

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

C07D 491/22 (2006.01)

A61K 31/475 (2006.01)



[12] 发 明 专 利 说 明 书

专利号 ZL 03818985.2

[45] 授权公告日 2007 年 2 月 28 日

[11] 授权公告号 CN 1301996C

[22] 申请日 2003.7.31 [21] 申请号 03818985.2

[30] 优先权

[32] 2002. 8. 6 [33] US [31] 60/401,195

[32] 2003. 2. 3 [33] US [31] 60/444,392

[32] 2003. 6. 9 [33] US [31] 10/457,501

[86] 国际申请 PCT/US2003/023983 2003.7.31

[87] 国际公布 WO2004/012661 英 2004.2.12

[85] 进入国家阶段日期 2005.2.6

[73] 专利权人 潘诺拉马研究公司

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 Y·王

审查员 陈 真

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 张元忠 李连涛

权利要求书 2 页 说明书 33 页 附图 3 页

[54] 发明名称

喜树碱和不饱和脂肪酸的新的抗癌共轭体

[57] 摘要

本发明提供新的喜树碱化合物与长链不饱和脂肪酸的共轭体。新的共轭体可以用于治疗哺乳动物细胞增殖疾病如癌症。

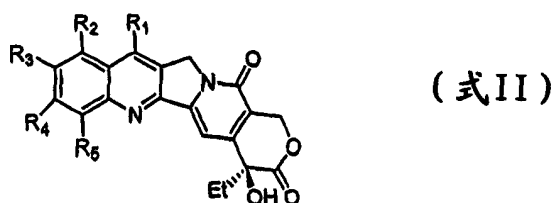
1. 下式的化合物或其药学上可接受的盐:

长链不饱和脂肪酸 - 衔接链 - CPT (式 I)

其中:

长链不饱和脂肪酸为 $C_{12} - C_{22}$ 单或多不饱和脂肪酸; 衔接链为 $-(\text{烷基})_m - (\text{芳基})_n - \text{C}(=\text{O}) -$ 或 $-(\text{芳基})_n - (\text{烷基})_m - \text{C}(=\text{O}) -$; 其中 m 和 n 各自为 0 - 3, 和 $m+n \geq 1$; 和

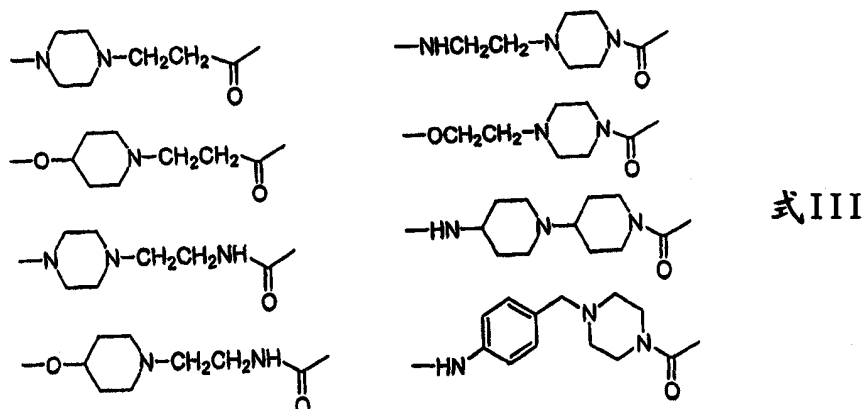
CPT 是具有下面通式结构 (式 II) 的喜树碱化合物:



其中: $R_1 - R_6$ 为 H, 卤素、OH、 NO_2 、 NH_2 、烷基、O-烷基、NH-烷基、 $\text{N}(\text{烷基})_2$ 、酯、或酰胺, 并且它们可以相同或不同。

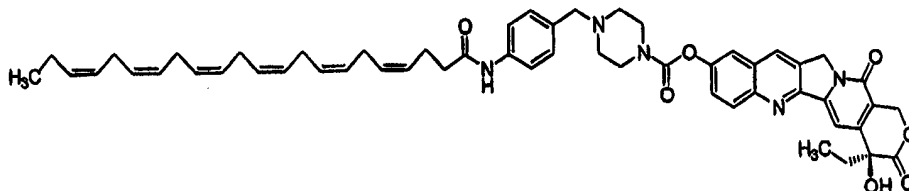
2. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中长链不饱和脂肪酸是棕榈酸、油酸、亚油酸、亚麻酸、花生四烯酸、二十碳五烯酸 (EPA) 和二十二碳六烯酸 (DHA)。

3. 根据权利要求 2 所述的化合物, 其中衔接链是下面式 (III) 的结构和其酸加成盐

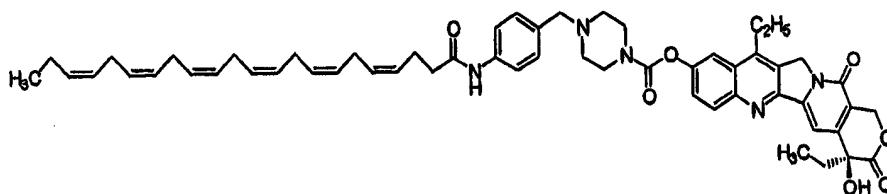


4. 根据权利要求3所述的化合物, 其中 CPT 选自喜树碱、9-氨基喜树碱、10-羟基喜树碱、7-乙基-10-羟基喜树碱和, 9-N, N-二甲基氨基-10-羟基喜树碱、和它们的酸加成盐。

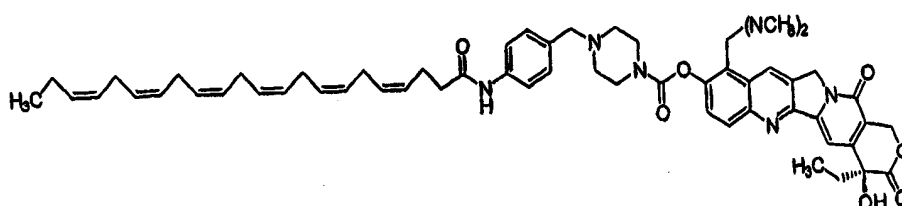
5. 根据权利要求4所述的化合物, 其中化合物是



6. 根据权利要求4所述的化合物, 其中化合物是



7. 根据权利要求4所述的化合物, 其中化合物是



8. 一种用于治疗哺乳动物细胞增殖疾病的药物组合物, 包括治疗有效量的权利要求1的化合物。

9. 根据权利要求8所述的药物组合物, 其中哺乳动物细胞增殖疾病是癌症。

10. 一种根据权利要求1所述的化合物在制备治疗癌症的药物中的用途。

喜树碱和不饱和脂肪酸的新的抗癌共轭体

发明领域

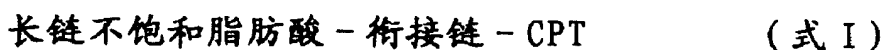
本发明涉及新的喜树碱类化合物的脂肪酸衍生物、它们的制备方法和作为抗癌试剂的用途。

发明背景

癌细胞不包含与宿主完全无关的分子靶。因此，大部分抗癌化疗法已经主要依据癌细胞的增强的增值速度。抗癌药杀死快速的正在分裂的处于细胞周期的 S 或 G₂-M 期的肿瘤细胞而剩下处于 G₁ 或 G₀ 期的沉默肿瘤细胞和正常细胞(Tannock, I. F. in DeVita et al., eds. 癌：肿瘤学原理核实践：3-13, J. B. Lippincott, Philadelphia, 1989)。在任何时间正在分裂的肿瘤细胞的分数根据肿瘤的类型和肿瘤的生长期而变化。通常，加快循环的肿瘤如淋巴瘤、睾丸瘤、和一些儿童肿瘤比普通的具有慢循环或不循环细胞的实体瘤对化疗更敏感。然而，一些正常细胞如骨髓和肠粘膜的周期也加快，使得它们对化疗药物的毒副作用也敏感。这样，寻找一种肿瘤生化或生理的独特性质对于成功地治疗癌症是非常重要的，这种性质能够被利用于靶定肿瘤的化疗药物以长时间维持有效浓度并因此而创造一种更好的治疗效果。剩下的就是需要本领域的有效的癌症治疗方法。

发明概述

本发明提供用于治疗哺乳动物增殖疾病如癌症的化合物。本发明提供 DHA 和喜树碱(CPT)化合物的共轭体，其与自由的喜树碱化合物相比能够极大的提高治疗功效。DHA-CPT 共轭体已经在试验动物肿瘤模型中试验，并且与自由的喜树碱化合物相比已显示出优良的抗肿瘤活性。本发明的 DHA-CPT 化合物可以用于治疗癌症。化合物为下面式(I)的或者其药学上可以接受的盐：

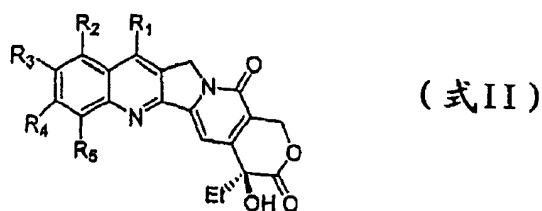


其中:

长链不饱和脂肪酸为 $C_{12} - C_{22}$ 单或多不饱和脂肪酸。其包括但不限于棕榈酸、油酸、亚油酸、亚麻酸、花生四烯酸、二十碳五烯酸 (EPA) 和二十二碳六烯酸 (DHA)。

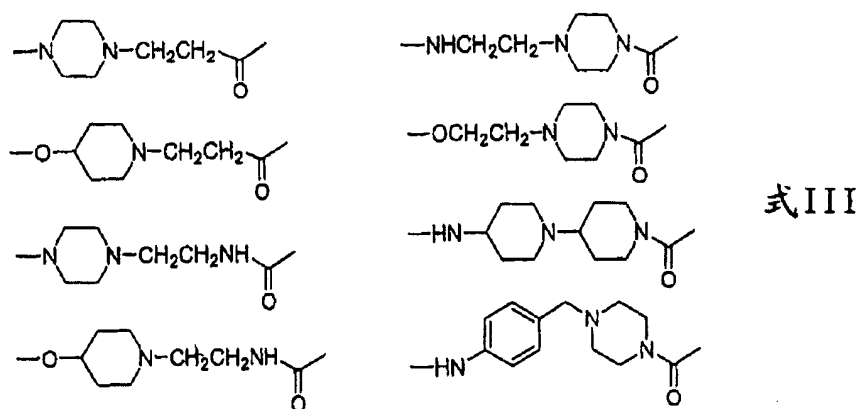
衔接物为 $-(\text{烷基})_m-(\text{芳基})_n-C(=O)-$ 或 $-(\text{芳基})_m-(\text{烷基})_n-C(=O)-$; 其中 m 和 n 各自独立为 $0 - 3$, 和 $m+n \geq 1$; 和

CPT 是具有下面通式结构 (式 II) 的喜树碱化合物:

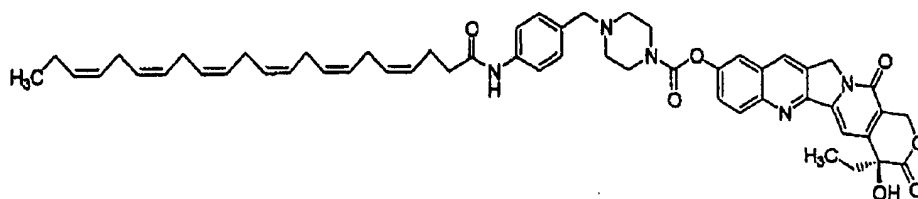


其中: $R_1 - R_5$ 为 H, 卤素、OH、 NO_2 、 NH_2 、烷基、O-烷基、NH-烷基、 $N(\text{烷基})_2$ 、酯或酰胺, 并且它们可以相同或不同。当 $R_1 - R_5$ 中的任一个是氨基时, 化合物为自由基和它们的酸如 HCl 和 H_2SO_4 加成盐。

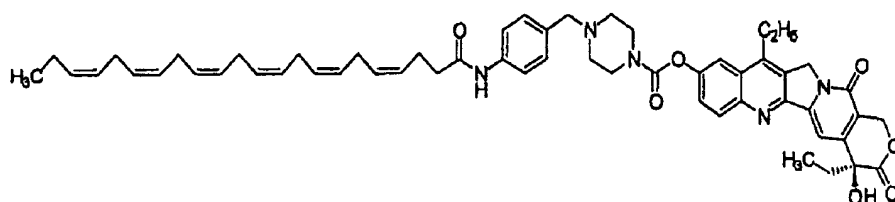
在式 (I) 的化合物的优选实施方案中, 脂肪酸是 DHA 和 EPA, 衔接物选自式 (III) 和 CPT 是喜树碱、9-氨基喜树碱、10-羟基喜树碱、7-乙基-10-羟基喜树碱和 9-N,N-二甲基氨基甲基-10-羟基喜树碱、或它们的酸如 HCl 和 H_2SO_4 加成盐。



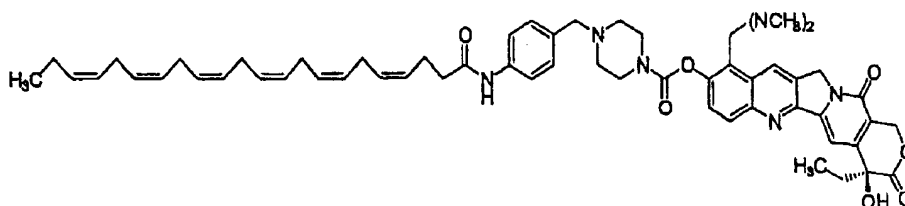
本发明优选的化合物是:



本发明的另一个优选的化合物是：



还有本发明的另一个优选的化合物是：



本发明还提供了治疗哺乳动物细胞增殖疾病如癌症的方法。方法包括向患者施用有效量的下面式子的化合物或其药学上可接受的盐中的一种：

长链不饱和脂肪酸 - 衔接物 - CPT (式 I)

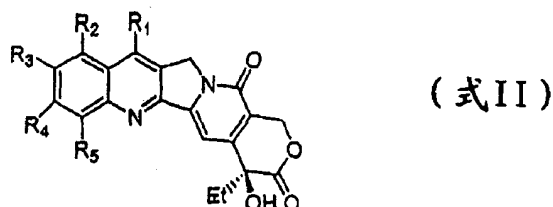
其中：

长链不饱和脂肪酸为 $C_{12} - C_{22}$ 单或多不饱和脂肪酸。其包括但不限于棕榈酸、油酸、亚油酸、亚麻酸、花生四烯酸、二十碳五烯酸 (EPA) 和二十二碳六烯酸 (DHA)。

衔接物为 $-(\text{烷基})_n-$ 、 $-(\text{芳基})_n-$ 、 $-C(O)-$ 或 $-(\text{芳基})_n-(\text{烷基})_m-C(O)-$ ；其

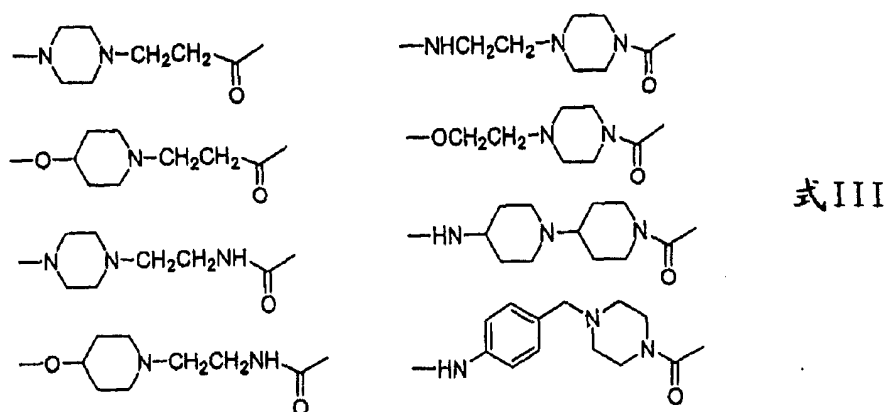
中 m 和 n 各自独立地为 0-3, 和 $m+n \geq 1$; 和

CPT 是具有下面通式结构 (式 II) 的喜树碱化合物:

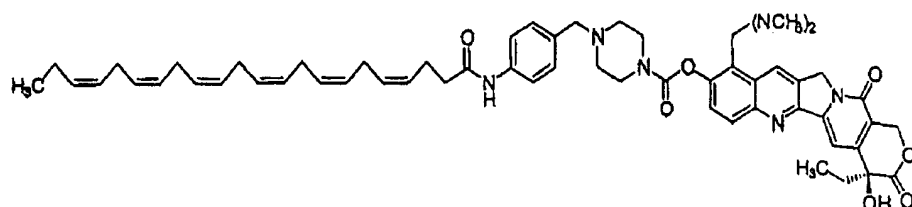
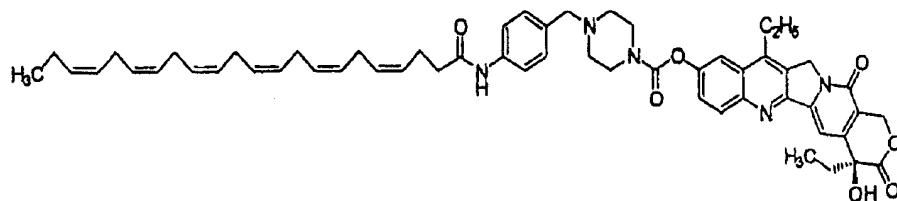
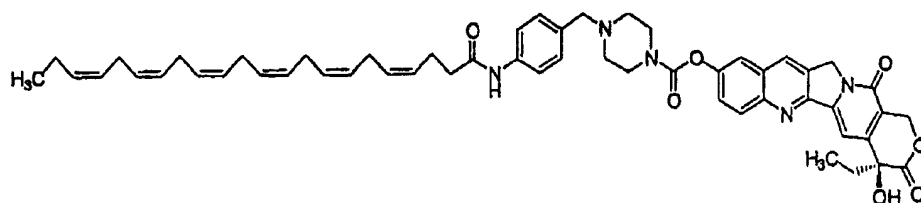


其中: $R_1 - R_5$ 为 H, 卤素、OH、 NO_2 、 NH_2 、烷基、O-烷基、NH-烷基、 $\text{N}(\text{烷基})_2$ 、酯或酰胺, 并且它们可以相同或不同。当 $R_1 - R_5$ 中任一个是氨基时, 化合物为自由基和它们的酸如 HCl 和 H_2SO_4 加成盐。

在式 (I) 的化合物的优选实施方案中, 脂肪酸是 DHA 和 EPA, 衔接物选自式 (III) 和 CPT 是喜树碱、9-氨基喜树碱、10-羟基喜树碱、7-乙基-10-羟基喜树碱和 9-N, N-二甲基氨基甲基-10-羟基喜树碱、或它们的酸如 HCl 和 H_2SO_4 加成盐。



本发明的优选实施方案中, 方法包括给患者有效量的下面式子的化合物或其制药上可接受的盐中的一种:



本发明的化合物还可以用作常规癌症治疗的辅药以治疗抗凋亡肿瘤和在其他疾病治疗中用以克服药物抗性。针对至少一种常规癌症治疗可以同时给药或连续给药本发明的化合物。常规癌症治疗可以是放疗、化疗、和/或生物治疗。优选的化疗包括抗代谢物、烷基化试剂、植物碱、和抗生素。优选的抗代谢物包括氨甲喋呤、5-氟尿嘧啶、6-巯基嘌呤、阿糖胞苷、羟基脲、和 20-氟脱氧酰苷。优选的烷基化试剂包括环磷酰胺、左旋苯丙氨酸氮芥、二甲磺酸丁酯、顺氯氨铂、卡铂 (carboplatin)、瘤可宁、和氮芥。优选的植物碱包括长春新碱、长春花碱、和 VP-16。优选的抗生素包括阿霉素、柔红霉素 c、和博来霉素。交替的优选的化疗包括 decarbazine、mAMSA、六甲三聚氰胺、米托蒽醌、紫杉酚、依托泊苷、地塞米松。优选的放疗包括光动力性疗法、放射性核苷酸、和放射性免疫疗法。优选的生物治疗包括免疫疗法、分化试剂、和靶向癌细胞生物学的试剂。

上面的说明相当宽地阐明了本发明尤其重要的特征以至可以理解下面对它们的详细描述和更好地领会本发明对本领域的贡献。

本发明的其他的目的和特征可以从下面的详细描述并结合附图考虑而变得清楚。然而，可以理解的是附图仅仅是为了图解的目的而不是限定本发明，对此可以参见所阐述的附加的权利要求。

本发明的这些目的和其它目的可以从下面提供的发明详述而清楚。

附图简述

本发明可以从下面的说明并参考表格和图形进一步地理解，其中：

图 1 显示化合物 6 的合成。

图 2 显示 DHA-HCPT 的合成。

图 3 显示了喜树碱、10-羟基喜树碱、SN-38、药薯、topotecan、DHA-HCPT 和 PP-HCPT 的结构。

发明详述

A. 定义

本文所用的术语“芳基”是指未被取代的或取代的芳香化合物、碳环基团。芳基或者是单环或者是多环稠合化合物。例如，苯基是单环芳基。萘基是具有多环稠合的芳基的例子。芳基可以被一个或多个取代基取代。取代基的非限制性的例子包括 NH_2 、 NO_2 、 $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 ONO_2 、F、Cl、Br、I、OH、 OCH_3 、 CO_2H 、 CO_2CH_3 、CN、芳基和杂芳基。

本文所用的术语“烷基”是指未被取代的或被取代的直链、支链或环形的多至 15 个碳原子的烷基碳链。直链烷基包括，如甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基、正己基、正庚基和正辛基。支链烷基包括，例如，异丙基、仲丁基、异丁基、叔丁基和新戊基。环状烷基（“环烷基”）包括，例如，环丙基、环丁基、环戊基和环己基。烷基可被一个或多个取代基取代。上述取代基的非限定性例子包括 NH_2 、 NO_2 、 $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 ONO_2 、F、Cl、Br、I、OH、 OCH_3 、 CO_2H 、 CO_2CH_3 、CN、芳基和杂芳基。术语“烷基”也指未取代或取代的直链、支链或环状的含有多至 15 个碳原子的在链上含有至少一个杂原子（例如氮、氧或硫）的烷基。上述直链烷基包括，例如， $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 和 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$ 。支链基团包括，例如， $\text{CH}_2\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CH}_3$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}(\text{N}(\text{CH}_3)_2)\text{CH}_3$

和 $\text{CH}_2\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CH}_3$ 。上述环状基团包括，例如， $\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{O}$ 、 $\text{H}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NCH}_3$ 和 $\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{S}$ 。上述烷基可被一个或多个取代基取代。上述取代基的非限定性例子包括 NH_2 、 NO_2 、 $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 ONO_2 、 F 、 Cl 、 Br 、 I 、 OH 、 OCH_3 、 CO_2H 、 CO_2CH_3 、 CN 、芳基和杂芳基。

本文使用的术语“药学上可接受的”指的是在化合物如盐或赋形剂中缺少不能接受的毒性。药学上可接受的盐包括无机阴离子，例如氯离子、溴离子、碘离子、硫酸根、亚硫酸根、硝酸根、亚硝酸根、磷酸根等，有机阴离子包括，例如乙酸根、丙二酸根、丙酮酸根、丙酸根、肉桂酸根、甲苯磺酸根、柠檬酸根等。制药上可接受的赋形剂描述在下文，和详细描述在 E. W. Martin, in Remington's Pharmaceutical Sciences Mack Publishing Company(1995), Philadelphia, PA, 19th ed 中。

术语“治疗有效量”指的是能够抑制哺乳动物细胞如癌细胞的增殖的本发明的治疗组合物的量，组合物，如脂肪酸喜树碱化合物。

术语“哺乳动物细胞”是指得自哺乳动物源的细胞或细胞系。术语“哺乳动物细胞增殖疾病”是指哺乳动物细胞以不同于正常哺乳动物细胞中所观察到的方式或速率生长和/或分裂。

B. 治疗的一般原理

癌症治疗的目标首先是根除毒瘤。如果该第一目标不能实现，癌症治疗的目标转向症状的减轻，改善，和保持生命质量并同时努力地延长生命。

癌症治疗分为四个主要类型：手术治疗，放疗（包括光动力治疗），化疗（包括激素治疗），和生物治疗（包括免疫治疗、分化剂（differentiating agents）、和靶向癌细胞生物学的制剂）。上述疗法经常结合使用，并且一类中的试剂可通过多种机制起作用。例如癌症化疗试剂可引起变异，抗体（免疫治疗的形式）可用于传递放疗。手术和放疗被认为是局部治疗，尽管它们的效果可影响远位点的肿瘤行为。化疗和生物治疗通常是全身治疗。

肿瘤在许多方面表现作为调节其自身生长的器官。然而癌症没有设定一个适当的允许以何种程度生长的极限。正常器官和肿瘤均具有正处于细胞周期和活跃更新的群体和不处于细胞周期的群体。在肿瘤

中，不进行分裂的细胞是异源的；一些细胞已经遭受太多的用于复制的基因损坏但在允许它们生存的死亡方式上存在缺点使其存活；一些细胞由于营养和氧的原因而正处于饥饿；和一些细胞可逆地处于循环周期外和重新恢复到循环的平衡中并在需要时扩大。被严重损坏和处于饥饿的细胞不可能使患者致死。问题是不处于循环中的可逆的细胞能够补充被放疗和化疗物理去除或破坏的肿瘤细胞。

肿瘤符合 Gompertzian 生长曲线；瘤的生长分数随着第一次转化细胞开始为 100% 然后直到肿瘤负担为 $1-5 \times 10^9$ 肿瘤细胞时随着时间按指数规律下降，生长分数通常是 1-4%。肿瘤会限制自己的增长但它们不能完全成功地做到这点。肿瘤的最高生长速度发生在其能够被检测之前。与抑制因子使更大的肿瘤块生长变慢的观点相一致，可以发现迁移变得比原来的肿瘤更快。当外科手术或化疗后肿瘤复发时，该肿瘤频繁地快速生长并且生长分数加大。

C. 化疗原理

历史背景

可能对癌细胞具有选择性的候补化合物通过硫和氮芥子气的骨髓中毒效应而提议，并在 1940 年代导致第一个著名的使用这些化合物后的血紫质肿胀的回归。因为这些化合物引起 DNA 的共价修饰，所以 DNA 的结构因此被作为药物设计的潜在目标而被鉴别。证明了正在生长中的肿瘤细胞需要核酸前体的生化研究引导了叶酸类似物的研究。在 1950 年代用发展了的绒膜癌通过氮甲喋呤对患者的治疗进一步推动了在许多不同的肿瘤类型中的化疗试剂价值的确定。这导致努力理解核酸生物合成的独特代谢需求并开始设计能够选择性地干扰增殖肿瘤细胞中 DNA 合成的化合物。包括引起乳房和前列腺肿瘤衰退的卵巢切除术和睾丸切除术的激素处理能力分别提供了努力干扰激素依靠的肿瘤中各个方面激素功能的原理。源自细菌或植物的某些毒药可以影响正常 DNA 或有丝分裂纺锤体功能，这一偶然发现促成了在某些癌症治疗中安全有效的“肿瘤化疗试剂”的制成。

药物作用的终点

化疗试剂可以用于治疗活跃的、临床明显的癌症。表 1A 列举了通

过可用的常规化疗试剂可以治疗的肿瘤。大部分普通的化疗试剂用于位置转移的癌症。如果肿瘤定位在单一位点，则应该认真考虑手术或主要考虑放疗，因为这些治疗形式可以作为局部治疗的治疗法。在这些根除局部肿瘤的形式失败后可以采用化疗，或把多峰形性方法作为对临床局部肿瘤的主要治疗。在此事例中，当放疗时可以允许器官保存，如喉或其它上导气管；或对放射敏感的肿瘤，例如同时接受肺或颈癌（表 1B）放疗的患者。化疗可以作为手术治疗或放疗的辅助治疗施用（表 1C），作为在乳房、结肠、或肛门直肠的瘤中具有治疗前景的用途。在此用途中，化疗尝试消除已经扩散的在临床上不明显的肿瘤。化疗可以以常规剂量方案使用。通常，这些剂量产生可逆的剧烈的主要包含带有或不带有肠胃毒性（反胃）的瞬时脊髓压迫的副作用，副作用很容易被处理。高剂量化疗方案是基于许多抗癌试剂的浓度效果曲线相当急剧的观察而实行，并且增加剂量可以产生显著的增强的治疗效果，虽然是以需要加强支持的潜在生命威胁并发症为代价，而支持通常是以得自患者（自体固有的）或组织相容性部位（同种异体的）匹配的供体的骨髓或干细胞支持的形式。尽管如此，高剂量方案在确定的临床环境下具有明确的治疗潜力（表 1D）。

化疗试剂的优点可以通过肿瘤尺寸谨慎测定其效果来评估和应用这些测量来判断特定患者进一步治疗的基础或判断药物潜力的深层临床评估。部分反应（PR）通常确定为肿瘤的二维面积的至少 50% 的减少；完全性反应（CR）意为所有肿瘤完全消失；疾病进展表示从基线或最好反应的大于 25% 的增长；“稳定”疾病不适和上述种类的任一种。

如果治愈不可能，那么可以把减轻宿主的肿瘤效果的一些方面作为目标来进行化疗。已被确定位置的具有减轻意向的普通肿瘤列在表 1E 中。肿瘤相关症状经常表现为疼痛、体重减轻、或涉及普通结构中肿瘤效果的一些局部症状。以减轻为目的治疗的患者应该知道他们的诊断结论和建议治疗的局限性，并在没有治疗可选择的情况下有权使用适当的减轻症状的策略，并且根据由 Karnofsky 或 Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 提出的评估算法具有适当的“行为状态”。 ECOG 行为状态 0 (PS0) 患者没有症状；PS1 患者具有温和的症状不需要治疗；PS2 症状需要一些治疗；PS3，无能力症状，但

是每天的大于 50% 时间允许活动；PS4，每天小于 50% 的时间允许活动。只有 PS0-PS2 患者一般考虑适合于矫形疗法（非治疗性）。如果存在治疗潜力，甚至是行为状态患者可以被医治，但他们的愈后经常低于那些用相似方案治疗的良好行为患者。任何药物的效果受给药量引起的与毒性效果相对的有益效果（治疗效果、关于抗癌试剂、对肿瘤细胞的毒性）的程度影响。治疗指数是毒性和治疗剂量之间分离的程度。真正有益的药物具有巨大的治疗指数，其经常发生在药物靶以相比较于正常代谢区的致病代谢区中表达时。典型地，试剂对器官的选择毒性分别受控制于试剂靶的表达、或变异堆积或毒性被经历或改善的代谢区的消除。当前的抗肿瘤试剂具有令人遗憾的性质，就是它们的靶存在于正常和肿瘤组织两者中。因此抗肿瘤试剂具有相对狭窄的治疗指数。

在以前，许诺癌症治疗的试剂已经通过筛选啮齿动物宿主中的动物或人肿瘤的抗肿瘤效果或通过抑制组织培养中正在生长的肿瘤细胞的试验式检测。显示动物中的抗肿瘤的进程详细描述在进一步的临床研究中，作为既定路线和进程的最佳药物处方。在两个种中进行的关于给药的类似进程的安全测试确定了对人的 I 阶段试验的开始剂量，然后逐渐上升给药量直到观察到可逆毒性。极限毒性剂量（DLT）定义为传输比操作规程可接受的、可允许的最大忍受剂量（MTD）定义的更大的毒性剂量。如果可能的话，毒性的出现与血浆中的药物浓度相互关联。MTD 或刚刚低于 MTD 的剂量常常是适合 II 阶段试验的剂量，其中将混合剂量给药于一组相关的同类患者以确定药物是否引起肿瘤的衰退。“活性”试剂常规上具有部分反应至少 20% - 25% 的可逆的非生命威胁的副反应的比例，它适合于研究在 III 阶段试验以评估与标准或非治疗相比的效果。反应是药物效果的直接指标。对于临床评估，反应必须转化成关于所有成活率或至少是要延长肿瘤进行的时间的效果，此效果作为最后有益药物的重要指标。最近，测量抗癌试剂在生命质量的效果测定正作为一种重要成果被发展。癌症药物临床试验通常用毒性级数范围表示，其中一级毒性不需要治疗；二级常常需要症状治疗但没有生命威胁；三级毒性如果不治疗则潜在生命威胁；四级毒性具有生命威胁；和五级毒性最终导致患者死亡。

癌症起因于引起细胞生长或分裂过量的基因损害，伴随不适当的

细胞死亡。另外，细胞分化失败导致细胞位置和增殖能力的改变同时切断了来自正常细胞的调节信号。通常，分化状态的细胞被刺激从静态、或“G0”期、或响应包括生长因子和激素信号的环境指示的先期细胞分裂的完成而继续进入细胞周期。细胞通过G1期经过检验点进入S期以确保基因组准备复制，检验点是生化调节转换点。一个重要检验点是由p53肿瘤抑制基因产物调节，并通过细胞周期蛋白依赖型激酶（CDK）功能的p21^{WAF1}抑制因子的高端调节起作用，作用在CDKs 4或6上。这些分子还可以被p16^{INK4A} and p27^{KIP1} CDK抑制因子抑止和，反过来，其被D族细胞周期蛋白（它在G1期出现）和调节磷酸化的固有序列激活。激活的CDKs 4 or 6磷酸化并因此抑制眼癌敏感基因的产物pBb的活性，pBb在非磷酸化阶段与E2F家族的转录因子复合。磷酸化pBb释放E2Fs，其激活在S期对完成DNA复制重要的基因，并通过此基因被与cyclins A和E一致的CKD2反应促进而激活进程，在G2期中，另一个检验点出现，其中细胞确保正确DNA合成完成。然后细胞在CDK1和cyclin B的影响下进入M期。然后细胞继续下面的分裂周期或进入沉默期、分化期。

癌症化疗的生物基础

癌症化疗试剂引起肿瘤衰退的典型观点集中在如L1210鼠科白血病系统的模型上，其中癌细胞在等基因鼠的腹膜腔中接种后按指数规律生长。在癌细胞中药物与它的生化靶相互作用导致不可持续生长的“非平衡生长”并直接因为与药物的最近靶相互作用因此导致细胞的死亡。试剂可以分为细胞周期激活剂、阶段特异性试剂（如抗代谢物、嘌呤、和处于S期的嘧啶；M期的长春碱）、和阶段非特异性试剂（如alkylators、和抗癌抗生物包括anthracyclines、放线菌素、和丝裂菌素），这些试剂能在细胞周期的任何阶段损伤DNA，然后在细胞周期细胞分裂前表现出阻滞于G2期的检验点。停滞于检验点的细胞可以修复DNA损伤。检验点已经被确定在G1到S的过渡期间通过肿瘤抑制基因p53（可以描述p53的特征为基因组的保护者）调节；在G2期到M期过渡期间通过影响CDK1功能的chk1激酶调节；和在M期中确保有丝分裂纺锤体的完整。检验点概念的重要性是从化疗引起的损伤修复可以在细胞被停滞在检验点时发生的假说演化而来的，因此检

验点操纵功能作为对化疗试剂抗性的重要基础而出现。

药物抗性假定认为是因为细胞不处于周期的合适阶段或由于突变或过表达引起的降低摄入、增加输出、药物代谢、或靶的改变。实际上，p170PGP (p170 P-糖蛋白 *mdr* 基因产物) 从组织培养中正在生长的细胞的试验确认其调节抗性细胞中化疗试剂的溢出。如果某些肿瘤、特定血紫质肿胀表达高水平 p170PGP 则它们具有相反预后，并且这个蛋白的调节功能通过各种策略而被试验。

试剂结合建议立即施用于影响许多不同靶的时机或细胞周期的部分，特别是如果结合的不同组分对宿主的毒性效果是清楚的。在动物模型系统中试剂的结合实际上比单一试剂更具有效果，特别是如果肿瘤细胞接种物是高量的。这种思维引导设计了“结合化疗”方案，其中通过不同机理（如烷基化试剂加上抗代谢物加上有丝分裂纺锤体阻断剂）作用的药物被结合。特别是结合被选择以强调药物对宿主的个体毒性是清楚的，如果可能。

癌症药物作用的观点非常简单。大部分肿瘤不是以指数模式生长而是服从 Gompertzian 动力学，其中肿瘤生长的速度随着肿瘤块的繁殖而减少。这样，肿瘤具有沉默、分化区；增殖区；和健康血管化和坏死区。另外现在可以理解细胞死亡本身是接近的调节过程。坏死是指细胞由例如伴随细胞肿胀和膜分裂特征的有形损坏所引起的死亡。凋亡或程序性细胞死亡是指细胞对确定的死亡刺激反应的高度有序的过程，和它概述了在生物体的个体发育中所遵循的必须的细胞死亡。Anoikis 是指上皮细胞从正常基底环境中移除后的死亡，特别是从细胞与细胞的接触中移除后的死亡。癌症化疗试剂能够引起坏死和凋亡。凋亡的特征是染色质凝聚（引起细胞凋亡体（apoptotic bodies））、细胞收缩、和在活动物中没有炎症的情况下周围基质细胞的吞噬作用。这个过程既被信号转导系统调节也适应引起细胞死亡信号的特定细胞表面受体的调节，其中信号转导系统在达到一定程度损害后促进细胞的死亡。通过信号转导途径操纵的凋亡调节已经显现为理解目前所用的药物作用的基础及设计新的策略以提高它们的用途。

目前的观点预见化疗药物与它的靶相互作用引起或本身就是一种信号，信号启动信号步骤的“串连”以触发“执行阶段”，在那里

细胞死亡途径中的蛋白酶、核酸酶，和内生调节子被激活。有效的癌症化疗剂是通过信号转导途径凋亡的有效激活剂。细胞凋亡机制在体内调节细胞的增殖和肿瘤的行为中是重要的，在体外对于引起细胞死亡的化疗试剂的所有作用是否归都结于细胞凋亡机制是不清楚的。然而，如下评论，调节凋亡的分子的变化清楚地与临床结果（如 Bcl-2 和相关蛋白的过表达）相关联。

用于癌症治疗的化疗试剂

表 2 列举了通常使用的癌症治疗试剂及它们应用的相应的临床方向。药物可以有益地划分为 3 个总类：影响 DNA 的药物、影响微管的药物、和作用在激素样受体的药物。

DHA-紫杉醇 (paclitaxel) 共轭物

Sauer 等 (Cancer Res. , 42: 4090, 1982 ; Sauer and Dauchy, Biochem. Soc. Trans., 18: 80, 1990, 每篇并入本文作为参考) 等研究了具有单一动脉流入和单一静脉输出的组织隔离的肝癌肿瘤中的肿瘤细胞对脂肪酸和其他代谢前体的摄取。在这些系统中，肿瘤急切地吸收动脉血中的某些天然脂肪酸，大概用作生化前体和能量源 (Sauer et al., Cancer Res. , 42: 4090, 1982 ; Sauer and Dauchy, Biochem. Soc. Trans. , 18: 80, 1990 ; Brit. J. Cancer, 66: 297, 1992, 每篇都结合入本文作为参考)。

基于这些发现，合成顺式-4, 7, 10, 13, 16, 19-二十二碳六烯酸 (DHA) 与紫杉醇的共轭物，DHA-紫杉醇使紫杉醇靶向肿瘤以降低相对于自由紫杉醇对正常组织的毒性和增加治疗指数 (Bradley et al., Clin. Cancer Res. , 7: 3229, 2001, 并入本文作为参考)。已报道 DHA-紫杉醇相比于游离紫杉醇在试验动物肿瘤模型和人临床试验中具有增强的治疗效果 (Bradley et al., Clin. Cancer Res., 7 : 3229, 2001)。

虽然 DHA-紫杉醇的治疗指数优于游离紫杉醇，但是由于半数高疏水性 DHA 的加入导致前体的水溶性大大降低，所以导致剂型的差异。自由紫杉醇几乎不溶于水，结果，其目前用在患者中引起许多毒性效果 Cremophor 配制。

在本发明中，当共轭到 DHA 部分时通过加入增加试剂水溶性的官

能团以产生增加水溶性的共轭体，产生的化疗共轭体与自由化疗试剂相比将具有显著的改进的治疗效果。

DHA-CPT 共轭体

喜树碱 (CPT) 是天然生物碱，其首先由 Wall 等于 1966 年从 Chinese plant 的提取物中第一次分离 (J. Am. Chem. Soc. , 88: 3888, 1966, 并入本文作为参考)。CPT 类化合物位于大部分有希望治疗人类癌症的新药中 (Potmesil M, Pinedo H, eds. Camptothecins: New Anticancer Agents. CRC Press, Boca Raton, 1995, 并入本文作为参考)。

DNA 拓扑异构酶 I 是核酸酶，共价结合到双链 DNA 上形成可分裂的复合体并产生单链断裂 (Champoux J. J. , J. Mol. Biol. , 118: 441, 1978)。这个可分裂的复合体使超螺旋 DNA 的扭转力松弛变得容易。一旦扭转力被减轻，酶就结合到分裂的 DNA 链上并从松弛的双链螺旋上分离 (Stivers et al., Biochemistry, 36: 5212, 1997)。CPT 化合物结合并稳定可分裂的复合体 (Hsiang et al., J. Biol. Chem. , 260: 14873, 1985 ; Hsiang Y. H. and Liu L. F., Cancer Res. , 48: 1722, 1988)，和抑制 DNA 链的再连接，导致 DNA 单链断裂的累积。单链断裂不是在它们本身对细胞的毒性，因为链能轻易地在药物除去后再连接：然而 DNA 复制又与药物酶 DNA 复合物的冲突产生不可逆的引导细胞死亡的双链断裂 (Tsao et al., Cancer Res., 53: 5908, 1993)。因此，CPT 化合物是 S 期特异性的，因为正在进行的 DNA 合成被需要去诱导上面的导致细胞毒性的事件的继续。这种作用机理对这些试剂的使用具有重要的含义。已提议延长喜树碱化合物对肿瘤的暴露时间需要确保它们最优的治疗效果。

延长 CPT 化合物对肿瘤暴露时间和这些化合物肿瘤靶的传递将提高它们的治疗效果。因为肿瘤细胞不包含完全是宿主的外源的分子靶，所以抗癌试剂对肿瘤靶的传递没有获得显著的临床成功。

在 CPT 开始的临床试验中，活性被它的生理不相容介质中的不良溶解度所限制。早期通过用氢氧化钠打开内酯环形成 CPT 水溶性钠盐的尝试产生了具有不良抗癌活性的化合物 (Gottlieb, et al., Cancer Chemother. Rep. , 54: 461, 1970 ; Moertel, et al., Cancer Chemother. Rep. , Part 1, 56: 95, 1972 ; Muggia, et al., Cancer

Chemother. Rep. , 56: 515, 1972, 每篇引入本文作为参考)。后来报道关闭的内酯形式对抗肿瘤活性是绝对必要的(Wani, et al., J. Med. Chem., 23: 554, 1980, 并入本文作为参考)。过去几十年在药物化学方面的努力已经提供了大量喜树碱衍生物, 他们中 topotecan 和药薯在美国已经批准用于癌症治疗。在过去 40 多年里药薯是第一个 FDA-批准的新的用于直肠癌治疗的药物, 并且指示作为转移直肠癌患者重要的结合治疗组分。药薯也用于其他癌症如子宫颈癌、食管癌、胃癌、神经胶质瘤、肺癌、胰腺癌和间皮瘤的治疗。

虽然市售 CPT 药物显示了优异的抗肿瘤活性并且非常有益于癌症治疗, 但是因为它们严重的副作用, 所以它们被严格地限制在临床上使用。因此, 需要具有以不同的生物分布和药代动力学特征的新的 CPT 衍生物, 以用于治疗各种癌症。

10-羟基喜树碱的简单饱和和长链脂肪酸酯的合成已有报道 (Takayama et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. , 8: 415, 1998, 并入本文作为参考)。用体外羧酸酯酶水解这些化合物。10-羟基喜树碱的这些简单酯难于配制由于疏水脂肪酸部分加入, 并且因为这些化合物不能选择性地被肿瘤吸收或具有太长的半衰期因此预期不会具有显著的增强的治疗效果。在体内, 这些化合物的抗肿瘤活性还没有公开。

CPT 类化合物是最受瞩目的细胞毒性药物, 其通过抑制拓扑异构酶 I 而起作用, 是对 DNA 合成和修复的重要酶。市售 CPT 药物具有抗肿瘤活性, 然而它们也引起严重的副作用。因为肿瘤细胞选择性地累积 DHA, 因此本发明中假设结合到 CPT 的 DHA 将进一步增加治疗效果并减少由于选择的肿瘤作用靶引起的毒性。

本发明提供了下式的化合物:

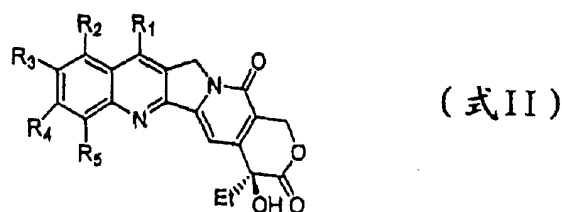
长链不饱和脂肪酸-衔接物-CPT (式 I)

其中:

长链不饱和脂肪酸为 $C_{12} - C_{22}$ 单或多不饱和脂肪酸。其包括但不限于棕榈酸、油酸、亚油酸、亚麻酸、花生四烯酸、二十碳五烯酸 (EPA) 和二十二碳六烯酸 (DHA)。

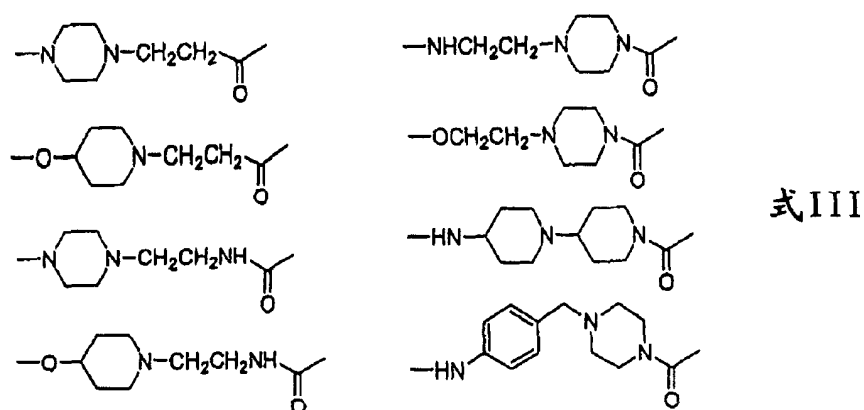
衔接物为-(烷基)_m-(芳基)_n-C(=O)-或-(芳基)_n-(烷基)_m-C(=O)-; 其中 m 和 n 各自为 0-3, 和 m+n ≥ 1; 和

CPT 是具有下面通式结构 (式 II) 的喜树碱化合物:



其中: R₁-R₅ 为 H, 卤素、OH、NO₂、NH₂、烷基、O-烷基、NH-烷基、N(烷基)₂、酯或酰胺, 并且它们可以相同或不同。当 R₁-R₅ 中的任一个是氨基时, 化合物为游离碱和它们的酸加成盐, 如 HCl 和 H₂SO₄。

在式 (I) 化合物的优选实施方案中, 脂肪酸是 DHA 和 EPA, 衔接物选自式 (III) 和 CPT 在本发明中优选包括植物碱 20(S)-喜树碱、20(S)-喜树碱的水不溶性的或基本上水不溶性的类似物、衍生物、前体药物和药学的活性代谢物。喜树碱衍生物的例子包括但不限于 9-硝基-喜树碱、9-氨基喜树碱、9-甲基喜树碱、9-氯喜树碱、9-氟喜树碱、7-乙基喜树碱、10-甲基喜树碱、10-氯喜树碱、10-溴喜树碱、10-氟喜树碱、9-甲氧基喜树碱、11-氟喜树碱、10-羟基喜树碱、7-乙基-10-羟基喜树碱、9-N,N-二甲基氨基甲基-10-羟基喜树碱、10,11-亚甲基二氧基喜树碱、和 10,11-次乙基二氧基喜树碱、和 7-(4-甲基哌嗪亚甲基)-10,11-亚甲基二氧基喜树碱。喜树碱的前体药物包括但不限于酯化喜树碱衍生物, 如喜树碱 20-0-丙酸盐、喜树碱 20-0-丁酸盐、喜树碱 20-0-甘氨酸盐、喜树碱 20-0-戊酸盐、喜树碱 20-0-庚酸盐 (heptanoate)、喜树碱 20-0-壬酸盐 (nonanoate)、喜树碱 20-0-丁烯酸酯 (crotonate)、喜树碱 20-0-2', 3'-环氧丁酸盐、喜树碱 20-0-醋酸盐、喜树碱 20-0-丙酸盐、和喜树碱 20-0-丁酸盐。



本发明的化合物对哺乳动物细胞增殖疾病如癌症的治疗具有效果。本发明的化合物已经提高了在体内的半衰期，并被增殖的哺乳动物细胞如肿瘤细胞累积。由于它们在体内增加的半衰期和增殖细胞选择性的累积如肿瘤选择性的累积，这些化合物在治疗癌症方面更有效果，并已降低了副作用。本发明提供了新的 CPT 试剂，其显示了低毒、高质的抗癌效果。

DHA-CC-1065 共轭体

包括天然存在的 CC-1065 和它们合成的类似物 adozelesin, bizelesin, carzelesin (Aristoff, P. A. Adv. Med. Chem., 2: 67, 1993) 的 CC-1065 化合物属于曾经发现的抗肿瘤试剂中最有效中的一种。这些化合物比阿霉素大 100-10,000 倍的效力。

在本发明中，DHA 和 CC-1065 类共轭体被合成和它们的效果在体外和试验动物肿瘤模型中被评估。虽然 CC-1065 化合物具有高效能，但 DHA-CC-1065 共轭体相比自由药物在治疗效果方面没有显示显著的改进。这些试验数据证明不是所有的 DHA 的共轭体和抗癌试剂与自由药物相比都具有高增强的治疗效果，同时提出 DHA 共轭体和本发明提供的喜树碱的优异的抗癌效果还不能基于 Bradley 等的工作 (Bradley et al., Clin. Cancer Res., 7: 3229, 2001) 而预知。

D. 治疗方法和剂型

用于口服的组合物可以根据本领域药学化合物生产已知的任何方法来制备并且这些组合物可以包含一种或多种选自甜味化合物、调味化合物、着色化合物和防腐化合物的化合物以提供药学上一流的和适

口的制剂。片剂包含混合有无毒性的药理学上可接受的适用于片剂生产的赋形剂的活性化合物。这些赋形剂可以是，例如，惰性稀释剂、如碳酸钙、碳酸钠、乳糖、磷酸钙或磷酸钠；成粒和崩解剂，如玉米淀粉、或海藻酸；粘合化合物，如淀粉、明胶或阿拉伯胶，和润滑化合物，如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石粉。片剂可以不涂层或它们可以用已知技术涂层以延缓在肠胃道中的分解和吸收并因此提供长期持续作用。例如，可以使用如甘油一硬脂酸盐或甘油硬脂酸盐的时间延迟材料。

口服的剂型还可以是硬胶囊形式，其中活性成分与惰性固体稀释剂如碳酸钙、磷酸钙、或高岭土混合，或作为软胶囊形式，其中活性成分与水或油介质如花生油、液体石蜡或橄榄油混合。

水悬浮液包含混合有适合于水悬浮液生产的赋形剂的活性成分。其赋形剂是悬浮化合物，羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、如羟丙基甲基纤维素钠、藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、黄芪胶和阿拉伯胶；分散或润湿化合物可以是天然存在的磷脂，如卵磷脂或脂肪酸烯氧化物的缩聚产物，如聚氧乙烯硬脂酸盐，或具长链脂肪醇的乙烯氧化物的缩聚产物，如十七烷基乙烯氧鲸蜡醇或具有部分衍生自脂肪酸和己糖醇的乙烯氧化物的缩聚产物，如聚氧化乙烯山梨醇一油酸酯，或具有部分衍生自脂肪酸和己糖醇酸酐的乙烯氧化物的缩聚产物，如聚乙烯脱水山梨醇一油酸酯。水溶性悬浮液还可以包含一种过多种防腐剂，如乙烯、或正丙基对羟基苯甲酸酯，一种或多种着色化合物，一种或多种调味化合物、和一种或多种甜味化合物，如蔗糖或糖精。

油悬浮液可以通过将活性成分悬浮植物油或矿物油制备，植物油如花生油、橄榄油、芝麻油或椰子油，矿物油如液体石蜡。油悬浮液可以包含增稠化合物，如蜂蜡、硬石蜡或乙酰醇。甜味化合物如上述那些，和调味化合物可以加入以提供适合口服的制剂。这些组合物可以通过加入抗氧化剂如抗坏血酸而被保存。

适于通过加水制备水悬浮液的可分散粉剂和粒剂提供了混合有分散或湿润化合物、悬浮化合物和一种或多种防腐剂的活性成分。适当的分散或湿润化合物和悬浮化合物示例于上面提到的那些化合物。附加的赋形剂如甜味、调味和着色化合物也可以存在。

发明中的药物组合物还可以是水包油乳液形式。油相可以是

植物油，如橄榄油、花生油、或矿物油，如液体石蜡或它们的混合。适当的乳化化合物可以是天然存在的树脂，例如阿拉伯树脂、黄耆胶、天然存在的磷脂，例如大豆、卵磷脂、和衍生自脂肪酸和己糖醇的酯或部分酯，酸酐，例如脱水山梨糖醇、和上面所述的部分酯与乙烯氧化物的缩聚产物，例如甜味、调味、和着色化合物也可以存在。

糖浆剂和酞剂可以通过甜味化合物如甘油、丙烯甘油山梨醇或蔗糖配制。这样的剂型还可以包含缓和剂、防腐剂和调味、和着色化合物。药学的组合物可以是无菌可注射的水或油悬浮液的形式。这种悬浮液可以根据本领域已知的使用那些适当的分散或湿润化合物和上面已经提到的悬浮化合物配制。无菌可注射制剂还可以是在无毒的生理上可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或悬浮液，例如 1, 3-丁二醇的溶液。在这些可接受的赋形剂中和可以使用溶剂是水、林格氏（Ringer）溶液和等渗氯化物溶液。另外，无菌的混合油通常用作溶剂或悬浮介质。为了这个目的，任何包括合成单体或甘油二酸酯的温和混合油可以使用。而且，脂肪酸如油酸在可注射制剂中使用。

活性化合物还可以以药物直肠给药的栓剂形式给药。这些组合物可以通过混合药物与具有适当的非刺激性赋形剂混合制备，其在常温下是固体但在直肠温度下是液体并且将在直肠中融化释放出药物。这样的物质是可可豆脂和聚乙二醇。

活性化合物可以在无菌介质中的非肠道给药。依赖于赋形剂和使用的浓度药物既可以是悬浮的也可以溶解在赋形剂中。有益地，如局部麻醉剂的辅剂、防腐剂和缓冲化合物可以溶解在赋形剂中。

本发明的组合物（如上面式 I、II 和 III 定义的脂肪酸 CPT 衍生物）可以连续地或间断地通过任何与特定分子相容的路径给药。这样，适当地，给药可以是经口的或非肠道的，包括皮下、静脉、吸入、鼻的、和腹膜内的给药途径。另外，间断给药可以通过每天一次、每两天一次、每 3 天一次、每周一次、每周两次、两周一次、每月两次、和每月一次定期注射组合物的大丸剂。

本发明的治疗组合物可以通过任何适当的方式、直接地（如通过注射、植入的局部或对组织部位的局部给药）或全身地（非肠道或经口的）提供给个体。其中组合物是非肠道方式给药，如通过静脉、皮下、分子内、眼睛、腹膜内、肌肉、口腔、直肠、阴道、眶内的、真

皮下、皮肤、气管、大脑内、颅内、脊柱内、心室内、鞘内、脑池内、囊内、鼻内或通过气溶胶给药，优选的组合物包括部分水或生理上相容的液体悬浮液或溶液的部分。这样，载体或赋形剂是生理上可接受的以致于除了运输患者所需要的组合物外，其不会影响患者的电解质和/或容积平衡。试剂的液体介质因此可以包括常规的生理盐水(如 0.9 % 的氯化钠水溶液)或 pH 为 3-7.4 的缓冲液。换句话说，本发明的治疗组合物连续地或搏动地通过微泵给药用途可以使用在本发明的方法中。

非肠道给药的有益溶液可以通过任何制药领域已知的方法制备，已经描述的如在 REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES (Gennaro, A. , ed.), Mack Pub. , 1990 中。发明中的治疗试剂的剂型可以包括，例如，聚亚烷基二醇如聚乙二醇、植物油、氢化萘等。特别是直接给药的剂型可以包括甘油和其他高粘稠组合物以助于维持试剂在所需的部位。生物相容的，优选生物可吸收的聚合物，包括，例如，透明质酸、胶原、磷酸三钙、聚丁酸盐、环二酯、和乙交酯聚合物和环二酯/乙交酯共聚物，是对控制体内试剂的释放有益的赋形剂。其他的潜在的有益的对这些试剂的非肠胃运输系统包括乙烯-乙烯酯酸酯共聚物颗粒、渗透泵、可移植浸剂、和微脂粒。吸入给药的剂型包含作为赋形剂的，如乳糖、或可以是含水溶液的，如聚氧化乙烯-9-月桂醚、甘氨酸胆酸酯和脱氧胆酯、或以滴鼻给药方式的油溶液，或作为应用于鼻内的凝胶。非肠道给药的剂型还可以包括口腔给药的甘氨酸胆酸盐、直肠给药的甲氧水杨酸盐、或阴道给药的 cutric 酸。直肠给药的栓剂还可以通过本发明(单独或与化疗试剂结合)的治疗组合物与非刺激性的赋形剂的混合来制备，赋形剂如可可豆脂或其他的在室温下为固体而在体温下为液体的组合物。

通过溶解、悬浮或乳化于水或非水溶剂中配制的脂肪酸喜树碱化合物，其可以通过注射给药。甲基亚砷、N,N-二甲基乙酰氨、N,N-二甲基甲酰胺、植物或类似油、合成脂肪酸、甘油酯、高级脂肪酸的酯和 proylene 二醇示例为非水溶剂。化合物优选配制于水溶液中，如 Hank 溶液、林格氏溶液或生理盐缓冲液。

通过与药学上可接受的本领域已知的载体结合制备的脂肪酸喜树碱化合物，其可以通过经口给药。载体允许化合物配制成如患者口服

的片剂、悬浮液、液体或凝胶。口服的制剂可以包含在各种方式中，包括将固体赋形剂与化合物混合，任意地研磨得到的混合物，加入适当的辅助加工的粒剂混合物。下面的列表包括可以用于口服剂型的赋形剂的例子：糖如乳糖、蔗糖、甘露醇或山梨醇；纤维素制剂如玉米淀粉、小麦淀粉、马铃薯淀粉、明胶、黄芪胶、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟甲基纤维素钠、和聚乙烯吡咯烷酮（PVP）。

本发明的脂肪酸喜树碱化合物还可以以气雾剂喷雾制剂从增压塞、喷雾器或从干粉吸入器中释放。在喷雾器中可以使用的适当推进剂包括，例如，二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷和二氧化碳。在增压喷雾器的例子中，剂量可以通过规定阀门释放调节的化合物量。

局部给药到皮肤表面的剂型可以通过分散可释放本发明的治疗组合物的分子与皮肤病学可接受的载体如洗剂、乳膏、软膏或肥皂而制备。特别有益的是载体在皮肤上可形成膜或层以局部应用和抑制迁移。对局部、内组织表面的给药，试剂可以分散在液体组织粘着的或其他的已知的基质中以增强组织表面的吸收。例如，羟丙基纤维素或纤维蛋白原/凝血酶溶液可以使用使优点突出。换句话说，组织涂覆溶液，如含果胶的剂型可以使用。

本发明的化合物可以用于癌症和其他的哺乳动物细胞增殖疾病的治疗。本发明的化合物同时供给或按期循序供给。本发明的这些化合物可以单独给药或与其他治疗试剂如化疗化合物结合给药。

本发明的药学组合物包含治疗有效量的脂肪酸喜树碱化合物。化合物的量依据正在接受治疗的患者。患者的体重、疾病的严重性、给药的方式和处方主治医师的判断在确定适当的用药量时应该考虑。脂肪酸喜树碱化合物的治疗有效量的确定受本领域技术人员能力的限制。

虽然脂肪酸喜树碱化合物的治疗有效量根据正在治疗的患者是变化的，但适当的化合物的剂量典型地位于大约 1mg/kg-1g/kg 之间。

在一些病例中，需要使用超过固定治疗患者的范围的剂量。那些病例对方主治医师是清楚的。必要的是，主治医师也将结合特定患者的反应知道如何和何时中止、调节或终止治疗。

通过参考下面的实施例来进一步明确本发明，但不意味对本发明

范围的限制。很明显，对于本领域技术人员很明显的是对材料和方法的修改可以不离开发明的目的和意义而实践。本发明的化合物可以在体内和试验动物肿瘤模型中使用下面所描述的试剂测量功效；有效的化合物将在体内和试验动物模型中抑制肿瘤生长。本发明中最优选的化合物是在试验动物肿瘤模型中具有最大抗癌效果的那些。

实施例

实施例 1. 化合物 3 的合成

4-(4-硝基苄基)-1-哌嗪羧酸叔丁酯 (3)。向 1-哌嗪羧酸叔丁酯, 1 (0.74 g, 4 mmol), 和 4-硝基苄基溴化物, 2 (0.86 g, 4 mmol) 在 N,N-二甲基甲酰胺 (DMF, 5 mL) 的溶液中加入碳酸钾 (3 g), 然后在室温下搅拌反应混合物 4 小时。用乙酸乙酯 (50 mL) 提取产物, 然后用水 (20 mL $\times$ 3) 洗涤有机相。用硫酸钠干燥溶液, 然后溶剂在真空中除去。用乙酸乙酯洗脱, 用柱色谱法提纯产品获得固体 3 (1.22 g, 产率 95%), mp 99-100°C。

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): 8.21-8.19 (d, 2H, J = 8.8 Hz, Ar-H), 7.61-7.59 (d, 2H, J = 8.0 Hz, Ar-H), 3.63 (s, 2H, CH_2), 3.34-3.30 (m, 4H, 部分模糊, 2 $\times$ CH_2), 2.35-2.32 (m, 4H, 2 $\times$ CH_2), 1.39 (s, 9H, 3 $\times$ CH_3). 分析 ($\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_4$) C, H, N.

实施例 2. 化合物 5 的合成

叔丁基 4-[4-(顺式 4, 7, 10, 13, 16, 19-二十二碳己烯酰)氨基]苄基-1-哌嗪羧酸酯 (5)。向乙酸乙酯 (100 mL) 中的化合物 3 (0.68 g, 2.1 mmol) 加入 10% Pd/C (0.1 g), 然后在 60 lb/inch² 的压力下氢化反应混合物 2 小时。过滤产物, 在真空中除去溶剂获得胺 4 (0.6 g, 产率 97%), 不用进一步纯化, 向溶解在乙腈 (90 mL) 中的胺 4 (0.6 g, 2.06 mmol) 加入顺式-4, 7, 10, 13, 16, 19-二十二碳六烯酸 (DHA, 0.67 g, 2.0 mmol)、2-(1-苯并三唑-1-基)-1, 1, 3, 3-四甲基脲六氟磷酸 (HBTU, 0.94 g, 2.5 mmol)、和 N,N-二异丙基乙胺 (2.1 mL)。将反应混合物过夜搅拌。在真空中除去溶剂, 然后用柱色谱法纯化产物, 用乙酸乙酯洗脱获得油 5 (0.91 g, 73% 产率)。

¹H NMR (DMSO-d₆): 9.84 (s, 1H, NH), 7.53-7.51 (d, 2H, *J* = 8.80 Hz, Ar-*H*), 7.19-7.17 (d, 2H, *J* = 8.40 Hz, Ar-*H*), 5.35-5.31 (m, 12H, CH=CH), 3.40 (s, 2H, CH₂), 3.29 (brs, 4H, 2 × CH₂), 2.83-2.75 (m, 10H, 5 × CH₂), 2.35 (brs, 4H, 2 × CH₂), 2.27 (t, 4H, *J* = 4.80 Hz, 2 × CH₂), 2.04-2.00 (m, 2H, CH₂), 1.38 (s, 9H, 3 × CH₃), 0.91 (t, 3H, *J* = 7.20 Hz, CH₃). 分析 (C₃₈H₅₅N₃O₃·4.1H₂O) C, H, N

实施例 3. 化合物 6 的合成

1-[4-(顺式-4, 7, 10, 13, 16, 19-二十二烯酰)氨基]苄基哌嗪 (6)。将化合物 5 (0.85 g, 1.4 mmol) 溶解于乙酸乙酯 (10 mL) 中, 然后加入溶于乙酸乙酯 (7 mL) 中的饱和无水 HCl。在室温下搅拌反应混合物 30 分钟。过滤沉淀, 用乙酸乙酯洗涤获得 6 (0.68 g, 90% 产率)。产品不提纯用于下一步反应。

实施例 4. 化合物 8 的合成

10-(4-硝基苯氧基)羧氧基喜树碱 (8)。用 4-硝基苯基氯甲酸酯 (54 mg, 0.27 mmol) 7, 和三乙胺 (0.1 mL) 处理四氢呋喃 (THF, 5 mL) 中的 HCPT, (25 mg, 0.069 mmol), 在室温下反应 1 小时。产物用乙酸乙酯 (20 mL) 提取, 然后用水 (10 mL × 3) 洗涤有机相。用硫酸钠干燥溶液和在真空中除去溶剂。用柱色谱法纯化产物, 用乙酸乙酯洗脱得到黄色固体 8 (33 mg, 91% 产率)。产物不必纯化用于下一步的反应中。

实施例 5. DHA-HCPT 的合成

10-[4-[[4-(顺式-4, 7, 10, 13, 16, 19-二十二烯酰)氨基]苄基]-1-哌嗪]羧氧基喜树碱 (DHA-HCPT)。

在四氢呋喃 (60 mL) 中的碳酸盐 8 (0.66 g, 1.25 mmol) 溶液用三乙胺 (2.4 mL) 的胺 6 (0.85 g, 1.58 mmol) 溶液处理, 然后在室温下搅拌反应混合液 2 小时。在真空中除去溶剂, 然后用柱色谱仪纯化产物, 用乙酸乙酯和甲醇 (15: 1, v/v) 洗脱得到黄色固体 DHA-HCPT (0.8 g, 72% 产率), mp 196-199 °C。

^1H NMR (DMSO- d_6): 9.89 (s, 1H, Ar-H), 8.66-7.26 (m, 8H, Ar-H), 6.55 (s, 2H), 5.43-5.30 (m, 12H), 3.49-3.34 (m, 16H), 2.83 (s, 4H), 2.52-2.34 (m, 8H), 1.88 (t, 1H, $J=7.20$ Hz), 9.91-0.87 (m, 6H). MS m/z (M^++H): 893.0.

将产物溶解在 THF 和乙酸乙酯的混合液中, 然后加入无水盐酸的乙酸乙酯。过滤沉淀然后干燥得到盐酸盐的 DHA-HCPT, mp 230°C (分解)。分析 ($\text{C}_{54}\text{H}_{61}\text{N}_5\text{O}_7 \cdot \text{HCl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) C, H, N.

实施例 6. PP-HCPT 的合成

10-[4-(1-哌啶)-1-哌啶]羧氧基喜树碱(PP-HCPT)。四氢呋喃 (THF) (55 mL) 的碳酸盐 8 (0.53 g, 1 mmol) 溶液用 4-哌啶子基哌啶 (piperidinopiperidine) (0.17 g, 1 mmol) 和三乙胺 (1 mL) 处理, 室温下搅拌反应液 2 小时。真空下除去溶剂, 然后用柱色谱法提纯产物, 用二氯甲烷和甲醇 (5:1, v/v) 洗脱得到黄色固体 PP-HCPT (0.41 g, 73% 产率)。

^1H NMR (DMSO- d_6): 8.66 (s, 1H), 8.19-8.17 (d, 1H, $J=9.2$ Hz), 7.92-7.91 (d, 1H, $J=2.8$ Hz), 7.70-7.67 (dd, 1H, $J=3.2, 9.6$ Hz), 7.35 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.30 (s, 2H), 4.29-4.26 (br d, 1H), 4.12-4.08 (br d, 1H), 3.08-3.05 (br t, 1H), 2.94-2.91 (br t, 1H), 1.91-1.82 (m, 4H), 1.53-1.42 (br d, 8H), 0.91-0.87 (t, 3H, $J=7.4$ Hz). MS m/z (M^++H): 559.64.

将产物溶解在 THF 和乙酸乙酯的混合物中, 然后加入乙酸乙酯的无水盐酸。过滤沉淀物干燥得到盐酸盐的 PP-HCPT, mp 235°C (分解)。分析 ($\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_6 \cdot \text{HCl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) C, H, N.

实施例 7. 体内抗癌活性试剂

评估在体内对 L1210 白血病细胞的 DHA-HCPT 抗肿瘤活性 (表 3)。补充有 10% FCS 介质的 RPMI-1640 介质中的 L1210 白血病细胞 (2.5×10^4 细胞/孔) 播种在 96 孔盘中。递增浓度的药物 (10 μL) 加入到每个孔中, 每个孔中的总体积用相同的介质调节到 0.1 mL。HCPT 用作阳性标准。将盘在 37°C 孵化 24 小时后加入 10 μL 的 ^3H 胸腺嘧啶核苷 (20 $\mu\text{Ci/mL}$)。将盘再孵化 24 小时。收获细胞, 用 Packard Matrix 96 beta 计数器计算放射性。结果表述为抑制 50% (IC_{50}) ^3H 胸腺嘧啶核苷

结合的最小浓度。百分率生长抑制计算如下:

$$[(\text{总 cpm} - \text{试验的 cpm}) / \text{总 cpm}] \times 100$$

在这个 48 小时细胞生长抑制剂中, DHA-HCPT 具有 $1.8\mu\text{M}$ 的 IC_{50} 值, 其比具有 IC_{50} 值的 $0.23\mu\text{M}$ 的 HCPT 小 8 倍药效。PP-HCPT 分别比具有 $30\mu\text{M}$ IC_{50} 值的 DHA-HCPT 和 HCPT 小 16 和 128 倍的药效, 阿霉素 (Dox) 用作阳性对照。HCPT 和 DHA-HCPT 都引起 DNA 断裂和细胞死于凋亡 (数据没有显示)。

实施例 8. 在 L1210 的白血病肿瘤模型中的抗癌活性

在携带有 L1210 白血病细胞的雄性的 BDF1 小鼠中 (18-22g, 6 只/组) 检验化合物。肿瘤系在具有每 7 天细胞 (10^5 细胞/鼠) 转移的 DBA/2 雌性小鼠中繁殖。包含 105 个白血病细胞稀释腹水液 (0.1ml) 在 0 天接种 i. p. 小鼠中。小鼠被注射 0.1mL 的药物制剂。在这个 L1210 白血病模型中, 当一个剂量被给药时, DHA-HCPT 比它的前体药物 HCPT 具有更好的效果 (表 4)。例如, 在任意的计量 (最好治疗效果和体重损失小于 15% 和/或毒性死亡小于 15%), HCPT 不能长期生存的个体中具有 77% 的生命 (ILS) 增长。相反, DHA-HCPT 在 180mg/kg 的剂量下两个长期生存者, 其具有 154% 的生命增长。在等克分子的剂量时, DHA-HCPT (40 mg/kg) 比 HCPT (15 mg/kg, ILS: 77%) 具有更高的治疗效果 (ILS: 108%)。而且, DHA-HCPT 相比 HCPT 具有大大降低的毒性 (对 HCPT 为 10% 的体重损失 vs. 对 DHA-HCPT 为 2% 的体重增加)。

为找出 DHA-HCPT 的增强的治疗指数是否简单由于氨基甲酸酯半数加入 HCPT 中缘故, 如在药薯和它的游离药物 SN-38 的情况中。HCPT 和哌啶子基哌啶、PP-HCPT 的共轭体被合成, 并且它们的抗肿瘤活性用小鼠中 L1210 白血病评估。表 4 中的结果清楚地显示 PP-HCPT 效果优于 HCPT。例如, 虽然 73 mg/kg 的 PP-HCPT 和 15 mg/kg 的 HCPT 具有相同的 ILS (77%), 但是 PP-HCPT 对动物的毒性 (体重增加 2%) 比 HCPT (体重减少 10%) 更少。在等克分子的剂量下, DHA-HCPT 的治疗效果 (60 mg/kg, ILS: 138%) 高三倍于 PP-HCPT 的治疗效果 (37mg/kg, ILS: 46%)。在等克分子的剂量下, DHA-HCPT (40 mg/kg) 具有 108% 的 ILS 而 PP-HCPT (73 mg/kg) 产生的 ILS 只有 77%。而且, 关于摩尔基础, 40 mg 的 DHA-HCPT 仅是 73 mg 的 PP-HCPT 的摩尔数

的 1/3。这些结果证明 DHA-HCPT 比 PP-HCPT 的效果好, 建议 DHA 与 HCPT 的共轭导致增长的治疗指数。

DHA-HCPT 也使用多种剂量 (1、5 和 9 天) 测试。在 120 mg/kg 的剂量, DHA-HCPT 产生 323% 的 ILS, 治愈三例(表 5)。相比, 在 150mg/kg 的剂量, PP-HCPT 仅产生 123% 的 ILS, 无治愈病例。DHA-HCPT 的治疗效果再一次高于 PP-HCPT。环磷酰胺产生的 ILS 是 173%。

实施例 9. 刘易斯肺肿瘤模型 (Lewis lung tumor model) 中的抗癌活性

当一次剂量给药时, i. p. DHA-HCPT 在刘易斯肺癌小鼠中显示了显著的活性(表 6)。例如, 在 120 mg/kg 的剂量, 其抑制肿瘤生长 83% 而体重减轻仅为 10%。母体药物 HCPT 在 20 mg/kg 剂量抑制肿瘤生长为 57% 而体重减轻为 24%。用 DHA-HCPT 治疗的组生存的时间也较长。

在多种剂量(1、5 和 9 天)试验中, 在 120 mg/kg 的剂量, DHA-HCPT 治愈 50% 且最低毒力(表 7)。在 100 mg/kg 剂量, 肿瘤生长抑制(TGI) 为 88%, 相比, 顺氯氨铂, 在治疗肺癌的最有效的药物中的一种, 在 5 mg/kg 的完全毒性剂量产生 73% 的 TGI。这些结果证明 DHA-HCPT 的治疗指数显著地高于顺氯氨铂。

实施例 10. 38 结肠癌肿瘤模型中的抗癌活性

当一次剂量给药时, 在 120 mg/kg 的剂量, DHA-HCPT 产生 91% 的 TGI 而显著地抑制肿瘤生长(表 8)。相比, 顺氯氨铂产生 88% 的 TGI, 然而 DHA-HCPT 的毒性(体重减轻 16%) 小于顺氯氨铂的毒性(体重减轻 20%)。

进行两个多种剂量试验(1、5 和 9 天)。设计第一个试验以评估药物对早期癌症的抗肿瘤活性, 如癌症转移 0 天然后在第二天开始给药。设计第二个试验以评估药物对确诊的肿瘤的活性, 如肿瘤转移 0 天然后当肿瘤长到 3-4mm 大时给药。在早期肿瘤模型中, 在 100 mg/kg 剂量, DHA-HCPT 产生 78% 的 TGI(表 9) 而显著地抑制肿瘤生长。

在晚期肿瘤模型中, 在 100 mg/kg 的剂量, DHA-HCPT 以 80% (表 10) 抑制肿瘤生长。这些数据表明 DHA-HCPT 在早期和晚期的肿瘤模型中具有相同治疗效果。

表 1、化疗肿瘤的可治愈性

A、可治愈的晚期癌症	
急性淋巴和急性骨髓白血病 (儿科/成人)	妊娠滋养瘤
恶性淋巴瘤肉芽肿病(儿科/成人)	儿科新生瘤
确诊淋巴瘤类(儿科/成人)	维耳姆斯氏肿瘤
胚细胞新生瘤	胚胎成横纹肌细胞瘤
胚胎瘤	尤因氏肉瘤
畸形瘤	外周神经上皮瘤
精原细胞瘤或无性细胞瘤	成神经细胞瘤
绒膜癌	小细胞肺癌
	卵巢癌
B、通过化疗和放疗可治愈的晚期癌症	
鳞状癌(头和颈)	子宫颈癌
鳞状癌(肛门)	非小细胞肺癌(III期)
肺癌	小细胞肺癌
C、外科手术辅助的化疗可治愈的癌症	
乳房癌	成骨肉瘤
结肠直肠癌*	软组织癌
D、干细胞支持的高剂量化疗可治愈的癌症	
复发白血病、淋巴样的和骨髓的	慢性骨髓白血病
复发的淋巴瘤、何杰金氏或非何杰金氏的	何杰金氏多发性骨髓瘤
E、化疗能够缓解但不能治愈的癌症	
膀胱癌	子宫癌
慢性骨髓白血病	子宫内膜癌
毛细胞白血病	软组织癌
慢性淋巴白血病	头颈癌
多发性骨髓瘤	岛细胞瘤
胃癌	乳房癌
F、在晚期对化疗不敏感肿瘤	
胰腺癌	结肠直肠癌
胆道癌	非小细胞肺癌
肾癌	前列腺癌
甲状腺癌	黑素瘤
外阴的癌	肝细胞癌

* 结肠还接受放疗

表 2、通常用于癌症化疗的试剂

药物	通常剂量的例子
烷基化试剂	
环磷酰胺	400-2000 mg/m ² IV, 100mg/ m ² PO qd
二氯甲基二乙胺	6mg/m ² IV day 1 and day 8
本丁酸氮芥	1-3 mg/m ² qd PO
左旋苯丙氨酸氮芥	8 mg/m ² qd x 5, PO
BCNU	200 mg/m ² IV , 150 mg/m ² PO
CCNU	100-300 mg/m ² PO
异环磷酰胺	1.2 g/m ² 每天 qd x 5 + MESNA
甲苄肼	100mg/m ² 每天 qd x14
DTIC	375mg/m ² IV 天1 恶心 Flulike
六甲三聚氰胺	260 mg/m ² 每天 qd x 14-21 分 4 次口服
顺铂/氮铂	20 mg/m ² qd x5 IV 1 q3-4 周 or 100-200 mg/m ² /剂 IV q3-4 周
卡铂 (carboplatin)	365 mg/m ² IV q3-4 周 用 CrCl 调节
抗肿瘤抗生素	
博来霉素	15-25 mg/d qd x5IV 或连续给药 IV
放线菌素 D	10-15 µg/kg 每天 qdx5 IV 大丸药
光辉霉素	15-20 µg/kg qd x4-7(高钙血) or 50 µg/kg qod x3-8(抗肿瘤)
丝裂霉素 C	6-10mg/m ² q6 周
依托泊苷 (VP16-213)	100-150 mg/m ² IV qdx3-5d or 50 mg/m ² PO qdx21d 或直到 1500mg/m ² /的剂量 (干细胞支持下的高剂量)
Toni poside (VM-26)	150-200 mg/m ² 每周两次共 4 周
安吖啶	100-150mg/m ² IV qd x5
Topotecan	20mg/m ² IV q3-4 周 超过 30 min or 1. 5-3 mg/m ² q3-4 周 超过 24 h 或 0.5 mg/m ² 每天 超过 21 天
药薯 (CPT II)	100-150 mg/m ² IV 超过 90 min q3-4 周 或 30 mg/m ² 每天 超过 120 h
阿霉素和柔红霉素	45-60 mg/m ² 剂量 q3-4 周或 10-30 mg/m ² 剂量 q 周或连续灌注方案
Idarubicin	10-15 mg/m ² IV q 3 周 或 10 mg/m ² IV qd x3

Epirubicin	150 mg/m ² IV q3 周
米托蒽醌	12 mg/m ² qd x3 或 12-14 mg/m ² q3 周
抗代谢物	
脱氧柯福霉素	4mg/m ² IV 每隔 1 周
6-巯基嘌呤	75 mg/m ² PO 或高至 500mg/m ² PO (高剂量)
6-巯鸟嘌呤	2-3 mg/kg 每天 直到 3-4 周
巯唑嘌呤	1-5 mg/kg 每天
2-氯脱氧腺苷	0.09 mg/kg 每天 qd x7 连续灌注
羟基脲	20-50 mg/kg (瘦体重) PO qd 或 1-3 g/d
甲氨蝶呤	15-30 mg PO 或 IM qd x3-5 或 30 mg IV 天 1 和 8 或 1.5-12g/m ² 每天 (伴甲酰四氢叶酸)
5-氟尿嘧啶	375 mg/m ² IV qd x5 或 600mg/ m ² IV 1 和 8 天
胞嘧啶阿拉伯糖苷	100mg/ m ² 每天 qd x7 连续灌注或 1-3 g/ m ² 剂量 IV 大丸剂
氮胞苷	750 mg/ m ² 每周 或 150-200 mg/ m ² 每天 x5-10 (大丸剂) 或 (连续 IV)
吉西他滨 (Gemcitabine)	1000 mg/ m ² IV 周 x7
Fludarabine 磷酸盐	25 mg/ m ² IV qd x5
天东酰胺酶	25,000 IU/ m ² q3-4 周 或 6000 IU/ m ² 每天 qod for 3-4 周 或 1000-2000 IU/ m ² 10-20 天
抗有丝分裂试剂	
长春新碱	1-1.4 mg/ m ² 每周
长春碱	6-8 mg/ m ² 每周
长春瑞滨 (Vinorelbine)	15-30 mg/ m ² 每周
紫杉醇	135-175mg/ m ² 每 24-h 灌注或 175 mg/ m ² 每 3-h 灌注或 140 mg/ m ² 每 96-h 灌注或 250 mg/ m ² 每 24-h 灌注加 G-CSF
泰素帝(Docetaxel)	100 mg/ m ² 每 1-h 灌注 q3 周
雌莫司汀磷酸盐	14 mg/kg 每天 3-4 次, 饭后 2 小时用水分次服; 避免富含 Ca ²⁺ 食物

表 3、体外^{*}对 L1210 白血病的抗肿瘤活性

药物	IC ₅₀ (uM)
HCPT	0.23 ± 0.03
DHA-HCPT	1.8 ± 1.5
PP-HCPT	30 ± 0.6
Dox	0.18 ± 0.09

^{*}细胞毒性在 48 小时增殖试剂中测量。结果报告为抑制 50% ³H-胸腺嘧啶核苷吸收的最小药物浓度，并为三个试验的平均值。

表 4、在小鼠^{*}中对 L1210 白血病的肿瘤活性

药物	剂量 (mg/kg)	% 重量改变 [*]	% ILS	30 天存活
HCPT	20	-16	108	0
	15	-10	77	0
DHA-HCPT	180	-12	154	2
	60	1	138	0
	40	2	108	0
PP-HCPT	73	2	77	0
	37	5	46	0
环磷酰胺	200	-9	123	0

^{*} 雄 BDF1 小鼠 (6/组) 在 0 天被注射具有 10⁵ 细胞的 i. p. . 1 天给药 i. p. .

^{*} 组体重改变在 0 天和小鼠具有最轻的体重的时间的天数之间

未治疗的小鼠的存活的天数的中间值是 6.5.

表 5、在小鼠^a中对 L1210 的抗肿瘤活性

药物	剂量 (mg/kg)	%重量改变 ^a	% ILS	30 天存活
DHA-HCPT	120	-12	323	3
PP-HCPT	150	-18	123	0
环磷酸胺	125	-15	173	0

^a雄性小鼠 BDF₁ 小鼠 (6/组) 被注射 0 天的具有 10⁵ 个细胞的 i. p. . 在 1、5 和 9 天给药 i. p. .

^a组体重改变在 0 天和小鼠具有最轻体重的时间的天数之间。

表 6、小鼠^a中对刘易斯肺癌的抗肿瘤活性

药物	剂量 (mg/kg)	%重量改变 ^a	肿瘤重量 (g ± SD)	% TGI	% ILS	P 值 ^b
对照	-		1.77 ± 0.89	-	-	-
HCPT	20	-24	0.76 ± 0.59	57	16	<0.01
DHA-HCPT	120	-10	0.31 ± 0.18	83	33	<0.01
	80	-5	0.93 ± 0.53	48	23	<0.01

^a雄性小鼠 BDF₁ 小鼠 (8/组) 被注射 0 天的具有 10⁶ 个细胞的 s. c. . 在 1 天给药 i. p. .

^a组体重改变在 0 天和小鼠具有最轻体重的时间的天数之间。

^b与对照比较。

表 7、在小鼠^a中对刘易斯肺癌的抗肿瘤活性

药物	剂量 (mg/kg)	%重量改变 ^a	肿瘤重量 (g ± SD)	% TGI	P 值 ^b
对照		-	1.20 ± 0.61	-	-
DHA-HCPT	100	-9	0.15 ± 0.10	88	<0.01
顺氯氨铂	5	-19	0.32 ± 0.17	73	<0.01

^a雄性小鼠 BDF₁ 小鼠 (8/组) 被注射 0 天的具有 10⁶ 个细胞的 s. c. . 在 1、5 和 9 天给药 i. p. .

^a组体重改变在 0 天和小鼠具有最轻体重的时间的天数之间。

^b与对照比较。

表 8、在小鼠中对 38 结肠癌的抗肿瘤活性

药物	剂量 (mg/kg)	% 重量改变 ^a	肿瘤重量 (g ± SD)	% TGI	P 值 ^b
对照	-	-	1.20 ± 0.84	-	-
顺氯氨铂	10	-20	0.14 ± 0.07	88	<0.01
DHA-HCPT	120	-16	0.11 ± 0.09	91	<0.01

^a 雄性小鼠 BDF₁ 小鼠 (8/组) 被注射 0 天的具有 10⁶ 个细胞的 s.c., 在 1 天给药 i.p.,

^a 组体重改变在 0 天和小鼠具有最轻体重的时间的天数之间。

^b 与对照比较。

表 9、在小鼠中对早期 38 结肠癌的抗肿瘤活性

药物	剂量 (mg/kg)	% 重量改变 ^a	肿瘤重量 (g ± SD)	% TGI	P 值 ^b
对照	-	-	1.13 ± 0.39	-	-
DHA-HCPT	150 ^c	-	0.18 ± 0.12	84	<0.01
	100	-12	0.25 ± 0.22	78	<0.01
	67	-10	0.64 ± 0.50	43	<0.01

^a 雄性小鼠 BDF₁ 小鼠 (8/组) 被注射 0 天的具有 10⁶ 个细胞的 s.c., 在 1、5 和 9 天给药 i.p.,

^a 组体重改变在 0 天和小鼠具有最轻体重的时间的天数之间。

^b 与对照比较。

^c 1 和 5 天给药, 4 只小鼠中毒死亡。

表 10、在小鼠中对晚期 38 结肠癌的抗肿瘤活性

药物	剂量 (mg/kg)	% 重量改变 ^a	肿瘤重量 (g ± SD)	% TGI	P 值 ^b
对照	-	-	1.13 ± 0.39	-	-
DHA-HCPT	150 ^c	-	0.24 ± 0.18	79	<0.01
	100	-14	0.22 ± 0.14	80	<0.01

^a 雄性小鼠 BDF₁ 小鼠 (8/组) 被注射 0 天的具有 10⁶ 个细胞的 s.c., 在 9、13 和 17 天给药 i.p.,

^a 组体重改变在 0 天和小鼠具有最轻体重的时间的天数之间。

^b 与对照比较。

^c 9 和 13 天给药, 3 只小鼠中毒死亡。

等同原则

从前面对本发明的特定实施方案的详细描述可以明确，独特的组合物和生产喜树碱的脂肪酸衍生物的独特方法，同时叙述了合成有效治疗哺乳动物细胞增殖疾病如癌症的组合物。虽然特定的实施方案已经在本文中详细地描述，但这仅仅是例证了本发明，而无意限定权利要求的范围。特别是，发明人可以在不离开本发明权利要求所限定的精神和范围可以想到取代、变更、和修改。例如，本发明组合物的脂肪酸的选择、或衔接链分子、或剂量的选择、和给药途径的选择对于本领域普通技术人员而言，以其对本说明书的理解是常规的事情。

DHA-HCPT的合成

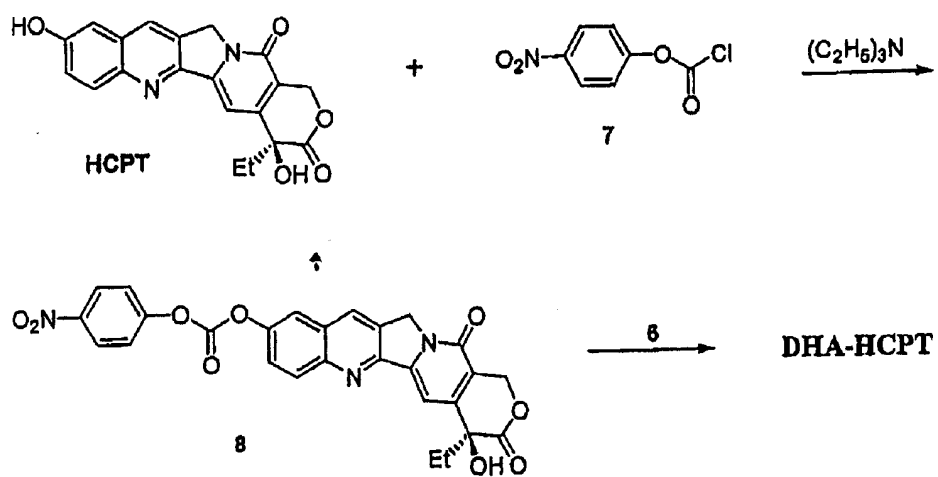


图 2

喜树碱和相关类似物的结构

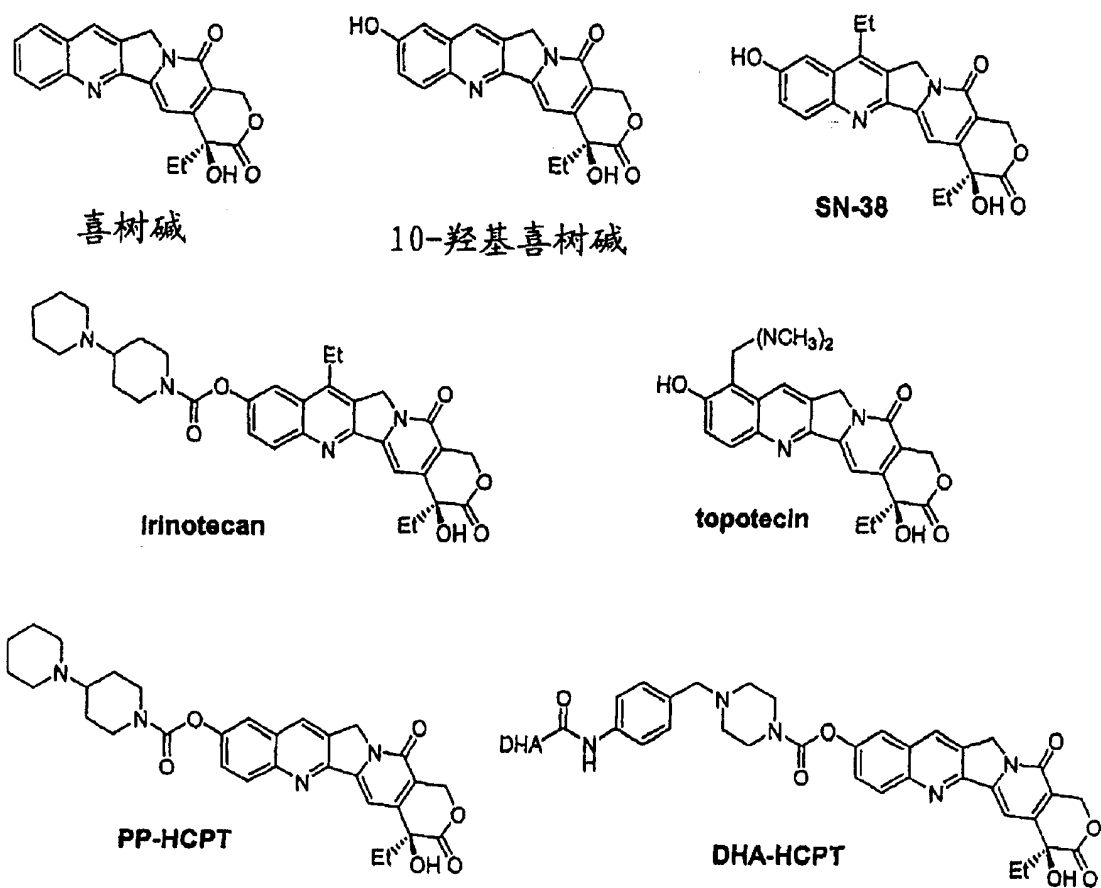


图 3