液中的溶解度 (mg/mL) ^a	在人類血漿中的 $t_{1/2}$ (min) ^b	在血漿中的倍增時間 (min) ^c		
			人類	小鼠	大鼠
化合物 9 (Gly)	180	12.3	31.4	49.5	570
化合物 12 (Ala)	121	12.5	51.9	45.8	753
化合物 23 (Sar)	ND	19.0	28.8	43.4	481
化合物 18 (Met)	142	26.8	22.2	41.9	1920

^a 7-乙基-10-羥喜樹鹼是不溶於鹽溶液中。

^b PEG 共軛物半生期。

^c 7-乙基-10-羥喜樹鹼從共軛物中的形成速率。

在室溫時，PEG-7-乙基-10-羥喜樹鹼共軛物在鹽溶液及其他水溶性媒介中顯示優異的穩定性達 24 小時。

實施例 33：濃度及 pH 對於穩定性的影響

根據我們先前的成果，在 20-OH 位置處的醯化可以活性封閉的形式保護內酯環。在大鼠及人類血漿中的水溶性穩定性及水解性質，是利用 UV 為基礎的 HPLC 方法而監測。將 4 臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)共軛物與每個樣品在室溫培養 5 分鐘。

PEG-7-乙基-10-羥喜樹鹼共軛物在緩衝溶液中的穩定性是 pH 依賴性的。第 12 圖顯示 4 臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)在各種樣品中的穩定性。第 13 圖顯示 7-乙基-10-羥喜樹鹼從 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)釋放的速率是隨著 pH 的增加而增加。

實施例 34：藥物動力學

以單一注射 20 mg/kg 的 4 臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)共軛物注射無腫瘤的 Balb/C 小鼠。在各個時間點，使老鼠犧牲，並且藉由 HPLC 分析血漿的完整共軛物以及釋放的 7-乙基-10-羥喜樹鹼。藥物動力學分析是利用無分隔分析 (Non-Compartmental Analysis, WinNonlin) 而完成。細節列於表 7。

表 7：藥物動力學數據

參數	化合物 9	從化合物 9 釋放的 7-乙基-10-羥喜樹鹼
AUC (h*µg/mL)	124,000	98.3
終端 $t_{1/2}$ (Hr)	19.3	14.2
C_{max} (µg/mL)	20,500	13.2
CL (mL/hr/kg)	5.3	202
V _{ss} (mL/kg)	131	3094

如第 14 圖所示，7-乙基-10-羥喜樹鹼的聚乙二醇化使天然藥物 7-乙基-10-羥喜樹鹼有長的循環半生期以及高度暴露。4 臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)共軛物的腸肝循環也被觀察。PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)在小鼠中的藥物動力學紀錄是雙相的，顯示在一開始 2 小時期間的快速血漿分佈期，然後是 18-22 小時對於共軛物的終端排除半生期以及伴隨的 18-26 小時對於 7-乙基-10-羥喜樹鹼的終端消除半生期。

此外，4 臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)的藥物動力學曲線也在大鼠中研究。在大鼠中，係使用 3、10 及 30 mg/kg (7-乙基-10-羥喜樹鹼當量) 的劑量水平。在大鼠中的藥物動力學曲線是與小鼠的藥物動力學紀錄一致。

在大鼠中，4 臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)顯示從循環中的雙相清除，而在大鼠中具有 12-18 小時的排除半生期。從 4 臂 PEG-Gly-7-乙基-10-羥喜樹鹼共軛物中釋放的 7-乙基-10-羥喜樹鹼具有 21-22 小時顯著排除半生期。最大血漿濃度 (C_{max}) 以及曲線下的面積 (AUC) 在大鼠中是以劑量依賴性的方式增加。在小鼠或大鼠中從 4 臂 PEG-Gly 共軛物中釋放的 7-乙基-10-羥喜樹鹼之顯著半生期，是比從 CPT-11 中釋放的 7-乙基-10-羥喜樹鹼之報導的顯著半生期明顯更長，以及從 4 臂 PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)釋放的 7-乙基-10-羥喜樹鹼之暴露，是比從 CPT-11 中釋放的 7-乙基-10-羥喜樹鹼之報導的暴露明顯更高。母體化合物在大鼠中的清除是 0.35 mL/hr/kg。母體化合物在穩定態之估計的分佈體積 (V_{ss}) 是 5.49 mL/kg。在大鼠中釋放的 7-乙基-10-羥喜樹鹼之清除是 131 mL/hr/kg。在大鼠中釋放的 7-乙基-10-羥喜樹鹼之估計的 V_{ss} 是 2384 mL/kg。釋放的 7-乙基-10-羥喜樹鹼之腸肝循環是在小鼠及大鼠中觀察到。

【圖式簡單說明】

第 1 圖概要地說明製備 4 臂聚乙二醇酸的反應方案。

第 2 圖概要地說明製備在實施例 3-7 中所說明的 4 臂-PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)之反應方案。

第 3 圖概要地說明製備在實施例 8-12 中所說明的 4 臂-PEG-Ala-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)之反應方案。

第 4 圖概要地說明製備在實施例 13-16 中所說明的 4

臂-PEG-Met-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)之反應方案。

第 5 圖概要地說明製備在實施例 17-21 中所說明的 4 臂-PEG-Sar-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)之反應方案。

第 6 圖顯示在實施例 26 所說明的大 MX-1 乳房腫瘤異種移植小鼠中的單一劑及多劑功效。

第 7 圖顯示在實施例 27 所說明的 HT-29 結腸直腸腫瘤異種移植小鼠中的單一劑功效。

第 8 圖顯示在實施例 28 所說明的 HT-29 結腸直腸腫瘤異種移植小鼠中的多劑功效。

第 9 圖顯示在實施例 29 所說明的 MiaPaCa-2 胰臟腫瘤異種移植小鼠中的單一劑功效。

第 10 圖顯示在實施例 30 所說明的 MiaPaCa-2 胰臟腫瘤異種移植小鼠中的多劑功效。

第 11 圖顯示如實施例 31 中所說明的 4 臂-PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)之試管內代謝。

第 12 圖顯示如實施例 33 中所說明的 4 臂-PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)之穩定性。

第 13 圖顯示 pH 對於如實施例 33 中所說明的 4 臂-PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)之穩定性的影響。

第 14 圖顯示如實施例 34 中所說明的 4 臂-PEG-Gly-(7-乙基-10-羥喜樹鹼)之藥物動力曲線。

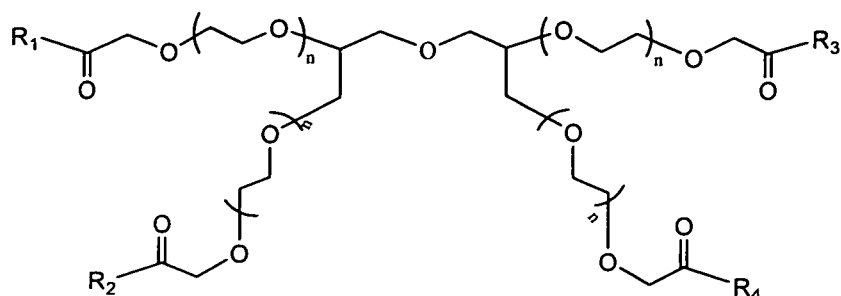
【主要元件符號說明】

(無)

十、申請專利範圍：

102 年 5 月 31 日修正

1. 一種式 (I) 化合物：



其中

 R_1 、 R_2 、 R_3 及 R_4 獨立地是 OH 或 $(L)_m-D$ ；

L 是雙功能性的連接子，其係選自由胺基酸或胺基酸衍生物之殘基、

$$-[C(O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23}O)_t-$$

$$-[C(O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23}O)_t(CR_{24}R_{25})_yO-$$

$$-[C(O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23}O)_t(CR_{24}R_{25})_y-$$

$$-[C(O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23})_tO-$$

$$-[C(O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23})_t(CR_{24}CR_{25}O)_yNR_{26}-$$

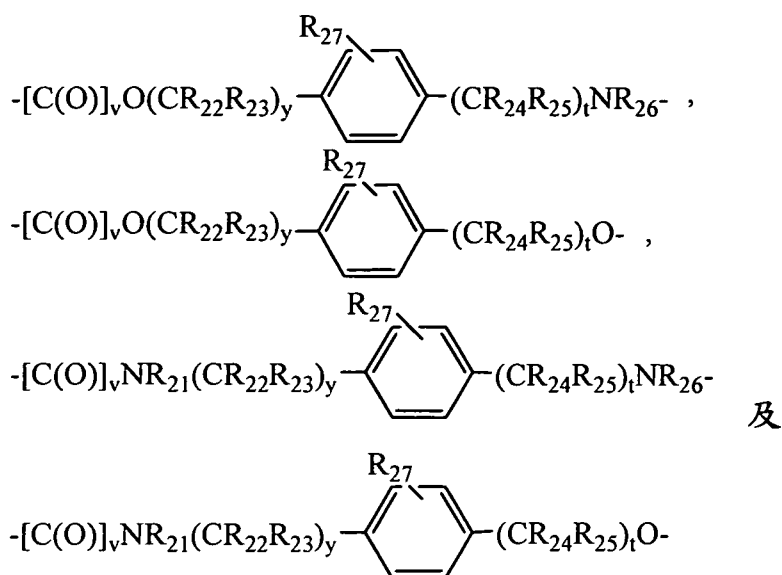
$$-[C(O)]_vO(CR_{22}R_{23})_tNR_{26}-$$

$$-[C(O)]_vO(CR_{22}R_{23})_tO-$$

$$-[C(O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23})_tNR_{26}-$$

$$-[C(O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23})_t(CR_{24}CR_{25}O)_y-$$

$$-[C(O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23}O)_t(CR_{24}CR_{25})_yNR_{26}-$$



所組成之群；

其中：

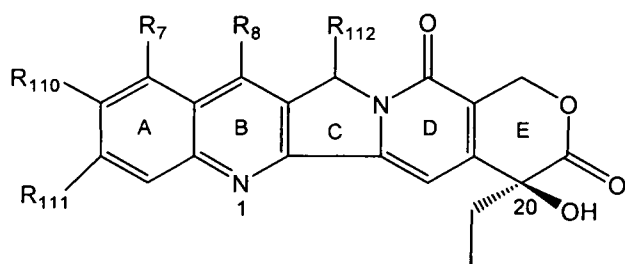
該胺基酸衍生物係選自由 2-胺基己二酸、3-胺基己二酸、 β -丙胺酸、 β -胺基丙酸、2-胺基丁酸、4-胺基丁酸、哌啶酸、6-胺基己酸、2-胺基庚酸、2-胺基異丁酸、3-胺基異丁酸、2-胺基庚二酸、2,4-二胺基丁酸、鎖鏈離胺素（desmosine）、2,2-二胺基庚二酸、2,3-二胺基丙酸、N-乙基甘胺酸、N-乙基天冬醯胺酸、3-羥基脯胺酸、4-羥基脯胺酸、異鎖鏈離胺素（isodesmosine）、別-異白胺酸、N-甲基甘胺酸、肌胺酸、N-甲基異白胺酸、 γ -N-甲基離胺酸、N-甲基纈胺酸、正纈胺酸、正白胺酸及鳥胺酸所組成之群；

R_{21} - R_{26} 是獨立地選自由氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-19} 分支的烷基、 C_{3-8} 環烷基、 C_{1-6} 經取代的烷基、 C_{2-6} 經取代的烯基、 C_{2-6} 經取代的炔基、 C_{3-8} 經取代的環烷基、芳基、經取代的芳基、芳烷基、 C_{1-6} 雜烷基、經取代的 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、苯氧基以及 C_{1-6} 雜烷氧基所組成的之群；

R_{27} 是選自由氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-19} 分支的烷基、 C_{3-8} 環烷基、 C_{1-6} 經取代的烷基、 C_{2-6} 經取代的烯基、 C_{2-6} 經取代的炔基、 C_{3-8} 經取代的環烷基、芳基、經取代的芳基、芳烷基、 C_{1-6} 雜烷基、經取代的 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、苯氧基、 C_{1-6} 雜烷氧基、 NO_2 、鹵烷基以及鹵素所組成之群；

t 及 y 各自獨立地是選自從 1 到 4 之的正整數；以及
 v 是 0 或 1；

D 是喜樹鹼或式 (II) 化合物的殘基



其中

R_7 是選自由 NO_2 、 NH_2 、 N_3 、氫、鹵素、 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、 $N(C_{1-3} \text{ 烷基})_2$ 、 $CH_2N(C_{1-3} \text{ 烷基})_2$ 、

$O-$ 、 $NH-$ 及 $S-CH_2CH_2N(CH_2CH_2OH)_2$ 、

$O-$ 、 $NH-$ 及 $S-CH_2CH_2CH_2N(CH_2CH_2OH)_2$ 、

$O-$ 、 $NH-$ 及 $S-CH_2CH_2N(CH_2CH_2CH_2OH)_2$ 、

$O-$ 、 $NH-$ 及 $S-CH_2CH_2CH_2N(CH_2CH_2CH_2OH)_2$ 、

$O-$ 、 $NH-$ 及 $S-CH_2CH_2N(C_{1-3} \text{ 烷基})_2$ 、

$O-$ 、 $NH-$ 及 $S-CH_2CH_2CH_2N(C_{1-3} \text{ 烷基})_2$ 、 CHO 以及 C_{1-3} 烷基

所組成之群；以及

R_8 是選自由 H、 C_{1-8} 烷基以及 $CH_2NR_9R_{10}$ 所組成之群；

其中

R_9 是選自由氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 環烷基、 C_{3-7} 環烷基- C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、羥基- C_{1-6} 烷基、以及 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-6} 烷基所組成之群；

R_{10} 是選自由氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 環烷基、 C_{3-7} 環烷基- C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、羥基- C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-6} 烷基、以及 COR_{11} 所組成之群；

其中 R_{11} 是選自由氫、 C_{1-6} 烷基、過鹵- C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 環烷基、 C_{3-7} 環烷基- C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、羥基- C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、以及 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-6} 烷基所組成之群；或

R_9 、 R_{10} 、及 B 環的氮形成飽和的 3-7 員雜環，其包含 O、S 或 NR_{12} ；

其中 R_{12} 是選自由氫、 C_{1-6} 烷基、過鹵- C_{1-6} 烷基、芳基、經選自由 C_{1-6} 烷基、鹵素、硝基、胺基、 C_{1-6} 烷胺基、過鹵- C_{1-6} 烷基、羥基- C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-6} 烷基以及 COR_{13} 所組成之群之一個或多個基團取代的芳基所組成之群，其中 R_{13} 是選自由氫、 C_{1-6} 烷基、過鹵- C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、芳基、及以一個或多個 C_{1-6} 烷基、過鹵- C_{1-6} 烷基、羥基- C_{1-6} 烷基、以及 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-6} 烷基取代的芳基所組成之群；

R_{110} - R_{111} 各自獨立地是選自由氫、鹵素、鹼基、烷基、經取代的烷基、烷氧基、經取代的烷氧基、烯基、炔基、

環烷基、羥基、氰基、硝基、疊氮基、醯胺基、肼、胺基、經取代的胺基、羥羰基、烷氧羰基、烷羰氧基、烷羰胺基、氨基甲醯氧基、芳磺醯氧基、烷磺醯氧基、 $-C(R_{117})=N-(O)_j-R_{118}$ ，其中 R_{117} 是 H、烷基、烯基、環烷基、或芳基， j 是 0 或 1，以及 R_{118} 是 H、烷基、烯基、環烷基、或雜環、 $R_{119}C(O)O-$ ，其中 R_{119} 是鹵素、胺基、經取代的胺基、雜環、經取代的雜環、以及 $R_{120}-O-(CH_2)_k-$ ，其中 k 是 1-10 的整數以及 R_{120} 是烷基、苯基、經取代的苯基、環烷基、經取代的環烷基、雜環或經取代的雜環所組成之群；或

R_7 與 R_{110} 或 R_{110} 與 R_{111} 一起形成經取代或未經取代的亞甲二氧基、伸乙二氧基或乙烯氧基；以及

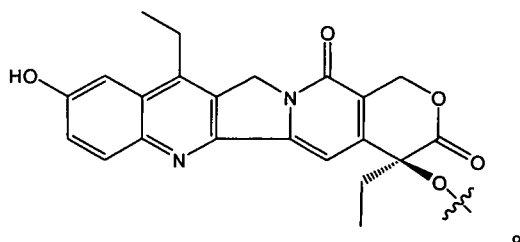
R_{112} 是 H 或 OR' ，其中 R' 是烷基、烯基、環烷基、鹵烷基、或羥烷基；

m 是從 1 至 10 之正整數；以及

n 是從 28 至 341 之正整數；

限制條件為 R_1 、 R_2 、 R_3 及 R_4 不全是 OH。

2. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中該式 (II) 化合物的殘基是



3. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 L 是甘胺酸、丙胺酸、甲硫胺酸或肌胺酸的殘基。

4. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 L 是甘胺酸的殘基。

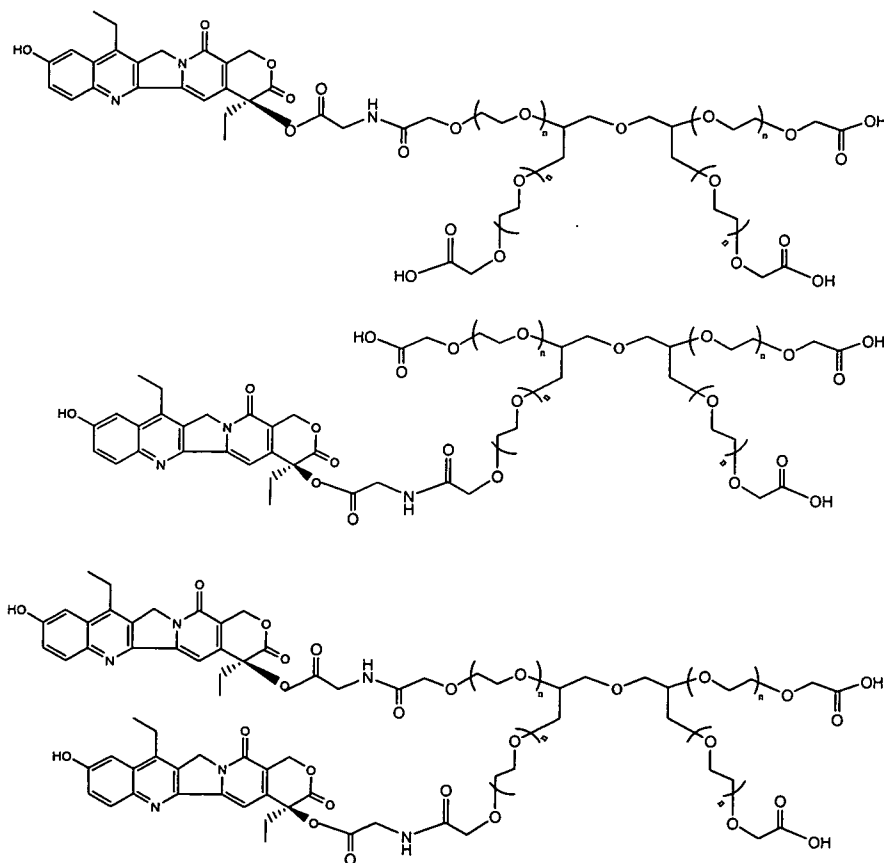
5. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 m 是 1。

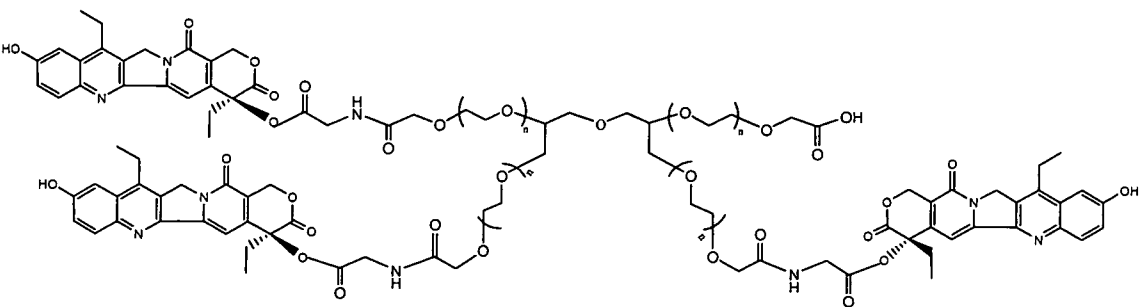
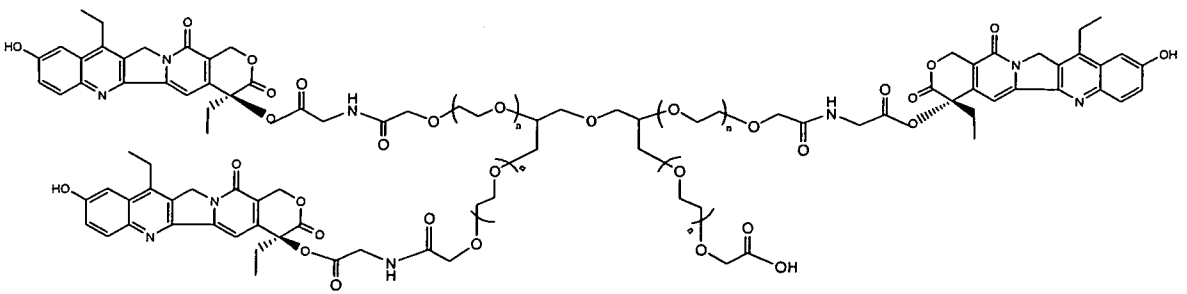
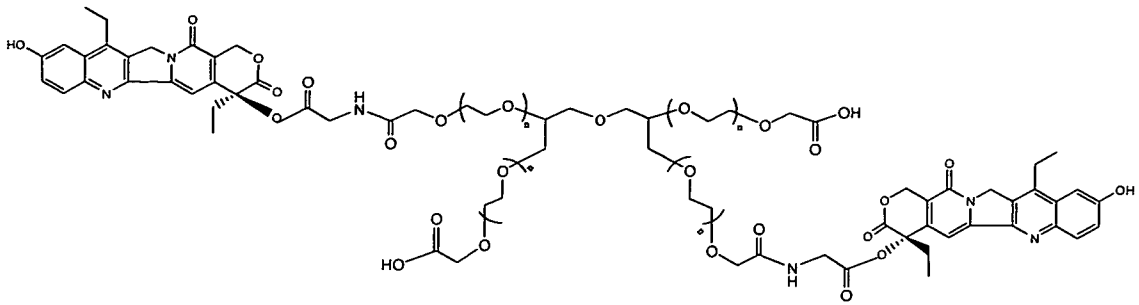
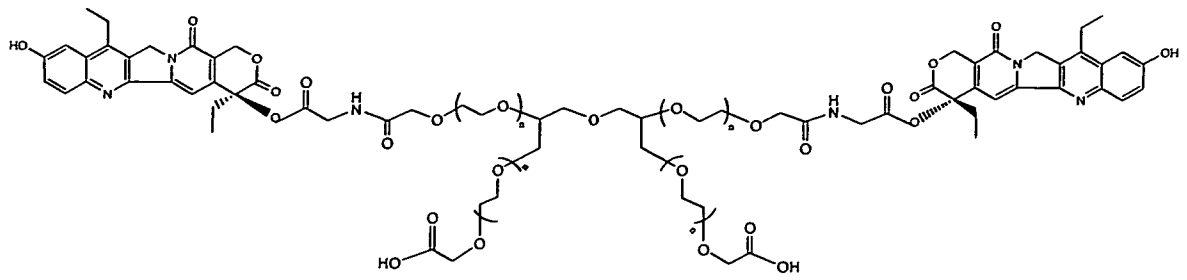
6. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 n 是從 114 到 227 以使化合物之聚合性部分之總分子量範圍在從 20,000 至 40,000 道耳頓之間。

7. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 n 是 227 以使化合物之聚合性部分之總分子量係 40,000 道耳頓。

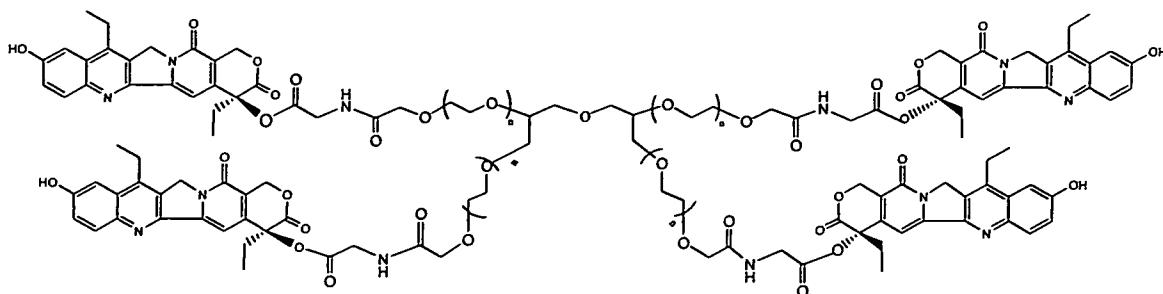
8. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 R_1 、 R_2 、 R_3 與 R_4 是 $(L)_m-D$ 。

9. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，係選自由以下所組成之群：

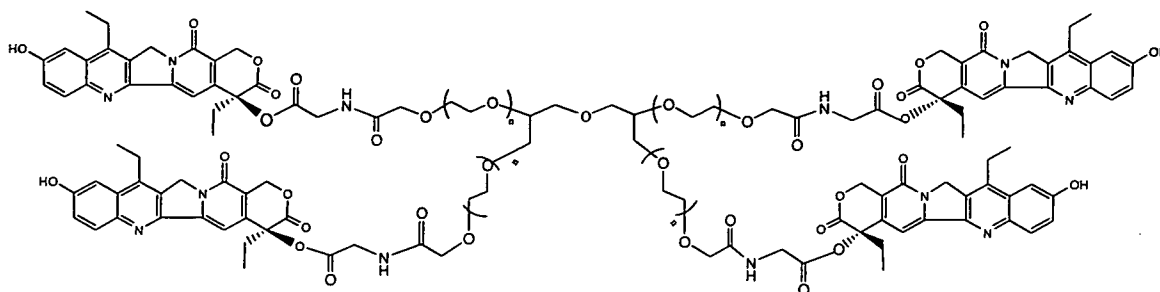




以及



10. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其具有式



11. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其用作為醫藥品。

12. 如申請專利範圍第 11 項之化合物，其中 D 是 7-乙基-10-羥喜樹鹼的殘基。

13. 一種有效量的如申請專利範圍第 1 項之化合物之用途，其用於製備供治療癌症之用的醫藥品。

14. 如申請專利範圍第 13 項之用途，其中該癌症係選自由固態腫瘤、淋巴瘤、肺癌、急性淋巴細胞白血病(ALL)、乳癌、結腸直腸癌、胰臟癌、神經膠母細胞瘤、卵巢癌以及胃癌所組成的群。

15. 如申請專利範圍第 13 項之用途，其中該癌症係小細胞肺癌。

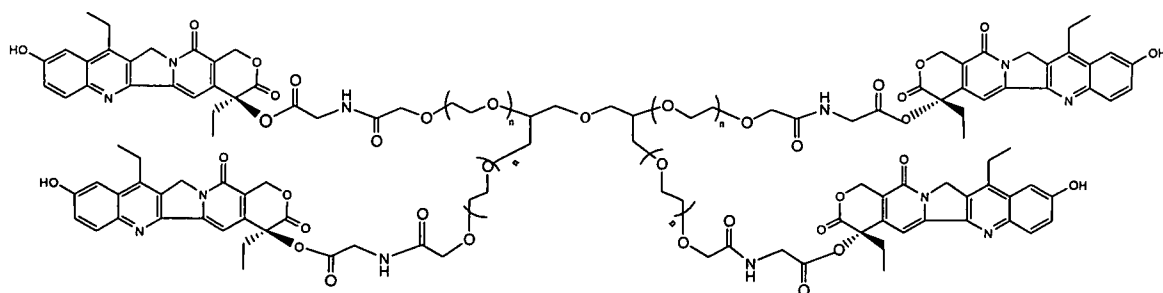
16. 如申請專利範圍第 13 項之用途，其中該癌症係轉

移性的。

17. 如申請專利範圍第 13 項之用途，其中 D 係 7-乙基-10-羥喜樹鹼之殘基且該化合物是以從約 1mg/kg/週至約 100mg/kg/週的量而投予，其中該量係化合物中所包含的 7-乙基-10-羥喜樹鹼之重量。

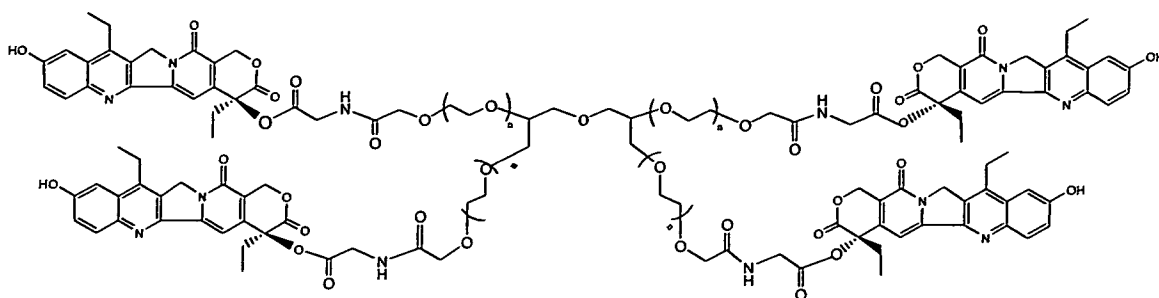
18. 如申請專利範圍第 13 項之用途，其中 D 係 7-乙基-10-羥喜樹鹼之殘基且該化合物是以從約 2mg/kg/週至約 60mg/kg/週的量而投予，其中該量係化合物中所包含的 7-乙基-10-羥喜樹鹼之重量。

19. 如申請專利範圍第 13 項之用途，其中該癌症是乳癌以及如申請專利範圍第 1 項之化合物是



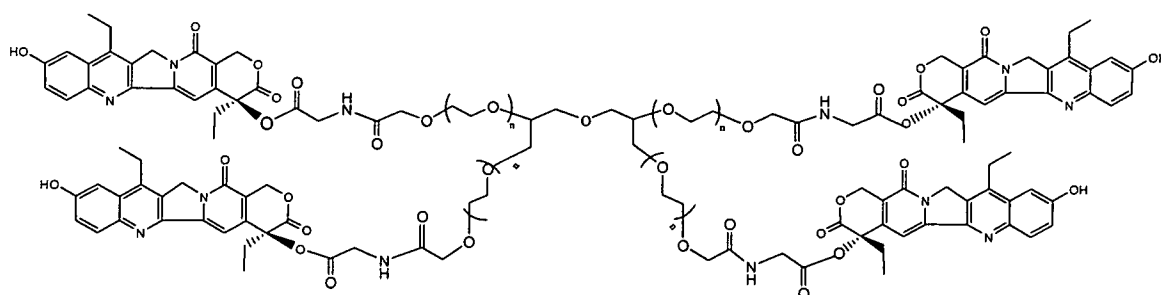
20. 如申請專利範圍第 19 項之用途，其中化合物是以從約 5 至約 20 mg/kg/劑的量而投予，其中該量係化合物中所包含的 7-乙基-10-羥喜樹鹼之重量。

21. 如申請專利範圍第 13 項之用途，其中該癌症是結腸直腸癌，以及如申請專利範圍第 1 項之化合物是



22. 如申請專利範圍第 21 項之用途，其中化合物是以從約 10 至約 30 mg/kg/劑的量而投予，其中該量係化合物中所包含的 7-乙基-10-羥喜樹鹼之重量。

23. 如申請專利範圍第 13 項之用途，其中該癌症是胰臟癌，以及如申請專利範圍第 1 項之化合物是



24. 如申請專利範圍第 23 項之用途，其中化合物是以從約 10 至約 30 mg/kg/劑的量而投予，其中該量係化合物中所包含的 7-乙基-10-羥喜樹鹼之重量。

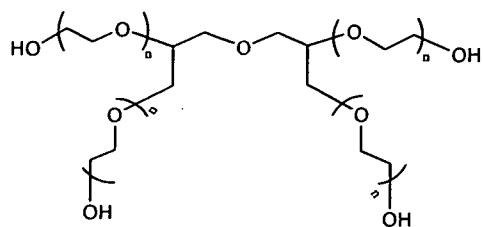
25. 一種製備多臂聚合性前藥之方法，其包括：

(a) 將一當量包含可利用的 20-羥基之喜樹鹼或喜樹鹼類似物，與一或多當量包含可利用的羧酸基團之雙功能性連接子，在可有效形成具有可利用的胺基基團之喜樹鹼-雙功能性連接子中間產物的條件下反應；以及

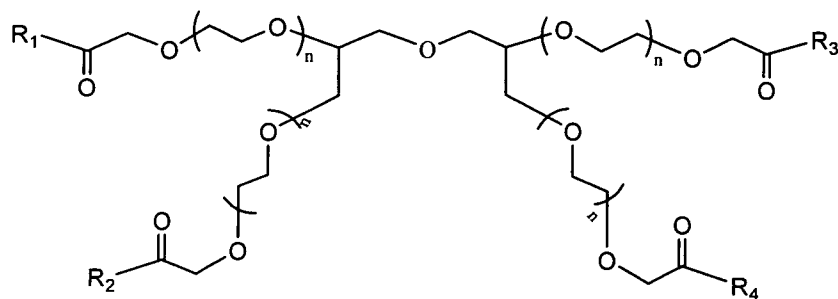
(b) 將每個活性位置一或多當量的自步驟 (a) 所得中

間產物，與一當量式 (I) 之活化的聚合物，

其中式 (I) 是



在可有效形成多臂聚合性前藥的條件下反應，該多臂聚合性前藥具有結構



其中

R_1 、 R_2 、 R_3 及 R_4 獨立地是 OH 或 $(L)_m-D$ ；

L 是雙功能性的連接子，其係選自由胺基酸或胺基酸衍生物之殘基、

$-[C(O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23}O)_t-$ 、

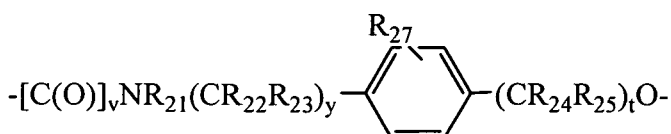
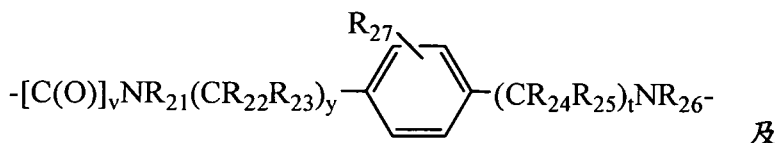
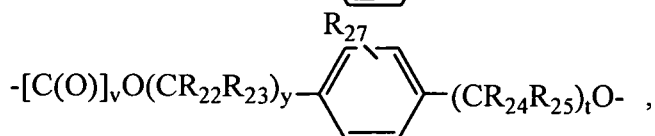
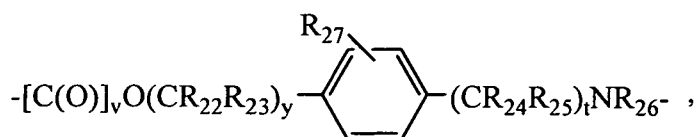
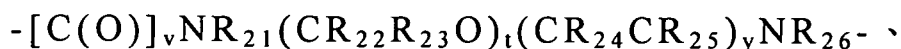
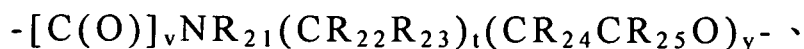
$-[C(O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23}O)_t(CR_{24}R_{25})_yO-$ 、

$-[C(O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23}O)_t(CR_{24}R_{25})_y-$ 、

$-[C(O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23})_tO-$ 、

$-[C(O)]_vNR_{21}(CR_{22}R_{23})_t(CR_{24}CR_{25}O)_yNR_{26}-$ 、

$-[C(O)]_vO(CR_{22}R_{23})_tNR_{26}-$ 、



所組成之群；

其中

該胺基酸衍生物係選自由 2-胺基己二酸、3-胺基己二酸、 β -丙胺酸、 β -胺基丙酸、2-胺基丁酸、4-胺基丁酸、哌啶酸、6-胺基己酸、2-胺基庚酸、2-胺基異丁酸、3-胺基異丁酸、2-胺基庚二酸、2,4-二胺基丁酸、鎖鏈離胺素、2,2-二胺基庚二酸、2,3-二胺基丙酸、N-乙基甘胺酸、N-乙基天冬醯胺酸、3-羥基脯胺酸、4-羥基脯胺酸、異鎖鏈離胺素、別-異白胺酸、N-甲基甘胺酸、肌胺酸、N-甲基異白胺酸、 γ -N-甲基離胺酸、N-甲基纈胺酸、正纈胺酸、正白胺酸及鳥胺酸所組成之群；

R_{21} - R_{26} 是獨立地選自由氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-19} 分支的烷基、 C_{3-8} 環烷基、 C_{1-6} 經取代的烷基、

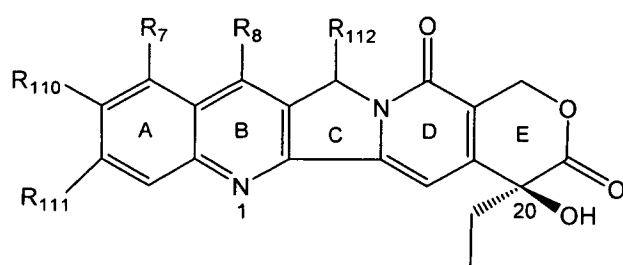
C_{2-6} 經取代的烯基、 C_{2-6} 經取代的炔基、 C_{3-8} 經取代的環烷基、芳基、經取代的芳基、芳烷基、 C_{1-6} 雜烷基、經取代的 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、苯氧基以及 C_{1-6} 雜烷氧基所組成之群；

R_{27} 是選自由氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-19} 分支的烷基、 C_{3-8} 環烷基、 C_{1-6} 經取代的烷基、 C_{2-6} 經取代的烯基、 C_{2-6} 經取代的炔基、 C_{3-8} 經取代的環烷基、芳基、經取代的芳基、芳烷基、 C_{1-6} 雜烷基、經取代的 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、苯氧基、 C_{1-6} 雜烷氧基、 NO_2 、鹵烷基以及鹵素所組成之群；

t 及 y 各自獨立地是選自從 1 到 4 之正整數；以及

v 是 0 或 1；

D 是喜樹鹼或式 (II) 化合物的殘基



其中

R_7 是選自由 NO_2 、 NH_2 、 N_3 、氫、鹵素、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、 $N(C_{1-3} \text{ 烷基})_2$ 、 $CH_2N(C_{1-3} \text{ 烷基})_2$ 、

$O-$ 、 $NH-$ 及 $S-CH_2CH_2N(CH_2CH_2OH)_2$ 、

$O-$ 、 $NH-$ 及 $S-CH_2CH_2CH_2N(CH_2CH_2OH)_2$ 、

O-、NH-及 S-CH₂CH₂N(CH₂CH₂CH₂OH)₂、

O-、NH-及 S-CH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₂CH₂OH)₂、

O-、NH-及 S-CH₂CH₂N(C₁₋₃ 烷基)₂、

O-、NH-及 S-CH₂CH₂CH₂N(C₁₋₃ 烷基)₂、CHO 以及 C₁₋₃ 烷基所組成之群；以及

R₈ 是選自由 H、C₁₋₈ 烷基以及 CH₂NR₉R₁₀ 所組成之群；

其中

R₉ 是選自由 氫、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₇ 環烷基、C₃₋₇ 環烷基-C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、羥基-C₁₋₆ 烷基、以及 C₁₋₆ 烷氧基-C₁₋₆ 烷基所組成之群；

R₁₀ 是選自由 氫、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₇ 環烷基、C₃₋₇ 環烷基-C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、羥基-C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基-C₁₋₆ 烷基、以及 COR₁₁ 所組成之群；

其中 R₁₁ 是選自由 氫、C₁₋₆ 烷基、過鹵-C₁₋₆ 烷基、C₃₋₇ 環烷基、C₃₋₇ 環烷基-C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、羥基-C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、以及 C₁₋₆ 烷氧基-C₁₋₆ 烷基所組成之群；或

R₉、R₁₀、及 B 環的氮形成飽和的 3-7 員雜環，其包含 O、S 或 NR₁₂；

其中 R₁₂ 是選自由 氫、C₁₋₆ 烷基、過鹵-C₁₋₆ 烷基、芳基、經選自由 C₁₋₆ 烷基、鹵素、硝基、胺基、C₁₋₆ 烷胺基、過鹵-C₁₋₆ 烷基、羥基-C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、C₁₋₆ 烷氧基-C₁₋₆ 烷基以及-COR₁₃ 所組成之群之一個或多個基團取代的芳基所組成之群，其中 R₁₃ 是選自由 氫、C₁₋₆ 烷基、過鹵-C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、芳基、及以一個或多個 C₁₋₆ 烷基、過鹵

-C₁₋₆ 烷基、羥基-C₁₋₆ 烷基、以及 C₁₋₆ 烷氧基-C₁₋₆ 烷基取代的芳基所組成之群；

R₁₁₀-R₁₁₁ 各自獨立地是選自由氫、鹵素、醯基、烷基、經取代的烷基、烷氧基、經取代的烷氧基、烯基、炔基、環烷基、羥基、氰基、硝基、疊氮基、醯胺基、肼、胺基、經取代的胺基、羥羰基、烷氧羰基、烷羰氧基、烷羰胺基、氨基甲醯氧基、芳磺醯氧基、烷磺醯氧基、-C(R₁₁₇)=N-(O)_j-R₁₁₈，其中 R₁₁₇ 是 H、烷基、烯基、環烷基、或芳基，j 是 0 或 1，以及 R₁₁₈ 是 H、烷基、烯基、環烷基、或雜環、R₁₁₉C(O)O-，其中 R₁₁₉ 是鹵素、胺基、經取代的胺基、雜環、經取代的雜環、以及 R₁₂₀-O-(CH₂)_k-，其中 k 是 1-10 的整數以及 R₁₂₀ 是烷基、苯基、經取代的苯基、環烷基、經取代的環烷基、雜環或經取代的雜環所組成之群；或

R₇ 與 R₁₁₀ 或 R₁₁₀ 與 R₁₁₁ 一起形成經取代或未經取代的亞甲二氧基、伸乙二氧基或乙烯氧基；以及

R₁₁₂ 是 H 或 OR'，其中 R' 是烷基、烯基、環烷基、鹵烷基、或羥烷基；

m 是從 1 至 10 之正整數；以及

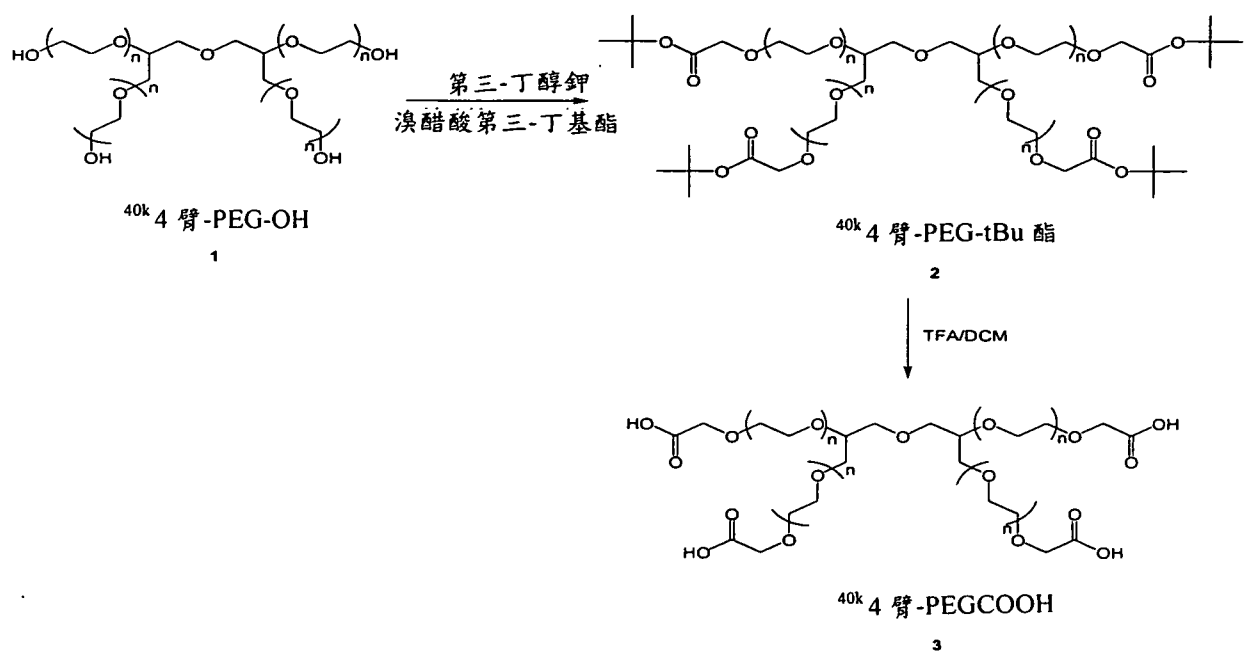
n 是從 28 至 341 之正整數；

限制條件為 R₁、R₂、R₃ 及 R₄ 不全是 OH。

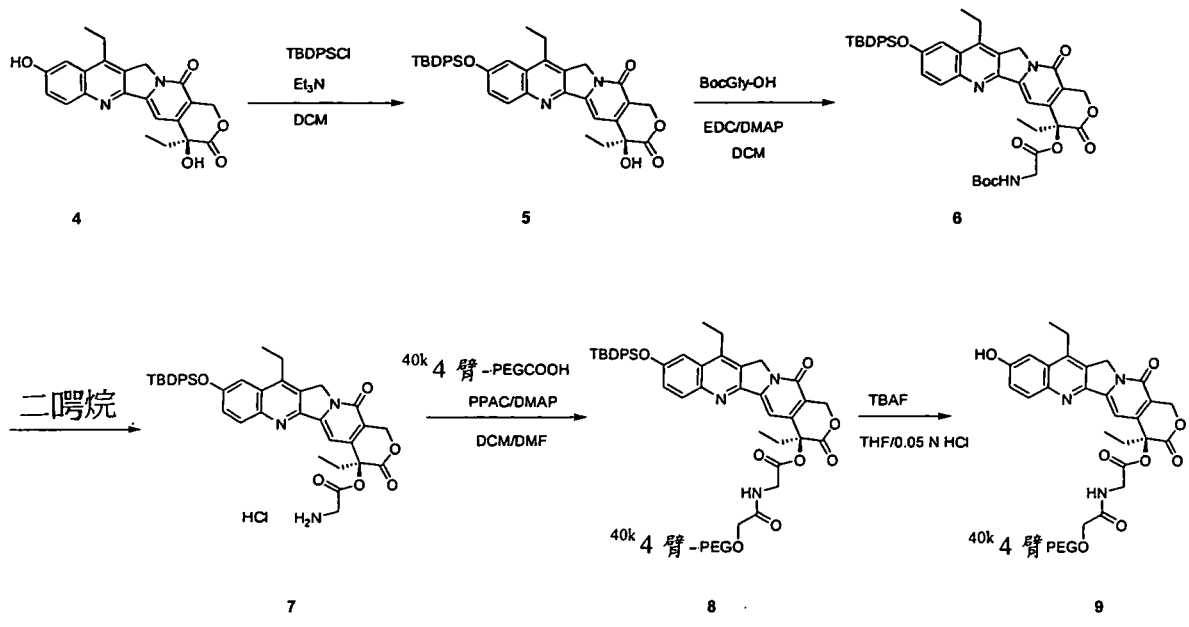
十一、圖式：

如次頁。

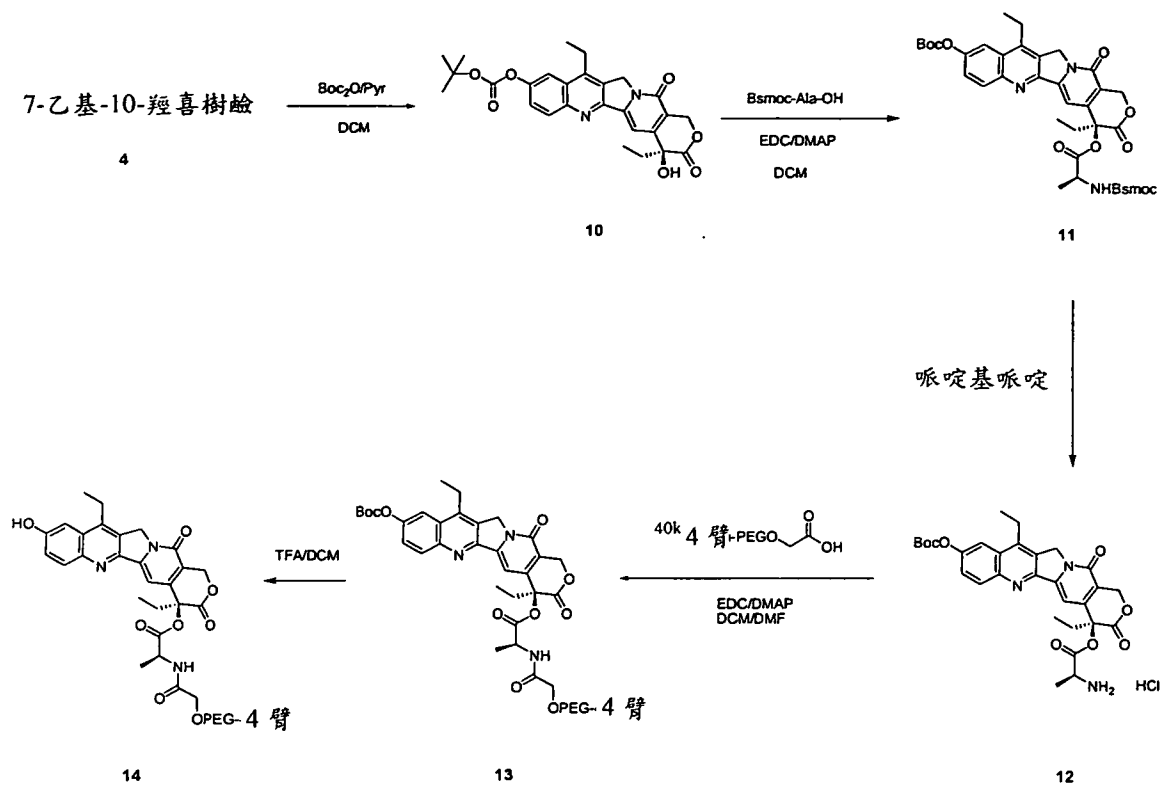
第 1 圖



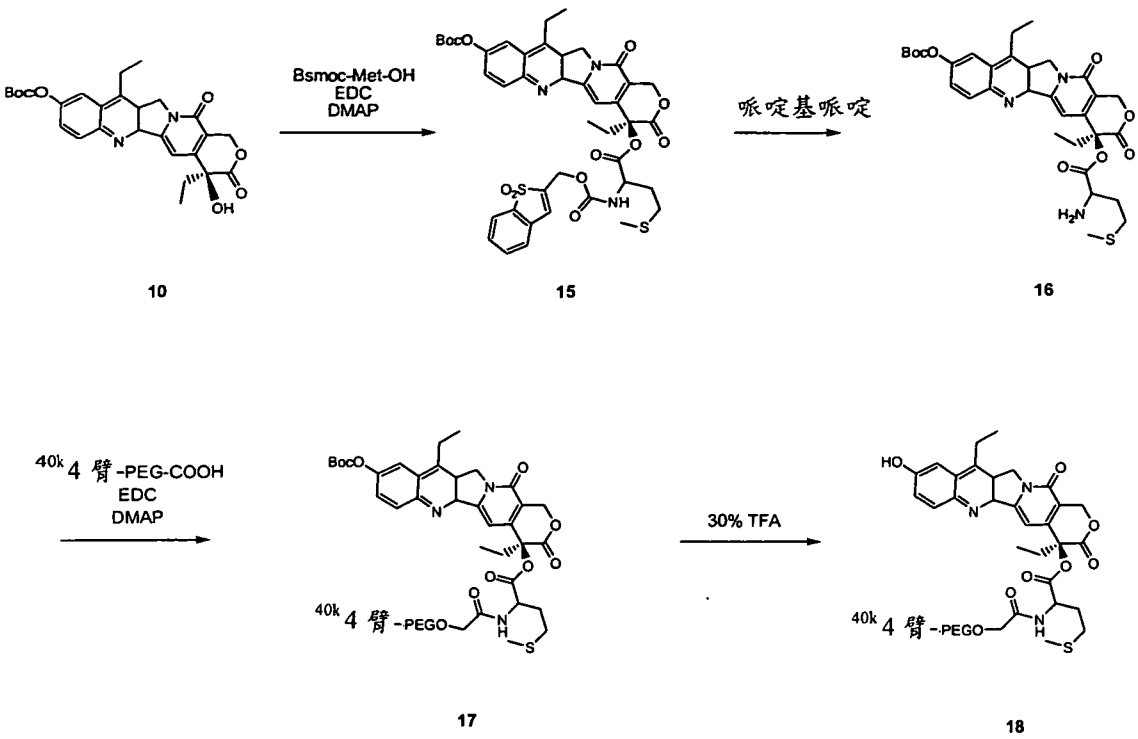
第 2 圖



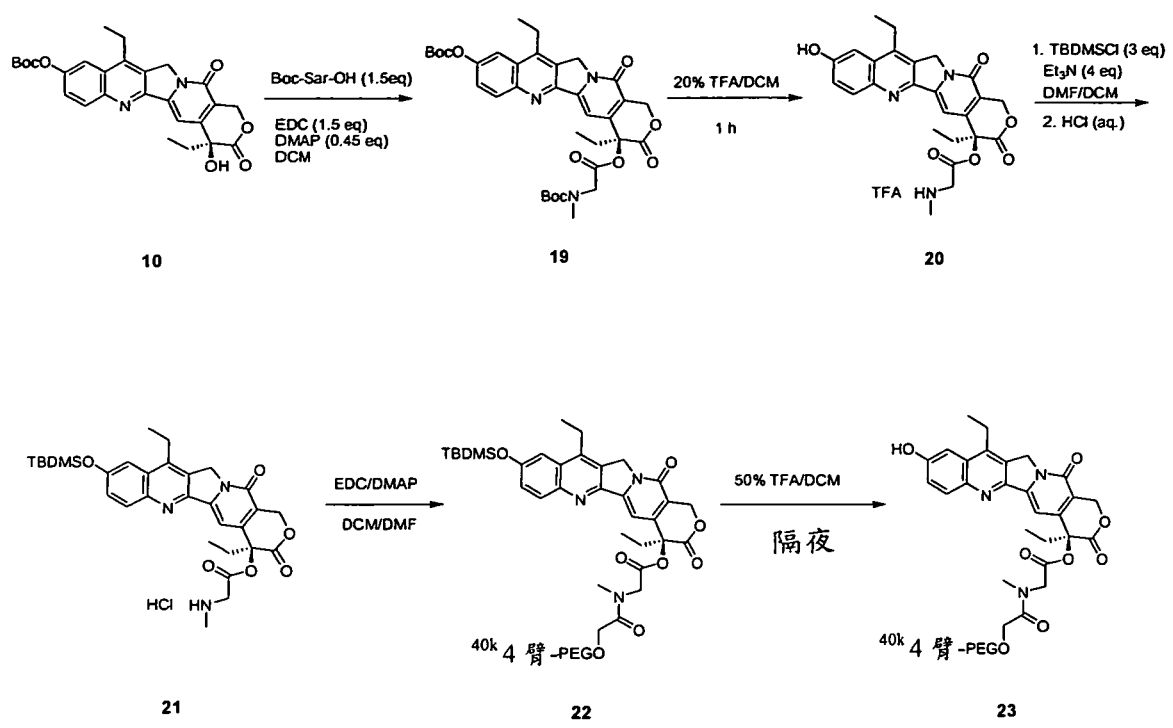
第 3 圖



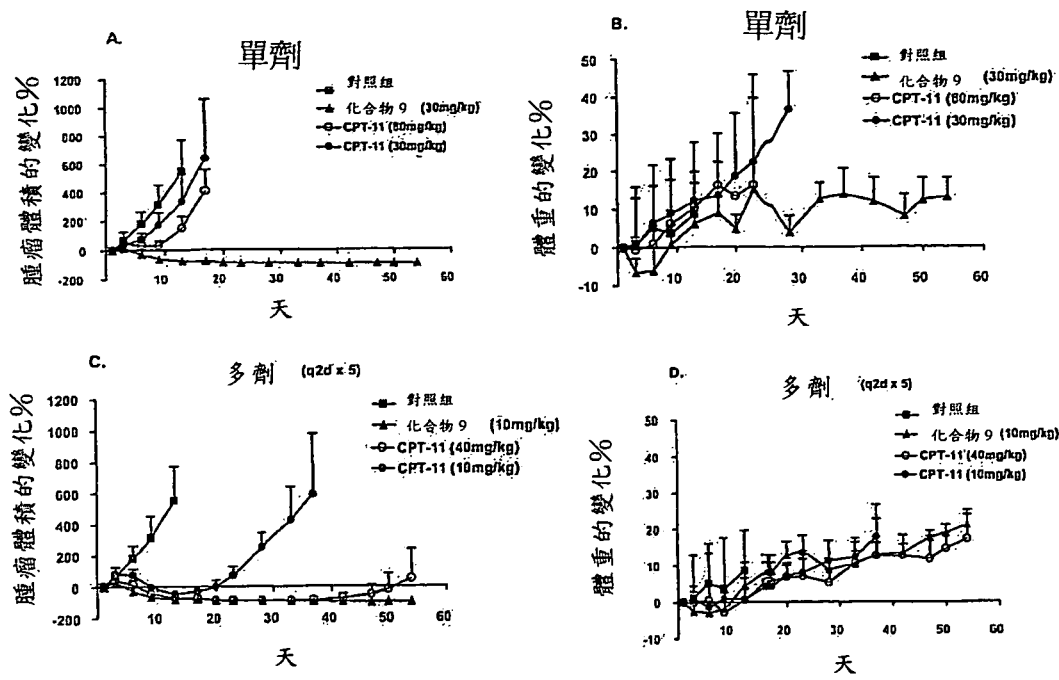
第 4 圖



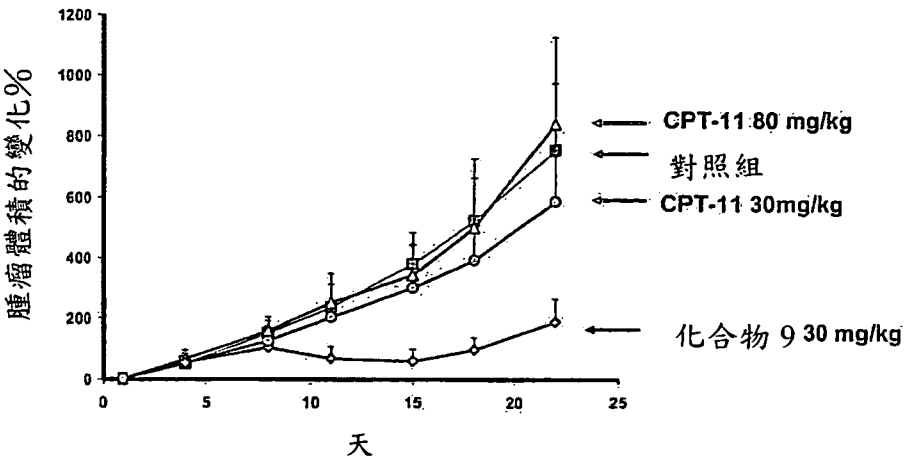
第 5 圖



第 6 圖

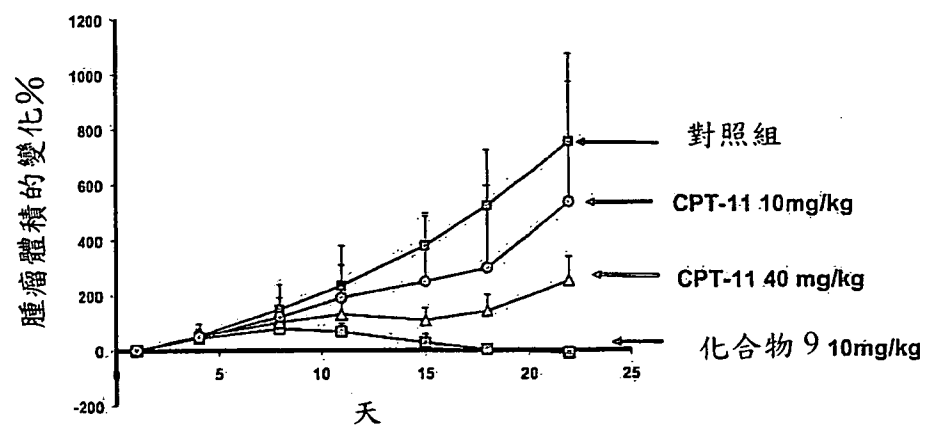


第 7 圖



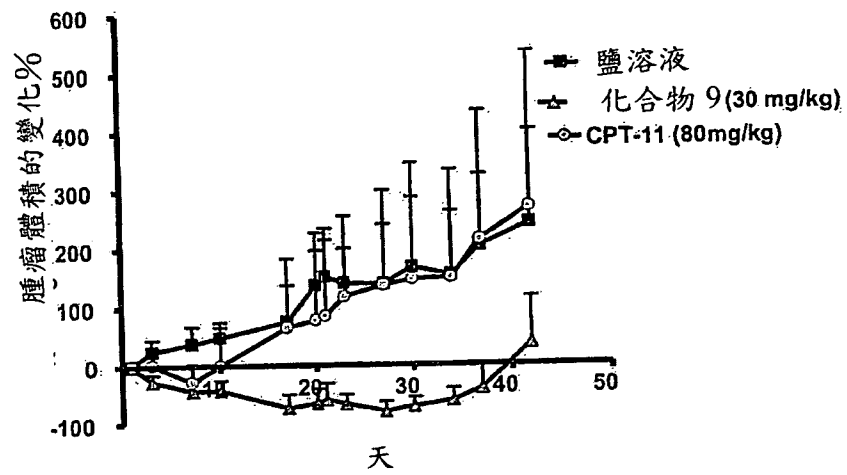
8/14

第 8 圖



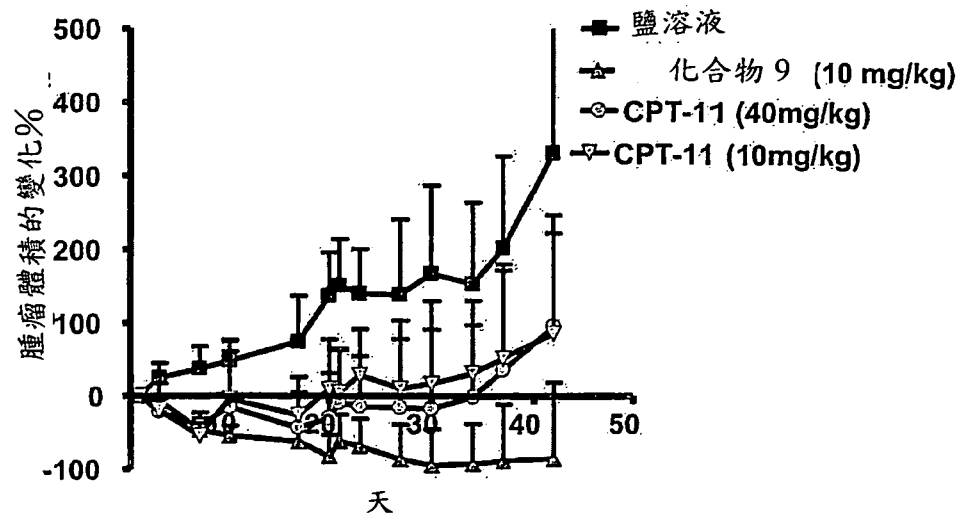
9/14

第 9 圖

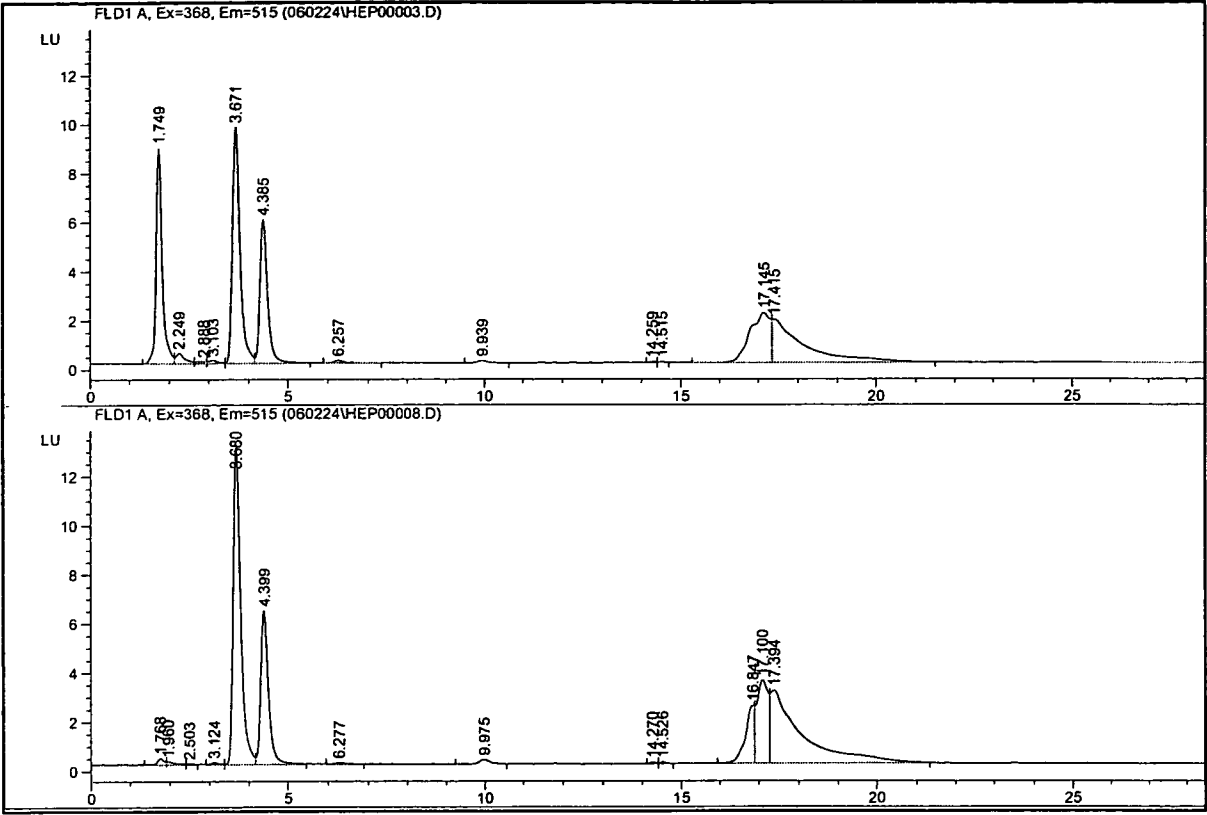


10/14

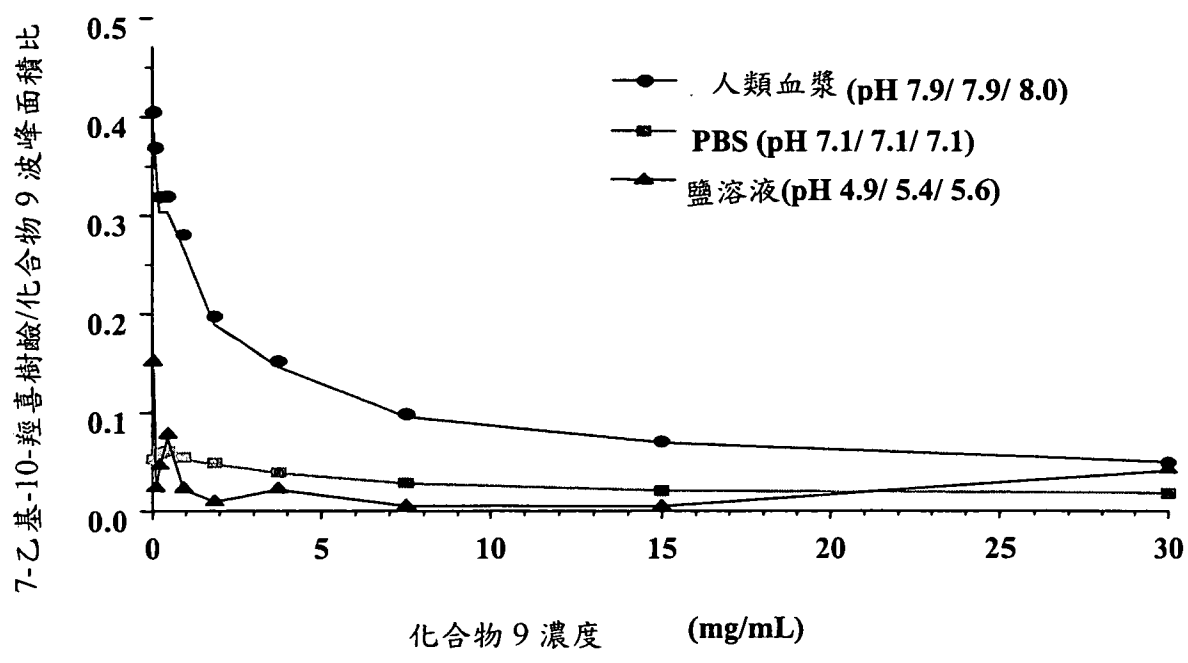
第 10 圖



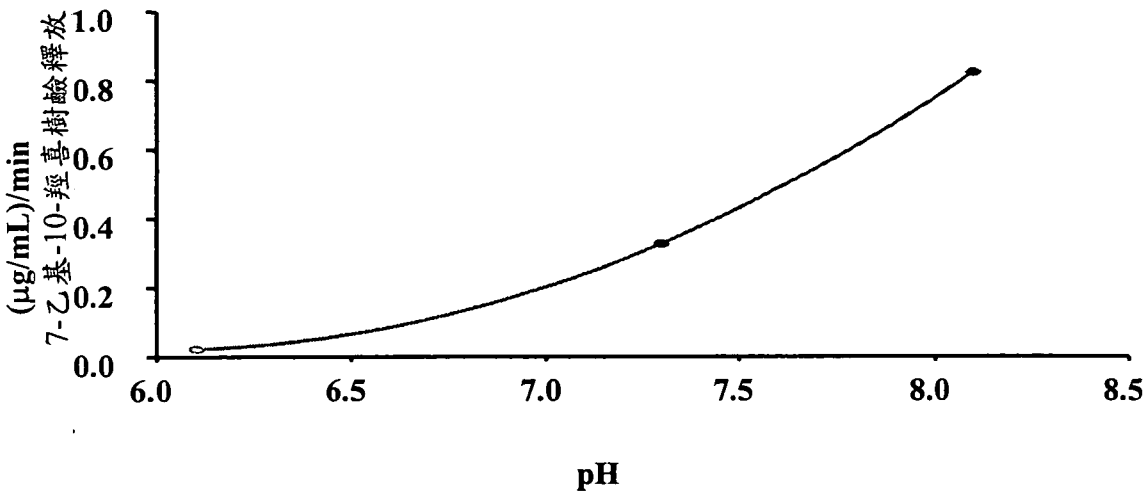
第 11 圖



第 12 圖



第 13 圖



第 14 圖

