(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 103282777 A
(43)申请公布日 2013.09.04

(21)申请号 201180063432.1

(22)申请日 2011.11.11

(30)优先权数据
61/413,275 2010.11.12 US

(85)PCT申请进入国家阶段日
2013.06.28

(86)PCT申请的申请数据
PCT/US2011/060407 2011.11.11

(87)PCT申请的公布数据
WO2012/065085 EN 2012.05.18

(71)申请人 恩多塞特公司
地址 美国印第安那州

(72)发明人 J.A. 雷迪 C.P. 利蒙

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 张萍 李炳爱

(51)Int.Cl.
G01N 33/574(2006.01)

权利要求书2页 说明书41页 附图38页
按照条约第19条修改的权利要求书2页

(54)发明名称

治疗癌症的方法

(57)摘要

描述了用叶酸-长春花结合物与至少一种其它化学治疗剂组合治疗上皮肿瘤的方法和组合物,其中肿瘤包括卵巢、子宫内膜或非小细胞肺癌肿瘤,包括耐铂的卵巢肿瘤和铂敏感的卵巢肿瘤。

CN 103282777 A

1. 一种治疗癌症的方法，所述方法包含以下步骤：

向患者施用 EC145；和

向所述患者施用一种或更多种附加化学治疗剂，所述化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

2. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述附加化学治疗剂选自顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

3. 根据权利要求 2 所述的方法，其中所述附加化学治疗剂选自卡铂和贝伐单抗。

4. 根据权利要求 3 所述的方法，其中所述附加化学治疗剂是卡铂。

5. 根据权利要求 3 所述的方法，其中所述附加化学治疗剂是贝伐单抗。

6. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述癌症是上皮癌。

7. 根据权利要求 6 所述的方法，其中所述上皮癌是卵巢癌、子宫内膜癌、或非小细胞肺癌。

8. 根据权利要求 7 所述的方法，其中所述上皮癌为卵巢癌。

9. 根据权利要求 7 所述的方法，其中所述上皮癌是非小细胞肺癌。

10. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述附加化学治疗剂以针对所述化学治疗剂的最大耐受剂量的 50 至 80% 的剂量施用。

11. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述 EC145 和所述化学治疗剂是按治疗有效量施用。

12. 根据权利要求 11 所述的方法，其中所述有效量范围为约 1 μg/m^2 至约 500 mg/m^2 身体表面积。

13. 根据权利要求 11 所述的方法，其中所述有效量范围为约 1 μg/m^2 至约 300 mg/m^2 身体表面积。

14. 根据权利要求 11 所述的方法，其中所述有效量范围为约 10 μg/kg 至约 100 μg/kg 患者体重。

15. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述癌症是耐铂的卵巢癌。

16. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述 EC145 和所述附加化学治疗剂处于无菌容器或包装中。

17. 根据权利要求 1 所述的方法，其中基于重量百分比，所述 EC145 和所述附加化学治疗剂具有至少为 90% 的纯度。

18. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述 EC145 呈可复水冷冻干产物的形式。

19. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述 EC145 和所述附加化学治疗剂处于无菌、无热原的水溶液中。

20. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述 EC145 和所述附加化学治疗剂以低于它们的最大可耐受剂量的剂量来施用。

21. 一种包含 EC145 和一种或更多种附加化学治疗剂的试剂盒，所述附加化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管组装抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

22. 根据权利要求 21 所述的试剂盒，其中所述附加化学治疗剂选自顺铂、卡铂、拓扑替

康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

23. 根据权利要求 22 所述的试剂盒，其中所述附加化学治疗剂选自卡铂和贝伐单抗。

24. 根据权利要求 23 所述的试剂盒，其中所述附加化学治疗剂是卡铂。

25. 根据权利要求 23 所述的试剂盒，其中所述附加化学治疗剂是贝伐单抗。

26. 根据权利要求 21 所述的试剂盒，其中所述 EC145 和所述化学治疗剂处于治疗有效量。

27. 根据权利要求 21 所述的试剂盒，其中所述 EC145 和所述附加化学治疗剂处于无菌容器或包装中。

28. 根据权利要求 21 所述的试剂盒，其中基于重量百分比，所述 EC145 和所述附加化学治疗剂具有至少为 90% 的纯度。

29. 根据权利要求 21 所述的试剂盒，其中基于重量百分比，所述 EC145 和所述附加化学治疗剂具有至少为 95% 的纯度。

30. 根据权利要求 21 所述的试剂盒，其中所述 EC145 呈可复水冷冻干产物的形式。

31. 根据权利要求 21 所述的试剂盒，其中所述 EC145 和所述附加化学治疗剂处于无菌、无热原的水溶液中。

治疗癌症的方法

[0001] 相关申请的引用

本申请基于美国法典第 35 编第 119(e) 条要求美国临时申请序列号 61/413,275 的优先权，所述美国临时申请通过引用全文并入本文。

[0002]

技术领域

[0003] 本发明涉及用叶酸盐 - 长春花结合物与至少一种附加化学治疗剂组合来治疗癌症的方法和组合物。本发明包括治疗肿瘤的方法和组合物，该肿瘤包括卵巢癌、子宫内膜癌或非小细胞肺癌。

[0004] 背景和概述

尽管实际上已在抗癌技术中有显著发展，例如放射疗法、化学疗法和激素疗法，但在美国，癌症仍是继心脏疾病之后第二大导致死亡的原因。最经常地，利用高强效药例如丝裂霉素、紫杉醇（paclitaxel）和喜树碱 (camptothecin)，通过化学疗法治疗癌症。在许多情况下，这些化学治疗剂显示剂量应答效应，并且细胞杀伤与药物剂量成比例。因此必需高度侵袭性类型的剂量以根除赘生物。然而，高剂量化学疗法收到对癌细胞的差选择性和对正常细胞的严重毒性的阻碍。这种肿瘤特异性治疗的缺乏是目前化学疗法需要克服的许多障碍之一。

[0005] 目前化学疗法限制的一个解决方案将是向具有极高特异性的肿瘤组织递送生物学有效浓度的抗癌剂。为达到这一目标，已进行许多努力通过将抗癌药物结合到这些配位体如激素、抗体、或维生素来发展肿瘤选择性药物。例如，将低分子量维生素化合物（叶酸盐）用作肿瘤靶向剂。

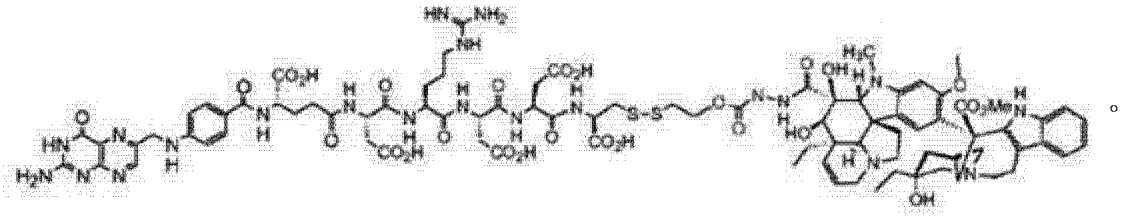
[0006] 克服目前化学疗法限制的另一方法将是递送肿瘤靶向药物与一种或更多种化学治疗剂的组合物，其中肿瘤靶向药物和化学治疗剂的毒性特征是不同的。该方法的另一种改进是以分别低于肿瘤靶向药物或化学治疗剂在单独用于治疗时典型使用的量在组合疗法中使用肿瘤靶向药物和化学治疗剂。

[0007] 叶酸盐是维生素的 B 家族的成员，并且通过参与核酸和氨基酸的生物合成在细胞存活中起到重要作用。该重要的维生素还是高亲合力配位体，其通过靶向叶酸盐受体 (FR) 阳性癌细胞增强结合的抗癌药物的特异性。FR（肿瘤相关的糖基化磷脂酰肌醇锚定蛋白）可以经受体介导的胞吞积极地内在化结合叶酸盐和叶酸盐结合化合物。已发现，在大于 90% 的非粘质卵巢癌中 FR 被上调。还发现，FR 在肾癌、脑癌、肺癌和乳腺癌中处于高至中等水平，并且在大多数普通组织中以低水平存在。当癌症的阶段变得更晚期时，FR 密度也似乎增加。

[0008] 已发展叶酸盐靶向药物并且在临床试验中作为癌症治疗剂测试。EC145 包含结合至叶酸盐的高效长春花生物碱细胞毒化学治疗剂（去乙酰长春花碱酰肼 (DAVLBH)）。EC145 分子靶向上皮肿瘤表面以高水平发现的叶酸盐受体，所述上皮肿瘤包括非小细胞肺癌 (NSCLC)、卵巢癌、子宫内膜癌和肾癌和其它，包括输卵管癌和原发性腹膜癌。不受理论

的约束，据认为 EC145 结合至表达叶酸盐受体的肿瘤，所述叶酸盐受体将长春花部分直接递送至癌细胞同时避免递送至正常组织。刚一结合时，EC145 就经由胞吞进入癌细胞，释放 DAVLBH 并且通过抑制细胞分裂所需的有丝分裂组件的形成导致细胞死亡。EC145 具有化学文摘登记号 742092-03-1 和下式。

[0009]



[0010] EC145

如本文中所用，在治疗的方法、用途、组合物、药用组合物、试剂盒、或组合的背景下，术语 EC145 意思是如上显示的化学治疗剂，或其药用可接受的盐，并且该化学治疗剂可以离子化形式（包括质子化形式）存在于溶液或悬浮液中。例如，通过 PCT/US11/037134 中所述方法可以合成 EC145，所述专利通过引用并入本文。EC145 与术语“结合物”在本文中可交换使用。

[0011] 在一个实施方案中，提供一种治疗癌症的方法。该方法包含与一种或更多种化学治疗剂组合施用 EC145，所述化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，细胞凋亡诱导，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0012] 在另一实施方案中，描述了在前方法，其中一种或更多种化学治疗剂选自：顺铂（例如，PLATINOL™），卡铂（例如，PARAPLATIN™），拓扑替康（topotecan）（例如，HYCAMTIN™），伊立替康（irinotecan）（例如，CAMTOSAR™），贝伐单抗（bevacizumab）（例如，AVASTIN™），厄洛替尼（erlotinib）（例如，TARCEVA™），拉帕替尼（lapatinib）（例如，TYKERB™），和培美曲塞（pemetrexed）（例如，ALIMTA™）。

[0013] 在另一实施方案中，描述 EC145 与一种或更多种化学治疗剂组合用于治疗表达叶酸盐受体的癌细胞的用途，所述化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，细胞凋亡诱导，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0014] 在另一实施方案中，提供上文所述的用途，其中一种或更多种化学治疗剂选自顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

[0015] 在另一实施方案中，提供 EC145 用于制造与一种或更多种化学治疗剂组合来治疗表达叶酸盐受体的癌细胞的药剂的用途，所述化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，细胞凋亡诱导，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0016] 在另一实施方案中，描述制造上文所述的药剂的用途，其中一种或更多种化学治疗剂选自顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

[0017] 在另一实施方案中，包含 EC145 和一种或更多种化学治疗剂的药用组合物或组

合，所述化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，细胞凋亡诱导，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0018] 在另一实施方案中，描述在先前实施方案中所述的药用组合物或组合，其中所述一种或更多种化学治疗剂选自 顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

[0019] 在另一实施方案中，包含 EC145 和一种或更多种化学治疗剂的组合物，所述化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，细胞凋亡诱导，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0020] 在另一实施方案中，描述在先前实施方案中所述的组合物，其中一种或更多种化学治疗剂选自顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

[0021] 在任何上述实施方案中，化学治疗剂也可是阿霉素，或阿霉素的改进形式如聚乙二醇阿霉素（如，DOXIL™）。阿霉素（例如，DOXIL™）可以是脂质体 - 胶囊化的。

[0022] 通过以下列举条款描述本发明的若干实施方案：

1. 一种治疗癌症的方法，该方法包含以下步骤：与一种或更多种化学治疗剂组合施用 EC145，所述化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0023] 2. 条款 1 的方法，其中一种或更多种化学治疗剂选自顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

[0024] 3. 条款 1 或 2 的方法，其中该化学治疗剂是卡铂。

[0025] 4. 条款 1 或 2 的方法，其中该化学治疗剂是贝伐单抗。

[0026] 5. EC145 与一种或更多种化学治疗剂组合用于治疗表达叶酸盐受体的癌细胞的用途，所述化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0027] 6. 条款 5 的用途，其中一种或更多种化学治疗剂选自顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

[0028] 7. 条款 5 或 6 的用途，其中该化学治疗剂是卡铂。

[0029] 8. 条款 5 或 6 的用途，其中该化学治疗剂是贝伐单抗。

[0030] 9. EC145 用于制造与一种或更多种化学治疗剂组合来治疗表达叶酸盐受体的癌细胞的药剂的用途，所述化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0031] 10. 条款 9 的用途，其中一种或更多种化学治疗剂选自顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

[0032] 11. 条款 9 或 10 的用途，其中该化学治疗剂是卡铂。

[0033] 12. 条款 9 或 10 的用途，其中该化学治疗剂是贝伐单抗。

[0034] 13. 先前条款中任一项的方法或用途，其中该表达叶酸盐受体的细胞是上皮肿瘤细胞。

[0035] 14. 条款 13 的方法或用途，其中该上皮肿瘤是卵巢肿瘤、子宫内膜肿瘤或非小细胞肺肿瘤。

[0036] 15. 条款 13 至 14 中任一项的方法或用途，其中该表达叶酸盐受体的上皮肿瘤是卵

巢肿瘤。

[0037] 16. 条款 13 至 15 中任一项的方法或用途，其中该肿瘤是原发性肿瘤。

[0038] 17. 条款 13 至 15 中任一项的方法或用途，其中该肿瘤是转移性肿瘤。

[0039] 18. 前述条款中任一项的方法或用途，其中该化学治疗剂以针对该化学治疗剂的最大耐受剂量的 50-80% 的剂量施用。

[0040]

19. 一种包含 EC145 和一种或更多种化学治疗剂的药用组合物，所述化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0041] 20. 条款 19 的组合物，其中一种或更多种化学治疗剂选自顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

[0042] 21. 条款 19 至 20 的组合物，其中该化学治疗剂是卡铂。

[0043] 22. 条款 19 至 20 的组合物，其中该化学治疗剂是贝伐单抗。

[0044] 23. 一种用于治疗癌症的包含 EC145 和一种或更多种化学治疗剂的组合物，所述化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0045] 24. 条款 23 的组合物，其中一种或更多种化学治疗剂选自顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

[0046] 25. 条款 23 或 24 的组合物，其中该化学治疗剂是卡铂。

[0047] 26. 条款 23 或 24 的组合物，其中该化学治疗剂是贝伐单抗。

[0048] 27. 前述条款中任一项的组合物、方法、或用途，其中该 EC145 或该化学治疗剂是肠胃外剂量形式。

[0049] 28. 前述条款中任一项的组合物、方法、或用途，其中该剂量形式选自皮内剂量形式、皮下剂量形式、肌肉内剂量形式、腹膜内剂量形式、静脉内剂量形式和鞘内剂量形式。

[0050] 29. 前述条款中任一项的组合物、方法、或用途，其中该 EC145 或该化学治疗剂处于组合物中并且其中该组合物进一步包含药用可接受的载体。

[0051] 30. 条款 29 的组合物、方法或用途，其中该药用可接受的载体是液体载体。

[0052] 31. 条款 30 的组合物、方法或用途，其中该液体载体选自盐水、葡萄糖、醇、乙二醇、酯、酰胺及其组合。

[0053] 32. 前述条款中任一项的组合物、方法、或用途，其中该 EC145 或该化学治疗剂是按治疗有效量施用。

[0054] 33. 条款 32 的组合物、方法或用途，其中有效量的范围为每千克体重约 1 ng 至约 1 mg。

[0055] 34. 条款 33 的组合物、方法或用途，其中有效量的范围为每千克体重约 100 ng 至约 500 μg。

[0056] 35. 条款 34 的组合物、方法或用途，其中有效量的范围为每千克体重约 100 ng 至约 50 μg。

[0057] 36. 前述条款中任一项的组合物、方法、或用途，其中该肿瘤是耐铂的卵巢肿瘤。

[0058]

37. 一种治疗癌症的方法，该方法包含以下步骤：

向患者施用 EC145；和

向所述患者施用一种或更多种附加化学治疗剂，所述化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0059] 38. EC145 与一种或更多种附加化学治疗剂组合用于治疗表达叶酸盐受体的癌细胞的用途，所述附加化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0060] 39. EC145 用于制造与一种或更多种附加化学治疗剂组合来治疗表达叶酸盐受体的癌细胞的药剂的用途，所述附加化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0061] 40. 条款 37 至 39 中任一项的方法或用途，其中该附加化学治疗剂选自顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

[0062] 41. 条款 37 至 40 中任一项的方法或用途，其中所述附加化学治疗剂选自卡铂和贝伐单抗。

[0063] 42. 条款 37 至 41 中任一项的方法或用途，其中该附加化学治疗剂是卡铂。

[0064] 43. 条款 37 至 41 中任一项的方法或用途，其中该附加化学治疗剂是贝伐单抗。

[0065] 44. 条款 38 至 43 中任一项的用途，其中该表达叶酸盐受体的细胞是上皮肿瘤细胞。

[0066] 45. 条款 44 的用途，其中该上皮肿瘤是卵巢肿瘤、子宫内膜肿瘤、或非小细胞肺肿瘤。

[0067] 46. 条款 45 的用途，其中该表达叶酸盐受体的上皮肿瘤是卵巢肿瘤。

[0068] 47. 条款 45 的用途，其中该表达叶酸盐受体的上皮肿瘤是非小细胞肺肿瘤。

[0069] 48. 条款 37 或 43 至 43 中任一项的方法，其中该癌症是上皮癌。

[0070] 49. 条款 48 的方法，其中该上皮癌是卵巢癌、子宫内膜癌、或非小细胞肺癌。

[0071] 50. 条款 49 的方法，其中该上皮癌是卵巢癌。

[0072] 51. 条款 49 的方法，其中该上皮癌是非小细胞肺癌。

[0073] 52. 条款 37 至 51 中任一项的方法或用途，其中该癌症或该癌细胞包含原发性肿瘤。

[0074] 53. 条款 37 至 51 中任一项的方法或用途，其中该癌症或该癌细胞包含转移性肿瘤细胞。

[0075] 54. 条款 37 至 53 中任一项的方法或用途，其中该附加化学治疗剂以针对该化学治疗剂的最大耐受剂量的 50 至 80% 的剂量施用。

[0076] 55. 条款 37 至 54 中任一项的方法或用途，其中该 EC145 和该附加化学治疗剂是肠胃外剂量形式。

[0077] 56. 条款 55 的方法或用途，其中该剂量形式独立选自皮内、皮下、肌内、腹膜内、静脉内和鞘内。

[0078] 57. 条款 37 至 56 中任一项的方法或用途，其中该 EC145 处于组合物中并且该附加

化学治疗剂处于组合物中，并且其中该组合物还包含药用可接受的载体。

[0079] 58. 条款 57 的方法或用途，其中该药用可接受的载体是液体载体。

[0080] 59. 条款 58 的方法或用途，其中该液体载体独立选自盐水、葡萄糖、醇、乙二醇、酯、酰胺及其组合。

[0081] 60. 条款 37 至 59 中任一项的方法或用途，其中该 EC145 和该化学治疗剂是按治疗有效量施用。

[0082] 61. 条款 60 的方法或用途，其中有效量范围为约 1 μ g/m^2 至约 500 mg/m^2 身体表面积。

[0083] 62. 条款 61 的方法或用途，其中有效量范围为约 1 μ g/m^2 至约 300 mg/m^2 身体表面积。

[0084] 63. 条款 60 的方法或用途，其中有效量范围为约 10 μ g/kg 至约 100 μ g/kg 患者体重。

[0085] 64. 条款 50 的方法，其中该癌症是耐铂的卵巢癌。

[0086] 65. 条款 46 的用途，其中该肿瘤是耐铂的卵巢肿瘤。

[0087] 66. 条款 37 至 65 中任一项的方法或用途，其中该 EC145 和该附加化学治疗剂处于无菌容器或包装中。

[0088] 67. 条款 37 至 66 中任一项的方法或用途，其中基于重量百分比，该 EC145 和该附加化学治疗剂具有至少 90% 的纯度。

[0089] 68. 条款 37 至 67 中任一项的方法或用途，其中该 EC145 呈可复水冷冻干产物的形式。

[0090] 69. 条款 37 至 68 中任一项的方法或用途，其中该 EC145 和该附加化学治疗剂处于无菌、无热原的水溶液中。

[0091] 70. 一种包含 EC145 和一种或更多种附加化学治疗剂的组合物或组合，所述附加化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0092] 71. 一种用于治疗癌症的组合物或组合，其包含 EC145 和一种或更多种附加化学治疗剂，所述化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0093] 72. 一种包含 EC145 和一种或更多种附加化学治疗剂的试剂盒，所述附加化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0094] 73. 条款 70 至 72 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中该附加化学治疗剂选自顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

[0095] 74. 条款 70 至 73 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中所述附加化学治疗剂选自卡铂和贝伐单抗。

[0096] 75. 条款 70 至 74 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中该附加化学治疗剂是卡铂。

[0097] 76. 条款 70 至 74 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中该附加化学治疗剂是贝伐单抗。

[0098] 77. 条款 70 至 76 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中该 EC145 和该附加化学治疗剂是肠胃外剂量形式。

[0099] 78. 条款 77 的组合物、组合、或试剂盒，其中该剂量形式独立选自皮内、皮下、肌内、腹膜内、静脉内和鞘内。

[0100] 79. 条款 70 至 78 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中该 EC145 和该附加化学治疗剂处于药用组合物中，并且该组合物还包含药用可接受的载体。

[0101] 80. 条款 79 的组合物、组合、或试剂盒，其中该药用可接受的载体是液体载体。

[0102] 81. 条款 80 的组合物、组合、或试剂盒，其中该液体载体独立选自盐水、葡萄糖、醇、乙二醇、酯、酰胺及其组合。

[0103] 82. 条款 70 至 81 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中该 EC145 和该化学治疗剂处于治疗有效量。

[0104] 83. 条款 70 至 82 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中该 EC145 和该附加化学治疗剂处于无菌容器或包装中。

[0105] 84. 条款 70 至 83 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中基于重量百分比，该 EC145 和该附加化学治疗剂具有至少 90% 的纯度。

[0106] 85. 条款 70 至 83 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中基于重量百分比，该 EC145 和该附加化学治疗剂具有至少 95% 的纯度。

[0107] 86. 条款 70 至 85 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中该 EC145 呈可复水冷冻干产物的形式。

[0108] 87. 条款 70 至 86 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中该 EC145 和该附加化学治疗剂处于无菌、无热原的水溶液中。

[0109] 88. 条款 37 至 59 中任一项的方法或用途，其中该 EC145 和 / 或该附加化学治疗剂以低于它们的最大可耐受剂量的剂量来施用。

[0110] 89. 条款 70 至 85 中任一项的组合物、组合、或试剂盒或者条款 37 至 67 中任一项的方法或用途，其中该 EC145 呈冷冻干产物的形式。

[0111]

附图简述

图 1. 对具有 KB 肿瘤 (109-188mm^3 范围) 的 *nu/nu* 小鼠测量的肿瘤体积 (各治疗组中五个动物的平均值)，所述肿瘤 (a) 未治疗 ；或用 ：(b) 以 1 μmol/kg/ 注射 EC145，TIW 2 周 ；或 (c) 50 mg/kg 的卡铂，TIW 1 周中任一种治疗，或用 (d) 以 1 μmol/kg/ 注射 EC145，TIW 2 周 + 50 mg/kg 的卡铂，TIW 1 周治疗。用 EC045 单独治疗产生 0 个部分应答，0 个完全应答，和 0 个治愈。用卡铂单独治疗产生 3 个部分应答。组合治疗产生 1 个完全应答和 4 个治愈。

[0112] 图 2. 对具有 KB 肿瘤 (109-188mm^3 范围) 的 *nu/nu* 小鼠测量的重量百分比变化 (各治疗组中五个动物的平均值)，所述肿瘤 (a) 未治疗 ；或用 ：(b) 以 1 μmol/kg/ 注射 EC145，TIW 2 周 ；或 (c) 50 mg/kg 的卡铂，TIW 1 周中任一种治疗，或用 (d) 以 1 μmol/kg/ 注射 EC145，TIW 2 周 + 50 mg/kg 的卡铂，TIW 1 周治疗。

[0113] 图 3. 对具有 KB 肿瘤 (120-200mm^3 范围) 的 *nu/nu* 小鼠测量的肿瘤体积 (各治疗组中五个动物的平均值)，所述肿瘤 (a) 未治疗 ；或用 ：(b) 以 1 μmol/kg/ 注射 EC145，TIW

2 周 ;或 (d) 3 mg/kg 的顺铂,BIW 2 周中任一种治疗,或用 (c) 以 1 μmol/kg/ 注射 EC145, TIW 2 周 + 3 mg/kg 的顺铂, BIW 2 周治疗。用 EC145 单独治疗产生 0 个部分应答,0 个完全应答,和 1 个治愈。用顺铂单独治疗产生 2 个部分应答。该组合治疗产生 5 个治愈。

[0114] 图 4. 对具有 KB 肿瘤 (120-200mm^3 范围) 的 *nu/nu* 小鼠测量的重量百分比变化 (各治疗组中五个动物的平均值),所述肿瘤 (a) 未治疗 ;或用 :(b) 以 1 μmol/kg/ 注射 EC145,TIW 2 周 ;或 (d) 3 mg/kg 的顺铂,BIW 2 周中任一种治疗,或用 (c) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145, TIW 2 周 + 3 mg/kg 的顺铂, BIW 2 周治疗。

[0115] 图 5. 对具有 KB 肿瘤 (144-204mm^3 范围) 的 *nu/nu* 小鼠测量的肿瘤体积 (各治疗组中五个动物的平均值),所述肿瘤 (a) 未治疗 ;或用 :(b) 以 1 μmol/kg/ 注射 EC145,TIW 2 周 ;或 (d) 5 mg/kg 的拓扑替康, TIW 2 周中任一种治疗,或用 (c) 以 1 μmol/kg/ 注射 EC145,TIW 2 周 + 5 mg/kg 的拓扑替康,TIW 2 周。用 EC145 单独治疗产生 0 个部分应答, 0 个完全应答,和 1 个治愈。用拓扑替康单独治疗未产生部分应答、完全应答或治愈。组合治疗产生 3 个部分应答和 2 个完全应答。

[0116] 图 6. 对具有 KB 肿瘤 (144-204mm^3 范围) 的 *nu/nu* 小鼠测量的重量百分比变化 (各治疗组中五个动物的平均值),所述肿瘤 (a) 未治疗 ;或用 :(b) 以 1 μmol/kg/ 注射 EC145, TIW 2 周 ;或 (d) 5 mg/kg 的拓扑替康,TIW 2 周中任一种治疗,或 (c) 以 1 μmol/kg/ 注射 EC145,TIW 2 周 + 5 mg/kg 的拓扑替康, TIW 2 周。

[0117] 图 7. 等效剂量图显示 EC145 和拓扑替康的体外活性是协同性的。

[0118] 图 8. 对具有 IGR-OV1 肿瘤的小鼠测量的肿瘤体积,所述肿瘤 (■) 未治疗 ;或用 : (●) 2 μmol/kg/ 注射的 EC145,TIW 2 周 ;或 (▲) 5 mg/kg 的拓扑替康,BIW 2 周中任一种治疗 ;或 用 (▼) 2 μmol/kg/ 注射的 EC145, TIW 2 周 + 5 mg/kg 的拓扑替康, BIW 2 周治疗。

[0119] 图 9. 具有 IGR-OV1 肿瘤的小鼠的重量百分比变化,所述肿瘤 (■) 未治疗 ;或用 : (●) 2 μmol/kg/ 注射的 EC145,TIW 2 周 ;或 (▲) 5 mg/kg 的拓扑替康,BIW 2 周中任一种治疗 ;或用 (▼) 2 μmol/kg/ 注射的 EC145,TIW 2 周 + 5 mg/kg 的拓扑替康,BIW 2 周治疗。

[0120] 图 10. 对具有 KB 肿瘤 (114-177mm^3 范围) 的 *nu/nu* 小鼠测量的肿瘤体积 (各治疗组中五个动物的平均值),所述肿瘤 (■) 未治疗 ;或用 :(●) 以 1 μmol/kg/ 注射 EC145, TIW 2 周 ;或 (▲) 40 mg/kg 的伊立替康,BIW 2 周中任一种治疗,或用 (▼) 以 1 μmol/ kg/ 注射 EC145,TIW 2 周 + 40 mg/kg 的伊立替康,BIW 2 周治疗。采用 EC045 单独治疗产生 0 个部分应答,0 个完全应答,和 0 个治愈。采用伊立替康单独治疗未产生部分应答、完全应答或治愈。组合治疗产生 1 个完全应答和 3 个治愈。

[0121] 图 11. 对具有 KB 肿瘤 (114-177mm^3 范围) 的 *nu/nu* 小鼠测量的重量百分比变化 (各治疗组中五个动物的平均值),所述肿瘤 (■) 未治疗 ;或用 :(●) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145,TIW 2 周 ;或 (▲) 40 mg/kg 的伊立替康,BIW 2 周中任一种治疗,或用 (▼) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145, TIW 2 周 + 40 mg/kg 的伊立替康, BIW 2 周治疗。

[0122] 图 12. 对具有 KB 肿瘤 (108-222mm^3 范围) 的 *nu/nu* 小鼠测量的肿瘤体积 (各治疗组中五个动物的平均值),所述肿瘤 (a) 未治疗 ;或用 :(b) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145,TIW 2 周 ;或 (d)5 mg/kg 的阿瓦斯汀 (Avastin)(即贝伐单抗),BIW 2 周中任一种治疗,或 (c)

1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周 + 5 mg/kg 的阿瓦斯汀，BIW 2 周。采用 EC145 单独治疗产生 0 个部分应答 0 个完全应答，和 1 个治愈。采用阿瓦斯汀单独治疗未产生部分应答、完全应答或治愈。组合治疗产生 4 个部分应答和 1 个治愈。

[0123] 图 13. 对具有 KB 肿瘤 (108-222mm^3 范围) 的 *nu/nu* 小鼠测量的重量百分比变化 (各治疗组中五个动物的平均值)，所述肿瘤 (a) 未治疗 ；或用 ：(b) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周 ；或 (d)5 mg/kg 的阿瓦斯汀，BIW 2 周中任一种治疗，或用 (c) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周 + 5 mg/kg 的阿瓦斯汀，BIW 2 周治疗。

[0124] 图 14. 对具有 M109 肿瘤 (86-149mm^3 范围) 的 Balb/c 小鼠测量的肿瘤体积 (各治疗组中五个动物的平均值)，所述肿瘤 (a) 未治疗 ；或用 ：(b) 2 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周 ；或 (c)40 mg/kg 的吉西他滨 (Gemcitabine)，BIW, 5 剂或 (d) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周 + 40 mg/kg 的吉西他滨，BIW，5 剂。采用 EC245 单独治疗产生 0 个部分应答，0 个完全应答，和 2 个治愈。单独采用吉西他滨的治疗未产生部分应答、完全应答或治愈。组合治疗未产生部分应答、完全应答或治愈。

[0125] 图 15. 对具有 M109 肿瘤 (86-149mm^3 范围) 的 Balb/c 小鼠测量的重量百分比变化 (各治疗组中五个动物的平均值)，所述肿瘤 (a) 未治疗 ；或用 ：(b) 2 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周 ；或 (c)40 mg/kg 的吉西他滨，BIW, 5 剂中任一种治疗，或 (d) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周 + 40 mg/kg 的吉西他滨，BIW，5 剂。

[0126] 图 16. 对具有 M109 肿瘤 (范围 99-164mm^3) 的 Balb/c 小鼠测量的肿瘤体积 (各治疗组中五个动物的平均值)，所述肿瘤 (a) 未治疗 ；或用 ：(b) 2 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周 ；或 (c)100 mg/kg 的特罗凯 (Tarceva)(即厄洛替尼)，qd5 2 周中任一种治疗，或 (d) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周 + 100 mg/kg 的特罗凯，qd5 2 周。采用 EC045 单独治疗产生 0 个部分应答 0 个完全应答，和 0 个治愈。采用特罗凯单独治疗未产生部分应答、完全应答或治愈。组合治疗产生 3 个部分应答和 1 个治愈。

[0127] 图 17. 对具有 M109 肿瘤 (99-164mm^3 范围) 的 Balb/c 小鼠测量的重量百分比变化 (各治疗组中五个动物的平均值)，所述肿瘤 (a) 未治疗 ；或用 ：(b) 2 mmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周 ；或 (c)100 mg/kg 的特罗凯，qd5 2 周中任一种治疗，或用 (d) 1 mmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周 + 100 mg/kg 的特罗凯，qd5 2 周治疗。

[0128] 图 18. 等效剂量图 (IC_{80})，其显示 EC145 和特罗凯抗 KB 肿瘤细胞的体外活性是协同性的。

[0129] 图 19. 等效剂量图 (IC_{50} 值)，其显示特罗凯和 EC145 抗 KB 细胞的体外活性是累加性的。

[0130] 图 20. 等效剂量图 (IC_{80} 值)，其显示特罗凯和 EC145 抗 KB 细胞的体外活性是协同性的。

[0131] 图 21. 对具有 KB 肿瘤的 *nu/nu* 小鼠测量的肿瘤体积 (平均值)，所述肿瘤 (■) 未治疗 ；或用 ：(●) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 3 周 ；或 (▲) 100 mg/kg 的特罗凯，BIW 3 周中任一种治疗，或用 (▼) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 3 周 + 100 mg/kg 的特罗凯，BIW 3 周治疗。

[0132] 图 22. 对具有 KB 肿瘤的 *nu/nu* 小鼠测量的重量百分比变化 (平均值)，所述肿瘤 (■) 未治疗 ；或用 ：(●) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 3 周 ；或 (▲) 100 mg/kg 的特

罗凯，BIW 3 周中任一种治疗，或用（▼）1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 3 周 + 100 mg/kg 的特罗凯，BIW 3 周治疗。

[0133] 图 23. 对具有 KB 肿瘤（114-177mm^3 范围）的 *nu/nu* 小鼠测量的肿瘤体积（各治疗组中五个动物的平均值），所述肿瘤 (a) 未治疗；或用：(b) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周；或 (c) 4 mg/kg 的 DOXIL，BIW 2 周中任一种治疗，或 (d) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周 + 4 mg/kg 的 DOXIL，BIW 2 周。采用 EC145 单独治疗产生 1 个部分应答 0 个完全应答，和 0 个治愈。采用 DOXIL 单独治疗产生 1 个部分应答、2 个完全应答和 1 个治愈。组合治疗产生 1 个完全应答和 4 个治愈。

[0134] 图 24. 对具有 KB 肿瘤（114-177mm^3 范围）的 *nu/nu* 小鼠测量的重量百分比变化（各治疗组中五个动物的平均值），所述肿瘤 (a) 未治疗；或用：(b) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周；或 (c) 4 mg/kg 的 DOXIL，BIW 2 周中任一种治疗，或用 (d) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周 + 4 mg/kg 的 DOXIL，BIW 2 周治疗。

[0135] 图 25. 对具有 KB 肿瘤（范围 123-205mm^3）的 *nu/nu* 小鼠测量的肿瘤体积（各治疗组中四个动物的平均值），所述肿瘤 (a) 未治疗；或用：(b) 1 mg/kg/ 注射的长春地辛 (vindesine)，TIW 2 周；或 (c) 5 mg/kg 的 DOXIL，BIW 2 周 (4/4 PR) 中任一项治疗，或用 (d) 1 mg/kg/ 注射的长春地辛，TIW 2 周 + 5 mg/kg 的 DOXIL，BIW 2 周 (0/4 PR) 治疗。未结合的长春地辛拮抗 Doxil 活性。

[0136] 图 26. 对具有 KB 肿瘤（范围 114-177mm^3）的 *nu/nu* 小鼠测量的重量百分比增加（各治疗组中四个动物的平均值），所述肿瘤 (a) 未治疗；或用：(b) 1 mg/kg/ 注射的长春地辛，TIW 2 周；或 (c) 5 mg/kg 的 DOXIL，BIW 2 周中任一种治疗中任一种治疗，或用 (d) 1 mg/kg/ 注射的长春地辛，TIW 2 周 + 5 mg/kg 的 DOXIL，BIW 2 周治疗。未结合的长春地辛拮抗 Doxil 活性。

[0137] 图 27. 对具有 KB 肿瘤（122-192mm^3 范围）的 *nu/nu* 小鼠测量的肿瘤体积（各治疗组中四个动物的平均值），所述肿瘤 (a) 未治疗；或用：(b) 5 mg/kg 的 DOXIL，BIW 2 周 (4/4 PR)；或 (c) 0.75 μmol/kg/ 注射的 DAVLBH，TIW 2 周中任一种治疗，或用 (d) 0.75 μmol/kg/ 注射的 DAVLBH，TIW 2 周 + 5 mg/kg 的 DOXIL，BIW 2 周 (0/4 PR) 治疗。未结合的 DAVLBH 拮抗 Doxil 活性。

[0138] 图 28. 对具有 KB 肿瘤（114-177mm^3 范围）的 *nu/nu* 小鼠测量的重量百分比变化（各治疗组中四个动物的平均值），所述肿瘤 (a) 未治疗；或用：(b) 5 mg/kg 的 DOXIL，BIW 2 周；或 (c) 0.75 μmol/kg/ 注射的 DAVLBH，TIW 2 周中任一种治疗，或用 (d) 0.75 μmol/kg/ 注射的 DAVLBH，TIW 2 周 + 5 mg/kg 的 DOXIL，BIW 2 周治疗。

[0139] 图 29. 长春地辛和阿霉素的组合的体外活性（连续 72 小时治疗）的等效剂量图（IC_{80} 值）显示拮抗作用。

[0140] 图 30. EC145 和阿霉素的组合的体外活性（用阿霉素连续 72 小时治疗，用 EC145 治疗 2 小时）的等效剂量图（IC_{80} 值）显示协同作用。

[0141] 图 31. 阿霉素（IC_{50} 34 nM）和 Doxil（3900 nM）针对 KB 肿瘤细胞的体外细胞毒性。

[0142] 图 32. EC145 和 Doxil 的组合针对 KB 肿瘤细胞的体外活性的等效剂量图（IC_{50} 值）。

[0143] 图 33. EC145 和 Doxil 的组合针对 KB 肿瘤细胞的体外活性的等效剂量图（IC_{60} 值）。

[0144] 图34.EC145和Doxil的组合针对KB肿瘤细胞的体外活性的等效剂量图(IC_{80}值)。

[0145] 图35.EC145治疗(2小时)随后阿霉素治疗(24小时)的组合针对KB肿瘤细胞的体外活性的等效剂量图(IC_{50}值)。

[0146] 图36.阿霉素治疗(24小时)随后EC145治疗(2小时)的组合针对KB肿瘤细胞的体外活性的等效剂量图(IC_{50}值)。

[0147] 图37. EC145治疗(2小时)随后阿霉素治疗(24小时)的组合针对KB肿瘤细胞的体外活性的等效剂量图(IC_{80}值)。

[0148] 图38. 阿霉素治疗(24小时)随后EC145治疗(2小时)的组合针对KB肿瘤细胞的体外活性的等效剂量图(IC_{80}值)。

[0149] 图39.阿霉素治疗和EC145治疗的组合针对J64556淋巴瘤细胞的体外活性的等效剂量图(IC_{80}值)。

[0150] 图40.对具有M109肿瘤的小鼠测量的肿瘤体积(各治疗组中五个动物的平均值),所述肿瘤(a)未治疗;或用:(b) 1 μmol/kg/注射的EC145,TIW 2周(3/5治愈);或(c) 4 mg/kg的DOXIL,BIW 2周(3/5 治愈)中任一项治疗,或用(d) 1 μmol/kg/注射的EC145,TIW 2周 + 4 mg/kg的DOXIL,BIW 2周(5/5 治愈)治疗。

[0151] 图41.对具有M109肿瘤的小鼠测量的重量百分比变化(各治疗组中五个动物的平均值),所述肿瘤(a)未治疗;或用:(b) 1 μmol/kg/注射的EC145,TIW 2周;或(c) 4 mg/kg的DOXIL,BIW 2周中任一种治疗,或(d) 1 μmol/kg/注射的EC145,TIW 2周 + 4 mg/kg的DOXIL,BIW 2周。

[0152] 图42.对具有IGR-OV1肿瘤的小鼠测量的肿瘤体积(各治疗组中五个动物的平均值),所述肿瘤(a)未治疗;或用:(b) 2 μmol/kg/注射的EC145,TIW 2周;或(c) 4 mg/kg的DOXIL,BIW 2周中任一种治疗,或用(d) 2 μmol/kg/注射的EC145,TIW 2周 + 4 mg/kg的DOXIL,BIW 2周治疗。

[0153] 图43.对具有IGR-OV1肿瘤的小鼠测量的重量百分比变化(各治疗组中五个动物的平均值),所述肿瘤(a)未治疗;或用:(b) 2 μmol/kg/注射的EC145,TIW 2周;或(c) 4 mg/kg的DOXIL,BIW 2周中任一种治疗,或用(d) 2 μmol/kg/注射的EC145,TIW 2周 + 4 mg/kg的DOXIL,BIW 2周治疗。

[0154] 图44.对具有OV90肿瘤的mu/mu小鼠测量的肿瘤体积(平均值),所述肿瘤(■)未治疗;或用:(●) 1 μmol/kg/注射的EC145,TIW 3周;或(▲) 4 mg/kg的DOXIL,BIW 3周中任一种治疗,或用(▼) 1 μmol/kg/注射的EC145,TIW 3周 + 4 mg/kg的DOXIL,BIW 3周治疗。

[0155] 图45.对具有OV90肿瘤的mu/mu小鼠测量的重量百分比变化(平均值),所述肿瘤(■)未治疗;或用:(●) 1 μmol/kg/注射的EC145,TIW 3周;或(▲) 4 mg/kg的DOXIL,BIW 3周中任一种治疗,或用(▼) 1 μmol/kg/注射的EC145,TIW 3周 + 4 mg/kg的DOXIL,BIW 3周治疗。

[0156] 图46.对具有L1210A肿瘤(淋巴细胞白血症)的小鼠测量的肿瘤体积(平均值),所述肿瘤(a)未治疗;或用:(b) 2 μmol/kg/注射的EC145,TIW 2周;或(c) 4 mg/kg的DOXIL,BIW 2周中任一种治疗,或用(d) 2 μmol/kg/注射的EC145,TIW 2周 + 4 mg/kg的DOXIL,BIW 2周治疗。

[0157] 图47. 对具有L1210A肿瘤（淋巴细胞白血症）的小鼠测量的重量百分比变化（平均值），所述肿瘤 (a) 未治疗；或用：(b) 2 μmol/kg/ 注射的EC145，TIW 2周；或 (c) 4 mg/kg 的DOXIL，BIW 2周中任一种治疗，或用 (d) 2 μmol/kg/ 注射的EC145，TIW 2周 + 4 mg/kg 的DOXIL，BIW 2周治疗。

[0158] 图48. 用 (a) EC145 + 1 mM拉帕替尼或 (b) EC145 + 1μM拉帕替尼+ 100 μM叶酸治疗耐EC145的KB-DR300肿瘤细胞。据认为拉帕替尼阻断来自KB-DR200细胞的DALVBH pgp 流出物。

[0159] 图49. 拉帕替尼针对 (a)RAW细胞 (IC_{50} 2.85 μM)、(b) IGR-OV1细胞 (IC_{50} 1.75 μM) 和OV90细胞 (IC_{50} 2.46 μM) 三种细胞系具有极小活性。

[0160] 图50. 抗长春花生物碱KB-DR300、NCI/ADR和NCI.ADR-C12具有高pgp表达。MRD-16识别外部pgp表位。对KB-DR300、NCI/ADR和NCI.ADR-C12细胞系进行MRK-16（α-P-gp）FACS分析。

[0161] 图51. 用拉帕替尼和EC145共治疗耐长春花的细胞系 (NCI/ADR-c12和KB-DR300) 增加EC145的活性。EC145对非耐性细胞 (KB肿瘤细胞）的活性似乎未受拉帕替尼的添加影响。

[0162] 图52. 对于拉帕替尼的几个日用剂量的中值稳态血清浓度特征。协同作用在约1 μM的人血浆稳态拉帕替尼浓度出显现。

[0163] 图53. 拉帕替尼增加IGR-OV1和OV90肿瘤细胞中的EC145活性。(a) 用EC145治疗IGR-OV1细胞 (IC_{50} 3.58 nM)，(b) 用EC145 +拉帕替尼治疗IGR-OV1细胞 (IC_{50} 0.73 nM)，(c) 用EC145治疗OV90细胞 (IC_{50} 329 nM)，和 (d) 用EC145 +拉帕替尼治疗OV90细胞 (IC_{50} 179 nM)

图54. 对具有KB肿瘤 (109-188mm^3 范围）的*nu/nu*小鼠测量的肿瘤体积（各治疗组中五个动物的平均值），所述肿瘤（■）未治疗；或用：（●）1 μmol/kg/ 注射的EC145，TIW 2周；或（▲）100 mg/kg的拉帕替尼，BID qd5 2周中任一种治疗，或用（▼）1 μmol/kg/ 注射的EC145，TIW 2周 + 100 mg/kg的拉帕替尼，BID qd5 2周治疗。

[0164] 图55. 对具有KB肿瘤（范围109-188mm^3）的*nu/nu*小鼠测量的重量百分比变化（各治疗组中五个动物的平均值），所述肿瘤（■）未治疗；或用：（●）1 μmol/kg/ 注射的EC145，TIW 2周；或（▲）100 mg/kg的拉帕替尼，BID qd5 2周中任一种治疗，或用（▼）1 μmol/kg/ 注射的EC145，TIW 2周 + 100 mg/kg的拉帕替尼，BID qd5 2周治疗。

[0165] 图56. 对具有KB肿瘤（范围109-188mm^3）的*nu/nu*小鼠测量的肿瘤体积（各治疗组中五个动物的平均值），所述肿瘤（■）未治疗；或用：（●）1 μmol/kg/ 注射的EC145，TIW 2周；或（▲）100 mg/kg的Alimta，qd5 2周中任一种治疗，或用（▼）1 μmol/kg/ 注射的EC145，TIW 2周 + 100 mg/kg的Alimta，qd5 2周治疗。在第2至19天的研究期间（治疗之前5天至治疗的最后一天），群组全部经由口腔灌胃接受5MTHF = 320μg/kg (705 nmol/kg)。

[0166] 图57. 对具有KB肿瘤（范围109-188mm^3）的*nu/nu*小鼠测量的重量百分比变化（各治疗组中五个动物的平均值），所述肿瘤（■）未治疗；或如下治疗：（●）1 μmol/kg/ 注射的EC145，TIW 2周；或（▲）100 mg/kg的Alimta，qd5 2周或（▼）1 μmol/kg/ 注射的EC145，TIW 2周 + 100 mg/kg的Alimta，qd5 2周。在2至19天的研究期间

(治疗之前5天至治疗的最后一天),所有同期组群经由口腔强饲法接受5MTHF = 320μg/kg (705 nmol/kg)。

[0167] 图58.EC145(治疗2小时)和长春瑞滨(治疗72小时)的组合针对KB肿瘤细胞的体外活性的等效剂量图(IC_{50}值)。

[0168] 图59.EC145(治疗2小时)和长春瑞滨(治疗72小时)的组合针对KB肿瘤细胞的体外活性的等效剂量图(IC_{60}值)。

[0169] 定义

如本文中所用,术语"抑制肿瘤生长"意思是经用EC145和附加化学治疗药物的治疗过程肿瘤尺寸减小,肿瘤完全消失,或者患者肿瘤的生长小于30%。

[0170] 如本文中所用,在治疗方法、用途、组合物、药用组合物、组合或试剂盒的背景下,术语"拓扑替康"意思是包含通过化学文摘登记号123948-87-8鉴别的化学治疗剂、或其药用可接受的盐的组合物;并且该化学治疗剂可以电离形式或非电离形式存在于溶液或悬浮体中。

[0171] 如本文中所用,在治疗方法、用途、组合物、药用组合物、组合、或试剂盒的背景下,术语"顺铂"意思是包含通过化学文摘登记号15663-27-1鉴别的化学治疗剂的组合物;并且该化学治疗剂可以存在于溶液或悬浮体中。

[0172] 如本文中所用,在治疗方法、用途、组合物、药用组合物、组合、或试剂盒的背景下,术语"卡铂"意思是包含通过化学文摘登记号41575-94-4鉴别的化学治疗剂的组合物;并且该化学治疗剂可以存在于溶液或悬浮体中。

[0173] 如本文中所用,在治疗方法、用途、组合物、药用组合物、组合或试剂盒的背景下,术语"伊立替康"意思是包含通过化学文摘登记号100286-90-6鉴别的化学治疗剂、或其药用可接受的盐的组合物;并且该化学治疗剂可以存在于溶液或悬浮体中。

[0174] 如本文中所用,在治疗方法、用途、组合物、药用组合物、组合或试剂盒的背景下,术语"贝伐单抗"意思是包含通过化学文摘登记号216974-75-3鉴别的化学治疗剂、或其药用可接受的盐的组合物;并且该化学治疗剂可以存在于溶液或悬浮体中。

[0175] 如本文中所用,在治疗方法、用途、组合物、药用组合物、组合或试剂盒的背景下,术语"吉西他滨"意思是包含通过化学文摘登记号95058-81-4鉴别的化学治疗剂、或其药用可接受的盐的组合物;并且该化学治疗剂可以存在于溶液或悬浮体中。

[0176] 如本文中所用,在治疗方法、用途、组合物、药用组合物、组合或试剂盒的背景下,术语"厄洛替尼"意思是包含通过化学文摘登记号183321-74-6鉴别的化学治疗剂、或其药用可接受的盐的组合物;并且该化学治疗剂可以存在于溶液或悬浮体中。

[0177] 如本文中所用,在治疗方法、用途、组合物、药用组合物、组合或试剂盒的背景下,术语"拉帕替尼"意思是包含通过化学文摘登记号231277-92-2鉴别的化学治疗剂、或其药用可接受的盐的组合物;并且该化学治疗剂可以存在于溶液或悬浮体中。

[0178] 如本文中所用,在治疗方法、用途、组合物、药用组合物、组合或试剂盒的背景下,术语"培美曲塞"意思是包含通过化学文摘登记号137281-23-3鉴别的化学治疗剂、或其药用可接受的盐的组合物;并且该化学治疗剂可以存在于溶液或悬浮体中。

[0179] 如本文中所用,在治疗方法、用途、组合物、药用组合物、组合或试剂盒的背景下,术语"长春瑞滨"意思是包含通过化学文摘登记号71486-22-1鉴别的化学治疗剂、或其药

用可接受的盐的组合物；并且该化学治疗剂可以存在于溶液或悬浮体中。

[0180] 说明性实施方案的详细说明

通过以下列举的条款描述本发明的若干实施方案，并且在本申请的详细说明部分中描述的每个实施方案均适用于每个以下实施方案：

1. 一种治疗癌症的方法，该方法包含以下步骤：与一种或更多种化学治疗剂组合施用EC145，所述化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0181] 2. 条款 1 的方法，其中一种或更多种化学治疗剂选自阿霉素、顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

[0182] 3. 条款 1 或 2 的方法，其中该化学治疗剂是卡铂。

[0183] 4. 条款 1 或 2 的方法，其中该化学治疗剂是贝伐单抗。

[0184] 5.EC145 与一种或更多种化学治疗剂组合用于治疗表达叶酸盐受体的癌细胞的用途，所述化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0185] 6. 条款 5 的用途，其中一种或更多种化学治疗剂选自阿霉素、顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

[0186] 7. 条款 5 或 6 的用途，其中该化学治疗剂是卡铂。

[0187] 8. 条款 5 或 6 的用途，其中该化学治疗剂是贝伐单抗。

[0188] 9.EC145 用于制造与一种或更多种化学治疗剂组合来治疗表达叶酸盐受体的癌细胞的药剂的用途，所述化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0189] 10. 条款 9 的用途，其中一种或更多种化学治疗剂选自阿霉素、顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

[0190] 11. 条款 9 或 10 的用途，其中该化学治疗剂是卡铂。

[0191] 12. 条款 9 或 10 的用途，其中该化学治疗剂是贝伐单抗。

[0192] 13. 先前条款中任一项的方法或用途，其中该表达叶酸盐受体的细胞是上皮肿瘤细胞。

[0193] 14. 条款 13 的方法或用途，其中该上皮肿瘤是卵巢肿瘤、子宫内膜肿瘤或非小细胞肺肿瘤。

[0194] 15. 条款 13 至 14 中任一项的方法或用途，其中该表达叶酸盐受体的上皮肿瘤是卵巢肿瘤。

[0195] 16. 条款 13 至 15 中任一项的方法或用途，其中该肿瘤是原发性肿瘤。

[0196] 17. 条款 13 至 15 中任一项的方法或用途，其中该肿瘤是转移性肿瘤。

[0197] 18. 前述条款中任一项的方法或用途，其中该化学治疗剂以针对该化学治疗剂的最大耐受剂量的 50-80% 的剂量施用。

[0198] 19. 一种包含 EC145 和一种或更多种化学治疗剂的药用组合物，所述化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0199] 20. 条款 19 的组合物，其中一种或更多种化学治疗剂选自阿霉素、顺铂、卡铂、拓

扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

[0200] 21. 条款 19 至 20 的组合物，其中该化学治疗剂是卡铂。

[0201] 22. 条款 19 至 20 的组合物，其中该化学治疗剂是贝伐单抗。

[0202] 23. 一种用于治疗癌症的包含 EC145 和一种或更多种化学治疗剂的组合物，所述化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0203] 24. 条款 23 的组合物，其中一种或更多种化学治疗剂选自阿霉素、顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

[0204] 25. 条款 23 或 24 的组合物，其中该化学治疗剂是卡铂。

[0205] 26. 条款 23 或 24 的组合物，其中该化学治疗剂是贝伐单抗。

[0206] 27. 前述条款中任一项的组合物、方法、或用途，其中该 EC145 或该化学治疗剂是肠胃外剂量形式。

[0207] 28. 前述条款中任一项的组合物、方法、或用途，其中该剂量形式选自皮内剂量形式、皮下剂量形式、肌肉内剂量形式、腹膜内剂量形式、静脉内剂量形式和鞘内剂量形式。

[0208] 29. 前述条款中任一项的组合物、方法、或用途，其中该 EC145 或该化学治疗剂处于组合物中并且其中该组合物进一步包含药用可接受的载体。

[0209] 30. 条款 29 的组合物、方法或用途，其中该药用可接受的载体是液体载体。

[0210] 31. 条款 30 的组合物、方法或用途，其中该液体载体选自盐水、葡萄糖、醇、乙二醇、酯、酰胺及其组合。

[0211] 32. 前述条款中任一项的组合物、方法、或用途，其中该 EC145 或该化学治疗剂是按治疗有效量施用。

[0212] 33. 条款 32 的组合物、方法或用途，其中有效量的范围为每千克体重约 1 ng 至约 1 mg。

[0213] 34. 条款 33 的组合物、方法或用途，其中有效量的范围为每千克体重约 100 ng 至约 500 μg。

[0214] 35. 条款 34 的组合物、方法或用途，其中有效量的范围为每千克体重约 100 ng 至约 50 μg。

[0215] 36. 前述条款中任一项的组合物、方法、或用途，其中该肿瘤是耐铂的卵巢肿瘤。

[0216] 37. 一种治疗癌症的方法，该方法包含以下步骤：

向患者施用 EC145；和

向所述患者施用一种或更多种附加化学治疗剂，所述化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0217] 38. EC145 与一种或更多种附加化学治疗剂组合用于治疗表达叶酸盐受体的癌细胞的用途，所述附加化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0218] 39. EC145 用于制造与一种或更多种附加化学治疗剂组合来治疗表达叶酸盐受体的癌细胞的药剂的用途，所述附加化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝

分裂抑制。

[0219] 40. 条款 37 至 39 中任一项的方法或用途，其中该附加化学治疗剂选自阿霉素、顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

[0220] 41. 条款 37 至 40 中任一项的方法或用途，其中所述附加化学治疗剂选自卡铂和贝伐单抗。

[0221] 42. 条款 37 至 41 中任一项的方法或用途，其中该附加化学治疗剂是卡铂。

[0222] 43. 条款 37 至 41 中任一项的方法或用途，其中该附加化学治疗剂是贝伐单抗。

[0223] 44. 条款 38 至 43 中任一项的用途，其中该表达叶酸盐受体的细胞是上皮肿瘤细胞。

[0224] 45. 条款 44 的用途，其中该上皮肿瘤是卵巢肿瘤、子宫内膜肿瘤、或非小细胞肺肿瘤。

[0225] 46. 条款 45 的用途，其中该表达叶酸盐受体的上皮肿瘤是卵巢肿瘤。

[0226] 47. 条款 45 的用途，其中该表达叶酸盐受体的上皮肿瘤是非小细胞肺肿瘤。

[0227] 48. 条款 37 或 43 至 43 中任一项的方法，其中该癌症是上皮癌。

[0228] 49. 条款 48 的方法，其中该上皮癌是卵巢癌、子宫内膜癌、或非小细胞肺癌。

[0229] 50. 条款 49 的方法，其中该上皮癌是卵巢癌。

[0230] 51. 条款 49 的方法，其中该上皮癌是非小细胞肺癌。

[0231] 52. 条款 37 至 51 中任一项的方法或用途，其中该癌症或该癌细胞包含原发性肿瘤。

[0232] 53. 条款 37 至 51 中任一项的方法或用途，其中该癌症或该癌细胞包含转移性肿瘤细胞。

[0233] 54. 条款 37 至 53 中任一项的方法或用途，其中该附加化学治疗剂以针对该化学治疗剂的最大耐受剂量的 50 至 80% 的剂量施用。

[0234] 55. 条款 37 至 54 中任一项的方法或用途，其中该 EC145 和该一种或多种附加化学治疗剂是肠胃外剂量形式。

[0235] 56. 条款 55 的方法或用途，其中该剂量形式独立选自皮内、皮下、肌内、腹膜内、静脉内和鞘内。

[0236] 57. 条款 37 至 56 中任一项的方法或用途，其中该 EC145 处于组合物中并且该附加化学治疗剂处于组合物中，并且其中该组合物还包含药用可接受的载体。

[0237] 58. 条款 57 的方法或用途，其中该药用可接受的载体是液体载体。

[0238] 59. 条款 58 的方法或用途，其中该液体载体独立选自盐水、葡萄糖、醇、乙二醇、酯、酰胺及其组合。

[0239] 60. 条款 37 至 59 中任一项的方法或用途，其中该 EC145 和该化学治疗剂是按治疗有效量施用。

[0240] 61. 条款 60 的方法或用途，其中有效量范围为约 1 μg/m^2 至约 500 mg/m^2 身体表面积。

[0241] 62. 条款 61 的方法或用途，其中有效量范围为约 1 μg/m^2 至约 300 mg/m^2 身体表面积。

[0242] 63. 条款 60 的方法或用途，其中有效量范围为约 10 μg/kg 至约 100 μg/kg 患者

体重。

[0243] 64. 条款 50 的方法，其中该癌症是耐铂的卵巢癌。

[0244] 65. 条款 46 的用途，其中该肿瘤是耐铂的卵巢肿瘤。

[0245] 66. 条款 37 至 65 中任一项的方法或用途，其中该 EC145 和该附加化学治疗剂处于无菌容器或包装中。

[0246] 67. 条款 37 至 66 中任一项的方法或用途，其中基于重量百分比，该 EC145 和该附加化学治疗剂具有至少 90% 的纯度。

[0247] 68. 条款 37 至 67 中任一项的方法或用途，其中该 EC145 呈可复水冷冻干产物的形式。

[0248] 69. 条款 37 至 68 中任一项的方法或用途，其中该 EC145 和该附加化学治疗剂处于无菌、无热原的水溶液中。

[0249] 70. 一种包含 EC145 和一种或更多种附加化学治疗剂的组合物或组合，所述附加化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0250] 71. 一种用于治疗癌症的组合物或组合，其包含 EC145 和一种或更多种附加化学治疗剂，所述化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0251] 72. 一种包含 EC145 和一种或更多种附加化学治疗剂的试剂盒，所述附加化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

[0252] 73. 条款 70 至 72 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中该附加化学治疗剂选自阿霉素、顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

[0253] 74. 条款 70 至 73 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中所述附加化学治疗剂选自卡铂和贝伐单抗。

[0254] 75. 条款 70 至 74 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中该附加化学治疗剂是卡铂。

[0255] 76. 条款 70 至 74 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中该附加化学治疗剂是贝伐单抗。

[0256] 77. 条款 70 至 76 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中该 EC145 和该附加化学治疗剂是肠胃外剂量形式。

[0257] 78. 条款 77 的组合物、组合、或试剂盒，其中该剂量形式独立选自皮内、皮下、肌内、腹膜内、静脉内和鞘内。

[0258] 79. 条款 70 至 78 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中该 EC145 和该附加化学治疗剂处于药用组合物中，并且该组合物还包含药用可接受的载体。

[0259] 80. 条款 79 的组合物、组合、或试剂盒，其中该药用可接受的载体是液体载体。

[0260] 81. 条款 80 的组合物、组合、或试剂盒，其中该液体载体独立选自盐水、葡萄糖、醇、乙二醇、酯、酰胺及其组合。

[0261] 82. 条款 70 至 81 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中该 EC145 和该化学治疗剂处于治疗有效量。

[0262] 83. 条款 70 至 82 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中该 EC145 和该附加化学治疗剂处于无菌容器或包装中。

[0263] 84. 条款 70 至 83 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中基于重量百分比，该 EC145 和该附加化学治疗剂具有至少 90% 的纯度。

[0264] 85. 条款 70 至 83 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中基于重量百分比，该 EC145 和该附加化学治疗剂具有至少 95% 的纯度。

[0265] 86. 条款 70 至 85 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中该 EC145 呈可复水冷冻干产物的形式。

[0266] 87. 条款 70 至 86 中任一项的组合物、组合、或试剂盒，其中该 EC145 和该附加化学治疗剂处于无菌、无热原的水溶液中。

[0267] 88. 条款 37 至 59 中任一项的方法或用途，其中该 EC145 和 / 或该附加化学治疗剂以低于它们的最大可耐受剂量的剂量来施用。

[0268] 在本文所述的不同实施方案的任一个中，若适合可以存在以下特征，提供本发明的附加实施方案。

[0269] 对所有实施方案，还构思了实施方案的任何可适用的组合。上述实施方案的任何可适用的组合被认为与本发明一致。

[0270] 在本文所述的方法、用途、组合物、组合、药用组合、或试剂盒的各种实施方案中，EC145 可以单独施用或与一种或更多种附加化学治疗剂（顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼、或培美曲塞、或这些药剂的任何组合）组合施用。在本文所述的各种实施方案中，其它化学治疗剂可以选自具有选自以下作用模式的药物：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。应理解，其它药物可以具有一种以上的作用模式。在一个说明性实施方案中，EC145 可以与选自顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞的至少一种化学治疗剂组合施用。

[0271] 在本文所述的组合物、方法、用途、药用组合物、组合、或试剂盒的其它实施方案中，描述本文所述的结合物的药用可接受的盐。本文所述的结合物的药用可接受的盐包括它们的酸加成盐和碱盐。

[0272] 合适的酸加成盐由形成无毒盐的酸形成。说明性实例包括乙酸盐，天冬氨酸盐，苯甲酸酯，苯磺酸盐，碳酸氢盐 / 碳酸盐，硫酸氢盐 / 硫酸盐，硼酸酯，樟脑磺酸盐，柠檬酸盐，乙二磺酸盐，乙磺酸盐，甲酸盐，延胡索酸盐，葡庚糖酸盐，葡萄糖酸盐，葡糖醛酸盐，六氟磷酸盐，羟苯酰苯酸盐，盐酸盐 / 氯化物，氢溴化物 / 溴化物，氢碘化物 / 碘化物，羟乙基磺酸盐，乳酸酯，苹果酸酯，顺丁烯二酸，丙二酸盐，甲磺酸盐，甲基硫酸盐，萘基盐 (naphthylate)，2- 萘磺酸盐，烟酸盐，硝酸盐，乳清酸盐，草酸酯，棕榈酸酯，扑酸盐，磷酸酯 / 磷酸氢盐 / 磷酸二氢盐，蔗糖酸盐，硬脂酸盐，琥珀酸盐，酒石酸盐，甲苯磺酸盐和三氟醋酸盐。

[0273] 本文所述的结合物的合适的碱盐由形成无毒盐的碱形成。说明性实例包括精氨酸盐、苄星青霉素 G 盐、钙盐、胆碱盐、二乙胺盐、二乙醇胺盐、甘氨酸盐、赖氨酸盐、镁盐、葡甲胺盐、乙醇胺盐、钾盐、钠盐、缓血酸胺盐和锌盐。也可形成酸和碱的半盐，例如半硫酸盐和半钙盐。

[0274] 在一个实施方案中，本文所述的结合物或附加化学治疗剂可以用作与一种或更多种药用可接受的载体结合的制剂施用。所述载体可以是赋形剂。载体的选择将很大程度上取决于诸如给药的具体模式、载体对可溶性和稳定性的影响和剂型的性质之类因素。适于递送本文所述的结合物或附加化学治疗剂的药用组合物和用于其制备的方法将容易对本领域技术人员显而易见。这种组合物和用于其制备的方法可以例如见于：Remington，The Science & Practice of Pharmacy，第21版（Lippincott Williams & Wilkins，2005），其以引用方式并入本文。

[0275] 在一个说明性的方面，药用可接受的载体包括任何和所有溶剂，分散体介质，涂层，抗细菌和抗真菌剂，等渗压和吸收延迟剂等等，和它们的组合，它们在生理上是可相容的。在一些实施方案中，载体适于肠道外给药。药用可接受的载体包括无菌水溶液或分散体以及用于即时制备无菌可注射溶液或分散体的无菌粉剂。补充活性化合物也可掺入本发明的组合物中。

[0276] 在各种实施方案中，液体制剂可以包括悬浮体和溶液。这种制剂可以包含载体，例如水、乙醇、聚乙二醇、丙二醇、甲基纤维素、或合适的油、和一种或更多种乳化剂和/或悬浮剂。也可通过例如由小袋使固体复水，制备液体制剂。

[0277] 在一个实施方案中，水性悬浮体可以含有与适当赋形剂混合的活性物质。这种赋形剂是悬浮剂，例如，羧甲基纤维素钠，甲基纤维素，羟丙基甲基纤维素，藻朊酸钠，聚乙烯吡咯烷酮，黄蓍胶和金合欢树胶；分散或润湿剂，其可能是自然产生的磷脂，例如卵磷脂；烯基氧化物与脂肪酸的缩合产物，例如聚氧化乙烯硬脂酸酯；氧化乙烯与长链脂族醇的缩合产物，例如十七乙烯氧基鲸蜡醇；氧化乙烯与衍生自脂肪酸和己糖醇的偏酯的缩合产物，例如聚氧化乙烯山梨糖醇单油酸酯；或氧化乙烯与衍生自脂肪酸和己糖醇酐的偏酯的缩合产物，例如聚氧化乙烯山梨聚糖单油酸酯。水性悬浮体也可含有一种或更多种防腐剂，例如抗坏血酸、乙基、正丙基、或对羟苯酸盐；或一种或更多种着色剂。

[0278] 在一个说明性实施方案中，适于通过水的添加制备水性悬浮体的可分散粉末和颗粒与分散或润湿剂、悬浮剂和一种或更多种防腐剂混合的活性成分。也可存在附加赋形剂（例如着色剂）。

[0279] 合适的乳化剂可以是自然产生的树胶，例如金合欢树胶或黄蓍胶；自然产生的磷脂，例如大豆卵磷脂；和酯类，包括衍生自脂肪酸和己糖醇酐的偏酯，例如山梨聚糖单油酸酯；和所述偏酯与氧化乙烯的缩合产物，例如聚氧化乙烯山梨聚糖单油酸酯。

[0280] 在其它实施方案中，等渗剂例如糖类，多元醇例如甘露糖醇、山梨糖醇，或氯化钠可以被包括在组合物内。通过将延迟吸收的药剂例如单硬脂酸盐和白明胶包括在该组合物内，可以导致可注射组合物的延长吸收。

[0281] 在一个方面，本文所述的结合物或附加化学治疗剂可以直接施用到血流中，肌肉中，或内脏器官中。用于这种肠道外给药的合适路径包括静脉内的、动脉内的、腹膜内的、鞘内的、硬膜外的、脑室内的、尿道内的、胸骨内的、颅内的、瘤内的、肌肉内的和皮下的递送。用于肠道外给药的合适方法包括针（包括显微针）注射器，无针注射器和输注技术。

[0282] 在一个说明性的方面，肠道外制剂一般为水溶液，其可以含有载体或赋形剂例如盐、碳水化合物和缓冲剂（优选pH为3至9），但对于某些申请，它们可以更合适地配制为无菌非水性溶液或配制为将与合适的载剂例如无菌无热原水结合使用的干燥形式。在其它实

施方案中，本文所述的任何液体制剂可以适应于本文所述的结合物或附加化学治疗剂的肠道外给药。无菌条件下肠道外制剂的制备，例如无菌条件下通过冷冻干燥制备，可以容易地使用本领域技术人员熟知的标准制药技术来实现。例如，通过美国申请序列号 61/474,428 中描述的方法，可以冻干 EC145，所述申请以引用方式并入本文。在另一实施方案中，EC145 可以作为可复水冷冻干产物存在。在一个实施方案中，通过使用适当的配制技术、例如掺入增强可溶性的药剂，肠道外制剂的制备中使用的结合物或附加化学治疗剂的可溶性可以增加。EC145 配制描述于美国申请序列号 61/474,428、PCT/US11/037134 和 WO 2011/014821 中，所述专利均以引用方式并入本文全文。

[0283] 在各种实施方案中，对于肠道外给药的制剂可以被配制用于即释和 / 或调释。在一个说明性的方面，本发明的活性剂可以以定时释放制剂、例如以包括缓释聚合物的组合物来施用。可以用将保护该化合物以免快速释放的载体，例如受控释放制剂（包括植入物和微型胶囊递送系统），制备活性化合物。可以使用可生物降解的可生物相容聚合物，例如乙酸乙烯乙烯酯，聚酐，聚乙醇酸，胶原，聚原酸酯，聚乳酸和聚乳酸、聚乙醇酸共聚物 (PGLA)。用于制备这种制剂的方法通常是本领域技术人员已知的。在另一实施方案中，在适当情况下，本文所述的结合物或附加化学治疗剂或包含该结合物或附加化学治疗剂的组合物可以连续地施用。

[0284] 在一个实施方案中，提供一种试剂盒。如果将施用活性化合物的组合，则可以适于顺序给药或组合物的共给药的形式，组合两个或两个以上药用组合物。这种试剂盒包含两个或两个以上的单独药用组合物，其中至少一种含有本文所述的结合物，以及用于单独地保持该组合物的构件，例如容器、分装瓶、或分装箔包。在另一实施方案中，提供在容器中的包含本文所述的结合物或附加化学治疗剂的组合物，所述容器具有提供结合物治疗的使用说明的标签。还提供待施用的附加化学治疗剂（如顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼、或培美曲塞、或它们的组合）的使用说明。

[0285] 在一个实施方案中，通过按需要，将适当溶剂中所需量的活性剂与一种如上所述成份或成份组合合并，随后无菌过滤，可以制备无菌可注射溶液。一般而言，通过将活性化合物掺入含有分散体介质和如上所述的任何附加成份的无菌载剂中，制备分散体。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉剂的情况下，优选的制备方法是真空干燥和冷冻干燥，其产生活性成分和来自其先前无菌滤液的附加所需成份的粉末，或者所述成份可以一起被无菌过滤。

[0286] 该组合物可以配制为溶液、微乳剂、脂质体、或适于高药物浓度的其它有序结构。载剂可为含有（例如）水、乙醇、多元醇（例如，甘油、丙二醇或液体聚乙二醇等等）和它们的混合物的溶剂或分散体介质。。在一个实施方案中，例如，通过使用诸如卵磷脂的涂层，通过在分散体的情况下维持所需粒径和通过使用表面活性剂，可以维持合适的流动性。

[0287] 可以使用用于施用 EC145 和附加化学治疗剂的任何有效方案。例如，EC145 和附加化学治疗剂（即药物）可以作为单剂量施用，或可以作为多次剂量日用方案分装和施用。此外，交错方案（例如，每周一至五天）可以用作每日治疗的替代形式，并且对本文所述的方法来说，认为这种间歇或交错的日用方案等价于每天治疗并被涵盖。在一个说明性实施方案中，用 EC145 和附加化学治疗剂的多次注射来治疗患者，以消除肿瘤。在一个实施方案中，例如，以 12 至 72 小时间隔或 48 至 72 小时间隔，用 EC145 和附加化学治疗剂对患者多

次注射（优选约 2 次，至多约 50 次）。可以在初次注射之后按数日或数月的间隔对患者施以 EC145 和附加药物的额外注射，并且所述额外注射可以防止癌症的复发。在另一实施方案中，用于附加化学治疗剂的方案不同于 EC145。

[0288] EC145 和附加化学治疗剂的单位日剂量可以显著地变化，这取决于患者条件，治疗的疾病情况，化合物的纯度和其给药途径和组织分布，以及其它治疗处理（例如辐射疗法）的共同使用的可能性。将向患者施用的有效量是基于身体表面积、质量和患者状况的医师评估决定。有效剂量的范围可以例如为约 1 ng/kg 至约 1 mg/kg，约 1 μg/kg 至约 500 μg/kg，和约 1 μg/kg 至约 100 μg/kg。这些剂量是基于约 70 kg 的平均患者重量计，并且所述 kg 是患者体重（质量）的 kg。

[0289] EC145 和附加化学治疗剂可以各自按以下剂量施用：约 1.0 ng/kg 至约 1000 μg/kg，约 10 ng/kg 至约 1000 μg/kg，约 50 ng/kg 至约 5000 μg/kg，约 100 ng/kg 至约 10000 μg/kg，约 500 ng/kg 至约 1000 μg/kg，约 1 ng/kg 至约 500 μg/kg，约 1 ng/kg 至约 100 μg/kg，约 1 μg/kg 至约 50 μg/kg，约 1 μg/kg 至约 10 μg/kg，约 5 μg/kg 至约 500 μg/kg，约 10 μg/kg 至约 100 μg/kg，约 20 μg/kg 至约 200 μg/kg，约 10 μg/kg 至约 500 μg/kg，或约 50 μg/kg 至约 500 μg/kg。总剂量可以按单独或分开剂量施用，并且可以在医师的慎重考虑之下处于在本文中提供的典型范围之外。这些剂量是基于约 70 kg 的平均患者重量计，并且所述“kg“是患者体重（质量）的千克数。医师将容易能够确定用于体重在所述范围外的受治疗者例如婴儿和老人的剂量。

[0290] 在另一实施方案中，EC145 和附加化学治疗剂可以各自按以下剂量施用：约 1 μg/m^2 至约 500 mg/m^2，约 1 μg/m^2 至约 300 mg/m^2，或约 100 μg/m^2 至约 200 mg/m^2。在其它实施方案中，EC145 和附加药物可以各自按以下剂量施用：约 1 mg/m^2 至约 500 mg/m^2，约 1 mg/m^2 至约 300 mg/m^2，约 1 mg/m^2 至约 200 mg/m^2，约 1 mg/m^2 至约 100 mg/m^2，约 1 mg/m^2 至约 50 mg/m^2，或约 1 mg/m^2 至约 600 mg/m^2。总剂量可以按单独或分开剂量施用，并且可以在医师的慎重考虑之下处于在本文中提供的典型范围之外。这些剂量是基于身体表面积的 m^2 数计。

[0291] 本文所述的结合物和化学治疗剂可以含有一个或更多个手性中心，或可以能够作为多个立体异构体存在。因此，应了解，本发明包括纯立体异构体以及立体异构体的混合物，例如对映体、非对映体以及富含对映体或非对映体的混合物。本文所述的结合物和化学治疗剂可以能够作为几何同分异构体存在。因此，应了解，本发明包括纯几何同分异构体或几何同分异构体的混合物。

[0292] 应了解，本文所述的结合物和化学治疗剂可以非溶剂化形式以及溶剂化形式（包括水合形式）存在。一般说来，溶剂化形式等价于非溶剂化形式并且涵盖在本发明范围之内。本文所述的结合物和化学治疗剂可以以多种结晶或非晶形式存在。一般说来，所有物理形式对本发明所涵盖的用途是等价的，并且旨在处于在本发明范围之内。

[0293] 在另一实施方案中，用于 EC145 或附加化学治疗剂的给药的组合物和 / 或剂型是由纯度至少约 90%、或约 95%、或约 96%、或约 97%、或约 98%、或约 99%、或约 99.5% 的化合物制备。在另一实施方案中，用于 EC145 或附加药物的给药的组合物和 / 或剂型是由纯度至少约 90%、或约 95%、或约 96%、或约 97%、或约 98%、或约 99%、或约 99.5% 的化合物制备。

[0294] 如本文中所用，纯度测定可以基于重量百分比、摩尔百分比等等。另外，纯度测定

可以基于某些预定成分的缺乏或实质性缺乏，例如但不限于，叶酸，含有不含长春花药物的成分的二硫化物，氧化产物，不含有叶酸盐的二硫化物成分等等。还应了解，纯度测定适用于由本文所述的方法净化的化合物和组合物的溶液。在那些情况下，纯度测量(包括重量百分比和摩尔百分比测量)涉及除去溶剂的溶液成分。在另一实施方案中，将 EC145 提供在无菌容器或包装中。

[0295] EC145 或附加药物的纯度可以使用任何常规技术测量，所述技术包括各种色谱或光谱技术，例如高压或高性能液相色谱法 (HPLC)，核磁性共振波谱法，TLC，紫外线吸收光谱法，荧光光谱学等等。

[0296] 表面表达的维生素受体(例如高亲合力叶酸盐受体)在癌细胞上过表达。卵巢、乳腺、结肠、肺、鼻、喉部和脑部的上皮细胞癌均被报告表达高水平的叶酸盐受体。实际上，已知所有人卵巢肿瘤中的大于 90% 表达大量的这种受体。因此，本文所述的组合疗法可用于治疗各种各样的肿瘤细胞类型。

[0297] 本文所述的疗法可以用于人临床医学应用和兽医应用。因此，隐匿有致病细胞的群体并且用组合疗法治疗的寄主动物可以是人（即患者），或在兽医应用的情况下，可以是实验室动物、农业动物、驯养动物或野生动物。本文所述的方法可以应用于人，实验室动物如啮鼠动物（如小鼠、大鼠、仓鼠等）、兔子、猴子、黑猩猩，家畜如狗、猫和兔子，农业动物如奶牛、马、猪、绵羊、山羊，和圈养野生动物如熊、大熊猫、狮子、老虎、豹、象、斑马、长颈鹿、大猩猩、海豚和鲸。

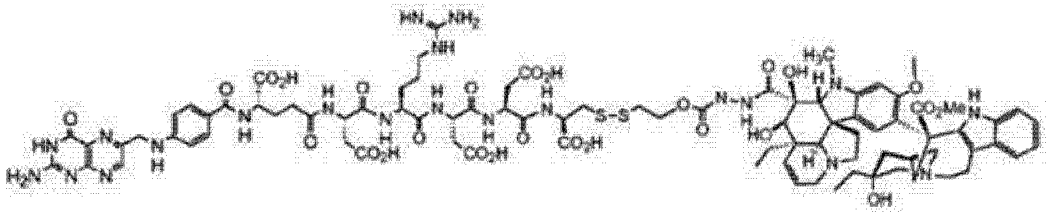
[0298] 在一个方面，利用实体肿瘤的疗效评价 (RECIST) 标准来表征治疗的应答。说明性地，该标准已从原 WHO 手册 (3) 改编，考虑了对所有靶标损伤的最长直径的测量：完全应答，(CR)- 所有靶标损伤的消失；部分应答 (PR)- 靶向损伤的最长直径的总和降低 30%，取基线总和最长直径作为参考；稳定疾病 (SD)- 不足以收缩到满足 PR 又不足以增加到满足 PD，取治疗起始后的最小总和最长直径作为参考；渐进性疾病 (PD)- 靶向损伤的最长直径的总和增加 20%，取治疗起始后记录的小总和最长直径或一个或更多个新损伤的表观作为参考。其它标准包括总肿瘤应答率 (ORR = CR + PR)，疾病控制率 (DCR = CR + PR + SD)，和总存活率 (OS)—给定患者的死亡定义为从患者接受治疗方案的第一天到患者死亡的日期的天数。

[0299] 在一个实施方案中，提供一种在需要治疗的患者中治疗表达上皮细胞瘤的叶酸盐受体的方法，所述方法包含施用治疗有效量的 EC145 和治疗有效量的附加化学治疗剂。EC145 和附加化学治疗剂可以以一种或更多种组合物同时施用，或顺序地施用。另一个实施方案是 EC145 与附加化学治疗剂组合用于治疗患者中表达上皮细胞瘤的叶酸盐受体的用途。另一实施方案是 EC145 用于制造与附加化学治疗剂组合用于治疗患者中表达上皮细胞瘤的叶酸盐受体的药剂的用途。

[0300] 对于本文所述的任何方法、用途、组合物、药用组合物、组合、或试剂盒，表达叶酸盐受体的上皮细胞瘤的实施方案是卵巢肿瘤、子宫内膜肿瘤或非小细胞肺 (NSCLC) 肿瘤。NSCLC 的治疗可以在任何阶段进行，包括 0 期、I 期、II 期、IIIA 期、IIIB 期、或 IV 期。对于任何上述方法、用途、组合物、药用组合物、组合、或试剂盒，表达叶酸盐受体的上皮细胞瘤的另一个实施方案是卵巢肿瘤。卵巢肿瘤可以是抗铂或铂敏感的。

[0301] 在另一实施方案中，对于任何方法、用途、组合物、药用组合物、组合、或试剂盒，

EC145 是下式的化合物



或其药用可接受的盐。

[0302] 如本文中所用，EC145 可以以电离形式(包括质子化形式)存在于溶液或悬浮体中。

[0303] 在一个实施方案中，提供一种在需要治疗的患者中治疗抗铂卵巢癌的方法，所述方法包含施用治疗有效量的 EC145 和治疗有效量的附加化学治疗剂。在另一实施方案中，提供 EC145 与附加化学治疗剂组合用于治疗患者中的抗铂卵巢癌的用途。在另一实施方案中，提供 EC145 用于制造与附加化学治疗剂组合用于治疗患者中抗铂卵巢癌的药剂的用途。

[0304] 对于上文关于使用与附加化学治疗剂组合的 EC145 治疗抗铂卵巢癌所述的任何方法、用途、药用组合物、组合物、组合、或试剂盒，一个实施方案是其中 EC145 或附加药物的纯度为至少 90% 的实施方案。另一个实施方案是其中将 EC145 或附加化学治疗剂提供在水性无菌液体制剂中的实施方案。

[0305] 在另一实施方案中，描述一种选择用于治疗的患者的方法，其中该方法包含以下步骤：向患者施用一种包含与镓的同位素组合的 EC20 的组合物，如 PCT/US2010/043992 中所述 (EC20 结构描述于 PCT/US2010/043992，现作为 WO 2011/014821 公布)，其公开内容以引用方式全文并入本文，其中如果患者表达的叶酸盐受体达到至少 FR+ （即至少一个损伤表达叶酸盐受体）或 FR++ （即所有损伤表达叶酸盐受体）的水平，则将所述患者选择用于疗法。在该成像程序的一个实施方案中，用 0.5 mg 叶酸注射该患者，随后 1 至 3 分钟内，注射由 20 至 25 mCi 的 99mTc 标记的 0.1 mg EC20 1 至 2 mL，并且随后执行 1 至 2 小时成像。在一个实施方案中，成像法选自平面成像、SPECT 成像、和 SPECT/CT 成像。

[0306] 在另一实施方案中，本文所述的方法、用途、组合物、药用用途、组合、或试剂盒包括以下实施例。所述实施例还说明本文所述的本发明的各种实施方案的附加特征。然而，应了解，所述实施例是说明性的而并不应解释为限制本文所述的本发明的其它实施方案。另外，应了解，实施例的其它变型被包括在本文所述的本发明的各种实施方案内。

[0307]

实施例

[0308] 材料

从 Eprova AG (Schaffhausen, 瑞士) 购买 N^{10}- 三氟乙酰基蝶酸。从 NovaBiochem 和 Bachem 购买肽合成试剂。从 J.T. Baker 购买纤维素板和 DEAE 离子交换板。从 Ortho Biotech Products, LP(Raritan,NJ)获得 DOXIL®。从 A. K. Scientific (Mountain View, 加拿大）购买培美曲塞二钠、盐酸拓扑替康、盐酸厄洛替尼、盐酸伊立替康和盐酸拓扑替康。从 Sigma (St. Louis. MO) 购买顺铂和卡铂。从 Purdue Pharmacy (West Lafayette, IN) 购买 Gemzar。

[0309] 方法

细胞生长抑制研究

在用药物治疗之前，将呈几何级数增长的KB或J6456细胞接种于24孔板24小时。单独或者组合地，将细胞暴露于EC145 （或长春地辛或DAVLBH）或组合药物（阿霉素）的梯级浓度（四次重复）。接受EC145或EC145 +阿霉素的细胞在37℃下脉冲2小时，用0.5 mL培养基漂洗4次且随后在1 mL新鲜培养基或新鲜培养基+阿霉素中追踪至多72小时。用长春地辛、DAVLBH或阿霉素单独处理的细胞被处理72小时。评价各药物加无药物对照物的总计五个药物浓度。随后在37℃下用含有 ^{3}H 胸苷的新鲜培养基处理细胞2小时。细胞用PBS进一步洗涤并且用冰冷的5%三氯乙酸处理。15分钟之后，吸出三氯乙酸并且通过添加0.25 N氢氧化钠在室温下经15分钟溶解细胞。将各溶解样品转移至含有Ecolume闪烁混合液的闪烁瓶并且在液体闪烁计数器中计数。化学敏感性值表达为使用GraphPad Prism由浓效关系测定的抑制细胞生长80%的药物浓度（IC80）。遵循相同的一般方案来测量拉帕替尼对几个细胞系的体外活性（参见图48和49）以及EC145与拉帕替尼的组合对IGR-OV1和OV90细胞的体外活性（参见图53）。使用相同的一般方案测量在存在或缺乏拉帕替尼情况下EC145对耐DAVLBH和EC145的几个细胞系的细胞毒性（参见图51）。

[0310] 体内抗肿瘤实验

将四至六周大的雌性*nu/nu*小鼠（Charles River, Wilmington, MA）或六至七周大的雌性Balb/c小鼠（Harlan Sprague Dawley, Inc. , Indianapolis, IN）或四至六周大雌性DBA小鼠（Harlan Sprague Dawley, Inc. , Indianapolis, IN）维持在标准12小时亮-暗周期上并且在实验的持续时间内无限制喂食贫叶酸盐食物（Harlan diet #_TD00434, Harlan Teklad, Madison, WI）。使用含有10%热灭活胎牛血清（HIFCS）的无叶酸盐RPMI培养基（FFRPMI），在37℃下5% CO_2/95%空气加湿气氛中且无抗菌素情况下，使FR阳性人鼻咽KB细胞、人卵巢IGR-OV1细胞、人卵巢OV90细胞和同系小鼠淋巴细胞白血症L1210细胞作为单细胞层连续地生长。同系FR阳性Madison 109 （M109）肺癌细胞从M109肿瘤中产生，并且在植入小鼠之前多天，在含有10% HIFCS的FFRPMI中培养多天。在背内侧区的皮下组织中注射KB细胞（每*nu/nu*小鼠1×10^{6}）、M109细胞（每Balb/c小鼠1×10^{6}）、IGR-OV1细胞（每*nu/nu*小鼠4×10^{6}）或OV90细胞（每*nu/nu*小鼠1×10^{6}）或L1210细胞（每DBA小鼠2×10^{5}）100μL。将小鼠分为五组，并且测试物品新鲜制备并且在无菌条件下在体积为200 μL的磷酸盐缓冲盐水（PBS）中通过侧尾部静脉注射。一般当肿瘤体积为大约100-200 mm^3 时，开始静脉内（i.v.）治疗。对照组中的小鼠不接受治疗。各s.c.肿瘤生长，随后在治疗期间每周测量肿瘤三次，此后每周测量两次直至达到1500 mm^3 的体积。在两个垂直方向上使用游标卡尺测量肿瘤，并将其体积计算为$0.5\times L\times W^2$，其中L=最长轴的测量值（mm）并且W=垂直于L的轴的测量值（mm）。作为毒性的一般测量，按照与肿瘤体积测量相同的安排测定体重的变化。每日监测动物的存活率。通过CO_2窒息使垂死（或不能获得食品或水）的动物安乐死。根据美国实验室动物照料评审协会准则（American Accreditation Association of Laboratory Animal Care guidelines），执行所有体内研究。

[0311] 对于个别肿瘤，将部分应答（PR）定义为体积缩减>50%，但始终保持可测量的肿瘤（> 2 mm^3）。将完全应答（CR）定义为直至研究结束为止某些位置的可测量肿瘤块消失（< 2

mm^3)。将治愈定义为在研究期限内无肿瘤再生长的 CR。

[0312] 组合药物效应的分析

通过来源于中效原理的等效剂量图和合用指数法，测定药物协同作用。使用得自生长抑制实验的数据进行这些分析。等效剂量图是药物相互作用的图示，并且通过选择所需的细胞杀伤分数（在此情况下为 80%）并且在它们各自的 x 和 y 轴上绘制产生该分数所需的个别药物剂量，形成所述等效剂量图。随后画出直线连接所述点。在等效剂量图中绘制实现 80% 生长抑制效应的对应药物浓度的多个组合。落到该线上的组合数据点代表累加性药物 - 药物相互作用，而落在该线上方或下方的数据点分别代表协同作用或拮抗作用。该合用指数法是两药物相互作用的定量表示。对于组合产生 IC_{80} 效应的药物浓度的各组合（例如 :EC145/ 阿霉素）[$D_{EC145(80)}$，$D_{阿霉素}$ (80)]，合用指数（ΣFIC_{80}）如下计算 :ΣFIC_{80} = ($D_{EC145\ (80)}$ / IC_{80}，EC145) + $D_{阿霉素\ (80)}$/ IC_{80}，阿霉素），其中 IC_{80}、EC145 和 IC_{80}、阿霉素是如果单独给与将产生 IC_{80} 效应的每种个别药物的浓度。ΣFIC_{80} 为 1 表明两种药剂之间的累加效应，而 ΣFIC_{80} < 1 或 ΣFIC_{80} > 1 分别表明协同作用或拮抗作用。参见图 7、18-20、29-30、32-39 和 58-59。

[0313] 用 MRK-16 (ANTI-PGP) 抗体的流式细胞计量术

用 10μg/ml MRK-16 或小鼠 Ig2a 在 1% BSA/PBS 中在 4℃下将 KB、KB-DR300、N/A-R、N/A-R-C12、A549 Parent & A549-LVFR 细胞（~ 1×10^6 细胞 / 样品）培育 1 小时。将细胞用 1% BSA/PBS 缓冲液洗涤两次并且用 20μg/ml Alexa Fluor 488 或 1% BSA/PBS（未处理对照物）在 4℃下培育 1 小时。将细胞用 1%BSA/PBS 缓冲液洗涤并且在室温下固定于 1% 多聚甲醛中 15 分钟。将细胞再次洗涤，再悬浮于 1% BSA/PBS 中，并且在 Beckman Coulter FC-500 流式细胞仪上分析。参见图 50。

[0314]

实施例

[0315] EC145 与卡铂的组合疗法 :

具有 KB 肿瘤（109- 188 mm^3 范围）的随机 *nu/nu* 小鼠 (a) 未治疗 ;或用 :(b) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周 ;或 (c)50 mg/kg 的卡铂，TIW 1 周中任一种治疗，或用 (d)1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周 + 50 mg/kg 的卡铂，TIW 1 周治疗。肿瘤应答参见图 1，且治疗时期的重量变化参见图 2。用卡铂的单独治疗产生 3 个部分应答。组合治疗产生 1 个完全应答和 4 个治愈。

实施例

[0316] EC145 与顺铂的组合疗法 :

具有 KB 肿瘤（120-200mm^3 范围）的随机 *nu/nu* 小鼠 (a) 未治疗 ;或用 :(b) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周 ;或 (d) 3 mg/kg 的顺铂，BIW 2 周中任一种治疗，或用 (c) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周 + 3 mg/kg 的顺铂，BIW 2 周治疗。肿瘤应答参见图 3，且治疗时期的重量变化参见图 4。用顺铂的单独治疗产生 2 个部分应答。该组合治疗产生 5 个治愈。

[0317]

实施例

[0318] EC145 与拓扑替康的组合疗法 :

具有 KB 肿瘤 (144-204mm^3 范围) 的随机 *nu/nu* 小鼠 (a) 未治疗 ;或用 :(b) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145,TIW 2 周 ;或 (d) 5 mg/kg 的拓扑替康,TIW 2 周中任一种治疗,或用 (c) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145, TIW 2 周 + 5 mg/kg 的拓扑替康, TIW 2 周治疗。肿瘤应答参见图 5,且治疗时期的重量变化参见图 6。用拓扑替康的单独治疗产生 3 个部分应答和 2 个完全应答。组合治疗产生 3 个部分应答和 2 个完全应答。

[0319]

实施例

[0320] EC145 与 DOXIL 的组合疗法 :

具有 KB 肿瘤 (114-177mm^3 范围) 的随机 *nu/nu* 小鼠 (a) 未治疗 ;或用 :(b) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145,TIW 2 周 ;或 (c) 4 mg/kg 的 DOXIL,BIW 2 周中任一种治疗,或用 (d) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145, TIW 2 周 + 4 mg/kg 的 DOXIL, BIW 2 周治疗。肿瘤应答参见图 23,且治疗时期的重量变化参见图 24。采用 DOXIL 的单独治疗产生 1 个部分应答、2 个完全应答和 1 个治愈。组合治疗产生 1 个完全应答和 4 个治愈。

[0321]

实施例

[0322] EC145 与伊立替康的组合疗法 :

具有 KB 肿瘤 (114-177mm^3 范围) 的随机 *nu/nu* 小鼠 (a) 未治疗 ;或用 :(b) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145,TIW 2 周 ;或 (c) 40 mg/kg 的伊立替康,BIW 2 周中任一种治疗,或用 (d) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145,TIW 2 周 + 40 mg/kg 的伊立替康,BIW 2 周治疗。肿瘤应答参见图 10,且治疗时期的重量变化参见图 11。用伊立替康的单独治疗未产生部分应答、完全应答或治愈。组合治疗产生 1 个完全应答和 4 个治愈。

[0323]

实施例

[0324] EC145 与阿瓦斯汀的组合疗法 :

具有 KB 肿瘤 (108-222mm^3 范围) 的随机 *nu/nu* 小鼠 (a) 未治疗 ;或用 :(b) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145,TIW 2 周 ;或 (d) 5 mg/kg 的阿瓦斯汀,BIW 2 周中任一种治疗,或用 (c) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145, TIW 2 周 + 5 mg/kg 的阿瓦斯汀, BIW 2 周治疗。肿瘤应答参见图 12,且治疗时期的重量变化参见图 13。采用阿瓦斯汀的单独治疗未产生部分应答、完全应答或治愈。组合治疗产生 4 个部分应答和 1 个治愈。

[0325]

实施例

[0326] EC145 与吉西他滨的组合疗法 :

具有M109肿瘤(86-149mm^{3}范围)的随机Balb/c小鼠(a)未治疗;或用:(b) 2 μmol/kg/注射的EC145,TIW 2周;或(c)40 mg/kg的吉西他滨,BIW, 5剂中任一种治疗,或用(c) 1μmol/kg/注射的EC145,TIW 2周 + 40 mg/kg的吉西他滨,BIW,5剂治疗。肿瘤应答参见图14,且治疗时期的重量变化参见图15。采用吉西他滨的单独治疗未产生部分应答、完全应答或治愈。组合治疗未产生部分应答、完全应答或治愈。

[0327]

实施例

[0328] EC145与特罗凯(厄洛替尼)的组合疗法:

对具有M109肿瘤(99-164mm^{3}范围)的随机Balb/c小鼠(a)未治疗;或用:(b) 2 μmol/kg/注射的EC145,TIW 2周;或(c)100 mg/kg的特罗凯,qd5 2周中任一种治疗,或用(d) 1 μmol/kg/注射的EC145,TIW 2周 + 100 mg/kg的特罗凯,qd5 2周治疗。肿瘤应答参见图16,且治疗时期的重量变化参见图17。采用特罗凯的单独治疗未产生部分应答、完全应答或治愈。组合治疗产生3个部分应答和1个治愈。

[0329]

实施例

[0330] EC145与特罗凯(厄洛替尼)的组合疗法:

具有KB肿瘤的随机*nu/nu*小鼠(■)未治疗;或用:(●) 1 μmol/kg/注射的EC145,TIW 3周;或(▲) 100 mg/kg的特罗凯,BIW 3周中任一种治疗,或用(▼) 1 μmol/kg/注射的EC145,TIW 3周 + 100 mg/kg的特罗凯,BIW 3周治疗。肿瘤应答参见图21,且重量百分比变化参见图22。

[0331]

实施例

[0332] 未结合的长春地辛与DOXIL的组合疗法:

具有KB肿瘤(123-205mm^{3}范围)的随机*nu/nu*小鼠(a)未治疗;或用:(b)1 mg/kg/注射的长春地辛,TIW 2周;或(c) 5 mg/kg的DOXIL,BIW 2周中任一种治疗,或用(d)1 mg/kg/注射的长春地辛,TIW 2周 + 5 mg/kg的DOXIL,BIW 2周治疗。肿瘤应答参见图25,且重量百分比变化参见图26。采用DOXIL的单独治疗产生4个动物4次PR。组合治疗导致动物0个PR。未结合的长春地辛拮抗Doxil活性。

[0333]

实施例

[0334] 未结合的DAVLBH与DOXIL的组合疗法:

具有KB肿瘤(122-192mm^{3}范围)的随机*nu/nu*小鼠(a)未治疗;或用:(b) 5 mg/kg的DOXIL,BIW 2周;或(c) 0.75 μmol/kg/注射的DAVLBH,TIW 2周中任一种治疗,或用(d) 0.75 μmol/kg/注射的DAVLBH,TIW 2周 + 5 mg/kg的DOXIL,BIW 2周治疗。肿瘤应答参见图27,且重量百分比变化参见图28。采用DOXIL的单独治疗产生4个动物中4个PR。

组合治疗产生动物 0 个 PR。未结合的 DAVLBH 拮抗 Doxil 活性。

[0335]

实施例

[0336] EC145 与拉帕替尼的组合疗法：

具有 KB 肿瘤（109-188mm^3 范围）的随机 *nu/nu* 小鼠（■）未治疗；或用：（●） 1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周；或（▲） 100 mg/kg 的拉帕替尼，BID qd5 2 周治疗，或用（▼） 1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周 + 100 mg/kg 的拉帕替尼，BID qd5 2 周治疗。肿瘤应答参见图 54，且重量百分比变化参见图 55。

[0337]

实施例

[0338] EC145 与 Alimta（培美曲塞）的组合疗法：

具有 KB 肿瘤（109-188mm^3 范围）的随机 *nu/nu* 小鼠（■）未治疗；或用：（●） 1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周；或（▲） 100 mg/kg 的 Alimta，qd5 2 周中任一种治疗，或用（▼） 1 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周 + 100 mg/kg 的 Alimta，qd5 2 周治疗。在第 2 至 19 天的研究期间（治疗之前 5 天至治疗的最后一天），群组全部经由口腔强饲法接受 5MTHF = 320μg/kg (705 nmol/kg)。肿瘤应答参见图 56，且重量百分比变化参见图 57。

[0339]

实施例

[0340] EC145 与拓扑替康的组合疗法：

具有 IGR-OV1 肿瘤的随机 *nu/nu* 小鼠（■）未治疗；或用：（●） 2 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周；或（▲） 5 mg/kg 的拓扑替康，BIW 2 周治疗；或用（▼） 2 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周 + 5 mg/kg 的拓扑替康，BIW 2 周治疗。肿瘤应答参见图 8，且重量百分比变化参见图 9。

[0341]

实施例

[0342] EC145 与 DOXIL 的组合疗法：

具有 IGR-OV1 肿瘤的随机 *nu/nu* 小鼠 (a) 未治疗；或用：(b) 2 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周；或 (c) 4 mg/kg 的 DOXIL，BIW 2 周治疗，或用 (d) 2 μmol/kg/ 注射的 EC145，TIW 2 周 + 4 mg/kg 的 DOXIL，BIW 2 周治疗。肿瘤应答参见图 42，且重量百分比变化参见图 43。

[0343]

实施例

[0344] EC145 与 DOXIL 的组合疗法：

具有 M109 肿瘤的随机 Balb/c 小鼠 (a) 未治疗；或用：(b) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145，

TIW 2 周 ;或 (c) 4 mg/kg 的 DOXIL,BIW 2 周中任一种治疗,或用 (d) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145,TIW 2 周 + 4 mg/kg 的 DOXIL,BIW 2 周治疗。采用 EC145 单独治疗和采用 DOXIL 的单独治疗各导致 5 个动物中 3 个治愈。组合治疗导致 5 个动物中 5 个治愈。

实施例

[0345] EC145 与 DOXIL 的组合疗法 :

具有 OV90 肿瘤的随机 mu/mu 小鼠测 (■) 未治疗 ;或用 :(●) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145,TIW 3 周 ;或 (▲) 4 mg/kg 的 DOXIL,BIW 3 周中任一种治疗,或用 (▼) 1 μmol/kg/ 注射的 EC145,TIW 3 周 + 4 mg/kg 的 DOXIL,BIW 3 周治疗。肿瘤应答参见图 44,且重量百分比变化参见图 45。

[0346]

实施例

[0347] EC145 与 DOXIL 的组合疗法 :

具有 L1210A 肿瘤 (淋巴细胞白血症) 的随机 DBA 小鼠未治疗 ;或用 :(b) 2 μmol/kg/ 注射的 EC145,TIW 2 周 ;或 (c) 4 mg/kg 的 DOXIL,BIW 2 周中任一种治疗,或用 (d) 2 μmol/kg/ 注射的 EC145, TIW 2 周 + 4 mg/kg 的 DOXIL, BIW 2 周治疗。肿瘤应答参见图 46,且重量百分比变化参见图 47。

[0348] 化合物实施例

材料

根据 US 7,601,332 或 WO 2011/014821 的描述或如下文所述 (PCT/US2011/037134),制备 EC145 API (活性药品)。

[0349] 其它材料、工具和设备得自商业来源,包括以下 :注射用水 (WFI) ;柠檬酸三钠二水合物,EMD 1.06432.0500 ;柠檬酸,JT Baker 0122-01 ;甘露糖醇,JT Baker 2553-01 ;氩气 ;氮气 ;过滤器,Pall 12122 ;管道 ;小瓶,Wheaton #_ 223685/W008230, 5 mL, 20 mm,管式,I 型玻璃 ;瓶塞,(West pharmaceutical #19700021 或 19700022) 20 mm, S-10-F451, 4432/50 灰色 w/ B2-40 涂层 (血清瓶塞);Crimps, 蓝色 (具有血清瓶塞) ;瓶塞,West 20 mm 4432/50, S-87-J, 灰色 w/ B2-44 涂层 (裙部开槽冷冻干燥瓶塞) ;Crimps, Helvoet Pharma 110009704, 棕色 6028 (具有裙部开槽冷冻干燥瓶塞) ;Milli-Q 水,Millipore Direct Q 3 UV System ;磷酸二氢钠一水合物,Mallinckrodt 7868 ;磷酸氢二钠二水合物,Fisher S472-500 ;氯化钠,Mallinckrodt 7581 ;氯化钾,Fisher P330-500 ;柠檬酸钠二水合物,Aldrich 39,807-1 ;蔗糖,Sigma S3929-1KG ;氢氧化钠,JT Baker 3278-01 ;盐酸,EMD HX0603P-S ;冰乙酸,EMD AX0074-6 ;乙酸三乙胺,Fisher, 04885-1 ;5 N 氢氧化铵,Acros, AC612570010 ;乙腈,Sigma-Aldrich 34851-4L ;HPLC 柱,Waters Symmetry C18, 3.5 μm, 4.6×75mm, P/N WAT066224 ;保护柱,Waters Symmetry C18, 5 μm, 3.9×20 mm, P/N WAT054225。

[0350] 工具和设备

HPLC: Waters Alliance 2695,具有 Waters 2487 双 λ 吸收检测器 ;HPLC: Agilent 1200,具有 PDA 检测器 ;pH 计,pH-08, Corning 340 ;高压锅,Hotpack 蒸汽杀菌器,

PE5-004 ;烘箱，VWR 1370FM ;烘箱，Gruenberg 干热烘箱 ;天平，Sartorius R300S ;天平，Sartorius CP34001 ;泵，Watson Marlow 505S ;移液器，Eppendorf Repeater Plus，具有 50 mL Combitips ;冷冻干燥器 :FTS LyoStar II，具有 LyoManager II 数据汇集 ;封口机，Westcapper NPW-500, 5A-018。

[0351] 本文中使用对溶剂、试剂和保护基通用的缩写。CDSI 用于表示氨甲酰基二硫化物中间体 (4)。

[0352] 在实施例中用于馏分和样品评价的 HPLC 方法包括以下 :

EC145-CMC-IP-0001

样品制备 :用 8 M 盐酸胍将材料烯释至大约 0.5 mg/mL。

[0353]

柱 :Waters XBridge BEH C18, 3.5 μm, 2.1×100 mm.

移动相 :A) 500 mM 碳酸氢铵，pH 9.2; B) 75:25 乙腈 - 甲醇。

[0354] 注射体积 :10 μL

UV 检测 :280 nm

柱温度 :50℃

样品温度 :5℃

梯度: 时间 (min)	流速 (mL/min)	%A	%B
0.0	0.55	95	5
0.5	0.55	95	5
1.0	0.55	80	20
5.0	0.55	73.5	26.5
21.0	0.55	71.5	28.5
27.0	0.55	70	30
29.0	0.55	55	45
30.0	0.55	30	70
33.0	0.55	30	70
33.1	0.75	95	5
40.0	0.75	95	5

EC145-CMC-AM-0001 (版本 2.3)

样品制备 :用磷酸酯缓冲盐水或 1:1 乙腈 - 水 (v/v) 将材料烯释至大约 1 mg/mL。

[0355] 管柱 :Waters Symmetry C18, 3.5 μm, 4.6×75 mm.

移动相 :A) 10 mM 三乙铵乙酸盐，pH 7.5; B) 乙腈。

[0356] 注射体积 :10 μL

UV 检测 :280 nm

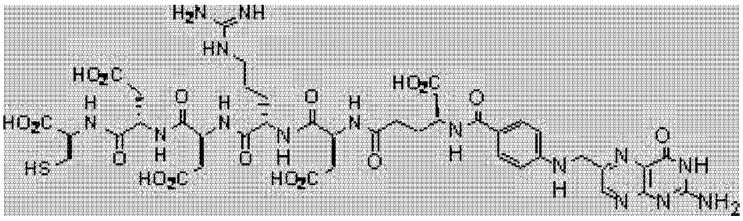
柱温度 :25℃

样品温度 :5℃

梯度:	时间 (min)	流速 (mL/min)	%A	%B
	0.0	1.0	85	15
	20.0	1.0	50	50
	25.0	1.0	20	80
	30.0	1.0	20	80
	31.0	1.0	85	15
	41.0	1.0	85	15

实施例

[0357] EC119 的制备



(EC119)

使用 Fmoc 基固相化学如下合成 EC119 :

第一次偶合

将 2-氯三苯甲基氯树脂加入肽合成器Ⅲ。在 DMF (10mL/g 树脂) 中溶胀。用 DMF(10mL/g 树脂) 洗涤 2 次。添加 0.8 当量的 DCM/DMF 中的 Fmoc-Cys (Trt)-OH。添加 2 当量的 DIPEA。搅拌 30 分钟。添加甲醇 (1mL/g 树脂) 并且搅拌 10 分钟。用 DMF 洗涤 3 次。用 MTBE 洗涤 3 次。用 DMF 洗涤 3 次。添加 DMF 中的 0.1M HOBt 中 6% 哌嗪并且搅拌 10 至 20 分钟。添加 DMF 中的 0.1M HOBt 中 6% 哌嗪并且搅拌 10 至 20 分钟。用 DMF 洗涤 3 次。用 MTBE 洗涤 3 次。执行 Kaiser 测试以确认该偶合完成。

[0358] 第二次偶合

用 DMF(10mL/g 树脂) 洗涤 3 次。添加 DMF 中的 2 当量的 Fmoc-Asp (OtBu)-OH。添加 DMF 中的 2 当量的 HOBt。添加 2 当量的 DIC。搅拌 1.5 至 3 小时。用 Kaiser 测试确认偶合。用 MTBE 洗涤 2 次。用 DMF 洗涤 2 次。添加 DMF 中的 0.1M HOBt 中 6% 哌嗪并且搅拌 10 至 20 分钟。添加 DMF 中的 0.1M HOBt 中 6% 哌嗪并且搅拌 10 至 20 分钟。用 DMF 洗涤 3 次。用 MTBE 洗涤 3 次。执行 Kaiser 测试。

[0359] 第三次偶合

用 DMF 洗涤 3 次。添加 DMF 中的 2 当量的 Fmoc-Asp (OtBu)-OH。添加 DMF 中的 2 当量的 HOBt。添加 2 当量的 DIC。搅拌 1.5 至 3 小时。用 Kaiser 测试确认偶合。用 MTBE 洗涤 2 次。用 DMF 洗涤 2 次。添加 DMF 中的 0.1M HOBt 中 6% 哌嗪并且搅拌 10 至 20 分钟。添加 DMF 中的 0.1M HOBt 中 6% 哌嗪并且搅拌 10 至 20 分钟。用 DMF 洗涤 3 次。用 MTBE 洗涤 3 次。执行 Kaiser 测试。

[0360] 第四次偶合

用 DMF 洗涤。添加 DMF 中的 2 当量的 Fmoc-Asp (Pbf)-OH。添加 DMF 中的 2 当量的 HOBt。添加 2 当量的 DIC。搅拌 1.5 至 3 小时。用 Kaiser 测试确认偶合。用 MTBE 洗涤 2 次。用 DMF 洗涤 2 次。添加 DMF 中的 0.1M HOBt 中 6% 哌嗪并且搅拌 10 至 20 分钟。添加 DMF 中的 0.1M HOBt 中 6% 哌嗪并且搅拌 10 至 20 分钟。用 DMF 洗涤 3 次。用 MTBE 洗涤 3 次。执行 Kaiser 测试。

[0361] 第五次偶合

用 DMF 洗涤 3 次。添加 DMF 中的 2 当量的 Fmoc-Asp (OtBu)-OH。添加 DMF 中的 2 当量的 HOBt。添加 2 当量的 DIC。搅拌 1.5 至 3 小时。用 Kaiser 测试确认偶合。用 MTBE 洗涤 2 次。用 DMF 洗涤 2 次。添加 DMF 中的 0.1M HOBt 中 6% 哌嗪并且搅拌 10 至 20 分钟。添加 DMF 中的 0.1M HOBt 中 6% 哌嗪并且搅拌 10 至 20 分钟。用 DMF 洗涤 3 次。用 MTBE 洗涤 3 次。执行 Kaiser 测试。

[0362] 第六次偶合

用 DMF 洗涤 3 次。添加 DMF 中的 2 当量的 Fmoc-Glu-OtBu。添加 DMF 中的 2 当量的 HOBt。添加 2 当量的 DIC。用 Kaiser 测试确认偶合。用 MTBE 洗涤 2 次。用 DMF 洗涤 2 次。添加 DMF 中的 0.1M HOBt 中 6% 哌嗪并且搅拌 10 至 20 分钟。添加 DMF 中的 0.1M HOBt 中 6% 哌嗪并且搅拌 10 至 20 分钟。用 DMF 洗涤 3 次。用 MTBE 洗涤 3 次。执行 Kaiser 测试。

[0363] 第七次偶合

用 DMF 洗涤 3 次。添加最小量的 DMSO 中的 1.2 当量的 N10-TFA-Pte-OH。添加 DMF 中的 1.2 当量的 HOBt。添加 DMF 中的 1.2 当量的 PyBOP。添加 2.4 当量的 DIPEA。搅拌 3 至 5 小时。用 Kaiser 测试确认偶合。用 DMF 洗涤 2 次。用 MTBE 洗涤 2 次。

[0364] 去保护 - 除去三氟乙酰基

用 DMF 洗涤 2 次。添加 DMF 中 2% 肼并且搅拌 5 分钟。添加 DMF 中 2% 肼并且搅拌 5 分钟。添加 DMF 中 2% 肼并且搅拌 5 分钟。用 DMF 洗涤 3 次。用 MTBE 洗涤 3 次。在真空且室温下干燥该树脂。

[0365] 从树脂上裂解

向烧瓶添加含有 85% TFA、2.5% 三异丙基硅烷、2.5% 水和 10% 乙二硫醇的裂解试剂 (10mL/g 树脂)。在冰浴中冷却该混合物。添加该树脂并且允许在室温下反应 2 至 3 小时。过滤并收集滤液。将滤液加入冷 MTBE (每 1 mL 滤液 10mL MTBE)。在 0 至 5℃下搅拌 30± 分钟。通过介质多孔性玻璃过滤器,过滤沉淀产物。用冷 MTBE 洗涤沉淀 3 次。在真空且室温下干燥该产物。在氮气且 -20℃下储存。

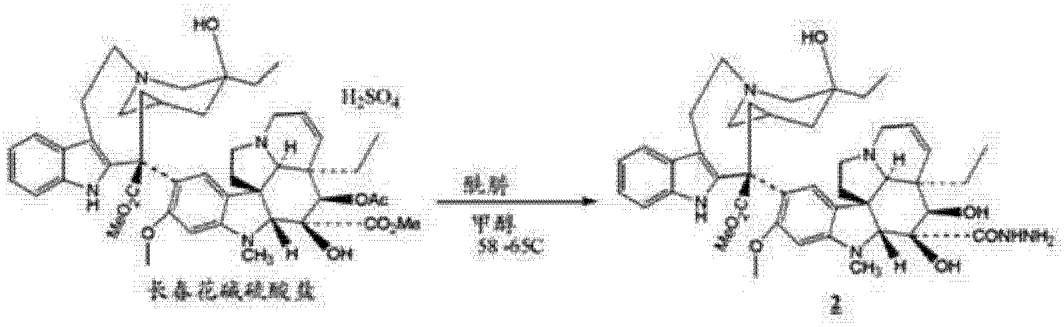
[0366] 纯化

使用反相 C18 柱 (6 英寸柱,2.8kg,10 μm, 100Å) 通过制备型 HPLC,纯化粗制 EC119。移动相是 0.5% NH4OAc (A) 和 0.5% NH4OAc/ACN (1:4) (B)。40g 该粗制 EC119 溶于 1-5% TFA,通过 1 μm 玻璃纤维过滤器过滤并且加载于 6 英寸柱上。收集馏分并抽样用于 HPLC 分析。在氮气下使用 50% AcOH 以沉淀该产物以便收集之后,立即将各馏分的 pH 调整到 3 至 4。将沉淀产物离心,用 0.1% AcOH 洗涤并储存于 2 至 8℃下直到进一步处理。容器在离心操作期间用氮气清空以降低氧化的可能性。池标准 (pool criteria) 是纯度≥ 98%,D-Arg4、D-Glu^2 和 D-Asp^3 的同分异构体≤ 0.25%,其它杂质≤ 0.5%。D-Asp^5、D-Asp^6 和 D-Cys 的异

构体通过 Prep-HPLC 不能除去并且应在合成工艺中被抑制。满足所述池标准的材料尽快冷冻干燥 (EC119 溶液和湿沉淀不稳定)。最终产物的纯度大于 98%。包括固相合成和纯化的纯 EC119 的总收率为大约 40%。该产物在氮气下包装于琥珀玻璃瓶中并储存于 - 20℃下。

实施例

[0367] A. 长春花碱硫酸盐典型转化成去乙酰长春碱酰肼



材料

长春花碱硫酸盐 :USP; FW = 909.05 g/mol; 甲醇 :无水 ;肼 :无水 ;FW =32 g/mol; 去离子水 ;乙酸乙酯 :LC/GC 级 ;甲苯 :LC/GC 级 ;磷酸二氢钠 :≥ 99.0%; FW = 120 g/mol; 磷酸氢二钠 :≥ 99.0%; FW = 142 g/mol; 氯化钠 :试剂级 ;FW = 58.4 g/mol; 硫酸钠 :无水 ; 5- 降冰片烯 -2- 甲酸。

[0368] 过程

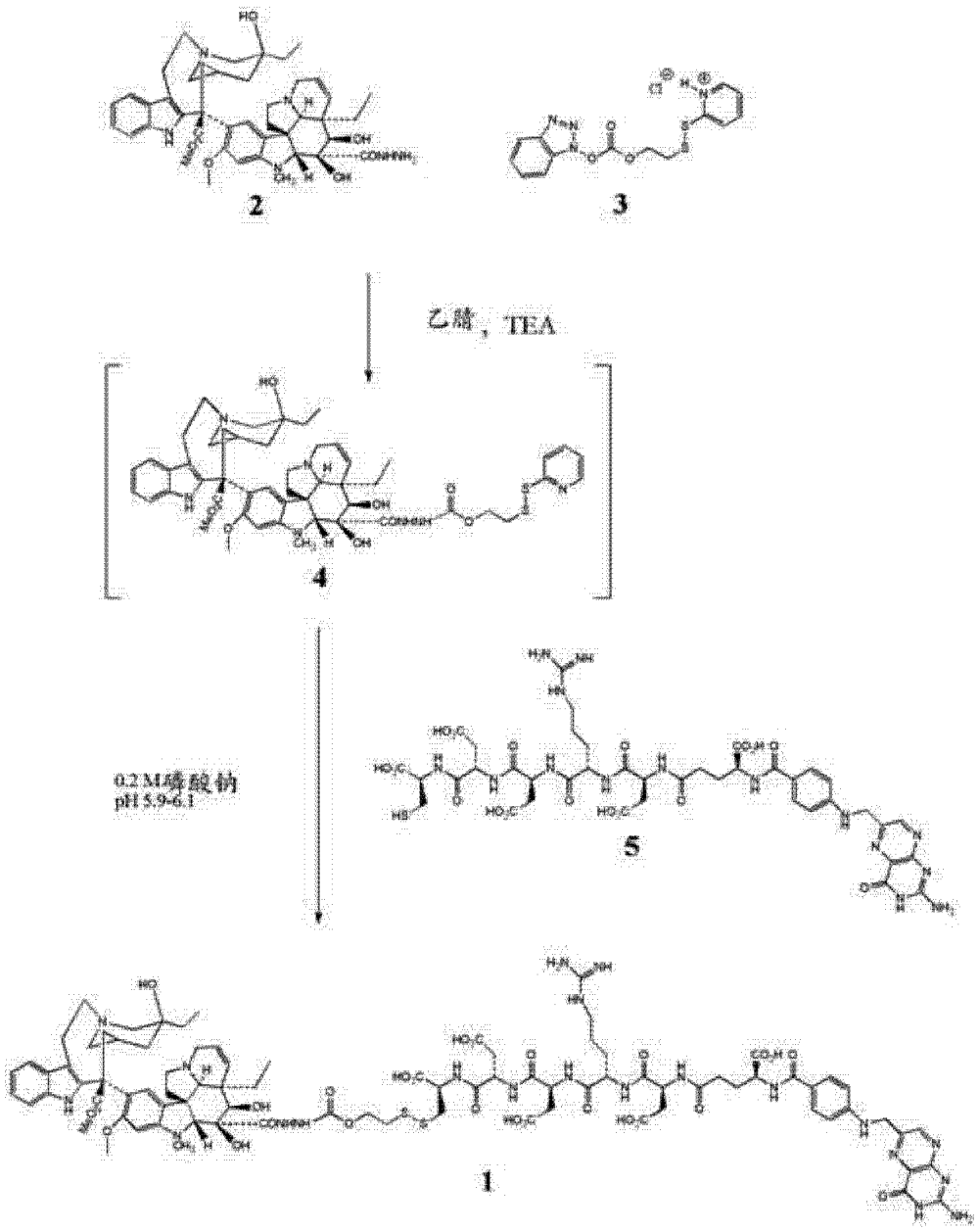
反应、提取加工和分离是在氮气或氩气气氛下进行。使用压力过滤器除去硫酸钠并且俘获产物。用于猝灭和洗涤的氯化钠溶液用氮气或氩气鼓泡,直至溶解的氧水平不大于 0.9 ppm 为止。

[0369] 将长春花碱硫酸盐和无水甲醇装填至经氩气吹扫的反应器。将 5- 降冰片烯 -2- 甲酸和无水肼加入反应器。搅拌混合物,并且在固体溶解之后,将混合物加热至约 60℃。通过 HPLC 分析,当反应完成时,将其冷却、猝灭并提取到乙酸乙酯中。在干燥之后,产物从乙酸乙酯和甲苯中结晶。固体在真空下室温下干燥过夜。

[0370] 缓冲 NaCl 含有 :10.0 g NaCl, 7.10 - 7.30 g NaH_2PO_4, 4.40 - 4.60 g Na_2HPO_4 和 90 mL 水。用氩气或氮气鼓泡该溶液 (溶解的氧含量 < 0.9 ppm)。

[0371] 典型的分离收率为理论最大值的 50-60%。

[0372] B. EC145 方法的步骤 2 和 3



步骤 2 和步骤 3 方法

材料

去乙酰长春碱酰肼：FW=768.9 g/mol; 20.5 g, 26.7 mmol; 混合碳酸盐 (3): FW=384.9 g/mol; 10.7 g, 27.8 mmol; 乙腈：适量；三乙胺：FW=101.2 g/mol; 2.67 g, 26.4 mmol; $Na_2PO_4 \cdot 7\ H_2O$: 47.84 g; EC119: 29.9 g 28.6 mmole; 0.5 N HCl: 适量; WFI: 适量

过程

注意，此方法中使用的所有水是注射用水 (WFI)。

[0373] 用氩气吹扫合适器皿。装填 20.5±0.3 g 的去乙酰长春碱酰肼；该装填量经效能调整，即，如果效能是 90.0%，则该装填将为 22.8 g。装填 10.7±0.2 g 的混合碳酸盐（经效能调整）。装填 800±30 mL 乙腈和 2.67±0.11g 三乙胺。在氩气下于 10 至 14℃下混合 20 至 28 小时。取得样品用于 HPLC (EC145-CMC-AM-0001，版本 2.3)。预期结果是 CDSI 与

酰肼的比率≥ 25:1。如果不是,则在氩气下于 10 至 14℃下继续混合 2 至 4 小时并且再次抽样。

[0374] 用氩气鼓泡 780 至 820 mL 水,直至溶解氧水平小于 0.9 ppm ;记录溶解的氧水平。将 47.8±0.5 g 磷酸二氢钠七水合物溶解于该脱氧水中。向合适的容器,加入 29.8±0.5 g EC119 ;(装填量经效能调整)。将磷酸钠溶液加入 EC119 中并在氩气下混合。测量溶液的 pH,并且如有必要,则用 0.5 N HCl 将该 pH 调整到 5.8 至 6.2。

[0375] 将缓冲 EC119 溶液加入该反应混合物。在氩气下于 20 至 25℃下混合 60 至 75 分钟。取得样品用于 HPLC (EC145-CMC-AM-0001,版本 2.3)。如果 EC145 与 CDSI 的比率≥ 25:1,则继续进行。如果不是,则在在氩气下于 20 至 25℃下继续混合并再次抽样。如果 EC145 与 CDSI 的比率≥ 25:1,则继续进行。如果不,则加入额外的 1 g EC119 并在氩气下于 20 至 25℃下混合 30 分钟并再次抽样。

[0376] 制备 6.9 L 至 7.1 L 25 mM 磷酸盐缓冲液(185 至 195 mM NaCl,pH 7.2 至 7.5),用氩气鼓泡水直至溶解的氧水平小于 0.9 ppm 而制得。用此缓冲液烯释所述反应混合物。如果该混合物发展超过薄雾,则产物溶液需要过滤(Whatman Polycap TC75 或 TC150,0.45 或 1.0 微米);可以在将产物加载到 Biotage 柱上的同时进行该过滤。

[0377] 液相色谱纯化

使用 Biotage 150M, C18 柱体。这一尺寸的柱体可以容纳目前所述柱体的尺寸的两倍的反应混合物。

[0378] 柱制备 :

a. 用以下冲洗该柱

i. 12 - 13 L 乙腈

ii. 12 - 13 L80% 乙腈和 20% 水 (v/v)

iii. 12 - 13 L50% 乙腈和 50% 水 (v/v)

iv. 12 - 13 L10% 乙腈和 90% 水 (v/v)

纯化 :

制备 25 mM 磷酸盐缓冲液,(185 - 195 mmol) NaCl, pH 7.3 - 7.5

用氩气鼓泡该缓冲液直至溶解的氧含量≤ 0.9 ppm。

[0379] 制备 :缓冲盐水中 41 L 的 10% 乙腈 (v/v) ;缓冲盐水中 13 L 的 16% 乙腈 (v/v),缓冲盐水中 52 L 的 27% 乙腈 (v/v)。

[0380] 检查移动相溶液的溶解的氧含量。如果溶解氧含量大于 0.9 ppm,则用氩气或氮气鼓泡移动相直至溶解的氧水平≤ 0.9 ppm。

[0381] 用 26 至 27 L 的 10% 乙腈移动相冲洗该柱。

[0382] 将产物溶液加载到柱上。

[0383] 使用以下顺序的移动相洗脱该产物 :

i. 13 -14 L 10% 乙腈移动相。

[0384] 13 L 16% 乙腈移动相。

[0385] 51 -52 L 27% 乙腈移动相。

[0386] 注意 :直列式 UV 检测器是有益的 ;在带宽为 8 至 13 L 的 15 至 19 L 的 27% 乙腈移动相处开始,应该出现产物。

[0387] 馏分评价

i.HPLC 方法 EC145-CMC-IP-0001

ii. 通过馏分 = ≥ 97.0% EC145 和杂质不 ≥ 0.8%

运行后的柱处理：

该柱可以再使用一次。如果该柱将用于第二次运行，则执行 ii 至 iv。

[0388] i. 用 12 至 13 L 1:1 乙腈 - 水冲洗该柱

ii. 用 20 至 22 L 乙腈冲洗该柱

iii. 重复柱制备步骤 ii 至 iv。

[0389] 超滤

用氩气或氮气鼓泡适量水，直至溶解氧水平小于 0.9 ppm 为止。将通过的色谱法馏分组合并用等体积的鼓泡水组合并烯释。使用标称 MW 截止值为 1000 的微孔再生纤维素膜 (cat#_ CDUF002LA) 组装超滤设备，并用 9 L 脱氧水漂洗它。开始产物溶液的超滤。维持 30 至 50 psi 的反压。继续超滤，直至滞留物体积为 2 至 3 L。添加 11 至 12 L 脱氧水。继续超滤，直至滞留物体积为 2 至 3 L。添加 11 至 12 L 脱氧水。继续超滤，直至滞留物体积为 2 至 3 L。添加 8 至 10 L 脱氧水。继续超滤，直至滞留物体积为 2 L。必须通过 GC 和浓缩分析滞留物的样品，确定超滤终点。规格为每毫克的 EC145，≤ 50 微克的乙腈。如果未实现，则执行另一循环的超滤。该 API 溶液的浓度必须调整以便包装材料为 6 至 12 mg/mL。在超滤完成时，用 1 L 水漂洗该设备。因此，在必要时继续超滤或添加水。一旦产物溶液离开超滤设备，则用 1 L 脱氧水漂洗该超滤设备并且与产物溶液组合。

[0390] 在该漂洗液与产物溶液合并之后，该溶液必须通过 0.2 微米绝对过滤器过滤，并且包装该滤液（在惰性气氛下执行）。

[0391] 分离产物的典型收率为理论最大值的 50 至 60%。

[0392]

实施例

[0393] 冷冻干燥 EC145

总体积 22 mL 的两小瓶 EC145 水溶液在环境温度下解冻，并且转移到四个 20 mL 冷冻干燥小瓶中。将小瓶转移入冷冻器大约 1.5 小时。使用 LABCONCO 冷冻干燥器进行冷冻干燥，所述 LABCONCO 冷冻器干燥器在加载样品之前被预冷却至 - 72℃（搁板温度）。样品在 -20℃下冷冻干燥约 30 分钟，随后再于 20℃下干燥 38.5 小时。所得蓬松浅黄色固体合并到一个小瓶中用于进一步表征。

[0394] 制剂

水性制剂：

以下提供这样的制剂，其可以 1.4 mg/mLEC145 的浓度提供 EC145。单独的小瓶用于提供 2.5 mg 大丸剂剂量的 EC145。

实施例

[0395] pH 7.4，磷酸盐缓冲的 EC145 制剂

以下制剂提供用于静脉内 (IV) 施用的 EC145 药品，作为在具有 Flurotech™ - 涂层橡

胶瓶塞的单独使用的透明玻璃瓶(其在惰性气体下冷冻储存)中的 2.0 mL 水性无菌液体制剂(pH 7.4)。各小瓶含有 1.4 mg/mL EC145。药品的定量组成示于下表。单独的小瓶用于提供 2.5 mg 大丸剂剂量的 EC145。该制剂提供 10 mM 磷酸盐缓冲液 ;pH 7.4 ;138 mM 氯化钠,和 2.7 mM 氯化钾。

[0396] EC145 药品成分

	功能	级别	每小瓶的量 (mg)
EC145	活性	室内	2.8
磷酸二氢钠一水合物	pH 控制 张度	USP	1.1
磷酸氢二钠二水合物	pH 控制 张度	USP	2.14
氯化钠	张度	USP	16.12
氯化钾	张度	USP	0.4
注射用水	溶剂	WFI	适量至 2.0 mL

。

[0397] 实施例

pH 6.2 的柠檬酸盐缓冲的 EC145 制剂

以下制剂提供一种溶液,其为 50 mM 柠檬酸盐缓冲的 pH 6.2 的 EC145 溶液。

[0398] EC145 药品成分

	功能	级别	每小瓶的量 (mg)
EC145	活性	室内	2.8
柠檬酸三钠二水合物	pH 控制 张度	USP	27
柠檬酸	pH 控制 张度	USP	1.5
注射用水	溶剂	WFI	适量至 2.0 mL

。

[0399] 用于冷冻干燥的制剂。

实施例

[0400] 具有 3% 甘露糖醇的 pH 6.2 的柠檬酸盐缓冲的 EC145 制剂

以下制剂提供一种溶液,其为 pH 6.2 的柠檬酸盐缓冲的 EC145 溶液,所述 EC145 溶液含有 3% 甘露糖醇作为可用于冷冻干燥和复水的增容剂。

[0401] EC145 药品成分

	功能	级别	每小瓶的量 (mg)
EC145	活性	室内	2.8
柠檬酸三钠二水合物	pH 控制 张度	USP	27
柠檬酸	pH 控制 张度	USP	1.5
甘露糖醇	增容剂， 稳定剂 张度	USP	60
注射用水	溶剂	WFI	适量至 2.0 mL

。

[0402]

实施例

[0403] 具有 4% 甘露糖醇 /1% 蔗糖的 pH 6.2 的柠檬酸盐缓冲的 EC145 制剂

与上文 3% 甘露糖醇所述相同的制剂，但具有 80 mg 甘露糖醇和 20 mg 蔗糖。

[0404]

实施例

[0405] 安慰剂，具有 3% 甘露糖醇的 pH 6.2 的柠檬酸盐缓冲的 EC145 制剂

以下制剂提供一种安慰剂溶液，其为 pH 6.2 的柠檬酸盐缓冲的溶液，所述溶液含有 3% 甘露糖醇作为可用于冷冻干燥和复水的增容剂。

[0406] 安慰剂产品成分

	功能	级别	每小瓶的量 (mg)
柠檬酸三钠二水合物	pH 控制 张度	USP	27
柠檬酸	pH 控制 张度	USP	1.5
甘露糖醇	增容剂， 稳定剂 张度	USP	60
注射用水	溶剂	WFI	适量至 2.0 mL

。

[0407]

实施例

[0408] 冷冻干燥的 EC145 和安慰剂药用组合物的制备

用含有 3% 甘露糖醇的 EC145 小瓶、含有 4% 甘露糖醇 /1% 蔗糖的 EC145 小瓶和安慰剂小瓶（无 EC145 API），运行冷冻干燥周期。将探针置于 EC145 溶液小瓶和安慰剂小瓶中以记录周期期间的溶液温度。在将最终产物暴露于空气之前，所有周期用氩气回填，并且所述小瓶在冷冻干燥器中塞紧。在塞住之后，立即将小瓶摺扎并标记。

[0409] 在不同参数的若干次冷冻干燥中，含 3% 甘露糖醇的小瓶与含 4% 甘露糖醇 /1% 蔗糖的小瓶之间未见明显差异。

实施例

[0410] 配制方法的描述

用过量 WFI 装填大烧瓶，并用惰性气体鼓泡 30 分钟以将氧含量降低至 < 1.0 ppm。用过程中的测试确认配制开始之前的氧含量。在整个配制过程中，在配制溶液上维持持续的正压惰性气体覆盖层。

[0411] 将冷冻的 EC145 药物物质 (API) 溶液从冷藏箱中移除，并在 20℃至 -25℃控温循环水浴中解冻。将解冻的 API 溶液加入称皮重的惰性气体吹扫的器皿，以确定待配制 API 溶液的量。基于密度和溶液中的 EC145 浓度，加入称皮重器皿的溶液的重量用于确定可按 1.4 mg EC145/mL 填充的总计最终溶液。

[0412] 称重具有搅拌棒的器皿，并用 WFI 的最终填充体积的 62.5% 总体积来装填。添加甘露糖醇以提供 3% 甘露糖醇的最终浓度。将柠檬酸钠加入该器皿，随后用鼓泡的 WFI 漂洗。将柠檬酸加入该器皿，随后用鼓泡的 WFI 漂洗。混合鼓泡的溶液，直至所有柠檬酸溶解。

[0413] 用 pH 4 和 7 缓冲标准使 pH 计标准化，以测量溶液的 pH。如果 pH 值不是 6.0 至 6.2，则用 1.0M 柠檬酸或 1.0M 柠檬酸钠调整 pH 值。

[0414] 器皿包裹于箔中以保护 EC145 以免光照。伴随搅拌和惰性气体鼓泡将 EC145 药物物质溶液加入配制器皿。用 WFI 溶液将含药物物质的器皿漂洗两次。伴随鼓泡搅拌该混合物，直至获得视觉上均匀的混合物为止。确定最终目标制剂重量，并且用 WFI 将该溶液充填至目标重量。

[0415] 溶液通过 0.22 微米无菌过滤器过滤，使用蠕动泵进行预湿润和起泡点测试。在整个过滤过程中，维持接收器皿的惰性气体吹扫。过滤后，重复起泡点测试以确保在整个过程中维持有效过滤。

[0416] 校准填充头，以向各小瓶递送 2.03 克（ 2.0 mL, 2.8 mg EC145）的 EC145 制剂溶液。在填充过程期间，常规地检查填充量。

[0417] 在填充过程中，瓶塞在小瓶上半塞。

[0418] 将热电偶置于冷冻干燥托盘中的合适小瓶内，并且按照每定义的周期，冷冻干燥所述托盘。

[0419]

实施例

[0420] 冷冻干燥周期

使用上面描述的含 3% 甘露糖醇的 pH 6.2 的柠檬酸盐缓冲的 EC145 溶液 (5 mL 小瓶中 2 mL) 的以下冷冻干燥周期提供具有令人满意的饼状表观的冷冻干燥 EC145 制剂，其容易地水中复水，并且保持高 API 纯度 (>95%)。

[0421] 小瓶用氩气鼓泡，用 2 mL EC145 制剂填充，用裙部开槽的冷冻干燥瓶塞以半塞位置塞住。一旦托盘被填充和塞紧，则将其置于 5℃下冷冻干燥器中。

[0422] 1. 将冷冻干燥器搁板预冷却至 5℃。

[0423] 2. 将填充的托盘加载到预冷却搁板上。

[0424] 3. 在加载完成之后，启动冷冻干燥周期。

[0425] 4. 搁板温度在 5℃下保持 30 至 60 分钟

可选地，将搁板预冷却至 -50℃到 5℃，这使得可减少预冷却所述填充托盘的时间；并且可能不需要步骤 4。

[0426] 5. 立即将搁板温度升至 -50℃。

[0427] 6. 搁板温度在 -50℃下保持 60 至 360 分钟。

[0428] 7. 将腔室压力降低至 50 到 150 mTorr。

[0429] 8. 搁板温度在 -50℃下保持 180 至 1740 分钟。

[0430] 9. 经历 73 分钟将搁板温度升至 -37℃ (0.20℃ / 分钟)。

[0431] 10. 搁板温度在 -37℃下保持 60 至 720 分钟。

[0432] 11. 经历 150 分钟将搁板温度升至 -20℃ (0.11℃ / 分钟)。

[0433] 12. 搁板温度在 -20℃下保持 60 至 360 分钟。

[0434] 13. 经历 60 至 360 分钟将搁板温度升至 20℃到 30℃。

[0435] 14. 搁板温度在 20℃至 30℃下保持 60 到 600 分钟。

[0436] 15. 用氩气或氮气将腔室回填至 12.5 psia (870 毫巴)。

[0437] 16. 毁坏所述搁板 (全塞小瓶)。

[0438] 17. 用过滤的空气回填至大气压力。

[0439] 18. 卸载冷冻干燥器。

上述冷冻干燥循环的具体实例 (5℃下初次冷却 30 分钟) 可以概述形式如下表示：

初次冷冻	1	2	3				
温度 (℃)	5	-50	-50				
时间 (分钟)	30	0	360				
主要和次要干燥	1	2	3	4	5	6	7
温度 (℃)	-50	-37	-37	-20	-20	20	20
时间 (分钟)	1740	73	720	150	360	360	600
真空(mTorr)	100	100	100	100	100	100	100

，

随后将小瓶封口以提供作为令人满意滤饼的在各小瓶中的最终产物。

[0440] 虽然上文已描述和 / 或例示了本发明的某些实施方案，但可以设想其大量变化和

修改是可能的。因此，本发明不局限于本文所述和 / 或例示的具体实施方案。

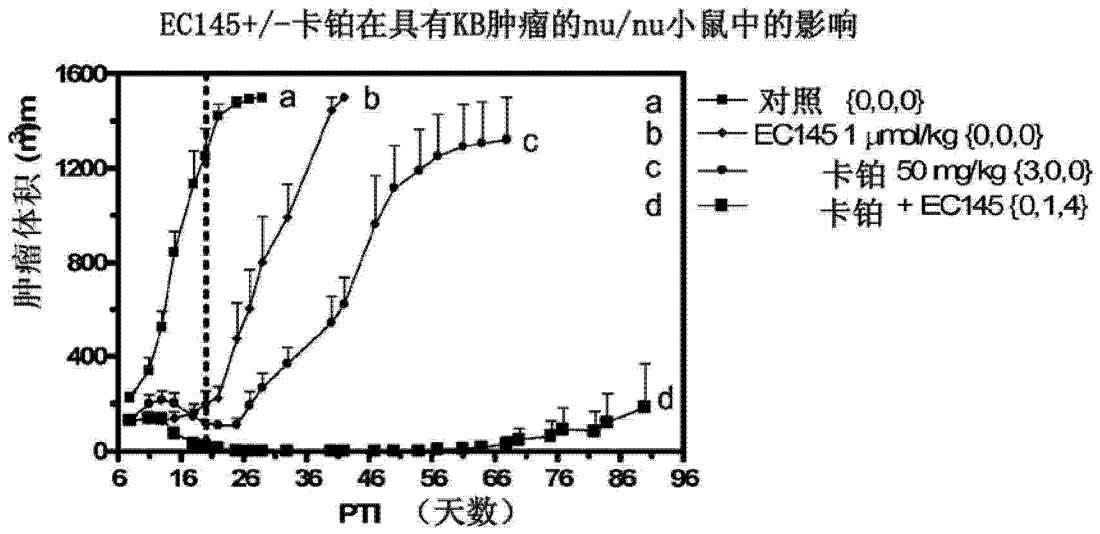

EC145+/-卡铂在具有KB肿瘤的nu/nu小鼠中的影响
肿瘤体积 (mm³)
1600
1200
800
400
0
6
16
26
36
46
56
66
76
86
96
PTI （天数）
a
b
c
d
对照 {0,0,0}
EC145 1 μmol/kg {0,0,0}
卡铂 50 mg/kg {3,0,0}
卡铂 + EC145 {0,1,4}

图 1

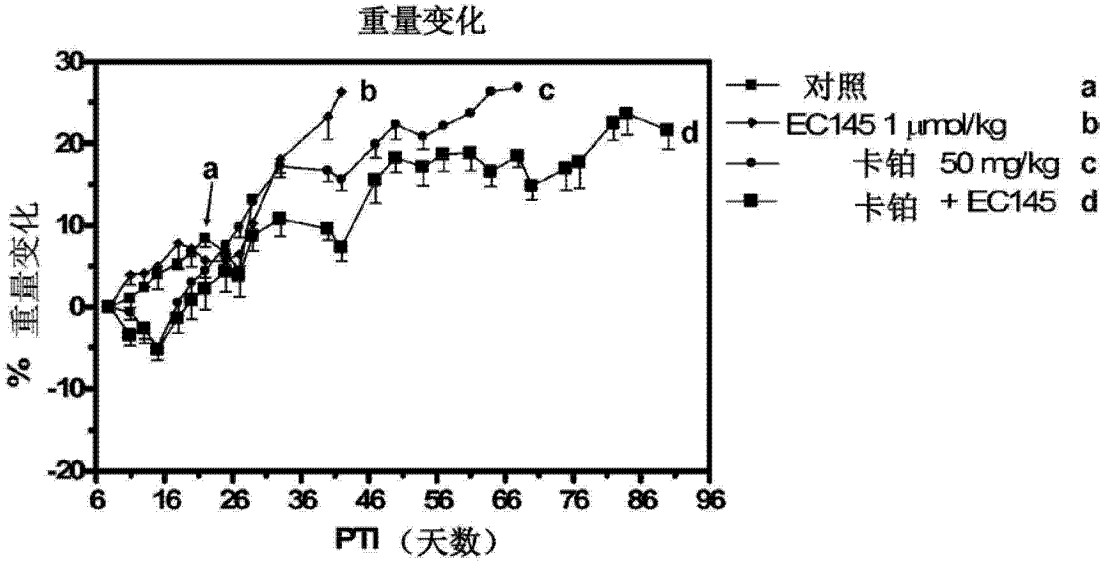

重量变化
% 重量变化
30
20
10
0
-10
-20
6
16
26
36
46
56
66
76
86
96
PTI （天数）
a
b
c
d
对照 a
EC145 1 μmol/kg b
卡铂 50 mg/kg c
卡铂 + EC145 d

图 2

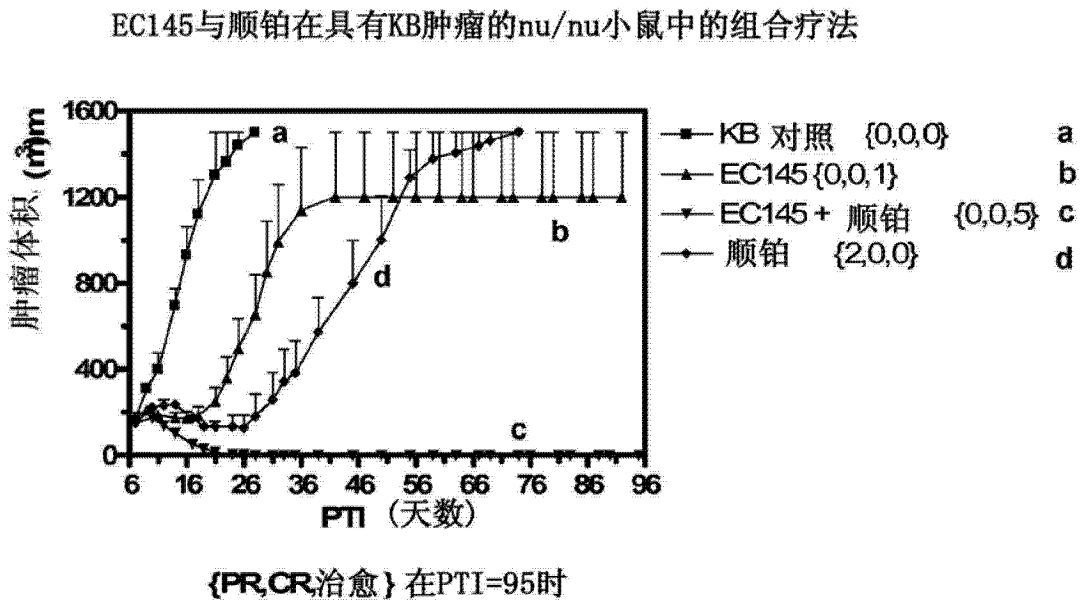

EC145与顺铂在具有KB肿瘤的nu/nu小鼠中的组合疗法
肿瘤体积 (mm³)
1600
1200
800
400
0
6 16 26 36 46 56 66 76 86 96
PTI（天数）
a
b
c
d
KB 对照 {0,0,0} a
EC145 {0,0,1} b
EC145 + 顺铂 {0,0,5} c
顺铂 {2,0,0} d
{PR,CR,治愈} 在PTI=95时

图 3

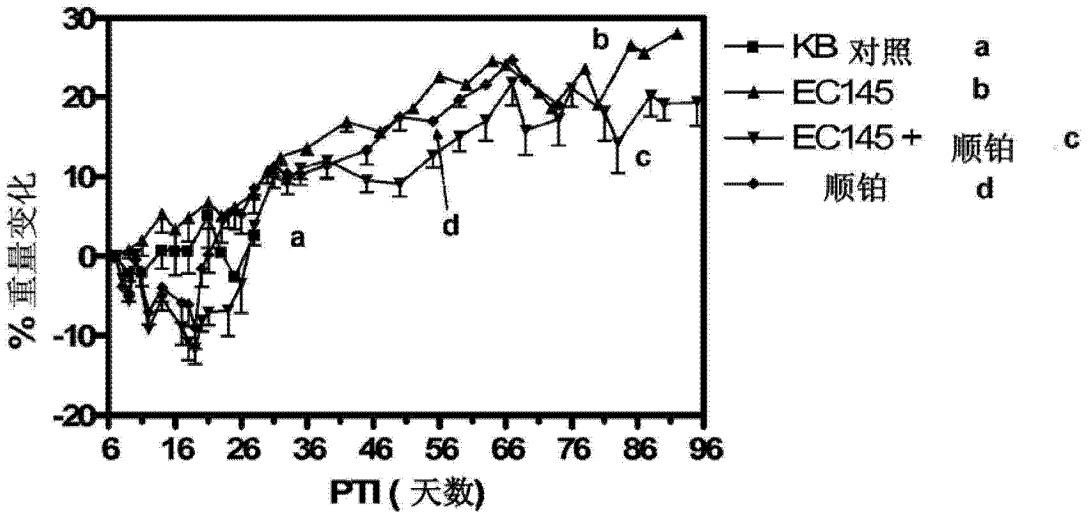
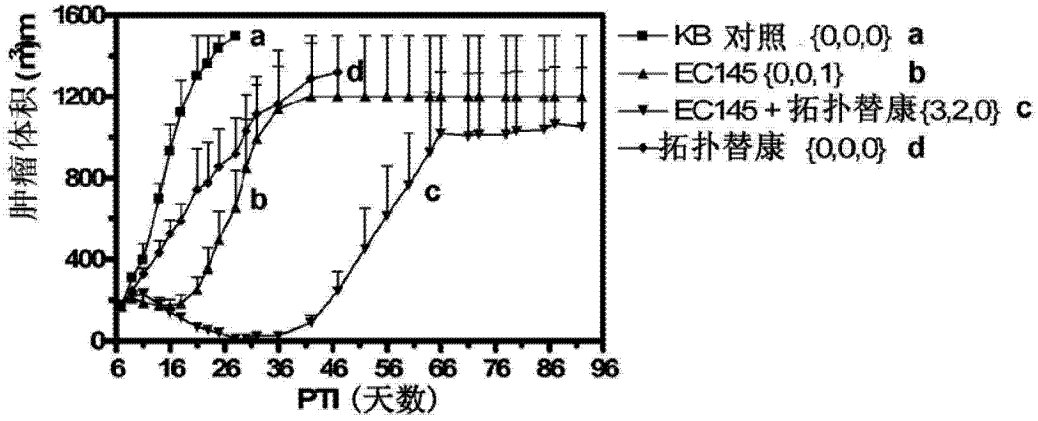

% 重量变化
30
20
10
0
-10
-20
6 16 26 36 46 56 66 76 86 96
PTI (天数)
a
b
c
d
KB 对照 a
EC145 b
EC145 + 顺铂 c
顺铂 d

图 4

EC145与盐酸拓扑替康（拓扑替康）在具有KB肿瘤的nu/nu小鼠中的组合疗法



{PR,CR,治愈} 在PTI=92时

图 5

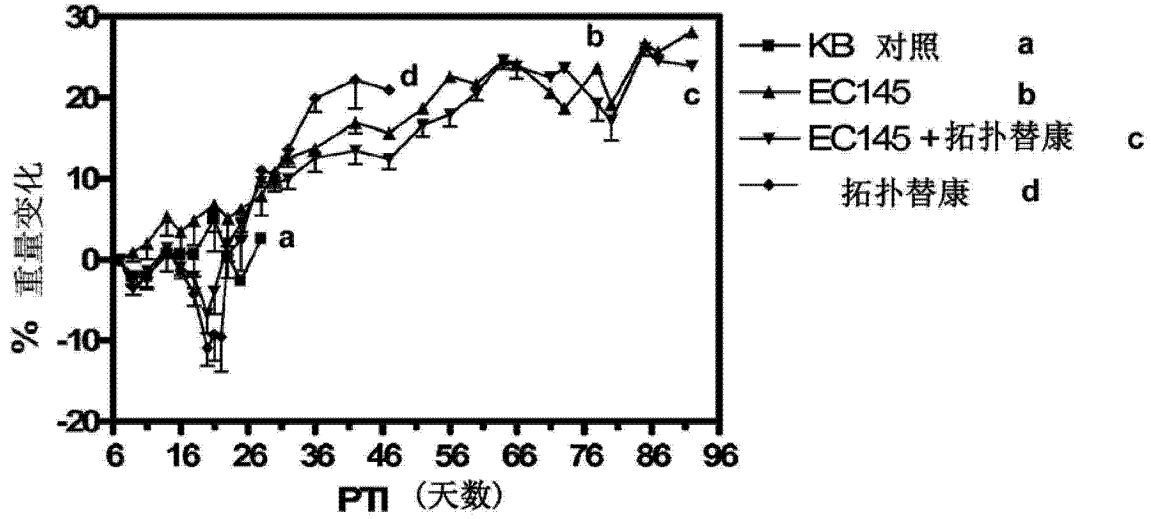


图 6

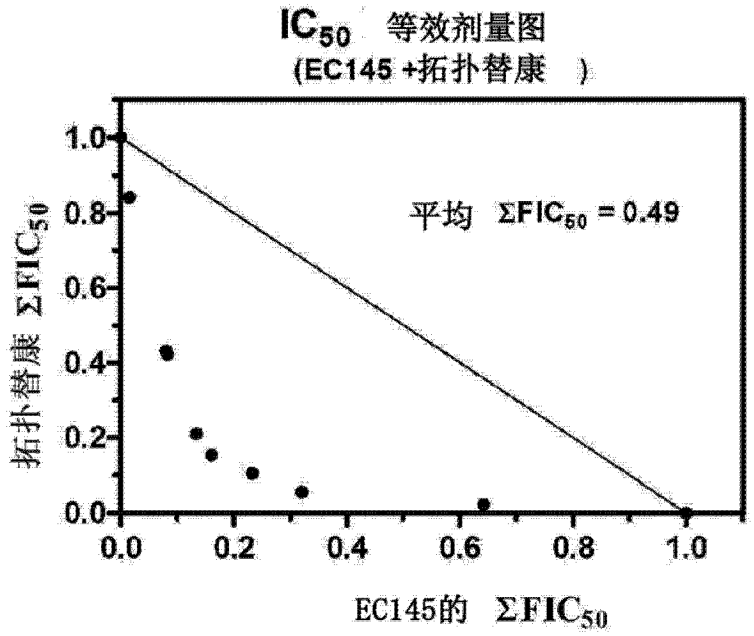

IC50 等效剂量图
(EC145 +拓扑替康)
平均 ΣFIC50 = 0.49
拓扑替康 ΣFIC50
EC145的 ΣFIC50
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0

图 7

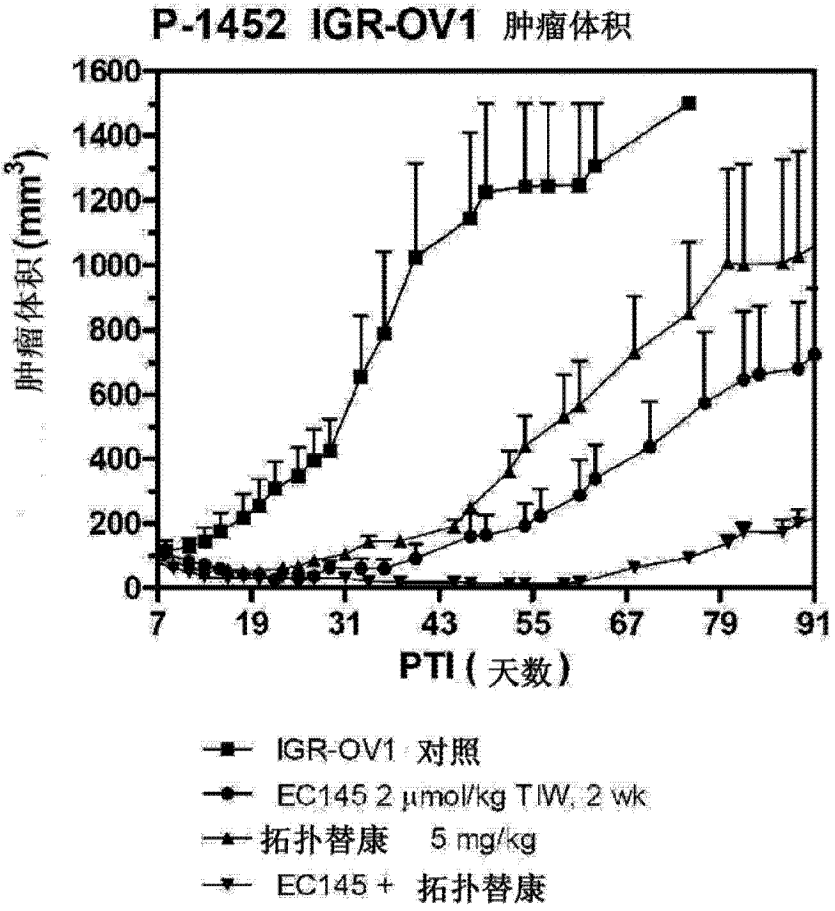

P-1452 IGR-OV1 肿瘤体积
肿瘤体积 (mm3)
PTI (天数)
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
7
19
31
43
55
67
79
91
IGR-OV1 对照
EC145 2 μmol/kg TIW, 2 wk
拓扑替康 5 mg/kg
EC145 + 拓扑替康

图 8

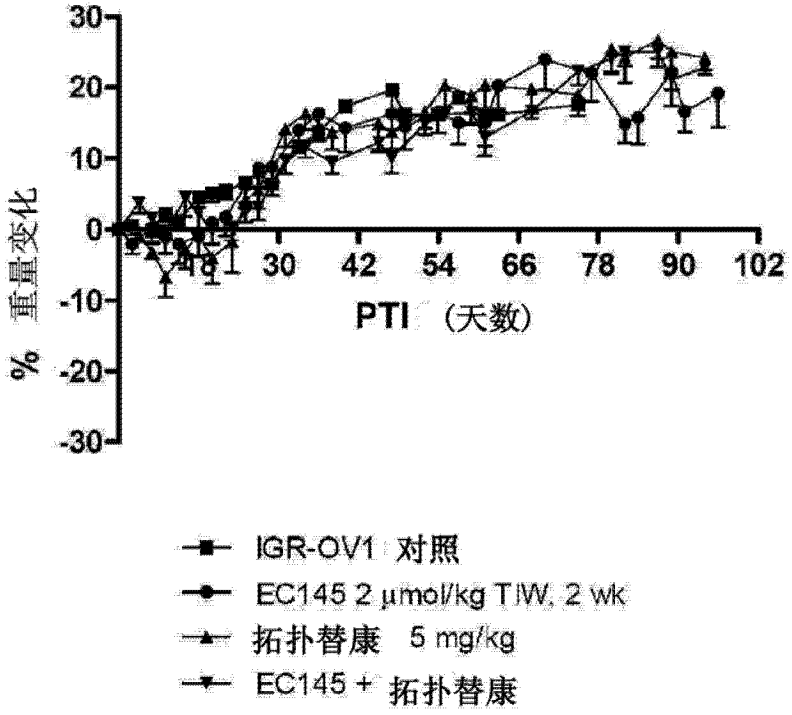

30
20
10
0
-10
-20
-30
% 重量变化
1
18
30
42
54
66
78
90
102
PTI (天数)
IGR-OV1 对照
EC145 2 µmol/kg TIW, 2 wk
拓扑替康 5 mg/kg
EC145 + 拓扑替康

图 9

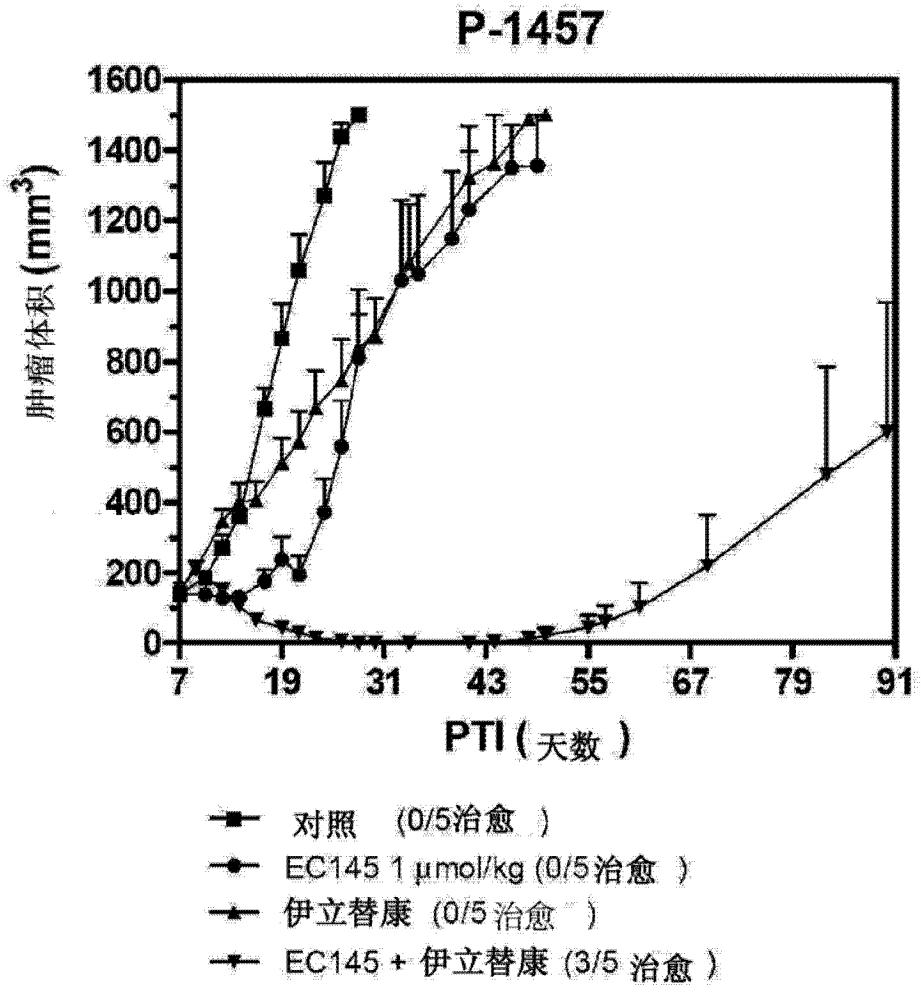

P-1457
肿瘤体积 (mm3)
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
7
19
31
43
55
67
79
91
PTI (天数)
对照 (0/5治愈)
EC145 1 μmol/kg (0/5治愈)
伊立替康 (0/5治愈)
EC145 + 伊立替康 (3/5治愈)

图 10

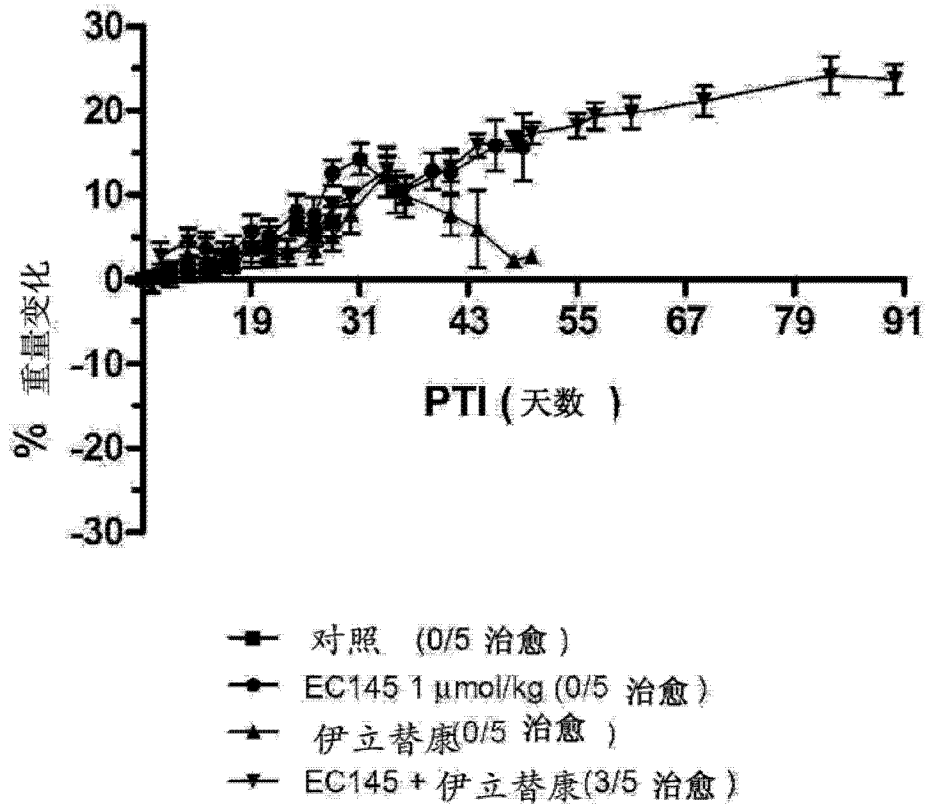


图 11

EC145与阿瓦斯汀（贝伐单抗）在具有KB肿瘤的nu/nu小鼠中的组合疗法

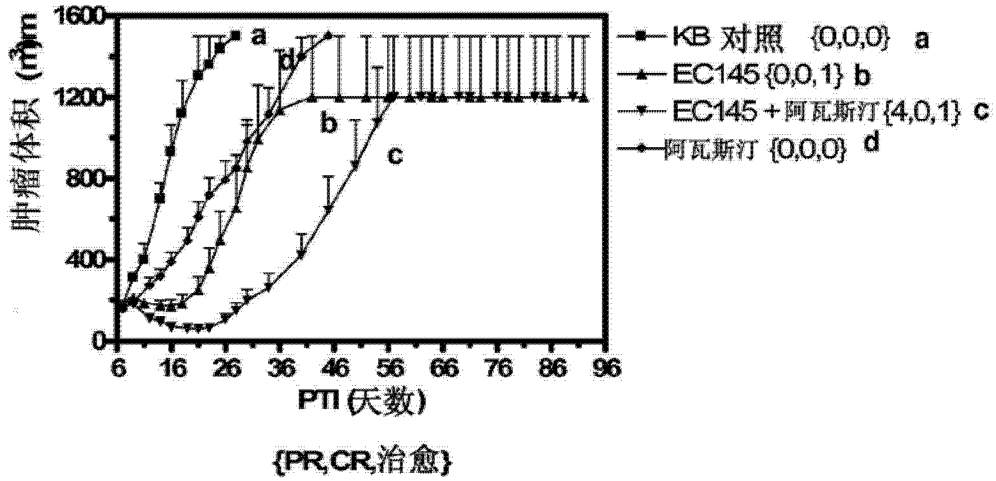


图 12

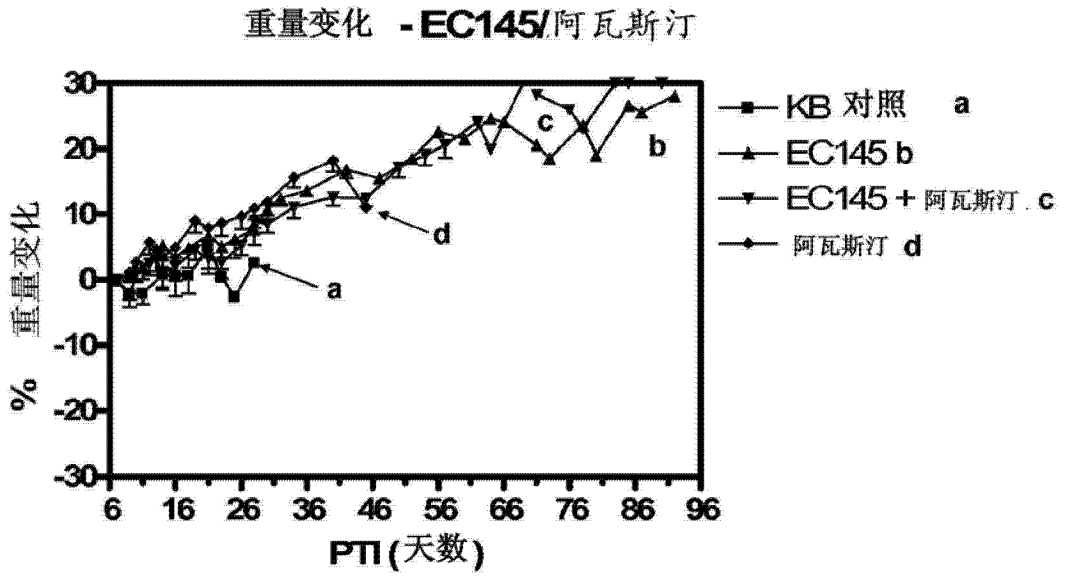


图 13

EC145与吉西他滨在具有M109肿瘤的Balb/c小鼠中的组合疗法

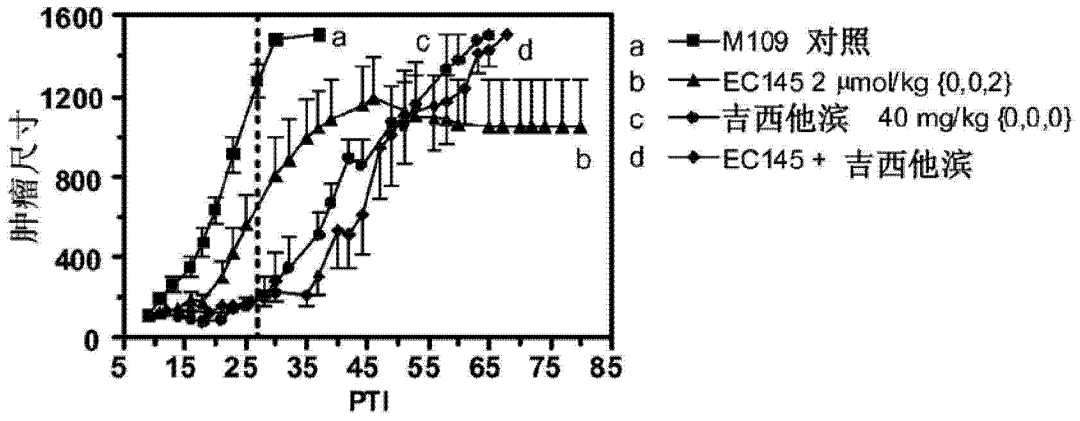


图 14

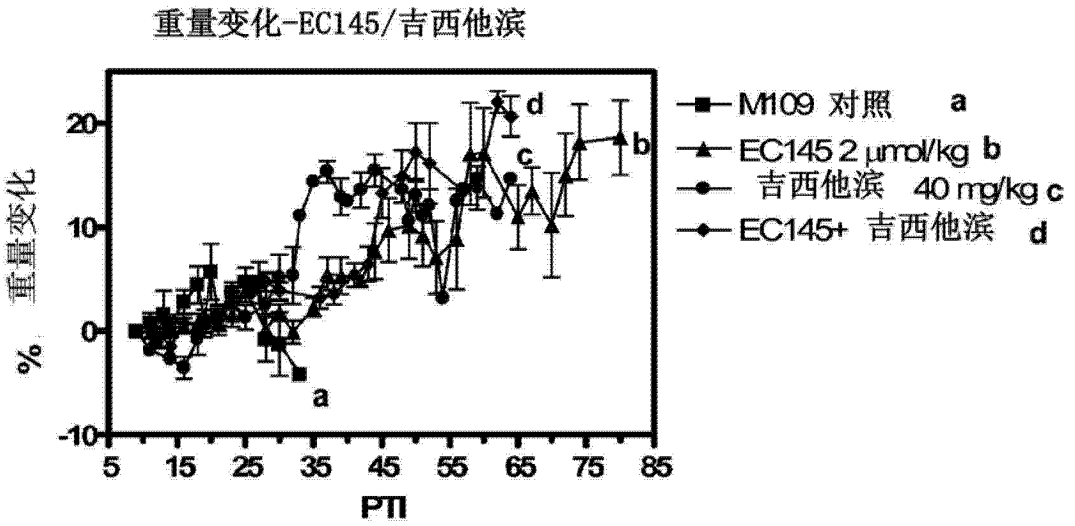


图 15

EC145与特罗凯在具有M109肿瘤的Balb/c小鼠中的组合疗法

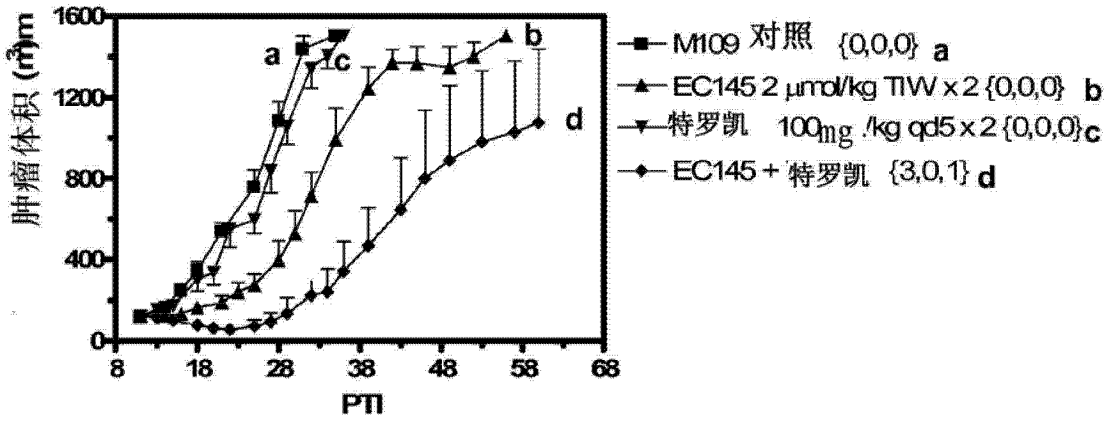


图 16

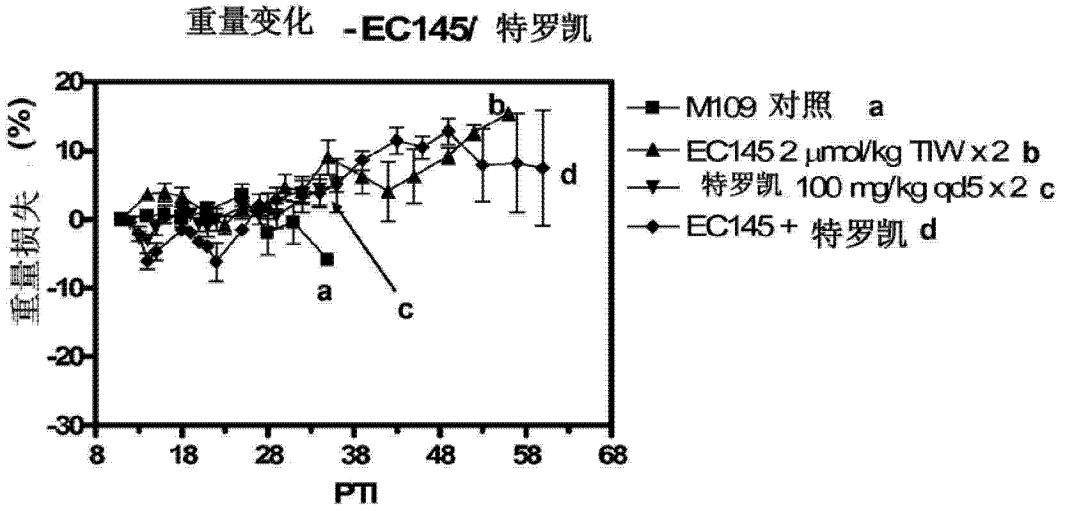

重量变化 -EC145/ 特罗凯
重量损失 (%)
20
10
0
-10
-20
-30
8
18
28
38
48
58
68
PTI
a
b
c
d
M109 对照 a
EC145 2 μmol/kg TIW x 2 b
特罗凯 100 mg/kg qd5 x 2 c
EC145 + 特罗凯 d

图 17

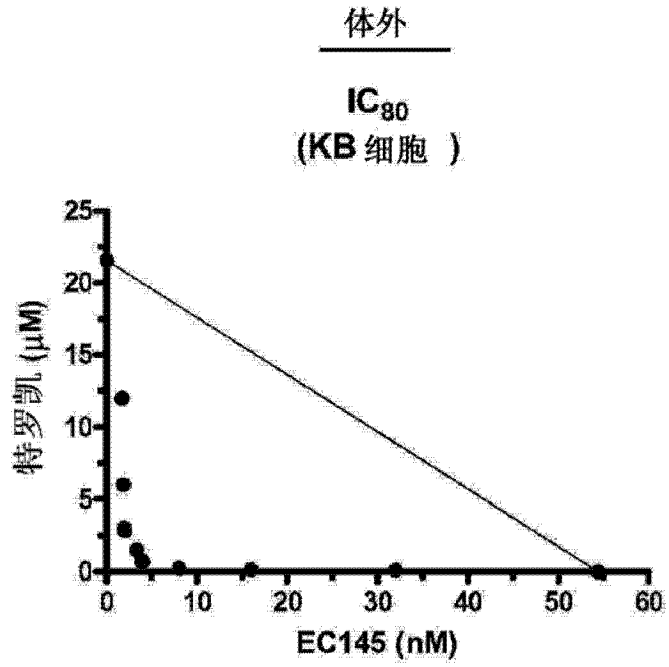

体外
IC80
(KB 细胞)
特罗凯 (μM)
25
20
15
10
5
0
0
10
20
30
40
50
60
EC145 (nM)

图 18

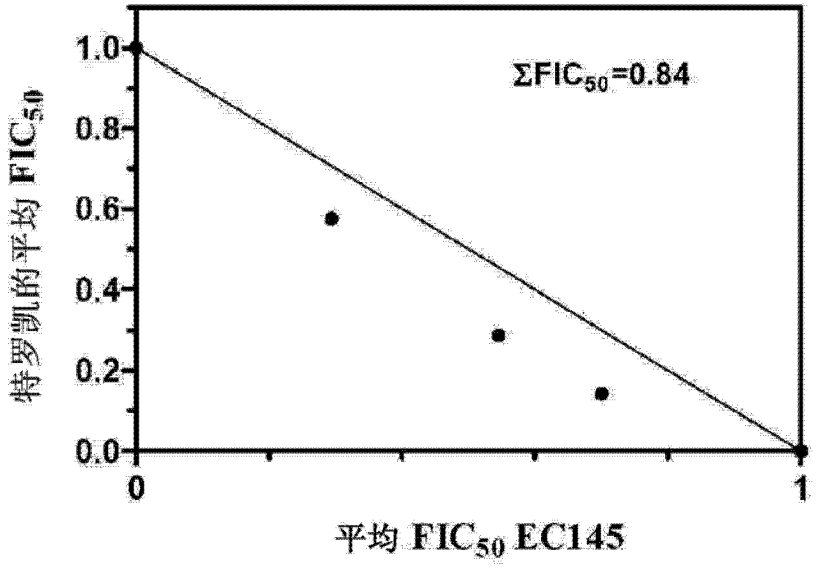

ΣFIC50=0.84
特罗凯的平均 FIC50
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0
1
平均 FIC50 EC145

图 19

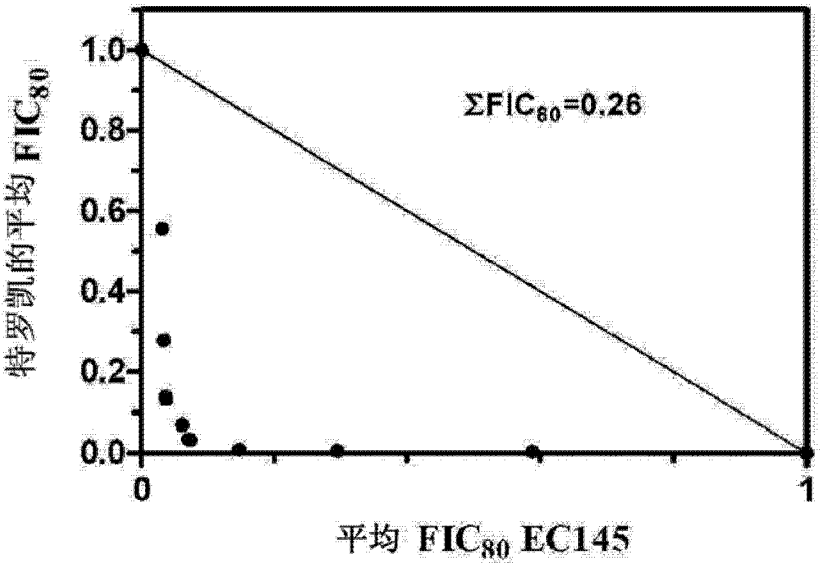

ΣFIC80=0.26
特罗凯的平均 FIC80
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0
1
平均 FIC80 EC145

图 20

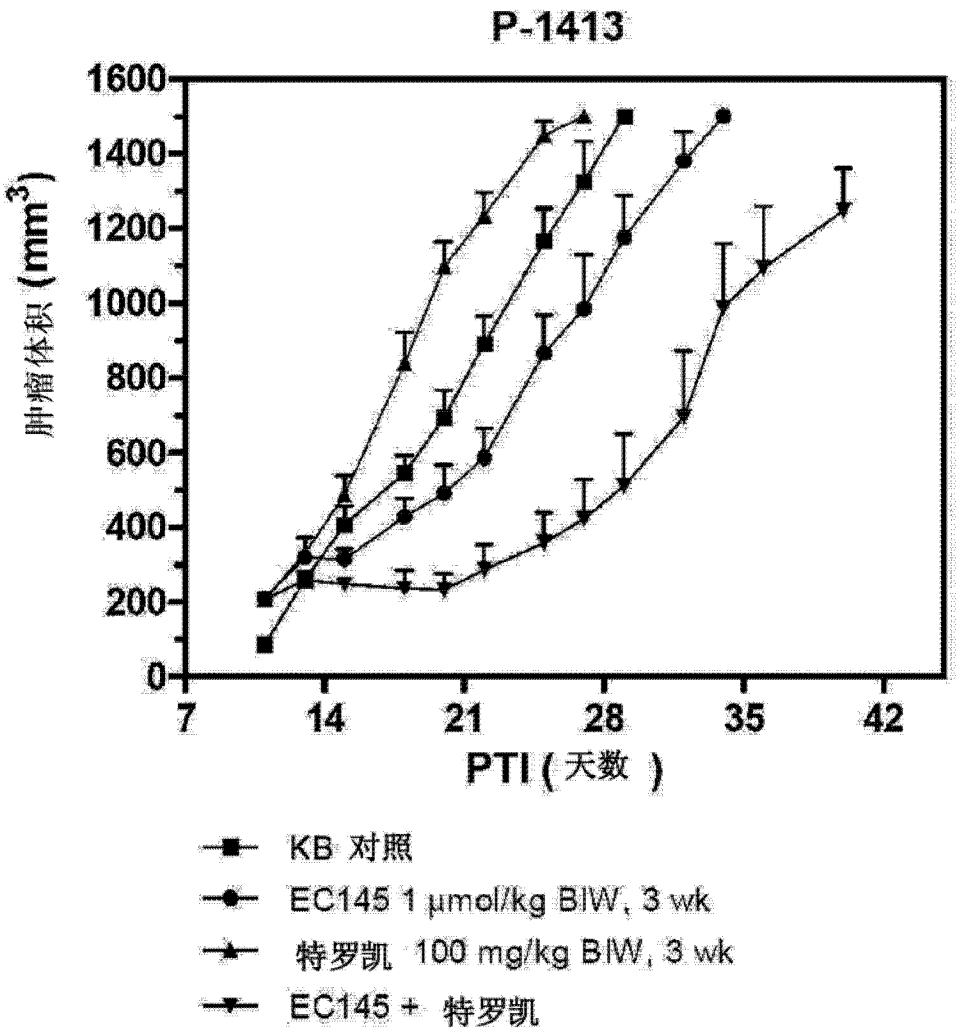

P-1413
肿瘤体积 (mm^3)
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
7
14
21
28
35
42
PTI (天数)
KB 对照
EC145 1 μmol/kg BIW, 3 wk
特罗凯 100 mg/kg BIW, 3 wk
EC145 + 特罗凯

图 21

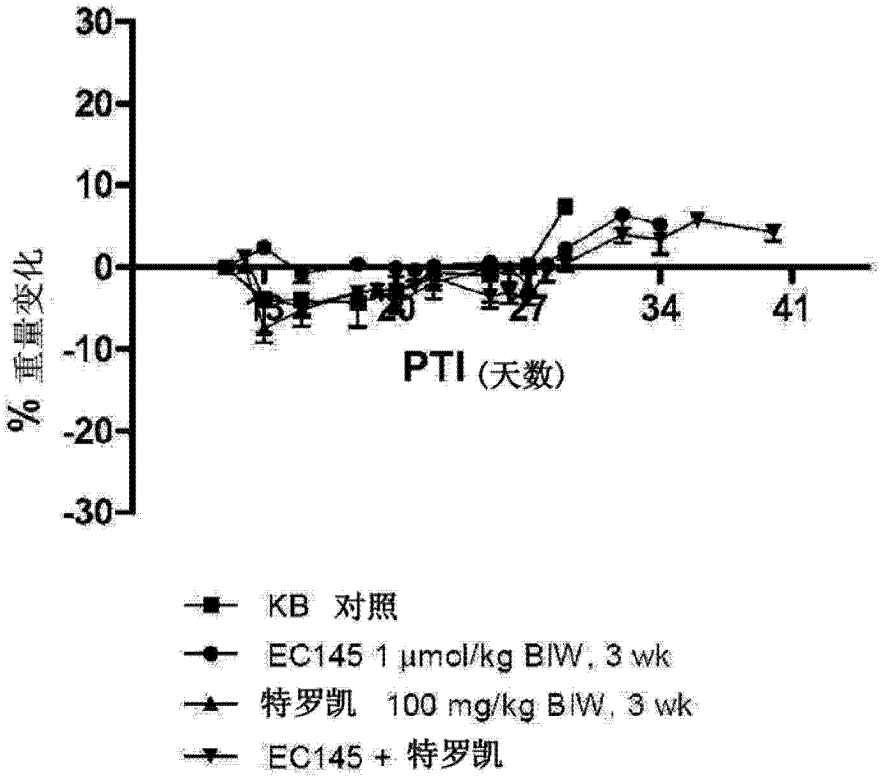

30
20
10
0
-10
-20
-30
% 重量变化
PTI (天数)
KB 对照
EC145 1 μmol/kg BIW, 3 wk
特罗凯 100 mg/kg BIW, 3 wk
EC145 + 特罗凯

图 22

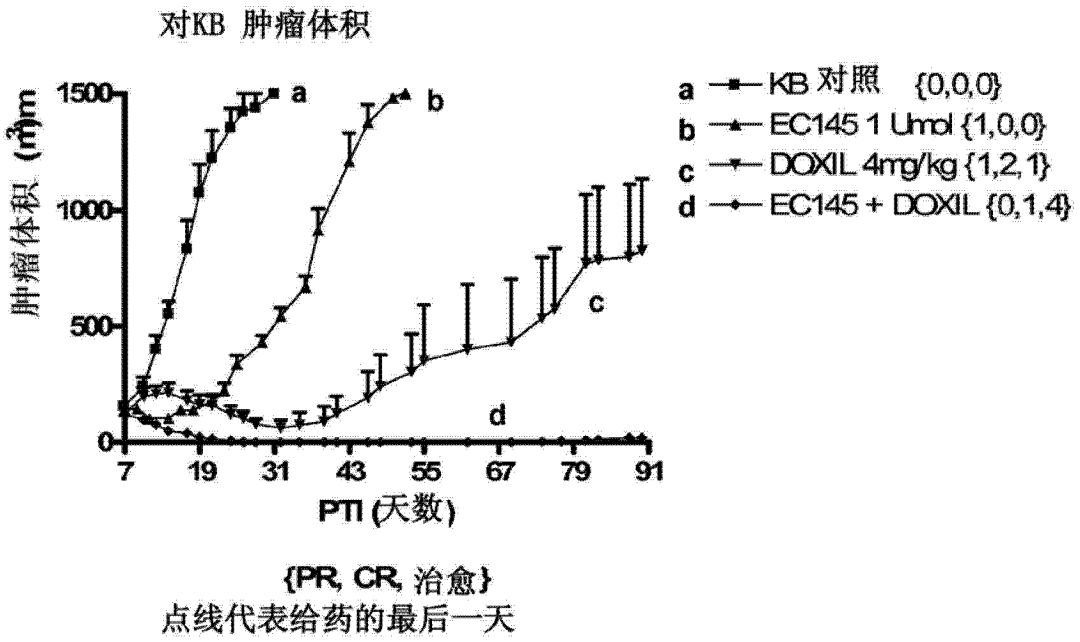

对KB 肿瘤体积
肿瘤体积 (mm3)
1500
1000
500
0
7
19
31
43
55
67
79
91
PTI (天数)
a
b
c
d
a KB 对照 {0,0,0}
b EC145 1 Umol {1,0,0}
c DOXIL 4mg/kg {1,2,1}
d EC145 + DOXIL {0,1,4}
{PR, CR, 治愈}
点线代表给药的最后一天

图 23

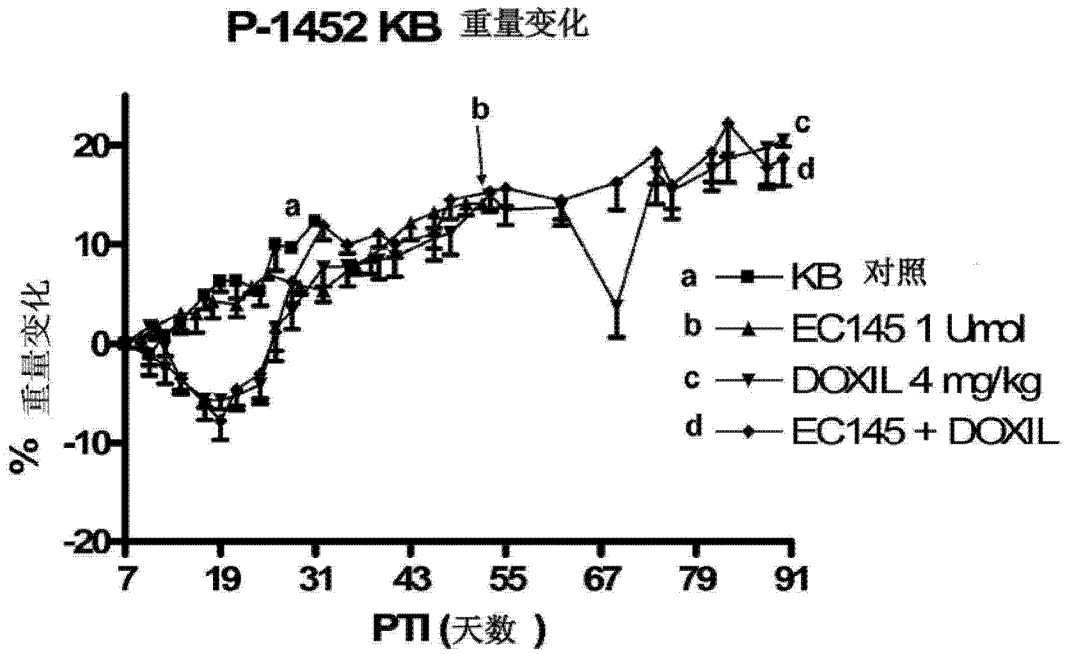

P-1452 KB 重量变化
% 重量变化
20
10
0
-10
-20
7
19
31
43
55
67
79
91
PTI (天数)
a
b
c
d
a KB 对照
b EC145 1 Umol
c DOXIL 4 mg/kg
d EC145 + DOXIL

图 24

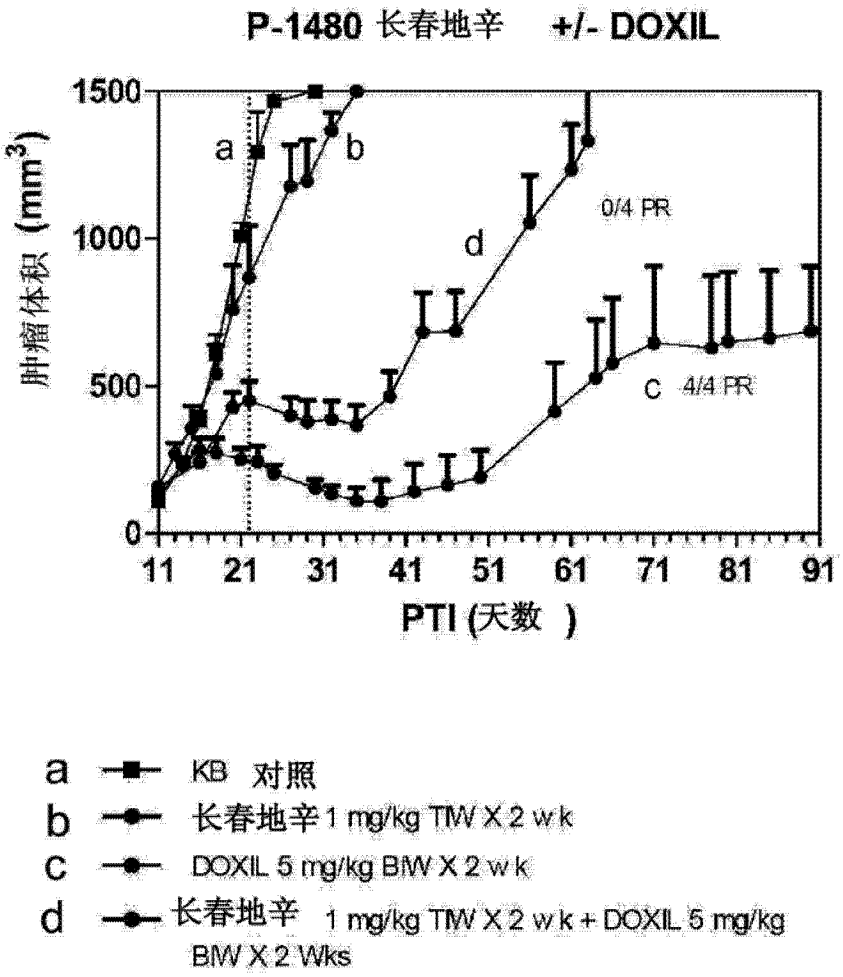

P-1480 长春地辛 +/- DOXIL
肿瘤体积 (mm3)
1500
1000
500
0
11
21
31
41
51
61
71
81
91
PTI (天数)
a
b
c
d
0/4 PR
4/4 PR
a KB 对照
b 长春地辛 1 mg/kg TIW X 2 w k
c DOXIL 5 mg/kg BIW X 2 w k
d 长春地辛 1 mg/kg TIW X 2 w k + DOXIL 5 mg/kg BIW X 2 Wks

图 25

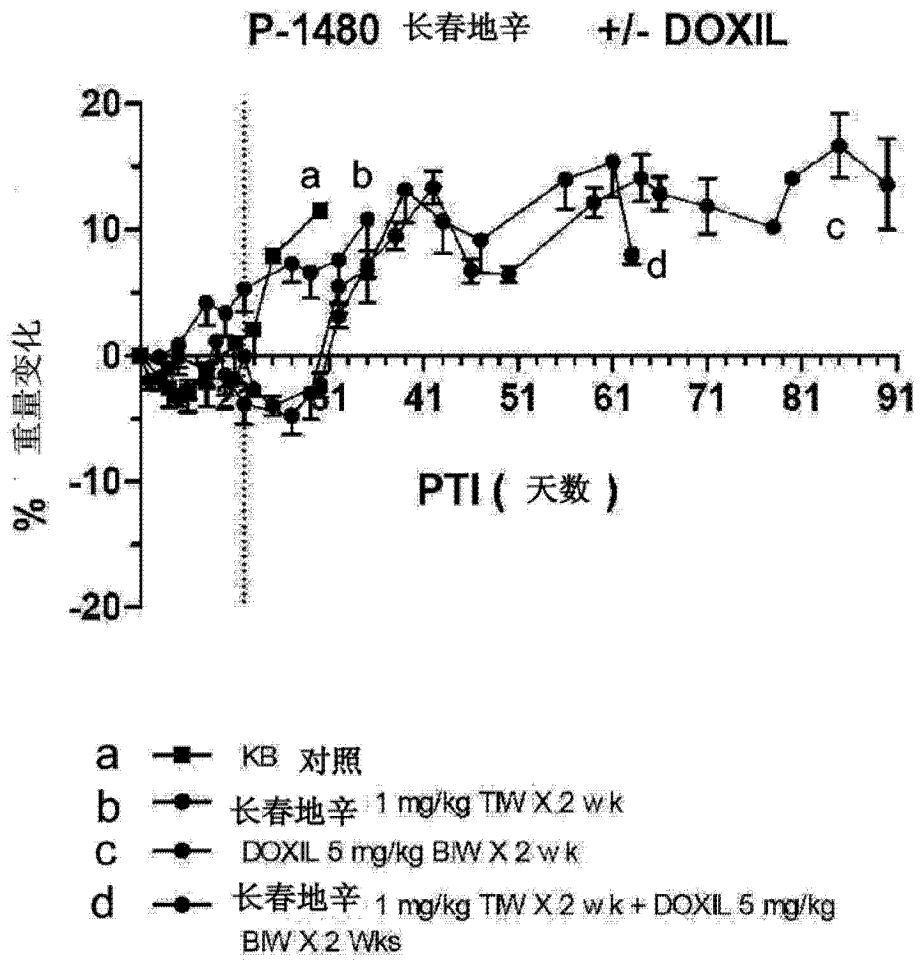

P-1480 长春地辛 +/- DOXIL
20
10
0
-10
-20
% 重量变化
a
b
c
d
41
51
61
71
81
91
PTI (天数)
a KB 对照
b 长春地辛 1 mg/kg TIW X 2 w k
c DOXIL 5 mg/kg BIW X 2 w k
d 长春地辛 1 mg/kg TIW X 2 w k + DOXIL 5 mg/kg BIW X 2 Wks

图 26

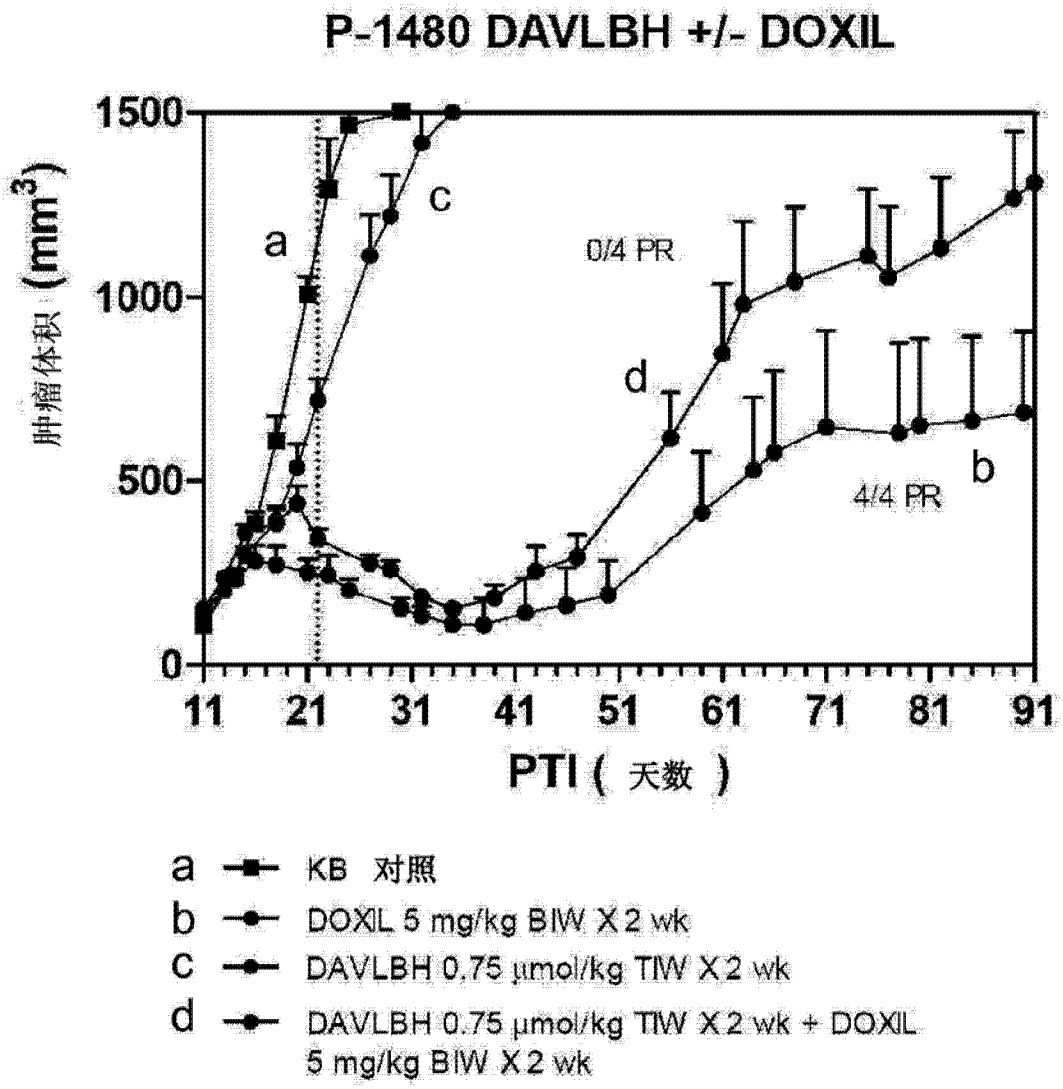

P-1480 DAVLBH +/- DOXIL
肿瘤体积 (mm3)
1500
1000
500
0
11
21
31
41
51
61
71
81
91
PTI (天数)
a
b
c
d
0/4 PR
4/4 PR
a KB 对照
b DOXIL 5 mg/kg BIW X 2 wk
c DAVLBH 0.75 µmol/kg TIW X 2 wk
d DAVLBH 0.75 µmol/kg TIW X 2 wk + DOXIL 5 mg/kg BIW X 2 wk

图 27

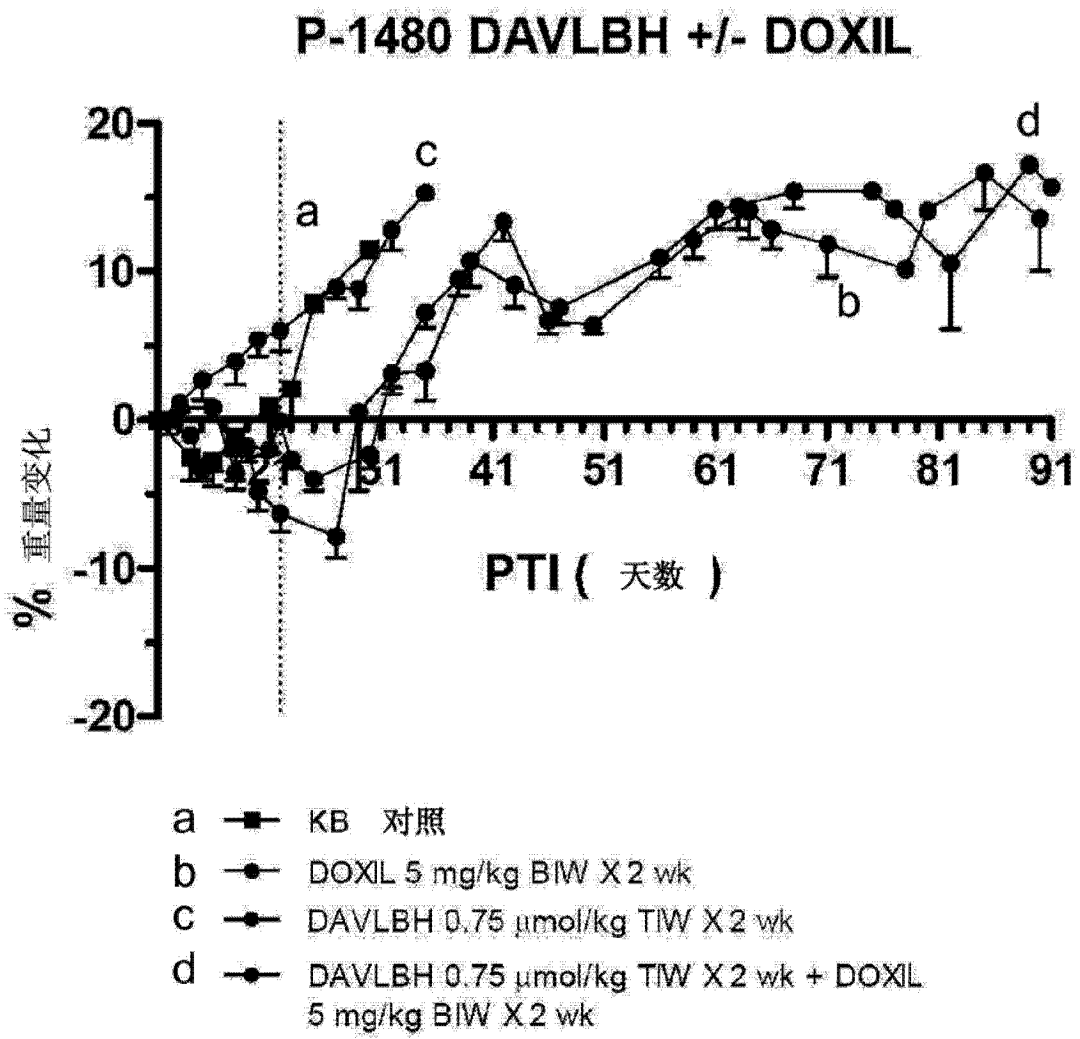

P-1480 DAVLBH +/- DOXIL
20
10
0
-10
-20
% 重量变化
1
11
21
31
41
51
61
71
81
91
PTI (天数)
a
b
c
d
a KB 对照
b DOXIL 5 mg/kg BIW X 2 wk
c DAVLBH 0.75 μmol/kg TIW X 2 wk
d DAVLBH 0.75 μmol/kg TIW X 2 wk + DOXIL 5 mg/kg BIW X 2 wk

图 28

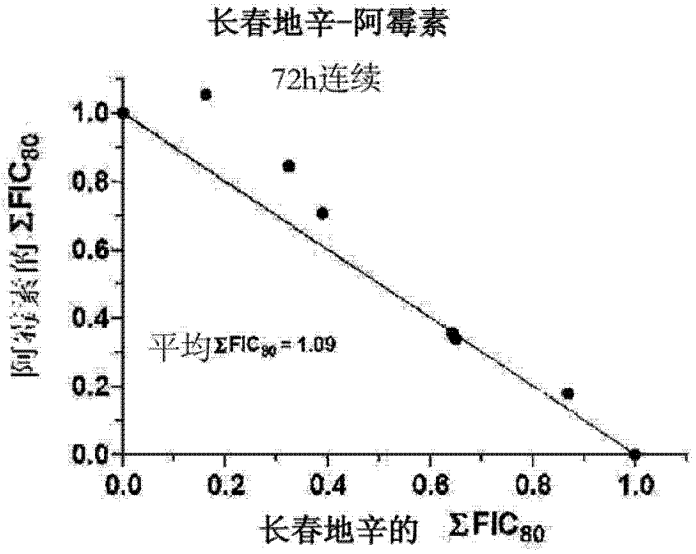

长春地辛-阿霉素
72h连续
阿霉素的 ΣFIC80
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
平均ΣFIC80 = 1.09
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
长春地辛的 ΣFIC80

图 29

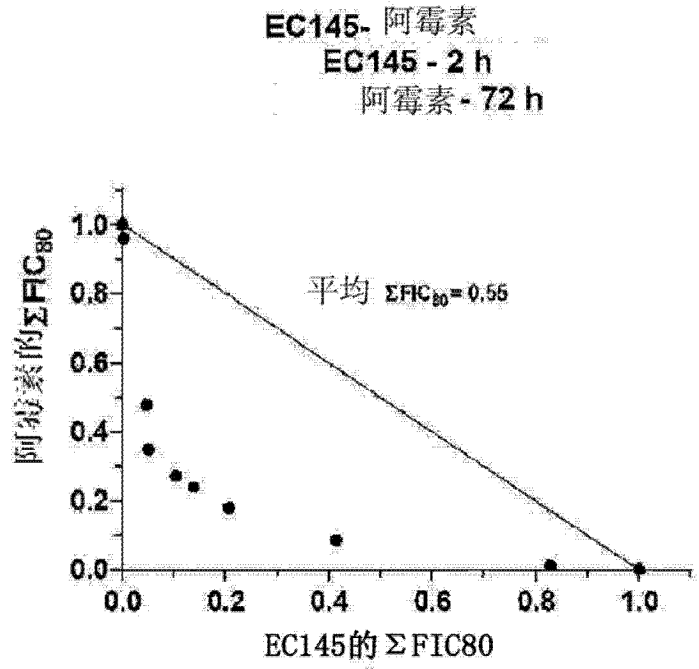

EC145- 阿霉素
EC145 - 2 h
阿霉素 - 72 h
阿霉素的ΣFIC80
平均 ΣFIC80 = 0.55
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
EC145的ΣFIC80

图 30

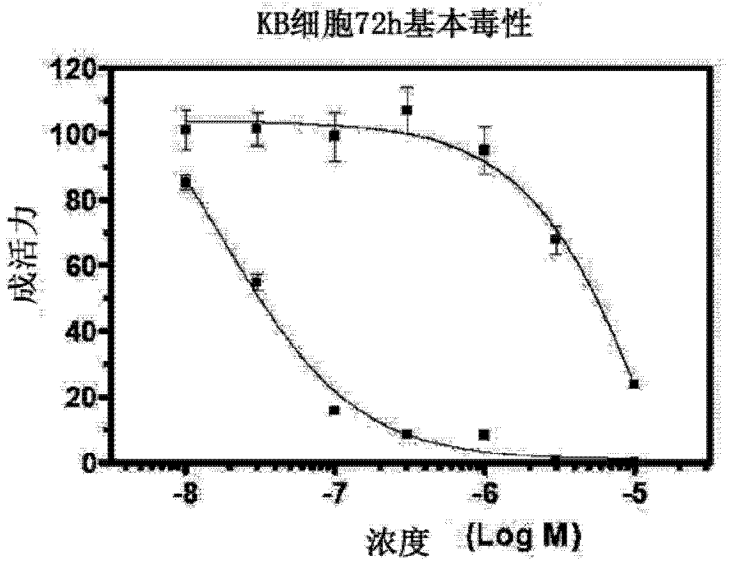

KB细胞72h基本毒性
成活力
120
100
80
60
40
20
0
-8
-7
-6
-5
浓度 (Log M)

图 31

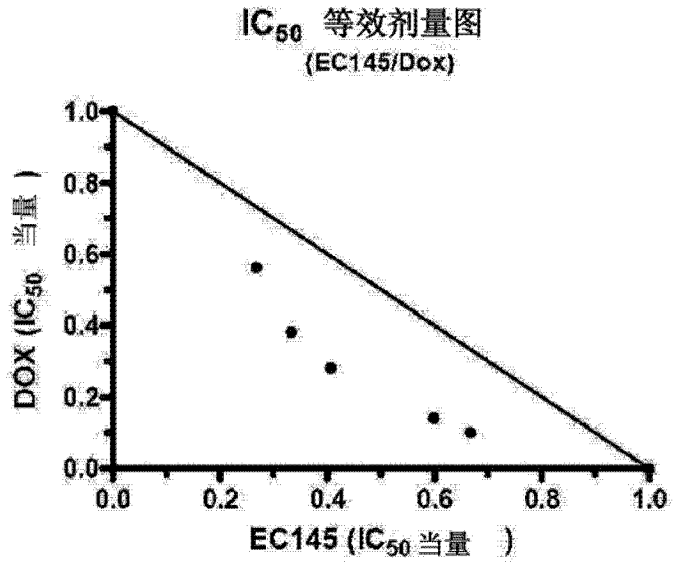

IC50 等效剂量图
(EC145/Dox)
DOX (IC50 当量)
EC145 (IC50 当量)
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0

图 32

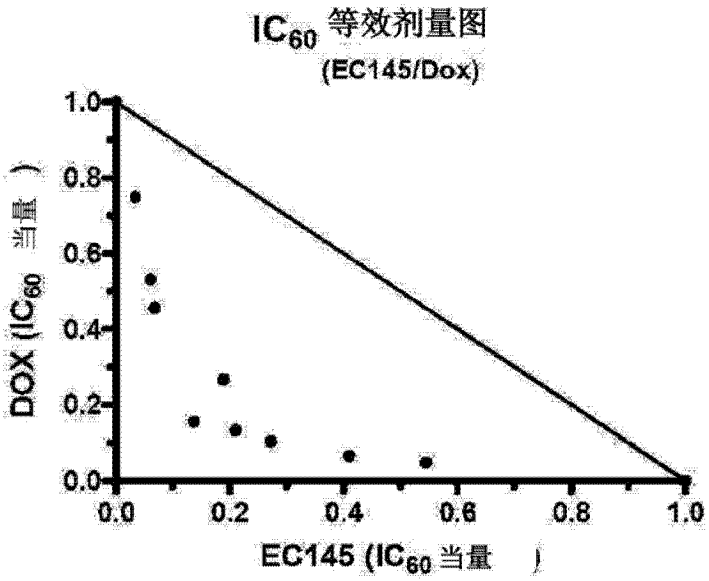

IC60 等效剂量图
(EC145/Dox)
DOX (IC60 当量)
EC145 (IC60 当量)
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0

图 33

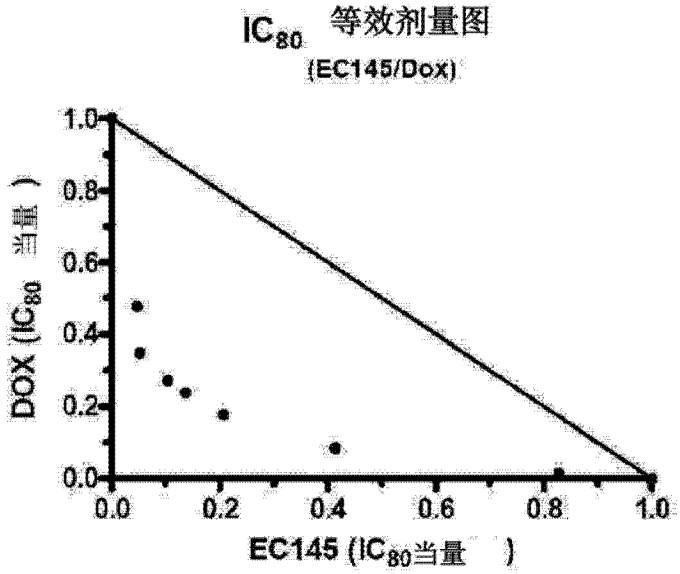

IC80 等效剂量图
(EC145/Dox)
DOX (IC80 当量)
EC145 (IC80当量)
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0

图 34

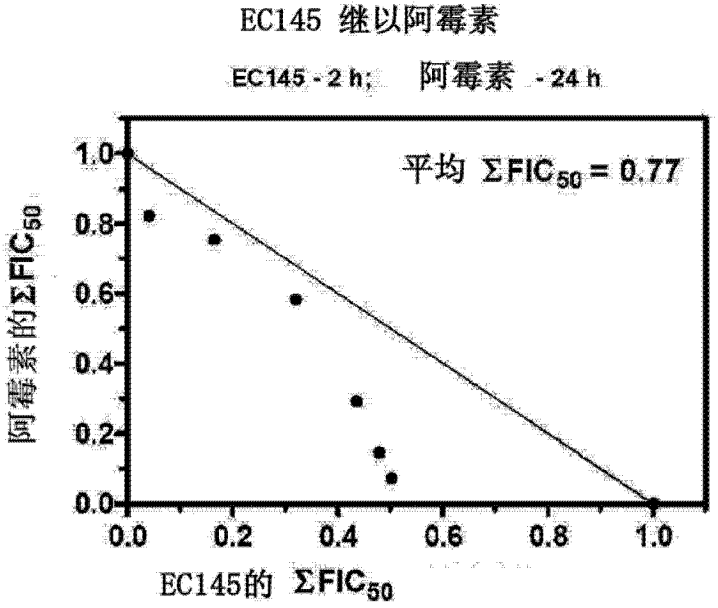

EC145 继以阿霉素
EC145 - 2 h; 阿霉素 - 24 h
平均 ΣFIC50 = 0.77
阿霉素的ΣFIC50
EC145的 ΣFIC50
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0

图 35

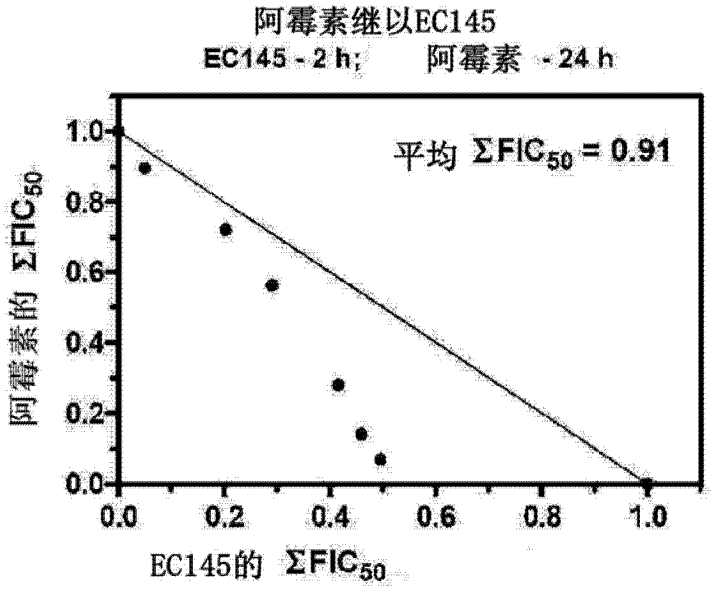

阿霉素继以EC145
EC145 - 2 h; 阿霉素 - 24 h
平均 ΣFIC50 = 0.91
阿霉素的 ΣFIC50
EC145的 ΣFIC50
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0

图 36

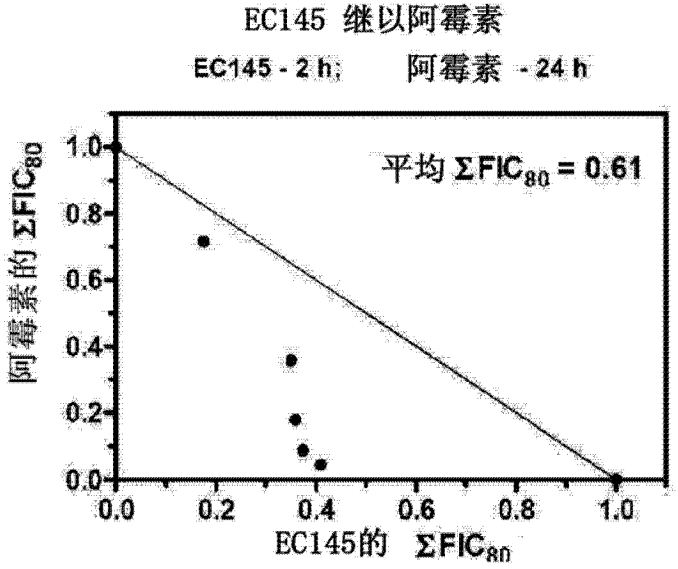

EC145 继以阿霉素
EC145 - 2 h; 阿霉素 - 24 h
平均 ΣFIC80 = 0.61
阿霉素的 ΣFIC80
EC145的 ΣFIC80
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0

图 37

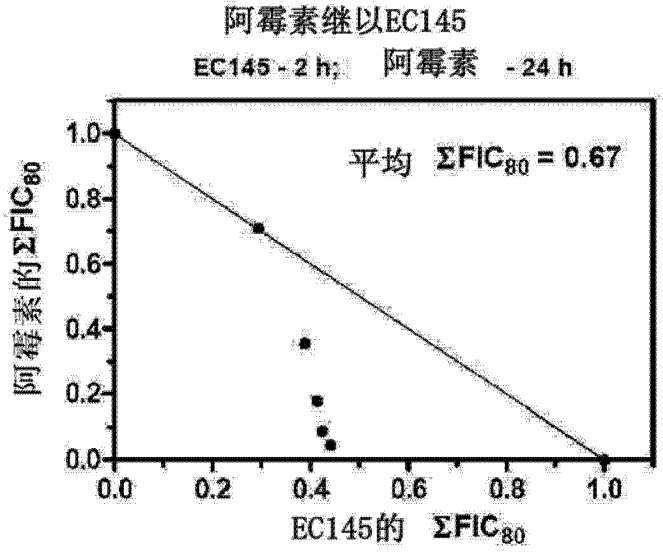

阿霉素继以EC145
EC145 - 2 h; 阿霉素 - 24 h
平均 ΣFIC80 = 0.67
阿霉素的ΣFIC80
EC145的 ΣFIC80
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0

图 38

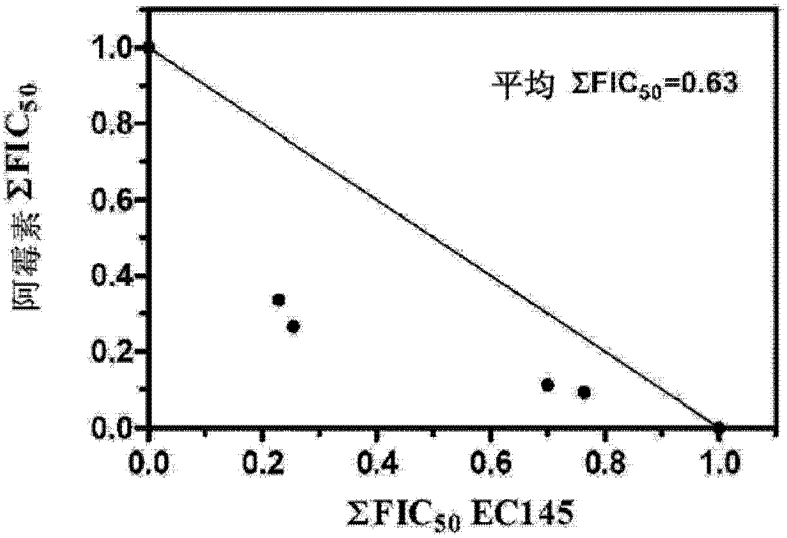

平均 ΣFIC50=0.63
阿霉素 ΣFIC50
ΣFIC50 EC145
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0

图 39

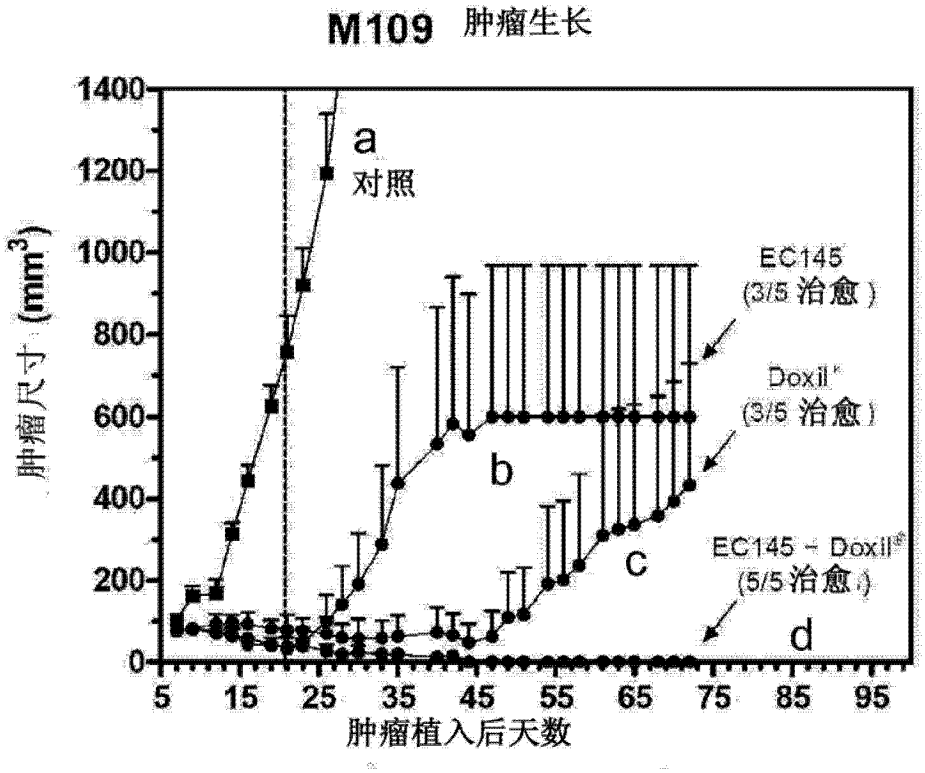
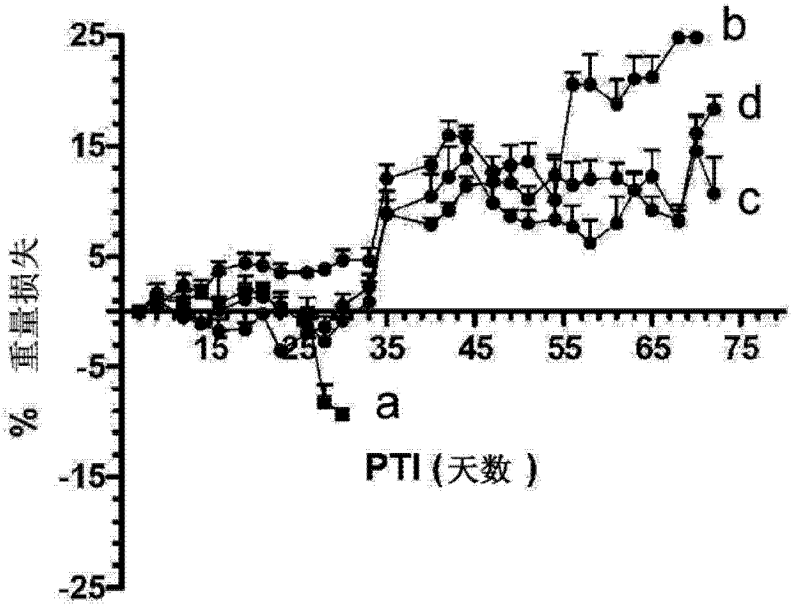


图 40



与图40中指数相同

图 41

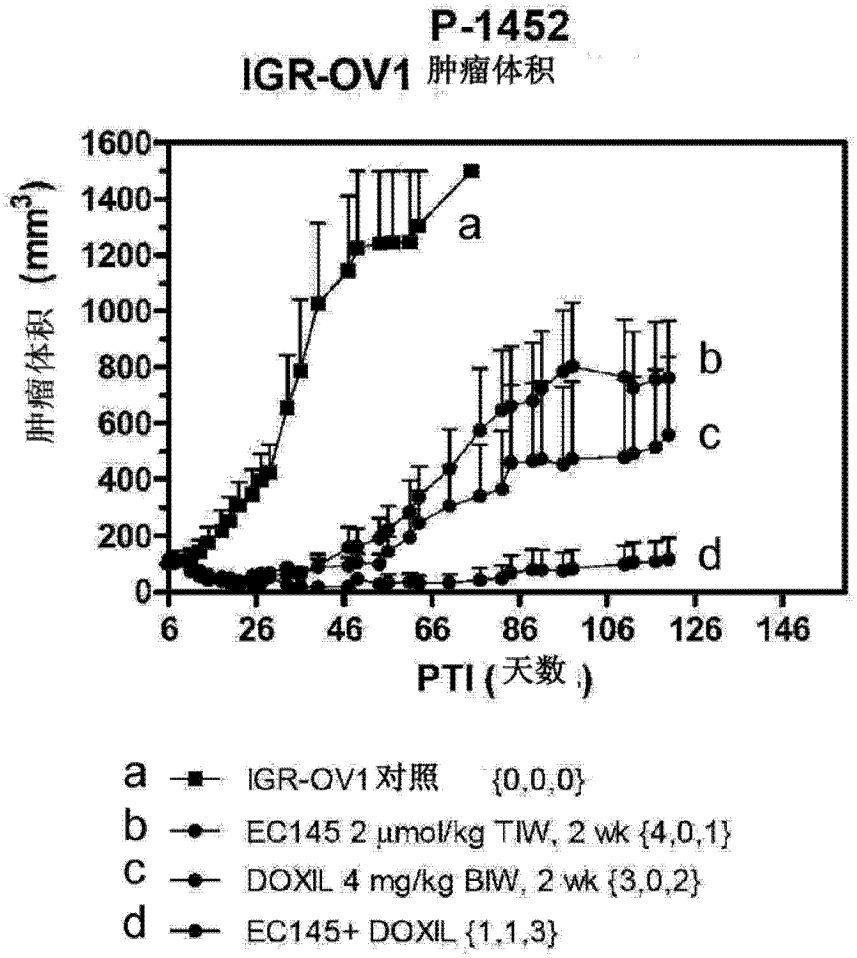

P-1452
IGR-OV1 肿瘤体积
肿瘤体积 (mm3)
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
6
26
46
66
86
106
126
146
PTI (天数)
a
b
c
d
a IGR-OV1 对照 {0,0,0}
b EC145 2 μmol/kg TIW, 2 wk {4,0,1}
c DOXIL 4 mg/kg BIW, 2 wk {3,0,2}
d EC145+ DOXIL {1,1,3}

图 42

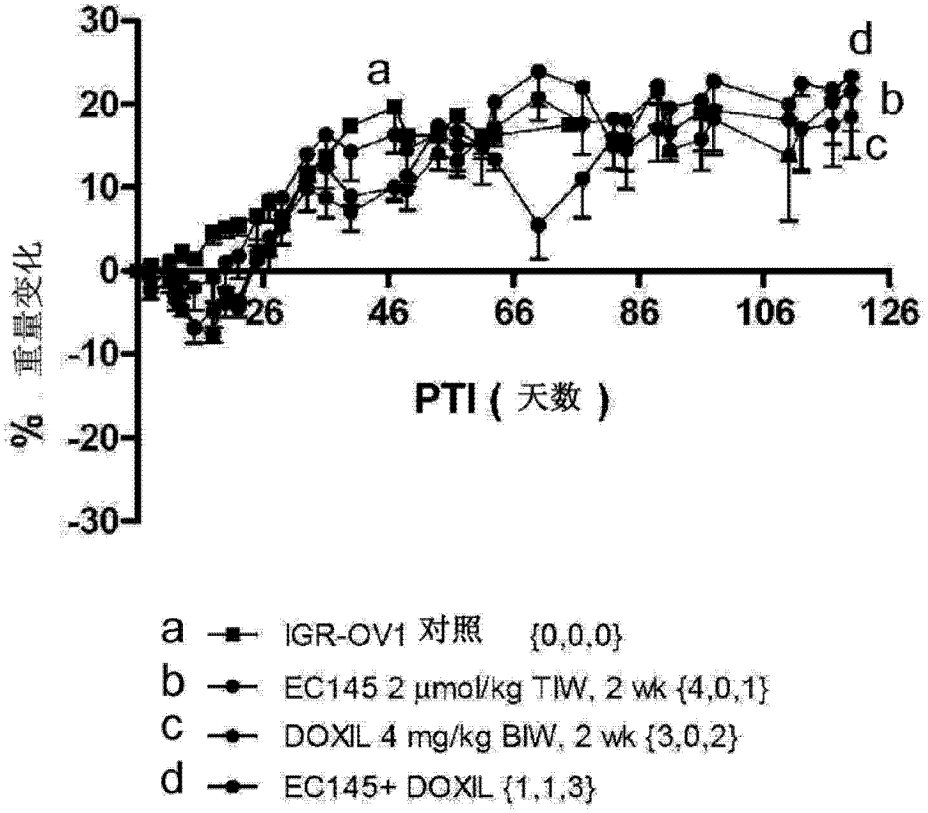

30
20
10
0
-10
-20
-30
%
重量变化
26
46
66
86
106
126
PTI (天数)
a
b
c
d
a IGR-OV1 对照 {0,0,0}
b EC145 2 µmol/kg TIW, 2 wk {4,0,1}
c DOXIL 4 mg/kg BIW, 2 wk {3,0,2}
d EC145+ DOXIL {1,1,3}

图 43

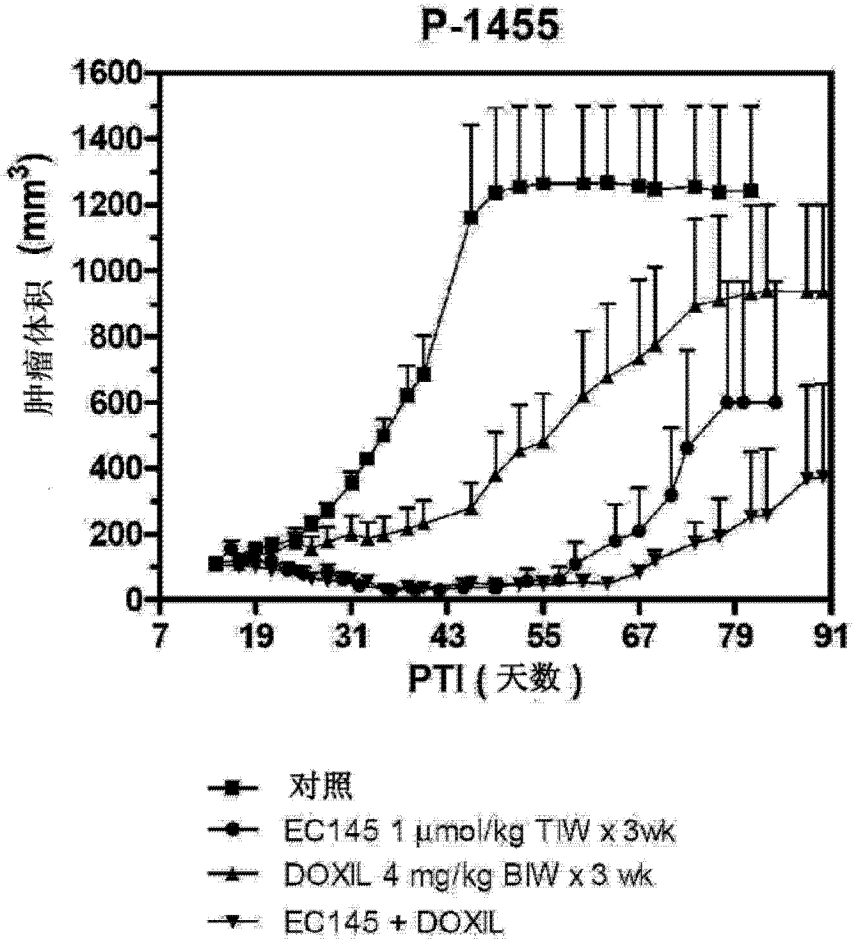

P-1455
肿瘤体积 (mm3)
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
7
19
31
43
55
67
79
91
PTI (天数)
对照
EC145 1 µmol/kg TIW x 3wk
DOXIL 4 mg/kg BIW x 3 wk
EC145 + DOXIL

图 44

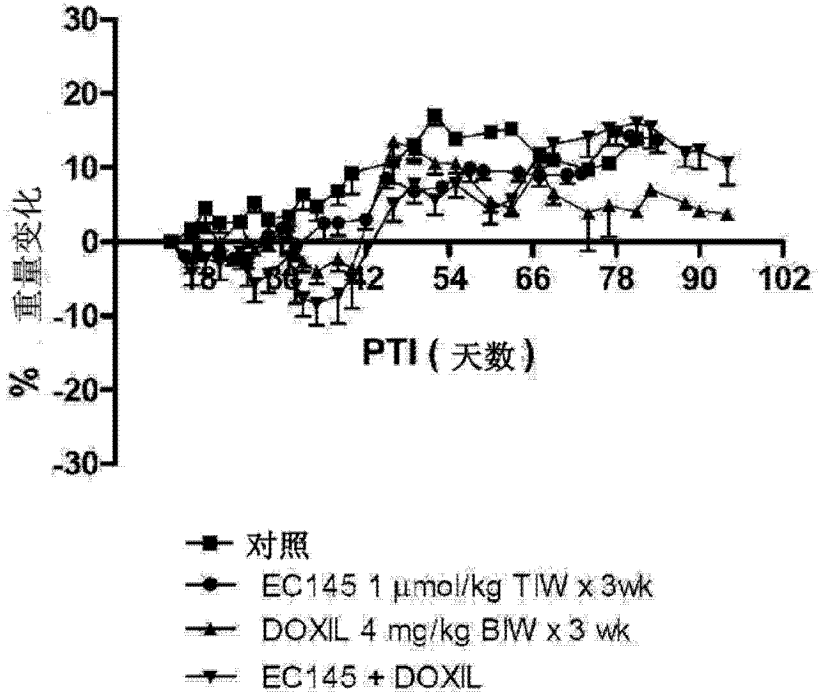

30
20
10
0
-10
-20
-30
% 重量变化
18
42
54
66
78
90
102
PTI (天数)
对照
EC145 1 µmol/kg TIW x 3wk
DOXIL 4 mg/kg BIW x 3 wk
EC145 + DOXIL

图 45

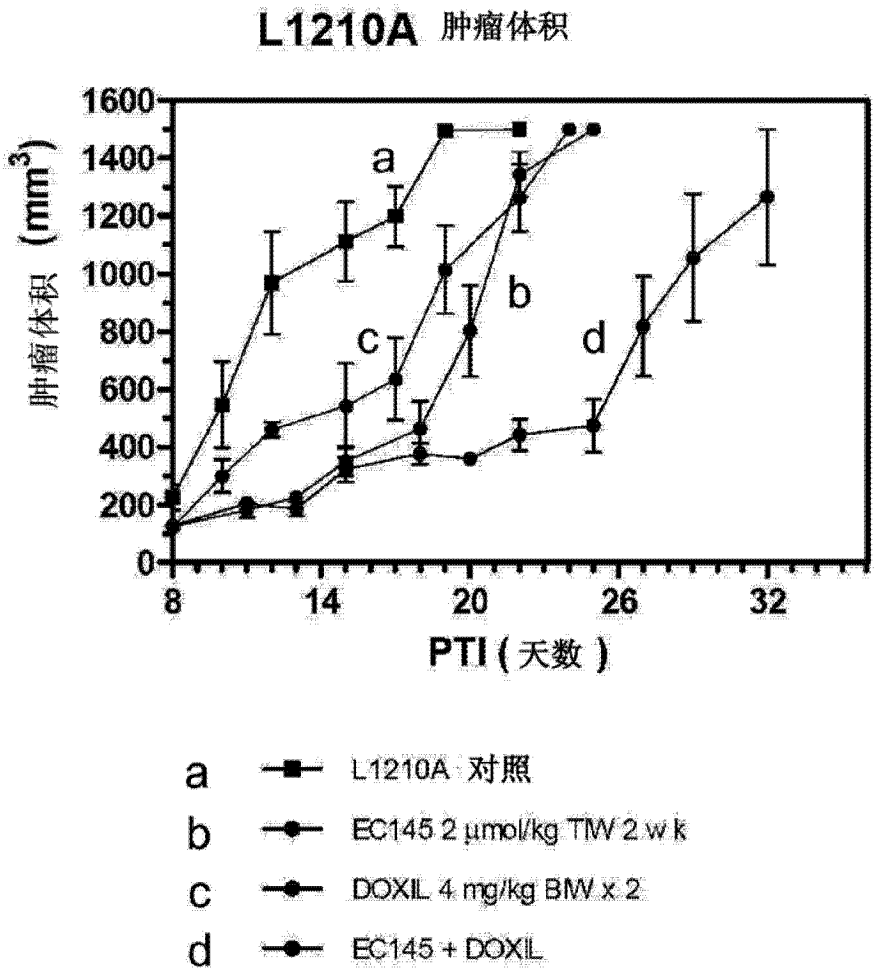

L1210A 肿瘤体积
肿瘤体积 (mm3)
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
8
14
20
26
32
PTI (天数)
a
b
c
d
a L1210A 对照
b EC145 2 µmol/kg TIW 2 w k
c DOXIL 4 mg/kg BIW x 2
d EC145 + DOXIL

图 46

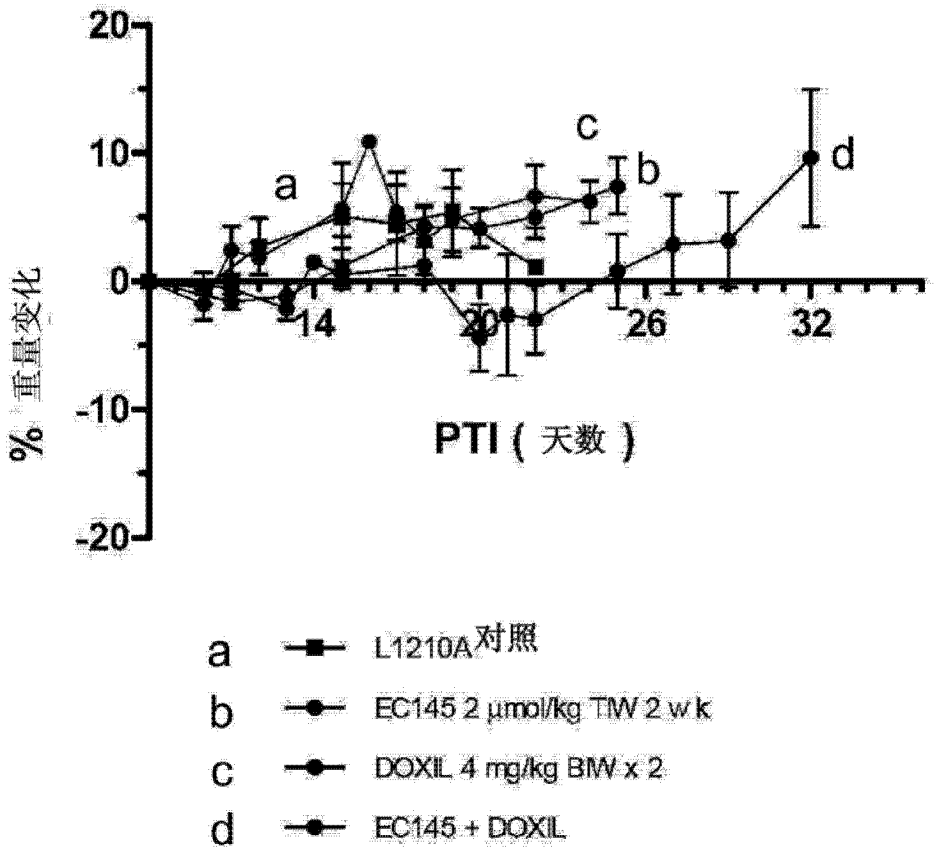

20
10
0
-10
-20
% 重量变化
14
20
26
32
PTI (天数)
a
b
c
d
a L1210A对照
b EC145 2 μmol/kg TIW 2 wk
c DOXIL 4 mg/kg BIW x 2
d EC145 + DOXIL

图 47

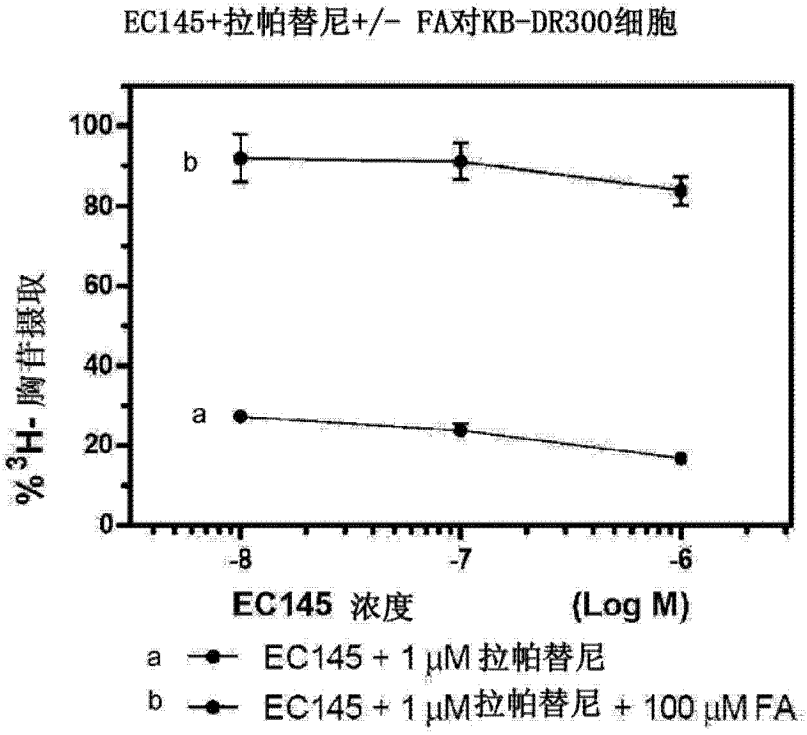

EC145+拉帕替尼+/- FA对KB-DR300细胞
100
80
60
40
20
0
% 3H- 胸苷摄取
-8
-7
-6
EC145 浓度 (Log M)
a EC145 + 1 μM 拉帕替尼
b EC145 + 1 μM拉帕替尼 + 100 μM FA

图 48

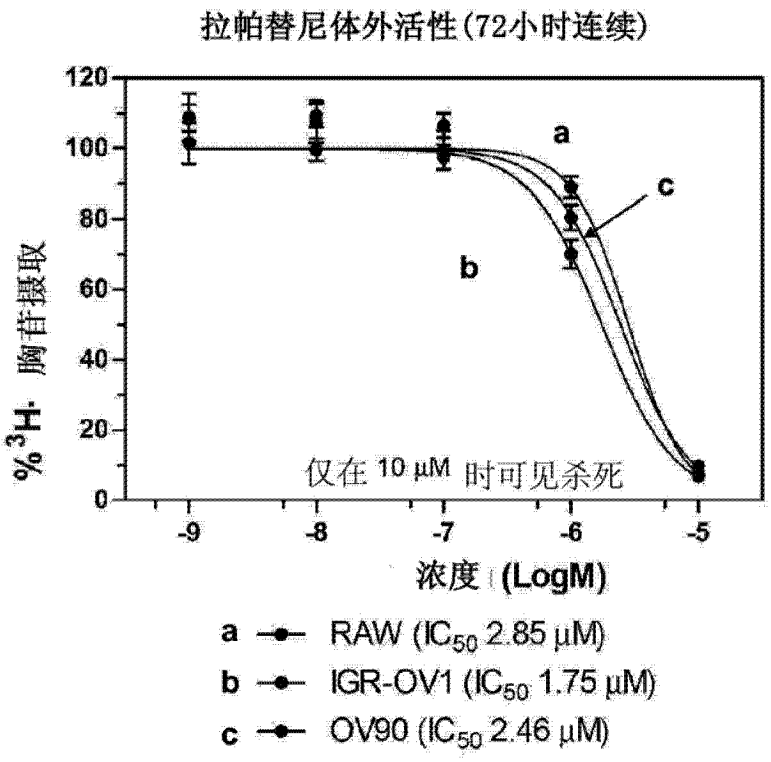

拉帕替尼体外活性(72小时连续)
120
100
80
60
40
20
0
% ^{3}H- 胸苷摄取
a
b
c
仅在 10 μM 时可见杀死
-9
-8
-7
-6
-5
浓度 (LogM)
a RAW (IC_{50} 2.85 μM)
b IGR-OV1 (IC_{50} 1.75 μM)
c OV90 (IC_{50} 2.46 μM)

图 49

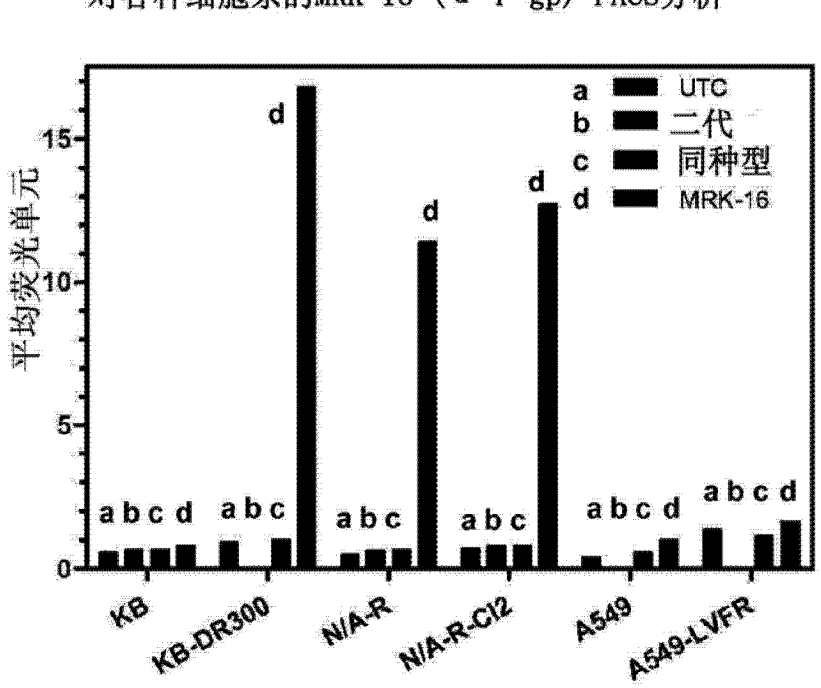

对各种细胞系的MRK-16 （α -P-gp） FACS分析
平均荧光单元
15
10
5
0
a UTC
b 二代
c 同种型
d MRK-16
a b c d
a b c
a b c
a b c
a b c d
a b c d
KB
KB-DR300
N/A-R
N/A-R-Cl2
A549
A549-LVFR

图 50

在EC145情况下拉帕替尼浓度	IC_{50}, nM (减少倍数)		
	NCI/ADR-cl2	*KB-DR300*	*KB*
0 nM	16,400	53,200	3.2
100 nM	5700(3x)	16400(3x)	3.2
500 nM	320(51x)	220(242x)	2.8
1000 nM	38(432x)	6.2(8600x)	3.1

图 51

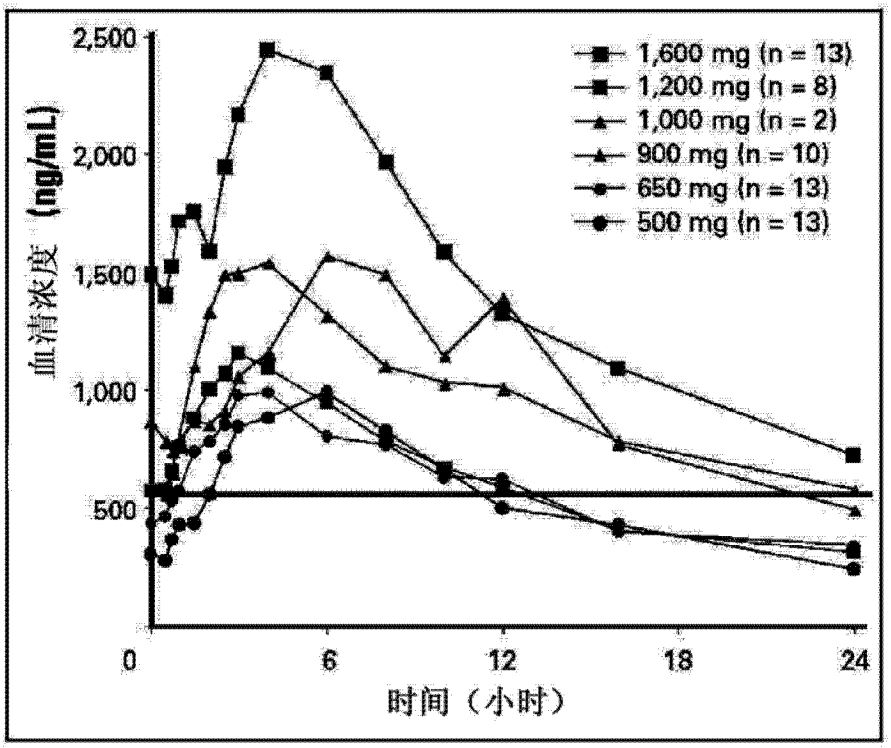


图3：在拉帕替尼的各种日剂量下的中值稳态血清浓度特征

Burris (2005) JCO 23:5305.

图 52

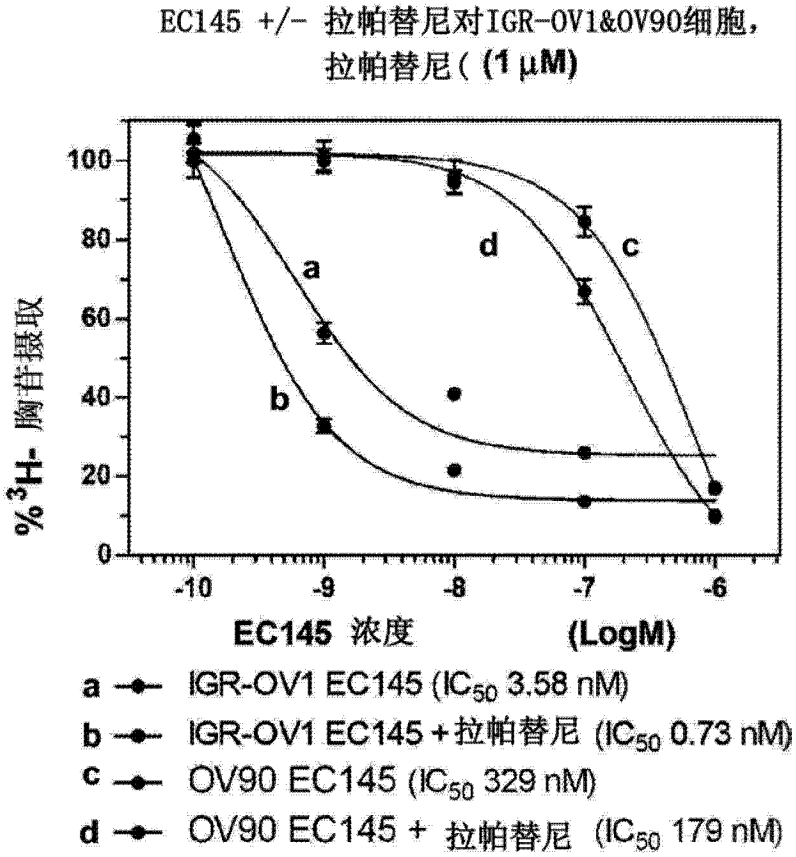

EC145 +/- 拉帕替尼对IGR-OV1&OV90细胞，
拉帕替尼（(1 μM)
%3H- 胸苷摄取
100
80
60
40
20
0
-10
-9
-8
-7
-6
EC145 浓度 (LogM)
a
b
c
d
a IGR-OV1 EC145 (IC50 3.58 nM)
b IGR-OV1 EC145 + 拉帕替尼 (IC50 0.73 nM)
c OV90 EC145 (IC50 329 nM)
d OV90 EC145 + 拉帕替尼 (IC50 179 nM)

图 53

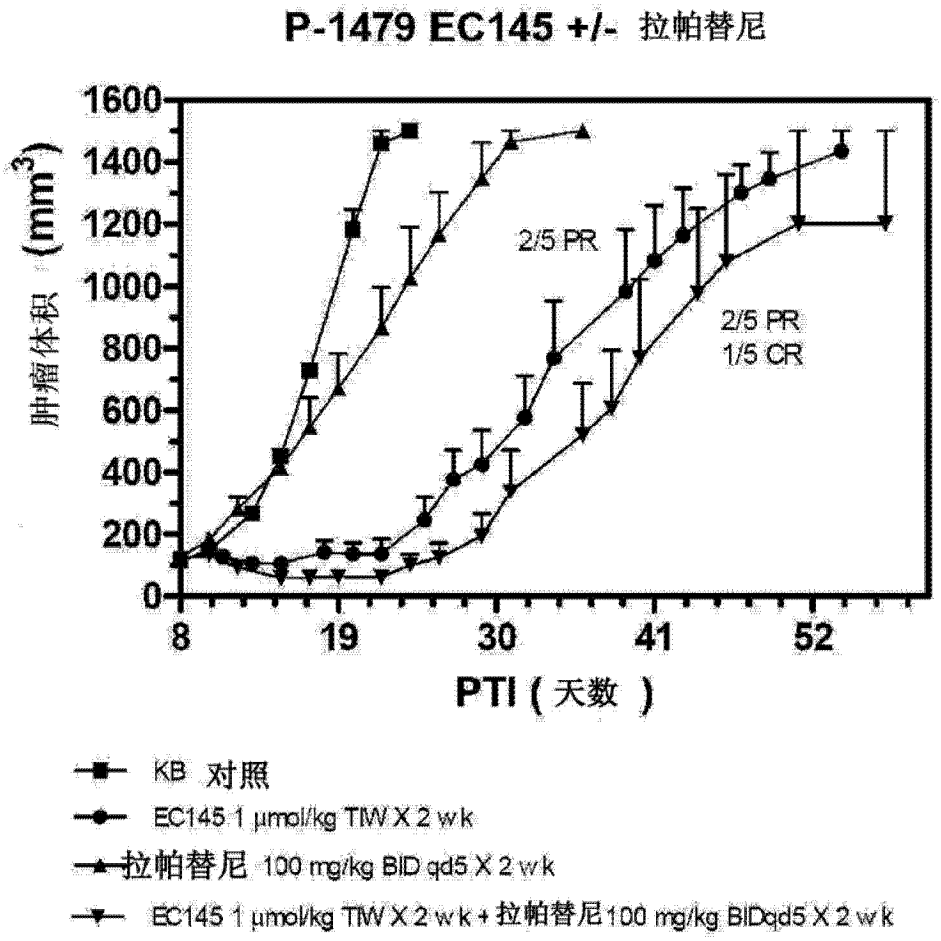

P-1479 EC145 +/- 拉帕替尼
肿瘤体积 (mm3)
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
8
19
30
41
52
PTI (天数)
2/5 PR
2/5 PR
1/5 CR
KB 对照
EC145 1 µmol/kg TIW X 2 wk
拉帕替尼 100 mg/kg BID qd5 X 2 wk
EC145 1 µmol/kg TIW X 2 wk + 拉帕替尼100 mg/kg BIDqd5 X 2 wk

图 54

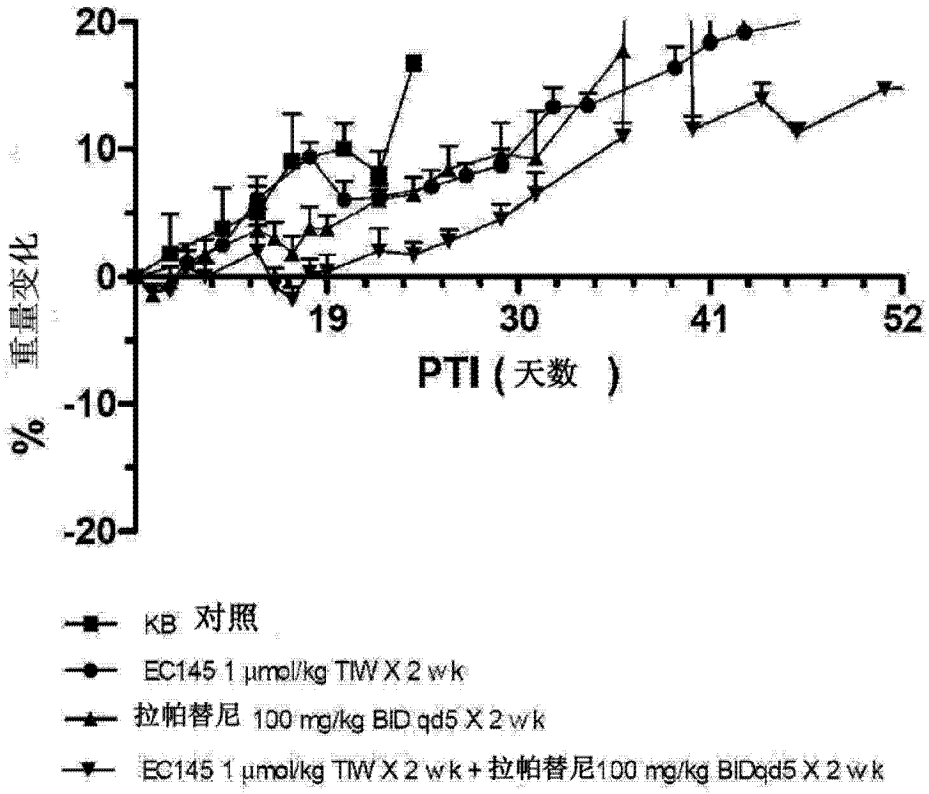

20
10
0
-10
-20
% 重量变化
19
30
41
52
PTI (天数)
KB 对照
EC145 1 µmol/kg TIW X 2 wk
拉帕替尼 100 mg/kg BID qd5 X 2 wk
EC145 1 µmol/kg TIW X 2 wk + 拉帕替尼100 mg/kg BIDqd5 X 2 wk

图 55

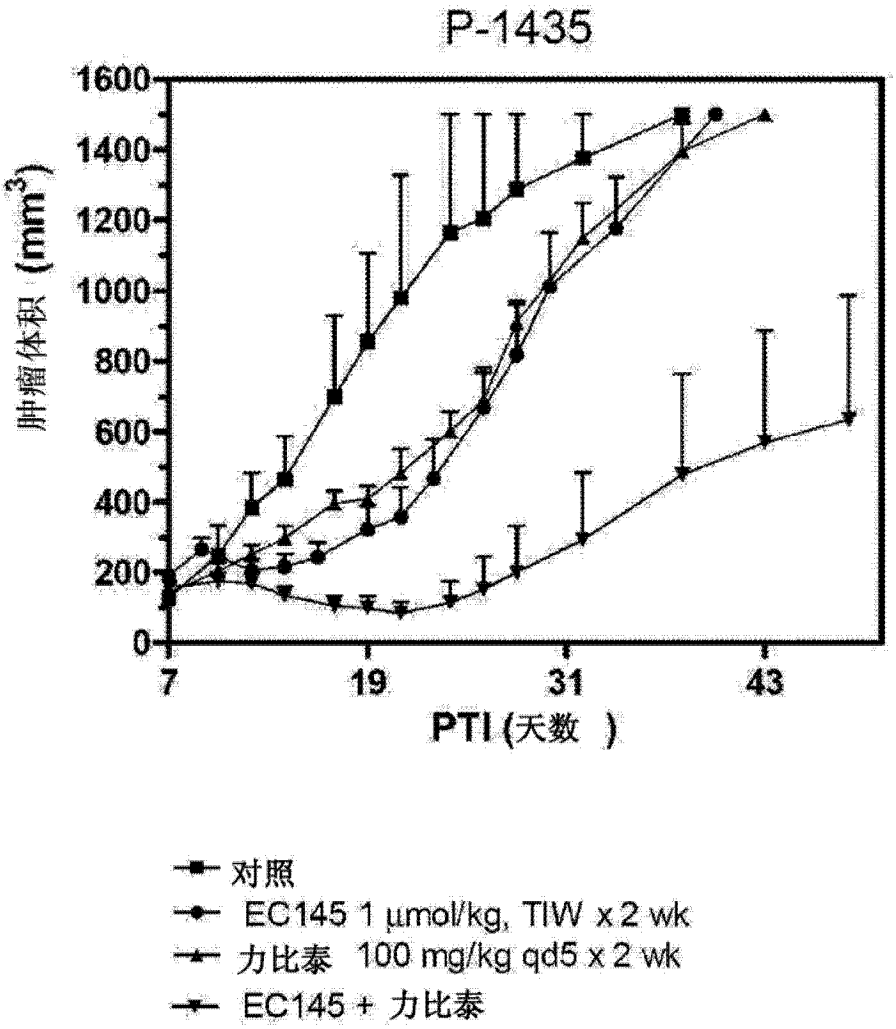

P-1435
肿瘤体积 (mm3)
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
7
19
31
43
PTI (天数)
对照
EC145 1 μmol/kg, TIW x 2 wk
力比泰 100 mg/kg qd5 x 2 wk
EC145 + 力比泰

图 56

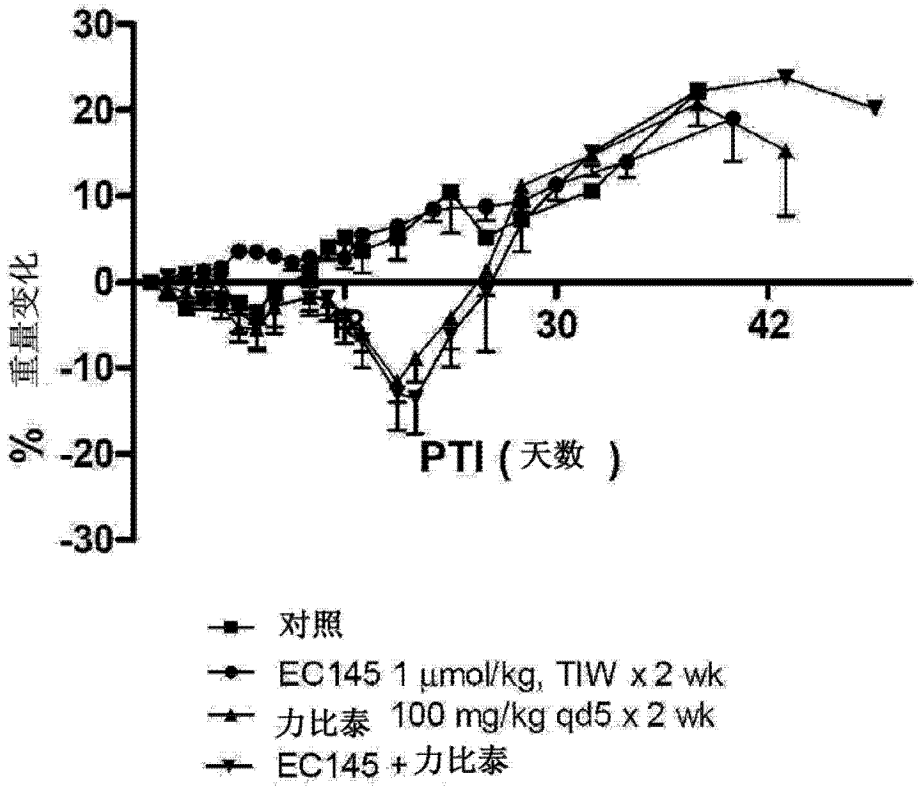

30
20
10
0
-10
-20
-30
% 重量变化
30
42
PTI (天数)
对照
EC145 1 μmol/kg, TIW x 2 wk
力比泰 100 mg/kg qd5 x 2 wk
EC145 + 力比泰

图 57

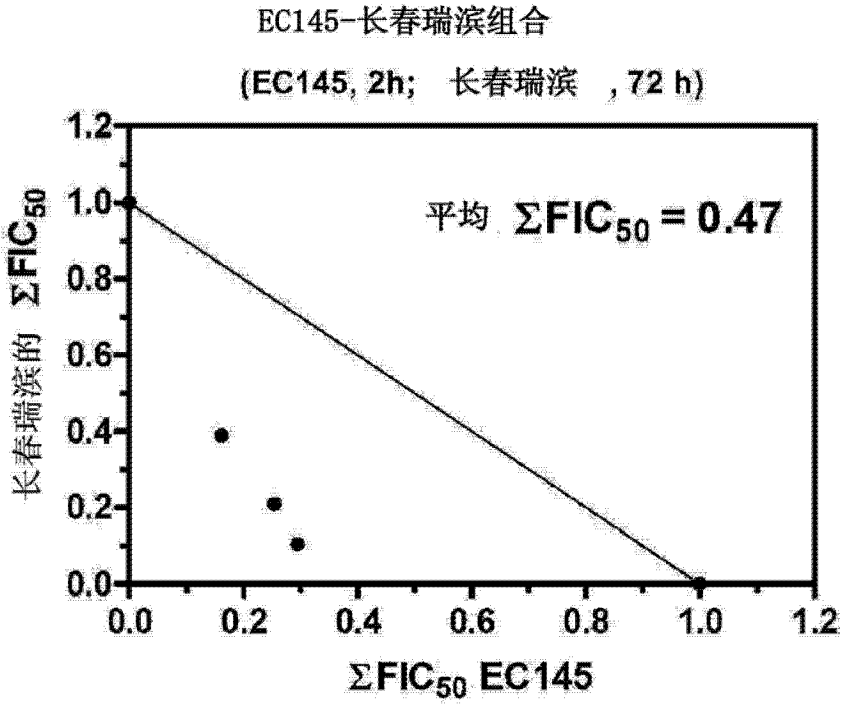

EC145-长春瑞滨组合
(EC145, 2h; 长春瑞滨 , 72 h)
平均 ΣFIC50 = 0.47
长春瑞滨的 ΣFIC50
ΣFIC50 EC145
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2

图 58

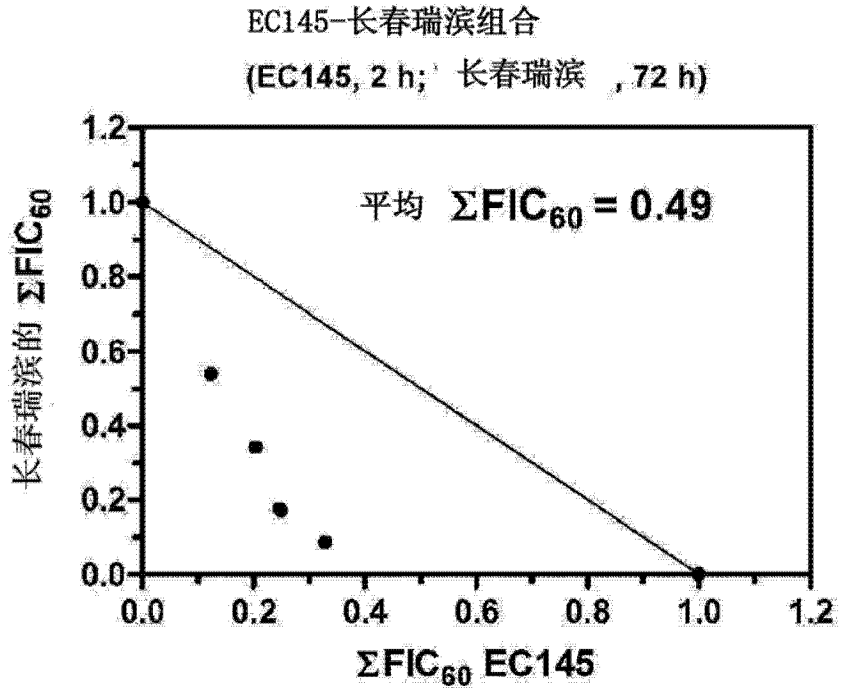

EC145-长春瑞滨组合
(EC145, 2 h; 长春瑞滨 , 72 h)
平均 ΣFIC60 = 0.49
长春瑞滨的 ΣFIC60
ΣFIC60 EC145
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2

图 59

1. 一种治疗癌症的方法，所述方法包含以下步骤：

向患者施用 EC145；和

向所述患者施用一种或更多种附加化学治疗剂，所述化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管装配抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制，其中所述 EC145 和所述附加化学疗法剂处于无菌容器或包装中。

2. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述附加化学治疗剂选自顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

3. 根据权利要求 2 所述的方法，其中所述附加化学治疗剂选自卡铂和贝伐单抗。

4. 根据权利要求 3 所述的方法，其中所述附加化学治疗剂是卡铂。

5. 根据权利要求 3 所述的方法，其中所述附加化学治疗剂是贝伐单抗。

6. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述癌症是上皮癌。

7. 根据权利要求 6 所述的方法，其中所述上皮癌是卵巢癌、子宫内膜癌、或非小细胞肺癌。

8. 根据权利要求 7 所述的方法，其中所述上皮癌为卵巢癌。

9. 根据权利要求 7 所述的方法，其中所述上皮癌是非小细胞肺癌。

10. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述附加化学治疗剂以针对所述化学治疗剂的最大耐受剂量的 50 至 80% 的剂量施用。

11. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述 EC145 和所述化学治疗剂是按治疗有效量施用。

12. 根据权利要求 11 所述的方法，其中所述有效量范围为约 1 μ g/m^2 至约 500 mg/m^2 身体表面积。

13. 根据权利要求 11 所述的方法，其中所述有效量范围为约 1 μ g/m^2 至约 300 mg/m^2 身体表面积。

14. 根据权利要求 11 所述的方法，其中所述有效量范围为约 10 μ g/kg 至约 100 μ g/kg 患者体重。

15. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述癌症是耐铂的卵巢癌。

16. 根据权利要求 1 所述的方法，其中基于重量百分比，所述 EC145 和所述附加化学治疗剂具有至少为 90% 的纯度。

17. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述 EC145 呈可复水冷冻干产物的形式。

18. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述 EC145 和所述附加化学治疗剂处于无菌、无热原的水溶液中。

19. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述 EC145 和所述附加化学治疗剂以低于它们的最大可耐受剂量的剂量来施用。

20. 一种包含 EC145 和一种或更多种附加化学治疗剂的试剂盒，所述附加化学治疗剂具有选自以下的作用模式：血管生成抑制，微管组装抑制，DNA 交联，局部异构酶抑制，DNA 嵌入，DNA 合成抑制，酪氨酸激酶抑制，和有丝分裂抑制。

21. 根据权利要求 20 所述的试剂盒，其中所述附加化学治疗剂选自顺铂、卡铂、拓扑替康、伊立替康、贝伐单抗、厄洛替尼、拉帕替尼和培美曲塞。

22. 根据权利要求 21 所述的试剂盒，其中所述附加化学治疗剂选自卡铂和贝伐单抗。

23. 根据权利要求 22 所述的试剂盒，其中所述附加化学治疗剂是卡铂。

24. 根据权利要求 22 所述的试剂盒，其中所述附加化学治疗剂是贝伐单抗。

25. 根据权利要求 20 所述的试剂盒，其中所述 EC145 和所述化学治疗剂处于治疗有效量。

26. 根据权利要求 20 所述的试剂盒，其中所述 EC145 和所述附加化学治疗剂处于无菌容器或包装中。

27. 根据权利要求 20 所述的试剂盒，其中基于重量百分比，所述 EC145 和所述附加化学治疗剂具有至少为 90% 的纯度。

28. 根据权利要求 20 所述的试剂盒，其中基于重量百分比，所述 EC145 和所述附加化学治疗剂具有至少为 95% 的纯度。

29. 根据权利要求 20 所述的试剂盒，其中所述 EC145 呈可复水冷冻干产物的形式。

30. 根据权利要求 20 所述的试剂盒，其中所述 EC145 和所述附加化学治疗剂处于无菌、无热原的水溶液中。