



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110464718 A

(43)申请公布日 2019.11.19

(21)申请号 201910611300.6

A61K 31/23(2006.01)

(22)申请日 2011.08.26

A61P 35/00(2006.01)

(30)优先权数据

A61P 35/02(2006.01)

61/377,747 2010.08.27 US

61/471,402 2011.04.04 US

(62)分案原申请数据

201180050187.0 2011.08.26

(71)申请人 尼昂克技术公司

地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 T·陈 D·莱文 S·普帕利

(74)专利代理机构 成都超凡明远知识产权代理

有限公司 51258

代理人 刘书芝 洪玉姬

(51)Int.Cl.

A61K 31/23(2006.01)

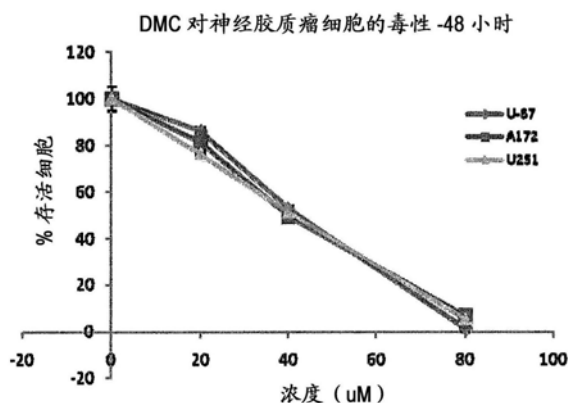
权利要求书1页 说明书27页 附图10页

(54)发明名称

包含POH衍生物的药物组合物

(57)摘要

本发明涉及包含POH衍生物的药物组合物。本发明提供一种药物组合物,其包含紫苏醇脂肪酸酯,其中所述紫苏醇脂肪酸酯选自十六酸4-异丙烯基-环己-1-烯基甲基酯和十八-9,12-二烯酸4-异丙烯基-环己-1-烯基甲基酯。本发明还提供一种在制备治疗哺乳动物的疾病的药物中的用途,该药物通过局部施用递送至受试者。施用途径可以变化并可以包括吸入、鼻内、口服、经皮、静脉内、皮下或肌肉注射。



1. 一种药物组合物,其包含紫苏醇脂肪酸酯,其中所述紫苏醇脂肪酸酯选自十六酸4-异丙烯基-环己-1-烯基甲基酯和十八-9,12-二烯酸4-异丙烯基-环己-1-烯基甲基酯。

2. 根据权利要求1的药物组合物,其中所述紫苏醇脂肪酸酯是十六酸4-异丙烯基-环己-1-烯基甲基酯。

3. 根据权利要求1的药物组合物,其中所述紫苏醇脂肪酸酯是十八-9,12-二烯酸4-异丙烯基-环己-1-烯基甲基酯。

4. 根据权利要求1的药物组合物,其中所述药物组合物在放射疗法之前、期间或之后施用。

5. 根据权利要求1的药物组合物,其中所述药物组合物是通过局部施用来施用的。

6. 根据药物组合物在制备治疗哺乳动物的疾病的药物中的用途,其中所述药物组合物包含选自十六酸4-异丙烯基-环己-1-烯基甲基酯和十八-9,12-二烯酸4-异丙烯基-环己-1-烯基甲基酯的紫苏醇脂肪酸酯。

7. 根据权利要求6的用途,其中所述治疗还包括向哺乳动物递送化疗剂。

8. 根据权利要求7的用途,其中所述药物组合物是通过局部施用来施用的。

9. 根据权利要求7的用途,其中所述疾病是癌症。

10. 根据权利要求7的用途,其中所述癌症包括肺癌、耳、鼻和喉的癌、白血病、结肠癌、黑素瘤、胰腺癌、乳癌、前列腺癌、乳腺癌、造血系统癌症、卵巢癌、基底细胞癌、胆管癌;膀胱癌;骨癌;乳腺癌;宫颈癌;绒毛膜癌;结肠和直肠癌;结缔组织癌;消化系统的癌症;子宫内膜癌;食管癌;眼癌;头颈癌;胃癌;上皮内瘤;肾癌;喉癌;包括急性骨髓性白血病、急性淋巴细胞性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴细胞性白血病的白血病;肝癌;包括霍奇金和非霍奇金淋巴瘤的淋巴瘤;骨髓瘤;纤维瘤、成神经细胞瘤;口腔(例如唇、舌、口和咽)癌;卵巢癌;胰腺癌;前列腺癌;视网膜母细胞瘤;横纹肌肉瘤;直肠癌;肾癌;呼吸系统癌症;肉瘤;皮肤癌;胃癌;睾丸癌;甲状腺癌;子宫癌;泌尿系统癌症,以及其它癌瘤和肉瘤。

包含POH衍生物的药物组合物

[0001] 本申请是申请日为2011年8月26日、申请号为201180050187.0 (针对的分案申请号201510569791.4)、发明名称为“包含POH衍生物的药物组合物”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求美国临时申请第61/377,747号(2010年8月27日提交)和 第61/471,402号(2011年4月4日提交)的优先权。

技术领域

[0004] 本发明涉及POH衍生物。本发明进一步涉及使用POH衍生物如POH 氨基甲酸酯治疗癌症的方法。

背景技术

[0005] 恶性神经胶质瘤,中枢神经系统(CNS)癌症的最常见形式,当前被认为是基本上不能治愈的。在各种恶性神经胶质瘤之中,间变性星形细胞瘤(III期)和多形性成胶质细胞瘤(GBM;IV期)具有特别差的预后,这是由于它们的侵袭性生长和对当前可用治疗的抗性。恶性神经胶质瘤的现有标准化治疗由外科手术、电离射疗法和化疗法组成。尽管医学上有最新的进展,但过去的50年在恶性神经胶质瘤的预后上并未看到任何明显改善。Wen等,Malignant gliomas in adults.New England J Med.359:492-507,2008. Stupp等, Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma.New England J Med.352:987-996,2005。

[0006] 肿瘤(包括恶性神经胶质瘤)对各种类型化疗剂的较差反应通常是由于内在的抗药性。另外,初始反应良好的肿瘤的获得性抗性和不希望的副作用是经常阻碍使用化疗剂的长期治疗的其它问题。因此,已经制备了各种化疗剂的类似物企图克服这些问题。所述类似物包括作为至少两种现有治疗剂的杂合分子(hybrid molecules)的新型治疗剂。例如,顺铂与带有细胞毒性共药(codrug)的Pt-(II)复合物偶联,或与生物活性穿梭组分如卟啉、胆汁酸、激素或加快跨膜输送或细胞内药物积聚的调节剂偶联。在人肿瘤细胞系的小组上测试了用萜烯醇酯化的(6-氨基甲基烟酸酯)二氯化铂(II) ((6-Aminomethylnicotinate)dichloridoplatinum)复合物。这些复合物中的萜烯基部分似乎实现了跨膜穿梭功能,并且增加了这些偶联物摄取进入各种肿瘤细胞系中的速率和程度。Schobert等,Monoterpenes as Drug Shuttles: Cytotoxic (6-aminomethylnicotinate)dichloridoplatinum(II) Complexes with Potential To Overcome Cisplatin Resistance.J.Med.Chem.2007,50, 1288-1293。

[0007] 紫苏醇(POH),一种天然存在的单萜,已经被认为是抗多种癌症的有效药剂,包括CNS癌症、乳腺癌、胰腺癌、肺癌、黑素瘤和结肠癌。Gould, M.Cancer chemoprevention and therapy by monoterpenes.Environ Health Perspect.1997 June;105(Suppl 4):977-979。已经制备了含紫苏醇和类视黄醇的杂合分子以增加诱导细胞凋亡的活性。Das等,

Design and synthesis of potential new apoptosis agents: hybrid compounds containing perillyl alcohol and new constrained retinoids. Tetrahedron Letters 2010, 51, 1462-1466.

[0008] 仍然需要制备包括与其它治疗剂偶联的紫苏醇的紫苏醇衍生物,并在 癌症如恶性神经胶质瘤和其它脑疾病如帕金森病和阿尔茨海默病的治疗中 使用该物质。紫苏醇衍生物可以单独施用,或与包括放射疗法、标准化疗 和外科手术的其它治疗方法联合施用。所述施用还可以通过包括鼻内、经 口、用于肺部递送的口腔气管和经皮的各种途径。

发明内容

[0009] 本发明提供包含紫苏醇氨基甲酸酯的药物组合物。所述紫苏醇氨基甲 酸酯可以是与治疗剂如化疗剂偶联的紫苏醇。可用于本发明的化疗剂包括 DNA烷化剂、拓扑异构酶抑制剂、内质网应激诱导剂、铂化合物、抗代谢 物、酶抑制剂和受体拮抗剂。在某些实施方式中,所述治疗剂是二甲基塞 来昔布(DMC)、替莫唑胺(TMZ)或咯利普兰。所述紫苏醇氨基甲酸酯可 以是4-(双-N,N'-4-异丙烯基环己-1-烯基甲氧基羰基[5-(2,5-二甲基苯基)-3-三氟甲基吡啶-1-基]苯磺酰胺、4-(3-环戊氧基-4-甲氧基苯基)-2-氧代-吡咯烷 -1-甲酸-4-异丙烯基环己-1-烯基甲基酯和(3-甲基-4-氧代-3,4-二氢咪唑并 [5,1-d][1,2,3,5]四嗪-8-羰基)-氨基甲酸-4-异丙烯基环己-1-烯基甲基酯。

[0010] 本发明的药物组合物可以在放射疗法之前、期间或之后施用。所述药 物组合物可以在施用化疗剂之前、期间或之后施用。所述药物组合物的施 用途径包括吸入、鼻内、口服、静脉内、皮下或肌内施用。

[0011] 本发明进一步提供治疗哺乳动物的疾病的方法,其包括向所述哺乳动 物递送治疗有效量的紫苏醇氨基甲酸酯的步骤。所述方法可进一步包括用 放射疗法治疗所述哺乳动物的步骤,和/或进一步包括向所述哺乳动物递送 化疗剂的步骤。所治疗的疾病可以是癌症,包括神经系统的肿瘤如恶性胶 质瘤。所述紫苏醇氨基甲酸酯的施用途径包括吸入、鼻内、口服、静脉内、皮下或肌内施用。

[0012] 本发明还提供制备POH氨基甲酸酯的方法,其包括使第一反应物紫苏 基氯甲酸酯与第二反应物反应的步骤,所述第二反应物可以是二甲基塞来 昔布(DMC)、替莫唑胺(TMZ)或咯利普兰。当所述第二反应物是二甲基 塞来昔布时,该反应可以在丙酮和碳酸钾催化剂的存在下进行。当所述第 二反应物是咯利普兰时,该反应可以在四氢呋喃和正丁基锂催化 剂的存在 下进行。还可以通过使紫苏醇与光气反应制备所述紫苏基氯甲酸酯。

附图说明

[0013] 图1显示MTT细胞毒性试验的结果,其表明二甲基塞来昔布(DMC) 杀死U87、A172和U251人神经胶质瘤细胞的效力。

[0014] 图2显示MTT细胞毒性试验的结果,其表明根据本发明的POH-DMC 偶联物杀死U87、A172和U251人神经胶质瘤细胞的效力。

[0015] 图3显示MTT细胞毒性试验的结果,其表明替莫唑胺(TMZ) 杀死U87、A172和U251人神经胶质瘤细胞的效力。

[0016] 图4显示MTT细胞毒性试验的结果,其表明根据本发明的POH-TMZ 偶联物杀死U87、

A172和U251人神经胶质瘤细胞的效力。

[0017] 图5显示MTT细胞毒性试验的结果,其表明POH-咯利普兰偶联物和 咯利普兰杀死 A172人神经胶质瘤细胞的效力。

[0018] 图6显示MTT细胞毒性试验的结果,其表明POH-咯利普兰偶联物和 咯利普兰杀死 U87人神经胶质瘤细胞的效力。

[0019] 图7显示MTT细胞毒性试验的结果,其表明POH-咯利普兰偶联物和 咯利普兰杀死 U251人神经胶质瘤细胞的效力。

[0020] 图8显示MTT细胞毒性试验的结果,其表明POH-咯利普兰偶联物和 咯利普兰杀死 L229人神经胶质瘤细胞的效力。

[0021] 图9显示在小鼠模型中丁酰基POH对肿瘤生长的抑制。图9A显示用 丁酰基POH、纯度大于98.5%的纯化(S)-紫苏醇(“纯化POH”)、购自Sigma chemicals的POH(“Sigma”)或磷酸盐缓冲盐水(“PBS”,阴性对照)处理 的裸小鼠中皮下U-87神经胶质瘤的图像。图9B显示随时间(60天的总时 间段)的平均肿瘤生长。

[0022] 图10显示集落形成试验(CFA)的结果,其表明TMZ和TMZ-POH 对TMZ敏感的U251细胞(U251)和TMZ抗性的U251细胞(U251TR) 的细胞毒性效果。

[0023] 图11显示集落形成试验(CFA)的结果,其表明POH对TMZ敏感的 U251细胞(U251)和 TMZ抗性的U251细胞(U251TR)的细胞毒性效果。

[0024] 图12显示MTT细胞毒性试验的结果,其表明POH-TMZ偶联物杀死 U251细胞、U251TR细胞和正常星形细胞的效力。

[0025] 图13显示MTT细胞毒性试验的结果,其表明POH-TMZ偶联物杀死 正常星形细胞、脑内皮细胞(BEC;融合的和亚融合的)和肿瘤脑内皮细 胞(TuBEC)的效力。

[0026] 图14显示MTT细胞毒性试验的结果,其表明TMZ和POH-TMZ偶联 物杀死USC-04神经胶质瘤癌干细胞的效力。

[0027] 图15显示MTT细胞毒性试验的结果,其表明POH杀死USC-04神经 胶质瘤癌干细胞的效力。

[0028] 图16显示MTT细胞毒性试验的结果,其表明TMZ和POH-TMZ偶联 物杀死USC-02神经胶质瘤癌干细胞的效力。

[0029] 图17显示MTT细胞毒性试验的结果,其表明POH杀死USC-02神经 胶质瘤癌干细胞的效力。

[0030] 图18显示蛋白质印迹,其表明TMZ-POH在TMZ敏感的U251神经胶 质瘤细胞(“U251-TMZs”)和TMZ抗性的U251神经胶质瘤细胞 (“U251-TMZr”)中诱导ER应激(ERS)。

具体实施方式

[0031] 本发明提供单萜或倍半萜的衍生物,如紫苏醇衍生物。本发明还提供 包含单萜或倍半萜的衍生物如紫苏醇衍生物的药物组合物。例如,所述紫 苏醇衍生物可以是紫苏醇氨基甲酸酯。所述紫苏醇衍生物可以是与治疗剂 如化疗剂偶联的紫苏醇。所述单萜(或倍半萜)衍生物可以配制成药物组 合物,其中所述单萜(或倍半萜)衍生物以约0.01% (w/w)至 约100% (w/w), 约0.1% (w/w)至约80% (w/w),约1% (w/w)至约70% (w/w),约10% (w/w) 至约60% (w/w)或约0.1% (w/w)至约20% (w/w)的量存在。本发明组合物可 以单独施用,或

与放射疗法或另一试剂(例如化疗剂)一起施用,以治疗 疾病如癌症。治疗可以是相继的,使得在施用其它试剂之前或之后施用所述单萜(或倍半萜)衍生物。例如,紫苏醇氨基甲酸酯可用来使癌症患者 对放疗或化疗敏感。或者,可以同时施用多种试剂。施用途径可以变化,并可包括吸入、鼻内、口服、经皮、静脉内、皮下或肌内注射。本发明还 提供一种治疗疾病如癌症的方法,其包括向患者递送治疗有效量的单萜(或 倍半萜)衍生物的步骤。

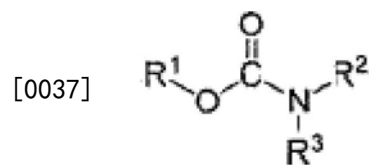
[0032] 本发明的组合物可含有一种或多种类型的单萜(或倍半萜)衍生物。单萜包括由两个异戊二烯单元组成的萜烯。单萜可以是线性的(非环状的) 或包含环。类单萜的衍生物也包括在本发明中。可以通过单萜的生物化学 改性如氧化或重排来制备类单萜。单萜和类单萜的例子包括紫苏醇(S(-)) 和 (R(+))、罗勒烯、月桂烯、香叶醇、柠檬醛、香茅醇、香茅醛、芳樟醇、蒎 烯、萜品醇、萜品烯、柠檬烯、松油烯(terpinenes)、水芹烯、萜品油烯、松 油烯-4-醇(或茶树油)、蒎烯、萜品醇、萜品烯;诸如对伞花烃的类萜,其 源于单环萜烯诸如薄荷醇、百里酚和香芹酚;双环类单萜诸如樟脑、冰片 和桉树脑。

[0033] 单萜可以通过碳骨架结构来区分,且可以被分组为非环状的单萜(例 如月桂烯、(Z)-和(E)-罗勒烯、芳樟醇、香叶醇、橙花醇、香茅醇、月桂烯 醇、香叶醛、柠檬醛a、橙花醛、柠檬醛b、香茅醛等)、单环单萜(例如 柠檬烯、松油烯、水芹烯、萜品油烯、薄荷醇、香芹醇 等)、双环单萜(例 如蒎烯、桃金娘烯醇、桃金娘烯醛、马鞭草烷醇、马鞭烷酮、松香芹醇、萜 烯、桉烯、蒎烯、侧柏烯等)和三环单萜(例如三环萜)。参见Encyclopedia of Chemical Technology,第四版,第23卷,834-835页。

[0034] 本发明的倍半萜包括由三个异戊二烯单元组成的萜烯。倍半萜可以是 线性的(非环状的)或包含环。类倍半萜的衍生物也包括在本发明中。可 以通过倍半萜的生物化学改性如氧化或重排来制备类倍半萜。倍半萜的例 子包括法尼醇、法尼醛、法尼酸(farnesylic acid)和橙花叔醇。

[0035] 单萜(或倍半萜)的衍生物包括,但不限于,单萜(或倍半萜)的氨 基甲酸酯、酯、醚、醇和醛。单萜(或倍半萜)醇可以衍生化成氨基甲酸 酯、酯、醚、醛或酸。

[0036] 氨基甲酸酯是指共有基于通过氧和氮侧接的羰基的官能团的一类化 合物。



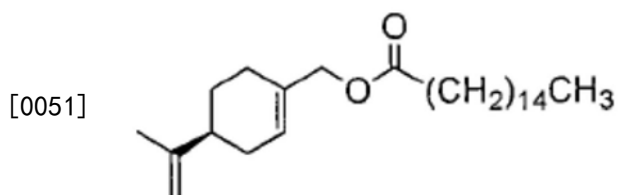
[0038] R^1 、 R^2 和 R^3 可以是可被取代的诸如烷基、芳基等的基团。氮和氧上的 R基团可以形成环。 $\text{R}^1\text{-OH}$ 可以是单萜例如POH。 $\text{R}^2\text{-N-R}^3$ 部分可以是治疗 剂。

[0039] 可通过使异氰酸酯和醇反应或通过使氯甲酸酯与胺反应来合成氨基甲 酸酯。可通过使用光气或光气等同物的反应来合成氨基甲酸酯。例如,可 通过使光气气体、双光气或固体光气前体如三光气与两个胺或与一个胺和 一个醇反应来合成氨基甲酸酯。还可以由脲中间体与醇的反应来制备氨基 甲酸酯(也称为脲烷)。碳酸二甲酯和碳酸二苯酯也用于制备氨基甲酸酯。或者,可通过醇和/或胺前体与酯取代的碳酸二芳基酯如碳酸二甲基 水杨基 酯(bismethylsalicylcarbonate) (BMSC) 的反应来合成氨基甲酸酯。美国专 利公 开第20100113819号。

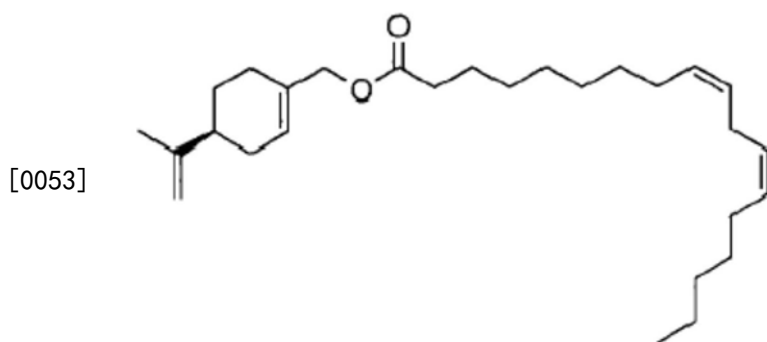
[0040] 氨基甲酸酯可通过以下途径合成:

氧代-3,4-二氢咪唑并[5,1-d][1,2,3,5]四嗪-8-羰基)-氨基甲酸-4-异丙烯基环己-1-烯基甲基酯。生成这些化合物的化学反应的细节 描述在以下实施例中。

[0050] 在某些实施方式中,紫苏醇衍生物可以是紫苏醇脂肪酸酯,如POH的 棕榈酸酯和POH的亚油酸酯,其化学结构显示如下。



[0052] 十六酸4-异丙烯基-环己-1-烯基甲基酯 (POH的棕榈酸酯)



[0054] 十八-9,12-二烯酸4-异丙烯基-环己-1-烯基甲基酯 (POH的亚油酸酯)

[0055] 单萜 (或倍半萜) 衍生物可以是与治疗剂偶联的单萜 (或倍半萜)。本 发明涵盖的单萜 (或倍半萜) 偶联物是具有通过化学连接基团共价连接治 疗剂 (或倍半萜) 的分子。所述单萜 (或倍半萜) 偶联物中单萜 (或 倍半萜) 与治疗剂的摩尔比可以是1:1、1:2、1:3、1:4、2:1、3:1、4:1或任 何其它适合的摩尔比。单萜 (或倍半萜) 和治疗剂可以通过氨基甲 酸酯键、酯键、醚键或任何其它适合的化学官能团共价连接。当单萜 (或倍半萜) 和治疗剂通过氨基甲酸酯键偶联时,治疗剂可以是具有至少一个羧酸官能 团的任何试剂或具有至少一个胺官能团的任何试剂。在具体实例中,紫苏 醇偶联物是通过化学连接基团共价连接 化疗剂的紫苏醇。

[0056] 根据本发明,可与单萜 (或倍半萜) 偶联的治疗剂包括,但不限于, 化疗剂、用于治疗CNS紊乱 (包括但不限于,原发性退行性神经系统紊乱 如阿尔茨海默病、帕金森病、多发性硬化、注意缺陷多动障碍或ADHD、 心理疾病、精神病和抑郁症) 的治疗剂、免疫治疗剂、血管生成抑制剂和 抗高血压剂。可与单萜或倍半萜偶联的抗癌剂可以具有以下一项或多 项 对癌细胞或受试者的效应:细胞死亡;减少的细胞增殖;减少的细胞数量; 细胞生长的抑制;细胞凋亡;坏死;有丝分裂崩溃;细胞周期停滞;变小 的细胞大小;减少的细胞分裂; 降低的细胞存活率;降低的细胞代谢;细 胞损害或细胞毒性的标志物;细胞损害或细胞毒性的间接指示如肿瘤收缩; 提高的受试者存活率;或与不希望有的、不需要的或异常的细胞增殖有关 的标志物的消失。美国专利公开第20080275057号。

[0057] 本发明还包括单萜 (或倍半萜) 和至少一种治疗剂的混合物和/或合剂 (coformulation)。

[0058] 化疗剂包括,但不限于,DNA烷化剂、拓扑异构酶抑制剂、内质网应 激诱导剂、铂化 合物、抗代谢物、长春花生物碱类 (vincalkaloids)、紫杉烷 类、埃博霉素、酶抑制剂、受体

拮抗剂、酪氨酸激酶抑制剂、硼放射致敏剂(即万珂)和化疗联合疗法。

[0059] DNA烷化剂的非限制性实例是氮芥如环磷酰胺(异环磷酰胺、曲磷胺)、苯丁酸氮芥(马法兰、松龙苯芥)、苯达莫司汀、尿嘧啶氮芥和雌氮芥;亚硝基脲类如卡莫司汀(BCNU)、洛莫司汀(司莫司汀)、福莫司汀、尼莫司汀、雷莫司汀和链脲霉素;烷基磺酸盐类如白消安(甘露舒凡、苏消安);氮丙啶类如卡波醌、三乙撑亚胺苯醌、三亚乙基蜜胺;胍类(甲基胍);三氮烯类如氮烯咪胺和替莫唑胺(TMZ);六甲蜜胺和二溴甘露醇。

[0060] 拓扑异构酶I抑制剂的非限制性实例包括喜树碱衍生物,所述喜树碱衍生物包括如Pommier Y. (2006) Nat.Rev.Cancer 6 (10):789-802和美国专利公开第200510250854号中描述的SN-38、APC、NPC、喜树碱、拓扑替康、依喜替康甲磺酸盐、9-硝基喜树碱、9-氨基喜树碱、勒托替康、鲁比替康、silatecan、吉马替康(gimatecan)、二氟替康(diflomotecan)、依喜替康(extatecan)、BN-80927、DX-8951f和MAG-CPT;原小檗碱生物碱及其衍生物包括如Li等. (2000) Biochemistry 39 (24):7107-7116和Gatto等. (1996) Cancer Res.15 (12):2795-2800中描述的小檗红碱和甲氧槲因;菲咯啉衍生物包括如Makhey等. (2003) Bioorg.Med.Chem.11 (8):1809-1820中描述的苯并[i]菲啉、两面针碱和花椒宁碱(fagaronine);如Xu (1998) Biochemistry 37 (10):3558-3566中描述的Terbenzimidazole及其衍生物;和蒽环类化合物衍生物包括如Foglesong等. (1992) Cancer Chemother.Pharmacol.30 (2):123-125、Crow等. (1994) J.Med.Chem.37 (19):3191-3194和Crespi等. (1986) Biochem.Biophys.Res.Comm.136 (2):521-8中描述的阿霉素、柔红霉素和米托蒽醌。拓扑异构酶II抑制剂包括,但不限于依托泊苷和替尼泊苷。拓扑异构酶I和II双重抑制剂包括,但不限于,如Denny和Baguley (2003) Curr.Top.Med.Chem.3 (3):339-353中描述的圣特平(Saintopin)和其它萘并萘二酮类(Naphthecenediones)、DACA和其它吡啶-4-羧酰胺(carboxamide)类、茚托利辛和其它苯并吡啶并咪唑类、TAS-I03和其它7H-茚并[2,1-c]喹啉-7-酮类、吡啶咪唑啉、XR 11576和其它苯并吩噻类、XR 5944和其它二聚化合物、7-氧代-7H-二苯并[f,i,j]异喹啉类和7-氧代-7H-苯并[e]嘧啶类(Pyrimidines)和蒽-氨基酸偶联物。一些试剂抑制拓扑异构酶II并具有DNA嵌入活性例如,但不限于,蒽环类化合物(阿柔比星、柔红霉素、阿霉素、表柔比星、伊达比星、氨柔比星、吡柔比星、戊柔比星、佐柔比星)和蒽二酮类(米托蒽醌和匹杉琼)。

[0061] 内质网应激诱导剂的实例包括,但不限于二甲基-塞来昔布(DMC)、奈非那韦、塞来昔布和硼放射致敏剂(即万珂(硼替佐米))。

[0062] 铂基化合物是DNA烷化剂的亚类。此类试剂的非限制性实例包括顺铂、奈达铂、奥沙利铂、四硝酸三铂、赛特铂、阿罗铂(Aroplatin)、洛铂和JM-216。(参见McKeage等. (1997) J.Clin.Oncol.201:1232-1237,并且总的来说,参见CHEMOTHERAPY FOR GYNECOLOGICAL NEOPLASM,CURRENT THERAPY AND NOVEL APPROACHES,in Series Basic and Clinical Oncology,Angioli等编辑,2004)。

[0063] “FOLFOX”是用于治疗结肠直肠癌的一种联合治疗类型的缩写。它包括5-FU、奥沙利铂和甲酰四氢叶酸。与此治疗有关的信息可以在国家癌症研究所的网站(cancer.gov)上得到,上次访问于2008年1月16日。

[0064] “FOLFOX/BV”是用于治疗结肠直肠癌的一种联合治疗类型的缩写。此治疗包括5-FU、奥沙利铂、甲酰四氢叶酸和贝伐单抗。此外,“XELOX/BV”是用于治疗结肠直肠癌的另一

联合治疗,其包括被称为卡培他滨(希罗达)的5-FU的前药与奥沙利铂和贝伐单抗联合。与这些治疗有关的信息可以从国家癌症研究所的网站(cancer.gov)上或国家综合癌症网络的网站(nccn.org)上得到,上次访问于2008年5月27日。

[0065] 抗代谢物试剂的非限制性实例包括基于叶酸的试剂,即二氢叶酸还原酶抑制剂,如氨蝶呤、甲氨蝶呤和培美曲塞;胸苷酸合酶抑制剂,如雷替曲塞、培美曲塞;基于嘌呤的试剂,即腺苷脱氨酶抑制剂如喷司他丁、硫嘌呤如硫鸟嘌呤和巯基嘌呤,卤化/核苷酸还原酶抑制剂,如克拉屈滨、氯法拉滨、氟达拉滨,或鸟嘌呤/鸟苷:硫嘌呤如硫鸟嘌呤;或基于嘧啶的试剂,即胞嘧啶/胞苷:低甲基化剂如阿扎胞苷和丁西他滨,DNA聚合酶抑制剂如阿糖胞苷,核糖核苷酸还原酶抑制剂诸如吉西他滨,或胸腺嘧啶/胸苷:胸苷酸合酶抑制剂如氟尿嘧啶(5-FU)。5-FU的等同物包括其前药、类似物和衍生物,如例如在Papamichael (1999) The Oncologist 4:478-487中所描述的5'-脱氧-5-氟尿苷(去氧氟尿苷(doxifluoridine))、1-四氢呋喃基-5-氟尿嘧啶(呋氟尿嘧啶)、卡培他滨(希罗达)、S-I (MBMS-247616,由替加氟和两种调节剂,5-氯-2,4-二羟基吡啶和氧喹酸钾组成)、雷替曲塞(拓优得)、诺拉曲特(诺拉曲塞(Thymitaq),AG337)、LY231514和ZD9331。

[0066] 长春花生物碱的实例包括但不限于长春花碱、长春新碱、长春氟宁、长春地辛和长春瑞滨。

[0067] 紫杉烷类的实例包括但不限于多西他赛、莱龙泰素(Larotaxel)、奥他赛(Ortataxel)、紫杉醇和替司他赛(Tesetaxel)。埃博霉素的实例是伊沙匹隆(iabepilone)。

[0068] 酶抑制剂的实例包括但不限于,法尼基转移酶抑制剂(替吡法尼(Tipifarnib));CDK抑制剂(阿伏昔地(Alvocidib)、塞利西利(Seliciclib));蛋白酶体抑制剂(硼替佐米);磷酸二酯酶抑制剂(阿那格雷;咯利普兰);IMP脱氢酶抑制剂(噻唑呋林);和脂肪氧合酶抑制剂(马索罗酚)。受体拮抗剂的实例包括但不限于,ERA(阿曲生坦);类视黄醇X受体(蓓萨罗丁);和性类固醇(睾内酯)。

[0069] 酪氨酸激酶抑制剂的实例包括但不限于,ErbB:HER1/EGFR的抑制剂(埃罗替尼、吉非替尼、拉帕替尼、凡德他尼、舒尼替尼、来那替尼(Neratinib));HER2/neu的抑制剂(拉帕替尼、来那替尼);第III类RTK:C-kit的抑制剂(阿西替尼、舒尼替尼、索拉非尼),FLT3的抑制剂(来他替尼(Lestaurtinib)),PDGFR的抑制剂(阿西替尼、舒尼替尼、索拉非尼);和VEGFR的抑制剂(凡德他尼、司马沙尼、西地尼布、阿西替尼、索拉非尼);bcr-abl的抑制剂(伊马替尼、尼罗替尼、达沙替尼);Src抑制剂(博舒替尼)和Janus激酶2抑制剂(来他替尼)。

[0070] “拉帕替尼”(Tykerb[®])是EGFR和erbB-2双重抑制剂。已经在许多临床试验中作为抗癌单一疗法以及作为与曲妥珠单抗、卡培他滨、来曲唑、紫杉醇和FOLFIRI(伊立替康、5-氟尿嘧啶和甲酰四氢叶酸)的联合研究了拉帕替尼。目前正对转移性乳腺癌、头颈癌、肺癌、胃癌、肾癌和膀胱癌的口服治疗进行III期测试。

[0071] 拉帕替尼的化学等同物是小分子或化合物,其为酪氨酸激酶抑制剂(TKI)或者HER-1抑制剂或HER-2抑制剂。已经发现几种TKI具有有效的抗癌活性并已经得到批准或在临床试验中。这样的实例包括但不限于,凡德他尼(Zactima)(ZD6474)、易瑞沙(吉非替尼)、伊马替尼甲磺酸盐(STI571;格列卫)、埃罗替尼(OSI-1774;特罗凯)、卡奈替尼(CI

1033)、司马沙尼 (semaxinib) (SU5416)、瓦他拉尼 (PTK787/ZK222584)、索拉非尼 (BAY 43-9006)、索坦 (SUI 1248) 和来氟米特 (SU101)。

[0072] PTK/ZK是靶向所有VEGF受体 (VEGFR)、血小板源生长因子 (PDGF) 受体、c-KIT和c-Fms的具有广泛特异性的酪氨酸激酶抑制剂。Drevs (2003) *Idrugs* 6 (8):787-794。PTK/ZK是通过抑制结合VEGF的所有已知受体的活性来阻断血管生成和淋巴管生成的靶向药物,所述受体包括VEGFR-1 (Flt-1)、VEGFR-2 (KDR/Flk-1) 和VEGFR-3 (Flt-4)。PTK/ZK的化学名称是1-[4-氯苯胺]-4-[4-吡啶基甲基]酞嗪琥珀酸酯或1-酞嗪胺,N-(4-氯苯基)-4-(4-吡啶基甲基)-丁二酸酯 (butanedioate) (1:1)。PTK/TK的同义词和类似物被称为瓦他拉尼、CGP79787D、PTK787/ZK 222584、CGP-79787、DE-00268、PTK-787、PTK787A、VEGFR-TK抑制剂、ZK 222584和ZK。

[0073] 可与单蒾或倍半蒾偶联的化疗剂还可以包括安吡啶、曲贝替定、类视黄醇 (阿利维A酸、维甲酸)、三氧化二砷、天冬酰胺消耗剂 (天冬酰胺酶 /培门冬酶)、塞来昔布、地美可辛、伊利司莫、依沙芦星、乙环氧啶、氯尼达明、硫蒽酮、丙脒脞、米托坦、奥利默森、替西罗莫司和伏立诺他。

[0074] 所述单蒾或倍半蒾衍生物可与血管生成抑制剂偶联。血管生成抑制剂的实例包括,但不限于,血管抑素、血管酶 (angiozyme)、抗凝血酶III、AG3340、VEGF抑制剂、巴马司他、贝伐单抗 (阿瓦斯丁)、BMS-275291、CAI、2C3、HuMV833血管能抑素、卡托普利、羧胺三唑、软骨源抑制剂 (CDI)、CC-5013、6-O-(氯乙酰基-羰基)-烟霉醇、COL-3、考布他汀、考布他汀A4磷酸盐、达肝素、EMD 121974 (西仑吉肽)、内皮抑素、埃罗替尼、吉非替尼 (易瑞沙)、染料木素、氢溴酸卤夫酮、Id1、Id3、IM862、伊马替尼甲磺酸盐、IMC-IC11 诱导蛋白10、干扰素 α 、白细胞介素12、熏草菌素A、LY317615或AE-941、马立马司他、mspin、乙酸甲羟孕酮 (medroxyprogesterone acetate)、Meth-1、Meth-2、2-甲氧雌甾二醇 (2-ME)、新伐司他、骨桥蛋白裂解产物 (osteopontin cleaved product)、PEX、色素上皮生长因子 (pigment epithelium growth factor) (PEGF)、血小板因子4、催乳素片段、增殖蛋白-相关蛋白 (PRP)、PTK787/ZK 222584、ZD6474、重组人血小板因子4 (rPF4)、网状内皮系统刺激素、角鲨胺、SU5416、SU6668、SU11248苏拉明、紫杉醇、替康兰 (Tecogalan)、萨立多胺、凝血栓蛋白、TNP-470、肌钙蛋白-1、血管抑制因子、VEG1、VEGF-Trap和ZD6474。

[0075] 血管生成抑制剂的非限制性实例还包括,酪氨酸激酶抑制剂,如酪氨酸激酶受体 Flt-1 (VEGFR1) 和Flk-1/KDR (VEGFR2) 的抑制剂、表皮源生长因子的抑制剂、成纤维细胞源或血小板源生长因子的抑制剂、MMP (基质金属蛋白酶) 抑制剂、整联蛋白阻断剂、戊聚糖多硫酸酯、血管紧张素II拮抗剂、环加氧酶抑制剂 (包括非甾体抗炎药 (NSAID) 如阿斯匹林和布洛芬,以及选择性环加氧酶-2抑制剂如塞来昔布和罗非昔布),和甾类抗炎药 (如皮质类固醇、盐皮质激素、地塞米松、强的松、强的松龙、甲泼尼龙 (methylpred)、倍他米松)。

[0076] 调节或抑制血管生成并且也可以与单蒾或倍半蒾偶联的其它治疗剂包括调节或抑制凝血和纤维蛋白溶解系统的试剂,其包括但不限于,肝素、低分子量肝素和羧肽酶U抑制剂 (也称为活性凝血酶可活化纤维蛋白溶解抑制剂 [TAFIa] 的抑制剂)。美国专利公开第20090328239号。美国专利第7,638,549号。

[0077] 抗高血压剂的非限制性实例包括血管紧张素转化酶抑制剂 (例如卡托普利、依那普利、地拉普利等)、血管紧张素II拮抗剂 (例如坎地沙坦酯、坎地沙坦、氯沙坦 (或科素

亚)、氯沙坦钾、依普沙坦、缬沙坦(或代文)、泰米沙坦(termisartan)、厄贝沙坦、他索沙坦、奥美沙坦、奥美沙坦酯等)、钙拮抗剂(例如马尼地平、硝苯吡啶、氨氯地平(或Amlodin)、依福地平、硝吡胺甲酯等)、利尿剂、肾素抑制剂(例如阿利吉仑等)、醛固酮拮抗剂(例如安体舒通、依普利酮等)、 β -阻断剂(例如美托洛尔(或Toporol)、阿替洛尔、普萘洛尔、卡维地洛、吲哚洛尔等)、血管舒张剂(例如硝酸盐、可溶性鸟苷酸环化酶刺激剂或活化剂、前列腺环素等)、血管紧张素疫苗、可乐宁等。美国专利公开第20100113780号。

[0078] 可与单萜(或倍半萜)偶联的其它治疗剂包括但不限于,舍曲林(左洛复)、托吡酯(妥泰)、度洛西汀(欣百达)、舒马普坦(舒马曲坦)、普瑞巴林(利痛抑)、拉莫三嗪(利必通)、伐昔洛韦(维德思)、坦索罗辛(坦洛新)、齐多夫定(可比韦)、拉米夫定(益平维(Combivir))、依法韦仑(依非韦伦)、阿巴卡韦(Epziom)、洛匹那韦(Kaletra)、吡格列酮(爱妥糖)、地氯雷他定(地洛他定)、西替利嗪(仙特明)、潘托拉唑(泮托拉唑)、兰索拉唑(Prevacid)、雷贝拉唑(Aciphex)、莫西沙星(拜复乐)、美洛昔康(莫比可)、多佐胺(Truspot)、双氯芬酸(扶他林)、依那普利(Vasotec)、孟鲁司特(顺尔宁)、西地那非(万艾可)、卡维地洛(Coreg)、雷米普利(Delix)。

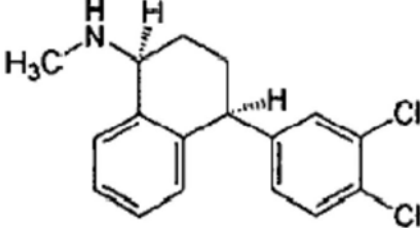
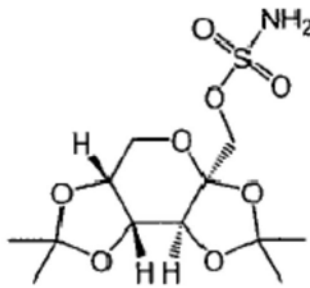
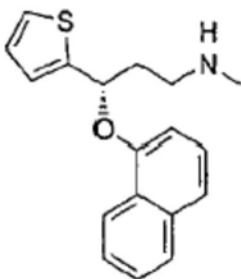
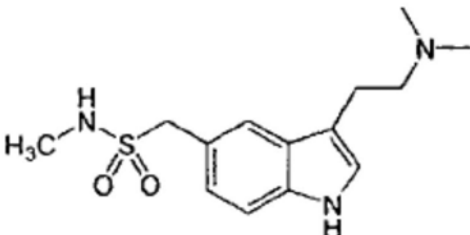
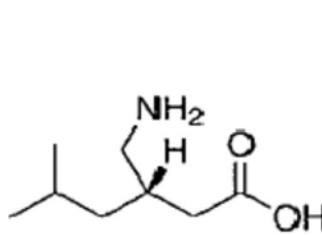
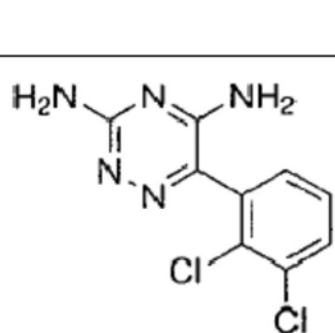
[0079] 表1列出了能够与单萜(或倍半萜)偶联的药剂,包括用于偶联的药剂结构和优选的衍生物。

[0080] 表1

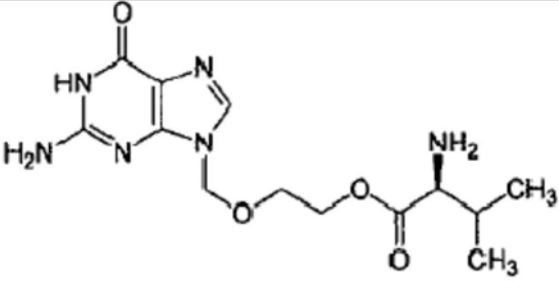
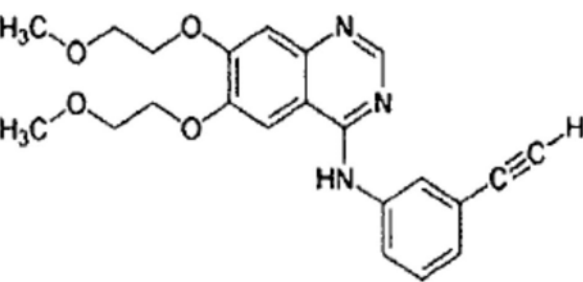
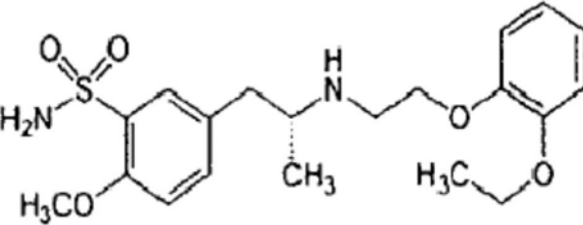
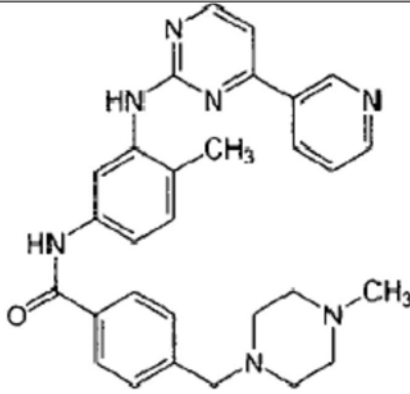
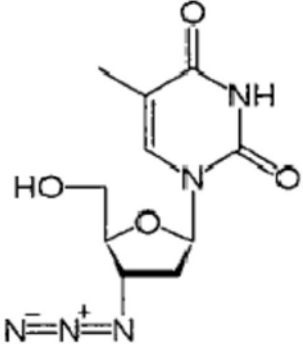
[0081]

商品名	通用名	活性	结构	优选的衍生物
-----	-----	----	----	--------

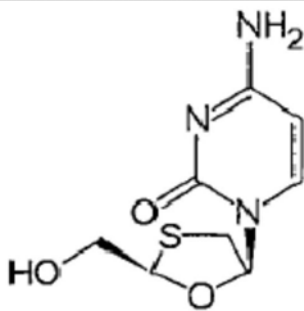
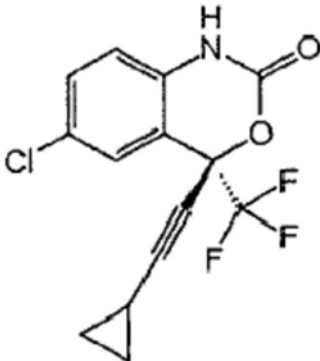
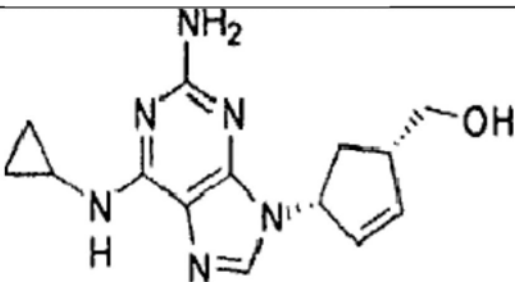
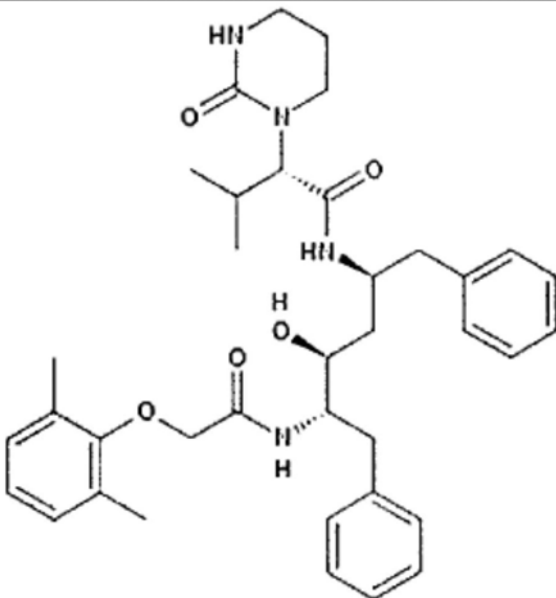
[0082]

左洛复	舍曲林	抑郁		氨基甲酸酯
妥泰	托吡酯	癫痫发作		氨基甲酸酯
欣百达	度洛西汀	抑郁症		氨基甲酸酯
舒马曲坦	舒马普坦	偏头痛		氨基甲酸酯
利痛抑	普瑞巴林	神经性疼痛		氨基甲酸酯或酯
利必通	拉莫三嗪	癫痫发作		氨基甲酸酯

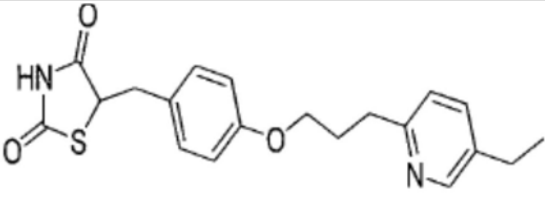
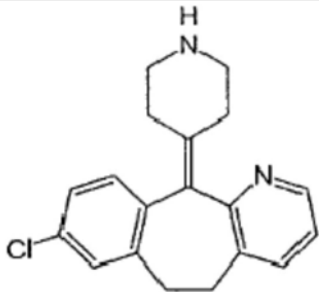
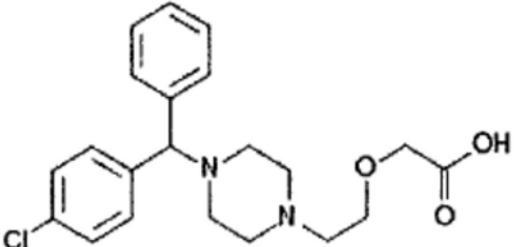
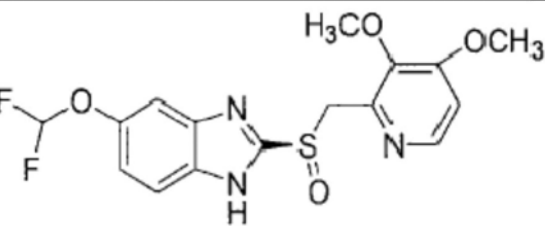
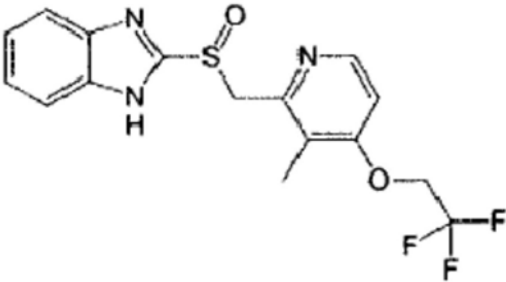
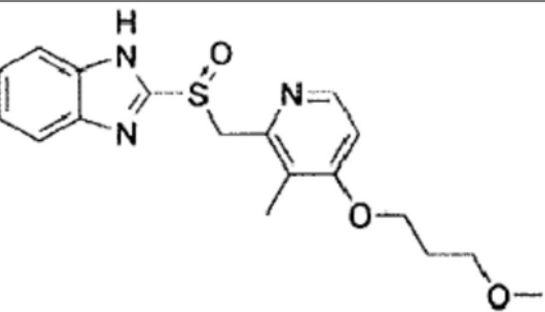
[0083]

维德思	伐昔洛韦	疱疹		氨基甲酸酯
特罗凯	埃罗替尼	非小细胞肺癌		氨基甲酸酯
坦洛新	坦索罗辛	良性前列腺癌		氨基甲酸酯
格列卫	伊马替尼	白血病		氨基甲酸酯
可比韦	齐多夫定	HIV 感染		氨基甲酸酯

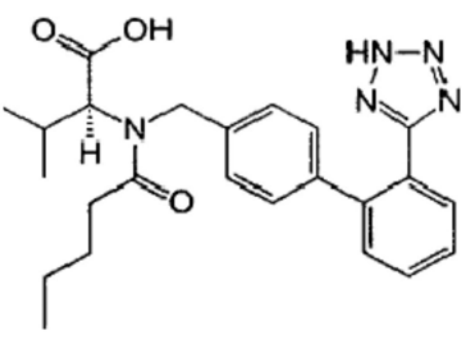
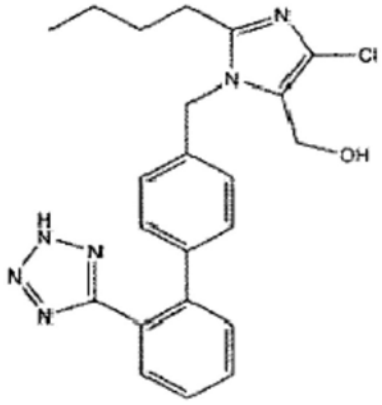
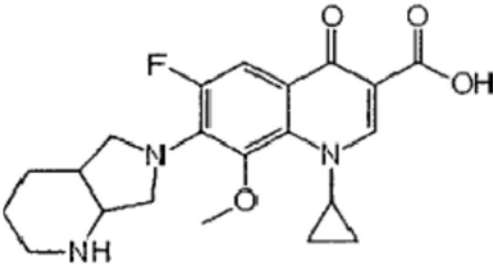
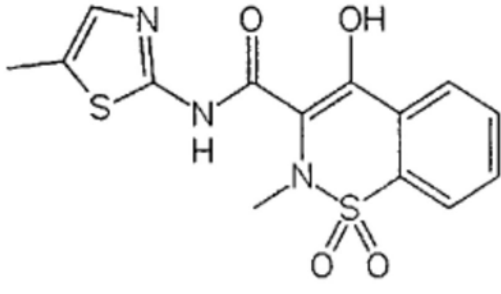
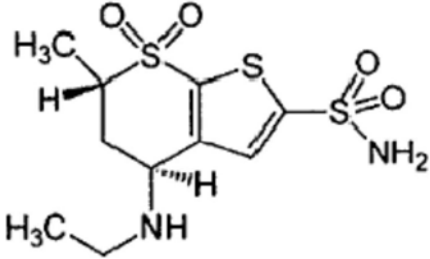
[0084]

益平维	拉米夫定	HIV 感染		碳酸酯
依法韦仑	依非韦仑	HIV 感染		氨基甲酸酯
Epzicom	阿巴卡韦	HIV 感染		氨基甲酸酯
Kaletra	洛匹那韦	HIV 感染		氨基甲酸酯

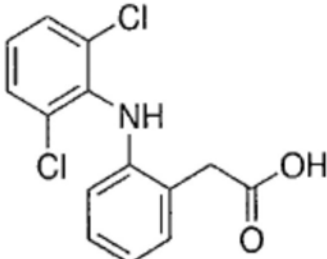
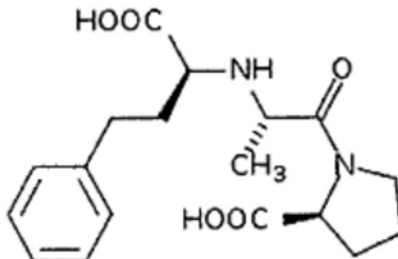
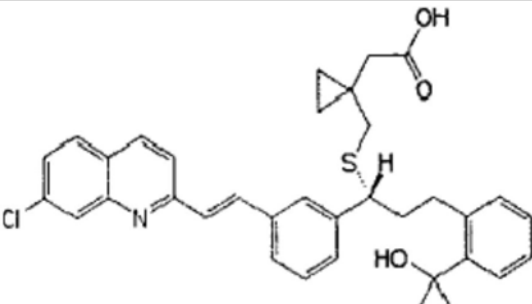
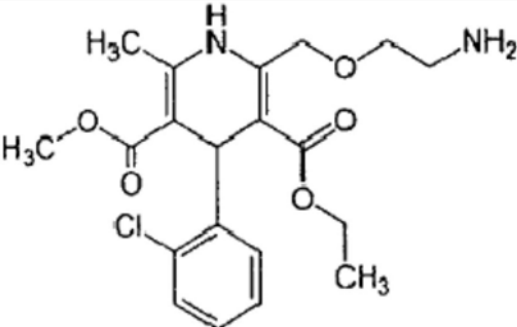
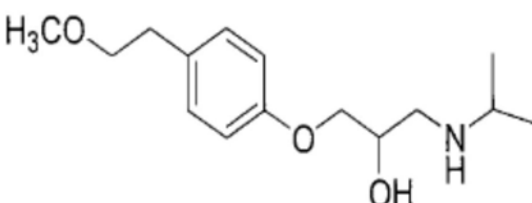
[0085]

爱妥糖	吡格列酮	2-型 糖尿病		氨基甲酸酯
地洛他定	地氯雷他定	过敏性 鼻炎		氨基甲酸酯
仙特明	西替利嗪	过敏性		酯
泮托拉唑	潘托拉唑	胃 肠道		氨基甲酸酯
Prevacid	兰索拉唑	胃 肠道		氨基甲酸酯
Aciphex	雷贝拉唑	胃 肠道		氨基甲酸酯

[0086]

代文	缬沙坦	高血压		氨基甲酸酯
科素亚	氯沙坦	高血压		氨基甲酸酯
拜复乐	莫西沙星	细菌感染		氨基甲酸酯或酯
莫比可	美洛昔康	骨关节炎		氨基甲酸酯
Truspot	多佐胺	眼内压		氨基甲酸酯

[0087]

扶他林	双氯芬酸	骨关节炎& 类风湿性关节炎		氨基甲酸酯或酯
Vasotec	依那普利	高血压		氨基甲酸酯或酯
顺尔宁	孟鲁司特	哮喘		酯
Amlodin	氨氯地平	高血压		氨基甲酸酯
Toporol	美托洛尔	高血压		氨基甲酸酯

[0088]

万艾可	西地那非	勃起功能障碍		氨基甲酸酯
Coreg	卡维地洛	高血压		氨基甲酸酯
Delix	雷米普利	高血压		氨基甲酸酯或酯
息宁 (Parcopa、Atamet)	L-DOPA	神经性紊乱		

[0089] 单萜(或倍半萜)衍生物的纯度可以通过气相色谱法(GC)或高压液相色谱法(HPLC)来分析。用于分析单萜(或倍半萜)衍生物的纯度和确定杂质的存在的其它技术包括,但不限于,核磁共振(NMR)谱、质谱(MS)、GC-MS、红外光谱(IR)和薄层色谱(TLC)。手性纯度可以通过手性GC或旋光度的测量来评估。

[0090] 单萜(或倍半萜)衍生物可以通过例如结晶的方法来纯化,或根据所述衍生物独特的物理化学性质(例如溶解性或极性)将单萜(或倍半萜)衍生物与杂质分离来纯化。因此,单萜(或倍半萜)衍生物可以通过现有技术已知的适合的分离技术如制备型色谱法、(分级)蒸馏法或(分级)结晶法与单萜(或倍半萜)分离。

[0091] 本发明还提供使用单萜(或倍半萜)衍生物治疗疾病如癌症或其它神经系统紊乱的方法。单萜(或倍半萜)衍生物可以单独施用,或与放射疗法、外科手术或化疗剂联合施用。单萜或倍半萜衍生物还可以与抗病毒剂、消炎药或抗生素共同施用。所述试剂可以同

时或顺序施用。单萜(或倍半萜)衍生物可以在其它活性剂施用之前、期间或之后施用。

[0092] 所述单萜或倍半萜衍生物可与放射疗法联合使用。在一个实施方式中, 本发明提供采用放射处理肿瘤细胞如恶性神经胶质瘤细胞的方法, 其中用有效量的单萜衍生物如紫苏醇氨基甲酸酯处理所述细胞, 然后进行放射处理。单萜衍生物处理可以在放射之前、期间和/或之后。例如, 所述单萜或倍半萜衍生物可以连续施用, 从放疗开始之前一星期开始, 并且在放疗完成之后持续两个星期。美国专利第5,587,402和5,602,184号。

[0093] 在一个实施方式中, 本发明提供采用化疗法处理肿瘤细胞如恶性神经胶质瘤细胞的方法, 其中用有效量的单萜衍生物如紫苏醇氨基甲酸酯处理所述细胞, 然后进行化疗。单萜衍生物处理可以在化疗之前、期间和/或之后。

[0094] 单萜(或倍半萜)衍生物可用于治疗神经系统癌症, 如恶性神经胶质瘤(例如星形细胞瘤、间变性星形细胞瘤、多形性成胶质细胞瘤)、视网膜母细胞瘤、毛细胞性星形细胞瘤(I期)、脑膜瘤、脑转移瘤、成神经细胞瘤、垂体腺瘤、颅底脑膜瘤和颅底癌症。本文中使用的术语“神经系统肿瘤”是指受试者具有神经系统细胞恶性增殖的病症。

[0095] 可通过所述单萜(或倍半萜)衍生物治疗的癌症包括, 但不限于, 肺癌、耳、鼻和喉的癌、白血病、结肠癌、黑素瘤、胰腺癌、乳腺癌、前列腺癌、乳腺癌、造血系统癌症、卵巢癌、基底细胞癌、胆管癌; 膀胱癌; 骨癌; 乳腺癌; 宫颈癌; 绒毛膜癌; 结肠和直肠癌; 结缔组织癌; 消化系统的癌症; 子宫内膜癌; 食管癌; 眼癌; 头颈癌; 胃癌; 上皮内瘤; 肾癌; 喉癌; 包括急性骨髓性白血病、急性淋巴细胞性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴细胞性白血病的白血病; 肝癌; 包括霍奇金和非霍奇金淋巴瘤的淋巴瘤; 骨髓瘤; 纤维瘤、成神经细胞瘤; 口腔(例如唇、舌、口和咽)癌; 卵巢癌; 胰腺癌; 前列腺癌; 视网膜母细胞瘤; 横纹肌肉瘤; 直肠癌; 肾癌; 呼吸系统癌症; 肉瘤; 皮肤癌; 胃癌; 睾丸癌; 甲状腺癌; 子宫癌; 泌尿系统癌症, 以及其它癌瘤和肉瘤。美国专利第7,601,355号。

[0096] 本发明还提供治疗CNS紊乱的方法, 所述CNS紊乱包括但不限于, 诸如阿尔茨海默病的原发性退行性神经系统紊乱、帕金森病、心理疾病、精神病和抑郁症。治疗可以包括单独使用单萜或倍半萜衍生物, 或与目前用于治疗帕金森病、阿尔茨海默病或心理疾病的药物联合使用。

[0097] 本发明还提供提高免疫调节治疗反应的方法, 其包括在免疫调节治疗之前或期间将细胞暴露于有效量的单萜或倍半萜衍生物如紫苏醇氨基甲酸酯的步骤。优选的免疫调节剂是细胞因子, 如白介素、淋巴因子、单核因子、干扰素和趋化因子。

[0098] 本发明组合物可以通过现有技术已知的任何方法施用, 包括但不限于, 鼻内、口服、经皮、经眼、腹膜内、吸入、静脉内、ICV、脑池内注射或输注、皮下、植入、阴道内、舌下、尿道(例如尿道栓剂)、皮下、肌肉内、静脉内、直肠、舌下、粘膜、眼部、脊髓、鞘内、关节内、动脉内、蛛网膜下、支气管和淋巴管施用。局部制剂可以是凝胶、膏剂、乳膏剂、气雾剂等的形式; 鼻内制剂可以以喷雾或液滴形式递送; 经皮制剂可以通过透皮贴剂或离子渗透施用; 吸入制剂可以利用喷雾器或类似装置施用。组合物还可以采用片剂、丸剂、胶囊、半固体、粉末、缓释制剂、溶液、悬浮液、酏剂、气雾剂, 或任何其它合适的组合物的形式。

[0099] 为了制备这种药物组合物, 根据常规药物配制技术, 可以将一种或多种单萜(或倍半萜)衍生物与药学上可接受的载体、助剂和/或赋形剂混合。可用于本发明的组合物中的药学上可接受的载体包括任何标准药用载体, 如磷酸盐缓冲盐水溶液、水和乳液如油/

水或水/油乳液,以及各种类型的润湿剂。所述组合物可以另外含有固体药物赋形剂如淀粉、纤维素、滑石、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、大米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸镁、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、氯化钠、脱脂奶粉等。液体和半固态赋形剂可以选自甘油、丙二醇、水、乙醇和各种油类,所述油类包括石油、动物、植物或合成来源的那些油类,例如,花生油、豆油、矿物油、芝麻油等。液体载体,特别是注射液用液体载体,包括水、盐水、葡萄糖水和二醇类。载体、稳定剂和助剂的实例参见E.W.Martin编辑的Remington's Pharmaceutical Sciences, (Mack Publishing Company, 18th ed., 1990)。所述组合物还可以包括稳定剂和防腐剂。

[0100] 如在本文中使用的术语“治疗有效量”是足以治疗特定紊乱或疾病的量,或者足以获得治疗紊乱或疾病的药理学反应的量。测定最有效施用方式和剂量的方法可以随着用于治疗的本领域技术人员能够容易地确定施用试剂的合适剂量制剂和方法。例如,所述组合物以约0.01mg/kg至约200mg/kg、约0.1mg/kg至约100mg/kg、或约0.5mg/kg至约50mg/kg施用。当在本文中描述的化合物与另一试剂或疗法共同施用时,有效量可以小于所述试剂单独使用时的有效量。

[0101] 经皮制剂可以通过将所述活性剂引入触变性或凝胶状载体如纤维素介质(例如甲基纤维素或羟乙基纤维素)中,然后将所形成的制剂装进适合于与佩戴者皮肤的皮肤接触中固定的经皮装置中来制备。如果所述组合物是凝胶形式,可将所述组合物涂在患者的表层例如肩部或上臂和/或上半身的皮肤,优选完整、干净和干燥的皮肤上,并在其上保持一段足以将所述单萜(或倍半萜)衍生物递送至患者的血清的时间。凝胶形式的本发明组合物可以包含在管、药囊或计量泵中。这种管或药囊可含有一个剂量单位或超过一个剂量单位的所述组合物。计量泵能够分配一个剂量剂量的所述组合物。

[0102] 本发明还提供如上所述的用于鼻内施用的组合物。如此,所述组合物可以进一步包含渗透促进剂。Southall等.Developments in Nasal Drug Delivery, 2000。所述单萜(或倍半萜)衍生物可以以液体形式如溶液、乳液、悬浮液、滴剂,或固体形式如粉末、凝胶或膏剂鼻内施用。递送鼻内药物的装置是现有技术中公知的。可以利用下述装置进行鼻腔药物递送,所述装置包括,但不限于,鼻内吸入器、鼻内喷雾装置、雾化器、鼻腔喷雾瓶、单位剂量容器、泵、点滴器、挤压瓶、喷雾器、定量吸入器(MDI)、压力定量吸入器、吹药器和双向装置。可以对所述鼻腔递送装置定量以向鼻腔施用精确的有效剂量的量。所述鼻腔递送装置可用于单一单位递送或多单位递送。在具体的实例中,来自Kurve Technology (Bethell, Washington) 的ViaNase Electronic Atomizer可用于本发明中(<http://www.kurvetech.com>)。本发明的化合物还可以通过管、导管、注射器、包装尾(packtail)、拭子、鼻塞或通过粘膜下输注递送。美国专利公开第20090326275、20090291894、20090281522和20090317377号。

[0103] 所述单萜(或倍半萜)衍生物可以利用标准方法配制成气雾剂。所述单萜(或倍半萜)衍生物可以与溶剂一起配制或不与溶剂一起配制,以及与载体一起配制或不与载体一起配制。所述制剂可以是溶液,或可以是含有一种或多种表面活性剂的水性乳剂。例如,可以由带有适合推进剂如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、烃类、压缩空气、氮气、

二氧化碳或其它合适气体的加压容器来制备气溶胶喷雾。可以通过提供阀门来 确定剂量单位以递送定量的量。泵喷雾分配器可以分配定量的剂量或具有 特定的粒径或液滴尺寸的剂量。如在本文中使用的术语“气溶胶”是指处 于气体中的细小固体颗粒或液体溶液滴的悬浮液。具体地说,气溶胶包括 单萜(或倍半萜)小滴的气载悬浮液,其可以在任何适合装置如MDI、喷 雾器或弥雾机中制备。气溶胶还包括悬浮在空气或其它载气中的本发明组 合物的干粉组合物。Gonda (1990) Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems 6:273-313。Raeburn等, (1992) Pharmacol. Toxicol. Methods 27:143-159。

[0104] 所述单萜(或倍半萜)衍生物可以以如通过鼻腔吹药器递送的微球形 式的粉末递送到鼻腔。所述单萜(或倍半萜)衍生物可以吸附至固体表面 例如载体上。所述粉末或微球可以以干燥的、空气可分散的 (air-dispensable) 形式施用。所述粉末或微球可以储存在吹药器的容器中。或者,所述粉末 或微球可以装填到胶囊如明胶胶囊中,或其它适合于鼻 腔施用的单剂量单 元中。

[0105] 所述药物组合物可以通过在鼻腔中直接放置所述组合物来递送到鼻腔, 例如以 凝胶、膏剂、鼻腔乳剂、洗剂、乳膏剂、鼻棉塞、点滴器或生物粘 附条的形式。在某些实施方案中,例如为了增强吸收,希望的是延长药物 组合物在鼻腔中的停留时间。因此,药物组合物可以任选与生物粘性聚合 物、树胶(例如黄原胶)、壳聚糖(例如高纯度阳离子型多糖)、 果胶(或 像凝胶一样稠化或当施加到鼻粘膜时乳化的任何碳水化合物)、微球(例如 淀粉、白蛋白、右旋糖酐、环糊精)、明胶、脂质体、卡波姆(carbamer)、聚 乙烯醇、藻酸盐、阿拉伯 胶、壳聚糖和/或纤维素(例如甲基或丙基;羟 基或羧基;羧甲基或羟丙基)一起配制。

[0106] 含有纯化单萜(或倍半萜)的组合物可以通过口腔吸入进入呼吸道(也 就是肺)施 用。

[0107] 用于可吸入试剂的典型递送系统包括雾化吸入器、干粉吸入器(DPI)和 定量吸入 器(MDI)。

[0108] 喷雾器装置产生高速空气流,其使液体形式的治疗剂以雾的形式喷出。治疗剂配 制成液体形式,例如溶液或具有合适大小的颗粒的悬浮液。在一 个实施方案中,所述颗粒 是微粉化的。术语“微粉化”定义为具有约90% 或更多的直径小于约10微米的颗粒。适合的 喷雾装置是商业上提供的,例 如,由PARI GmbH (Starnberg,德国)提供。其它喷雾装置包括 RespiMat (Boehringer Ingelheim) 以及在例如美国专利第7,568,480和 6,123,068号,和 W097/12687中公开的那些。所述单萜(或倍半萜)可以 配制成水溶液或液体悬浮液以用在 喷雾装置中。

[0109] DPI装置通常以自由流动的粉末形式施用治疗剂,所述粉末可以在患者 吸气期间 分散在的气流中。使用外部能量源的DPI装置也可以用于本发明。为了得到自由流动的粉 末,治疗剂可以与适合的赋形剂(例如乳糖)一起 配制。例如,通过将颗粒大小为约1微米至 100微米的干燥乳糖与单萜(或 倍半萜)的微粉化颗粒混合并干混可以制得干粉制剂。或 者,单萜可以不 与赋形剂一起配制。将制剂装入干粉分配器中,或装入与干粉递送装置一 起使用的吸入盒或胶囊中。商业上提供的DPI装置的实例包括Diskhaler (GlaxoSmithKline, Research Triangle Park, N.C.) (参见,例如美国专利第 5,035,237 号);Diskus (GlaxoSmithKline) (参见,例如美国专利第6,378,519 号);Turbuhaler (AstraZeneca, Wilmington, Del.) (参见,例如美国专利 第4,524,769号)和Rotahaler

(GlaxoSmithKline) (参见,例如美国专利第 4,353,365号)。适合的DPI装置的进一步实例描述在美国专利第5,415,162、5,239,993和5,715,810号以及其中的参考文献中。

[0110] MDI装置通常利用压缩的推进剂气体释放出测定量的治疗剂。用于 MDI施用的制剂包括在液化推进剂中的活性成分的溶液或悬浮液。推进剂 的实例包括氢氟烷烃 (HFA) 例如1,1,1,2-四氟乙烷 (HFA 134a) 和1,1,1,2,3,3,3- 七氟-正丙烷 (HFA 227) 和氯氟烃例如 CCl₃F。用于MDI施用的HFA制剂的 其他组分包括共溶剂如乙醇、戊烷、水,和表面活性剂如去水山梨糖醇三 油酸酯、油酸、卵磷脂和甘油。(参见,例如美国专利第5,225,183号,EP 0717987和WO 92/22286)。将制剂装入气溶胶罐中,所述气溶胶罐构成MDI 装置的一部分。美国专利第6,006,745和6,143,227号中提供了为与HFA推 进剂一起使用而特别开发的MDI 装置的实例。制备适合制剂的方法和适合 于吸入给药的装置的实例参见美国专利第6, 268,533、5,983,956、5,874,063 和6,221,398号,以及WO 99/53901、WO 00/61108、WO 99/ 55319和WO 00/30614。

[0111] 为了通过吸入法递送,所述单萜(或倍半萜)衍生物可以包封在脂质 体或微胶囊 中。脂质体是由脂质双层膜和水性内部组成的囊泡。所述脂质 膜可以由磷脂制成,所述磷 脂的实例包括磷脂酰胆碱如卵磷脂和溶血卵磷 脂、酸性磷脂例如磷脂酰丝氨酸和磷脂酰 甘油及鞘磷脂例如磷脂酰乙醇胺 和神经鞘磷脂。或者,可以添加胆固醇。微胶囊是包有涂 层材料的颗粒。例如,所述涂层材料可以由成膜聚合物、疏水性增塑剂、表面活性剂或/和 润滑剂含氮聚合物的混合物组成。美国专利第6,313,176和7,563,768号。

[0112] 所述单萜(或倍半萜)衍生物也可以单独或其它化疗剂联合通过局 部施用用于 治疗局部癌症如乳腺癌或黑素瘤。所述单萜(或倍半萜)衍生 物也可以与麻醉剂或止痛药 联合用于疼痛药物的经皮递送。

[0113] 本发明还提供如上所述的用于眼部施用的组合物。如此,所述组合物 可以进一步 包含渗透促进剂。对于眼部施用而言,本文描述的组合物可以 配制成溶液、乳液、悬浮液 等。各种适用于将化合物施用于眼睛的媒介是 现有技术已知的。具体的非限制性实例描述 在美国专利第6,261,547; 6,197,934;6,056,950;5,800,807;5,776,445;5,698,219;5, 521,222;5,403,841; 5,077,033;4,882,150和4,738,851号中。

[0114] 所述单萜(或倍半萜)衍生物可以单独或与用于上述疾病的其它药物 联合给予短 或较长的时间。本发明的组合物可以施用于哺乳动物,优选人 类。哺乳动物包括,但不限于,鼠科动物、大鼠、兔、猿、牛、绵羊、猪、狗、猫、农畜、运动用动物(sport animals)、宠物、 马和灵长类动物。

[0115] 本发明还提供用于在体外、离体或在体内抑制细胞生长的方法,其中 使细胞如癌 细胞与有效量的本文中描述的单萜(或倍半萜)衍生物接触。

[0116] 病态的细胞或组织如过度增殖的细胞或组织可以通过使所述细胞或组 织接触有 效量的本发明组合物来处理。所述细胞如癌细胞,可以是原发性 癌细胞,或可以是能从组 织库如美国典型培养物保藏中心(ATCC)获得的培 养细胞。所述病态细胞可以是全身性癌 症、神经胶质瘤、脑膜瘤、垂体腺 瘤、或来自全身性癌症、肺癌、前列腺癌、乳房癌、造血系统 癌症或卵巢 癌的陈NS转移的细胞。所述细胞可以来自于脊椎动物,优选哺乳动物,更 优选 人类。美国专利公开第2004/0087651号。Balassiano等.(2002) *Intern.J.Mol.Med.* 10:785- 788。Thorne,等.(2004) *Neuroscience* 127:481-496。Fernandes等.(2005) *Oncology*

Reports 13:943-947.Da Fonseca等.(2008) *Surgical Neurology* 70:259-267.Da Fonseca等.(2008) *Arch.Immunol.Ther.Exp.* 56:267-276.Hashizume等.(2008) *Neuroncology* 10:112-120。

[0117] 本发明组合物的体外效力可以利用现有技术中众所周知的方法测定。例如,可以通过MTT[3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基四氮唑溴化物]细胞毒性试验来研究本发明的单萜(或倍半萜)和/或治疗剂的细胞毒性。MTT 试验基于以下原理:新陈代谢活跃细胞摄取MTT(四氮唑盐),其在细胞中被代谢成可通过光谱读取的蓝色甲瓚(formazon)产物。*J.of Immunological Methods* 65:55-63,1983。可以通过集落形成试验研究本发明的单萜(或倍半萜)衍生物和/或治疗剂的细胞毒性。VEGF分泌和IL-8分泌的抑制的功能性分析可以通过ELISA进行。可以通过标准化的碘化丙啶(PI)染色法和流式细胞术研究本发明的单萜(或倍半萜)衍生物和/或治疗剂引起的细胞周期阻滞。可以通过博伊登室(Boyden chambers)研究侵袭抑制。在此试验中,将一层重构的基底膜——基质胶(Matrigel)涂覆到趋化作用过滤器上,并作为博伊登室中细胞迁移的屏障。只有具有侵袭能力的细胞能够穿过所述基质胶屏障。其它试验包括,但不限于细胞存活力试验、细胞凋亡试验和形态学分析。

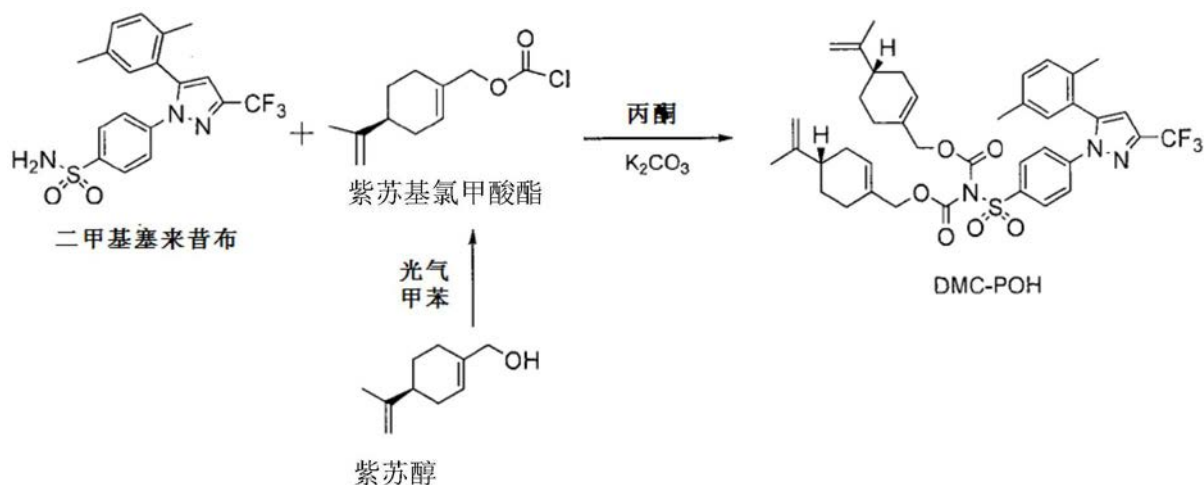
[0118] 以下是本发明的实施例,其不应解释为限制性的。

[0119] 实施例

[0120] 实施例1:二甲基塞来昔布双POH氨基甲酸酯(4-(双-N,N'-4-异丙烯基环己-1-烯基甲氧基羰基[5-(2,5-二甲基苯基)-3-三氟甲基吡唑-1-基]苯磺酰胺)的合成

[0121] 反应流程如下:

[0122]



[0123] 在30分钟内将光气(甲苯中20%, 13ml、26.2mmol)添加至紫苏醇(2.0克, 13.1mmol)和碳酸钾(5.4克, 39.1mmol)在无水甲苯中的混合物中,同时将温度保持在10℃至15℃。在N₂下使反应混合物升温到室温,并搅拌8.0小时。用水(30ml)淬灭反应混合物,并分离有机层。用甲苯(20ml)萃取水层,并用水(50ml×2)、盐水(15%, 30ml)洗涤合并的有机层,然后用硫酸钠(20克)干燥。真空下浓缩过滤的有机层得到油状紫苏基氯甲酸酯。重量:2.5克;产率:89%。¹H-NMR(400MHz, CDCl₃): δ 1.5 (m, 1H), 1.7 (s, 3H), 1.8 (m, 1H), 2.0 (m, 1H), 2.2 (m, 4H), 4.7 (dd, 4H); 5.87 (m, 1H)。

[0124] 在N₂下在5分钟内将紫苏基氯甲酸酯(0.11克, 0.55mmol)缓慢添加至二甲基塞来

昔布(0.2克,0.50mmol)和碳酸钾(0.13克,1.0mmol)在无水丙酮(10mL)中的混合物中。将反应混合物加热至回流,并保持3小时。由于TLC分析表明存在二甲基塞来昔布(>60%),加入1.0当量的紫苏基氯甲酸酯,再回流5小时。冷却反应混合物,在真空下浓缩丙酮得到残留物。

[0125] 将所得的残留物悬浮于水(15ml)中,用乙酸乙酯(3×15ml)萃取。用水(20ml)以及用盐水(15%,20ml)洗涤合并的有机层,并用硫酸钠干燥。真空下浓缩过滤的有机层得到残留物,其用柱色谱法[柱尺寸:直径:1.5cm,高度:10cm,二氧化硅:230-400目]纯化,并用己烷(100ml)洗脱,接着用己烷/乙酸乙酯的混合物(95:5,100ml)洗脱。合并己烷/乙酸乙酯级分,并真空下浓缩以得到胶粘性物质。

[0126] 产物POH氨基甲酸酯的重量为120mg,产率为31%。¹H-NMR(400MHz, CDCl₃):0.9(m,2H),1.4(m,2H),1.7(m,7H*),1.95(m,8H*),2.1(m,4H),2.3(s,3H),4.4(d,2H),4.7(dd,2H),5.6(br d,2H),6.6(s,1H),7.0(br s,1H),7.12(d,1H),7.19(d,1H),7.4(d,2H),7.85(d,2H);MS,m/e:751.8(M⁺3%),574.3(100%),530.5(45%),396(6%).*注意:在NMR积分中扣除了来自假定杂质的进一步2H重叠。

[0127] 实施例2:二甲基塞来昔布双POH氨基甲酸酯(POH-DMC)的体外细胞毒性研究

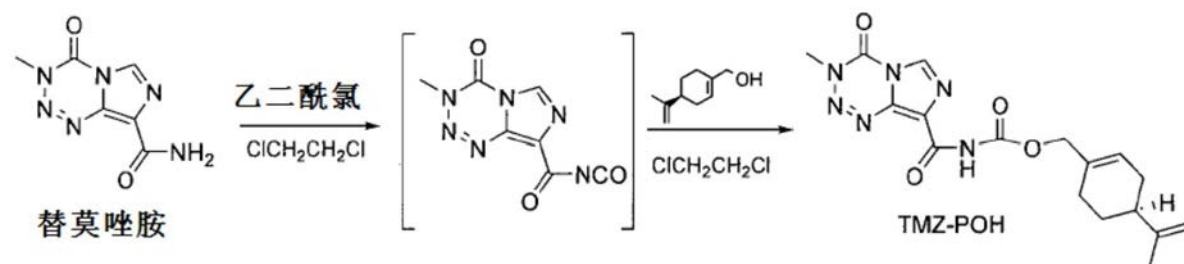
[0128] 在单独用二甲基-塞来昔布(DMC)处理细胞之后,进行第一细胞毒性试验。图1显示在人恶性神经胶质瘤细胞U87、A172和U251上单独使用DMC进行的MTT细胞毒性试验的结果。

[0129] 然后,用二甲基塞来昔布双POH氨基甲酸酯(POH-DMC)(例如通过实施例1所述方法合成)处理U87、A172和U251细胞,并进行MTT细胞毒性试验(图2)。结果表明POH氨基甲酸酯POH-DMC显示出比单独的DMC强得多的细胞毒性。

[0130] 实施例3:替莫唑胺POH氨基甲酸酯(3-甲基4-氧代-3,4-二氢咪唑并[5,1-d][1,2,3,5]四嗪-8-羰基)-氨基甲酸-4-异丙烯基环己-1-烯基甲基酯)的合成

[0131] 反应流程如下:

[0132]



[0133] 在N₂下在2分钟内将乙二酰氯(0.13克,1.0mmol)缓慢添加至替莫唑胺(0Chem Incorporation,0.1克,0.5mmol)在1,2-二氯乙烷(10ml)中的混合物中,同时将温度保持在10℃。使反应混合物升温到室温,然后加热至回流3小时。通过真空下浓缩去除过量的乙二酰氯和1,2-二氯乙烷。将所得到的残留物再溶于1,2-二氯乙烷(15ml)中,并在N₂下将反应混合物冷却至10℃。在5分钟内加入紫苏醇(0.086克,0.56mmol)的1,2-二氯乙烷(3ml)溶液。使反应混合物升温到室温,并搅拌14小时。真空下浓缩1,2-二氯乙烷以得到残留物,其用己烷研磨。过滤所得到的黄色固体,并用己烷洗涤。重量:170mg;产率:89%。¹H-NMR(400MHz,CDCl₃):δ 1.4-2.2(m,10H),4.06(s,3H),4.6-4.8(m,4H),5.88(br s,1H),8.42

(s, 1H), 9.31 (br s, 1H); MS, 未观察到分子离子峰, m/e : 314 (100%), 286.5 (17%), 136 (12%)。

[0134] 或者, 根据以下过程合成替莫唑胺POH氨基甲酸酯。在 N_2 下在2分钟内将乙二酰氯(0.13克, 1.0mmol)缓慢添加至替莫唑胺(0Chem Incorporation, 0.1克, 0.5mmol)在1,2-二氯乙烷(10ml)中的混合物中, 同时将温度保持在10℃。使反应混合物升温到室温, 然后加热至回流3小时。通过真空下浓缩去除过量的乙二酰氯和1,2-二氯乙烷。将所得到的残留物再溶于1,2-二氯乙烷(15ml)中, 并在 N_2 下将反应混合物冷却至10℃。在5分钟内加入紫苏醇(0.086克, 0.56mmol)的1,2-二氯乙烷(3ml)溶液。使反应混合物升温到室温, 并搅拌14小时。真空下浓缩1,2-二氯乙烷以得到残留物, 其用短的二氧化硅填充柱[柱尺寸: 直径: 2cm, 高度: 3cm, 二氧化硅: 230-400目]纯化, 并用己烷/乙酸乙酯(1:1, 100ml)的混合物洗脱。合并己烷/乙酸乙酯级分, 并在真空下浓缩以得到白色固体残留物, 其用庚烷研磨并过滤以得到白色固体。重量: 170mg; 产率: 89%。 1H -NMR (400MHz, $CDCl_3$): 1.4-2.2 (m, 10H), 4.06 (s, 3H), 4.6-4.8 (m, 4H), 5.88 (br s, 1H), 8.42 (s, 1H), 9.31 (br s, 1H); MS, 未观察到分子离子峰, m/e : 314 (100%), 286.5 (17%), 136 (12%)。

[0135] 实施例4: 替莫唑胺POH氨基甲酸酯(POH-TMZ)的体外细胞毒性研究

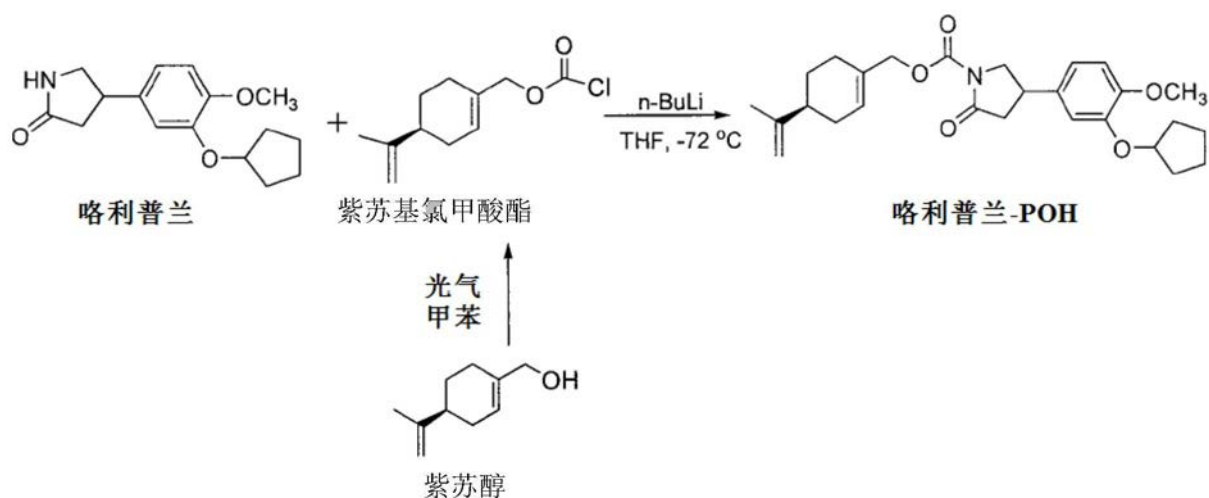
[0136] 在用单独替莫唑胺(TMZ)处理细胞之后, 进行第一细胞毒性试验, 替莫唑胺是恶性神经胶质瘤的治疗中使用的标准烷化剂。图3显示在人恶性神经胶质瘤细胞U87、A172和U251上使用单独TMZ进行的MTT细胞毒性试验的结果。升高浓度的TMZ对所测试的细胞系具有极小的细胞毒性。

[0137] 然后, 用替莫唑胺POH氨基甲酸酯(POH-TMZ) (例如, 通过实施例3所述方法合成) 处理TMZ抗性的神经胶质瘤细胞系U87、A172和U251细胞。MTT试验结果(图4)表明, 与单独的TMZ相比, POH氨基甲酸酯POH-TMZ显示出对各种人神经胶质瘤细胞明显更高的杀死率。

[0138] 实施例5: 咯利普兰POH氨基甲酸酯(4-(3-环戊氧基-4-甲氧基苯基)-2-氧代-吡咯烷-1-羧酸4-异丙烯基环己-1-烯基甲基酯)的合成

[0139] 反应流程如下:

[0140]



[0141] 在30分钟内将光气(甲苯中20%, 13ml、26.2mmol)添加至紫苏醇(2.0克, 13.1mmol)和碳酸钾(5.4克, 39.1mmol)在无水甲苯中的混合物中, 同时将温度保持在10℃

至15℃。在N₂下使反应混合物升温到室温，并搅拌8.0小时。用水(30ml)淬灭反应混合物，并分离有机层。用甲苯(20ml)萃取水层，并用水(50ml×2)、盐水(15%，30ml)洗涤合并的有机层，然后用硫酸钠(20克)干燥。真空下浓缩过滤的有机层以得到油状紫苏基氯甲酸酯。重量:2.5克;产率:89%。¹H-NMR(400MHz,CDCl₃): δ1.5(m,1H),1.7(s,3H),1.8(m,1H),2.0(m,1H),2.2(m,4H),4.7(dd,4H);5.87(m,1H)。

[0142] 在N₂下，在-72℃下在5分钟内将丁基锂(2.5M,0.18ml,0.45mmol)添加至咯利普兰(GL synthesis,Inc.,0.1克,0.36mmol)的无水THF溶液。在-72℃下搅拌反应混合物1.0小时之后，在15分钟内加入紫苏基氯甲酸酯(溶于4ml THF中)，同时将温度保持在-72℃。搅拌反应混合物2.5小时，用饱和氯化铵(5ml)淬灭。使反应混合物升温到室温，并用乙酸乙酯(2×15ml)萃取。用水(15ml)、盐水(15%，15ml)洗涤合并的有机层，然后用硫酸钠干燥。浓缩过滤的有机层以得到油，其用柱色谱法[柱尺寸:直径:1.5cm,高度:10cm,二氧化硅:230-400目]纯化，并用8%的乙酸乙酯/己烷的混合物(100ml)洗脱，接着用12%的乙酸乙酯/己烷(100ml)洗脱。合并12%的乙酸乙酯/己烷级分，真空下浓缩以得到胶粘性固体。重量:142mg;产率:86%。¹H-NMR(400MHz,CDCl₃):δ1.5(m,1H),1.6(m,2H),1.7(s,3H),1.9(m,6H),2.2(m,5H),2.7(m,1H),2.9(m,1H),3.5(m,1H),3.7(m,1H),3.8(s,3H),4.2(m,1H),4.7(m,6H),5.8(br s,1H),6.8(m,3H);MS,m/e:452.1(M⁺ 53%),274.1(100%),206.0(55%)。

[0143] 实施例6:咯利普兰POH氨基甲酸酯(POH-咯利普兰)的体外细胞毒性研究

[0144] 为了比较咯利普兰POH氨基甲酸酯(POH-咯利普兰)(例如,通过实施例5所述方法合成)与咯利普兰的细胞毒性(咯利普兰是诱导神经胶质瘤细胞分化和细胞凋亡的IV型磷酸二酯酶),用POH-咯利普兰或咯利普兰处理A172、U87、U251和LN229人神经胶质瘤细胞48小时。MTT试验结果显示在图5至8中。与单独的咯利普兰相比,POH-咯利普兰对几种不同的人神经胶质瘤细胞类型中的每一种显示出明显更高的杀死率。图5显示浓度升高的咯利普兰和POH-咯利普兰对A-172细胞的MTT试验。单独的咯利普兰显示出大约1000uM(1mM)的IC₅₀。在POH-咯利普兰的情况下,IC₅₀达到低至50uM的浓度。图6显示浓度升高的咯利普兰对U-87细胞的MTT试验。在1000uM时未达到IC₅₀。另一方面,使用POH-咯利普兰在180uM时达到了IC₅₀。图7表明单独的咯利普兰对U251细胞的IC₅₀在170uM时达到;在60%时达到细胞毒性平台期。POH-咯利普兰在50uM时达到IC₅₀,其中在100uM时达到几乎100%的细胞毒性。图8表明单独的咯利普兰对LN229细胞的IC₅₀甚至在100uM时仍未达到。另一方面,对于POH-咯利普兰,在100uM达到IC₅₀,其中在10uM几乎是100%的细胞毒性。

[0145] 实施例7:POH脂肪酸衍生物的体内肿瘤生长抑制

[0146] 在裸小鼠皮下神经胶质瘤模型中研究丁酰基POH对肿瘤生长的抑制。向小鼠注射U-87神经胶质瘤细胞(500,000个细胞/注射),在两周内使其形成可触知的瘤。一旦形成可触知的瘤,在8周时间内通过棉签(Q-tip)(1cc/施用/天)局部施用如图9A和9B所注明的各种化合物来处理所述小鼠。图9A显示用丁酰基POH、纯度大于98.5%的纯化(S)-紫苏醇(“纯化POH”)、购自Sigma chemicals的POH或磷酸盐缓冲盐水(PBS,阴性对照)处理的裸鼠中皮下U-87神经胶质瘤的图像。图9B显示随时间(60天的总时间)的平均肿瘤生长。丁酰基POH显示对肿瘤生长的最大抑制,其次是纯化POH和Sigma POH。

[0147] 实施例8:替莫唑胺(TMZ)和替莫唑胺POH氨基甲酸酯(POH-TMZ)对TMZ敏感的神

胶质瘤细胞和TMZ抗性的神经胶质瘤细胞的体外细胞 毒性研究

[0148] 在用单独的TMZ、单独的POH以及TMZ-POH偶联物处理细胞之后, 进行集落形成试验。如Chen TC等“Green tea epigallocatechin gallate enhances therapeutic efficacy of temozolomide in orthotopic mouse glioblastoma models. Cancer Lett. 2011Mar 28;302 (2) :100-8”所描述的进行所述集落形成试验。图 10显示使用TMZ或TMZ-POH对TMZ敏感的U251细胞 (U251) 和TMZ 抗性的U251细胞 (U251TR) 进行的集落形成试验的结果。TMZ显示出对 TMZ敏感的U251细胞的细胞毒性, 但对TMZ抗性的U251细胞具有极小的细胞毒性。TMZ-POH显示出对TMZ敏感的U251细胞和TMZ抗性的 U251细胞二者的细胞毒性。

[0149] 图11显示使用POH对TMZ敏感的U251细胞 (U251) 和TMZ抗性 的U251细胞 (U251TR) 进行的集落形成试验的结果。POH显示出对TMZ 敏感的U251细胞和TMZ抗性的U251细胞二者的细胞毒性。在集落形成 试验中, 与单独的POH (图11) 相比, POH-TMZ (图10) 显示出明显更高的效力。

[0150] 实施例9: 替莫唑胺POH氨基甲酸酯 (POH-TMZ) 对U251细胞、U251TR 细胞和正常星形细胞的体外细胞毒性研究

[0151] 在用TMZ-POH偶联物处理细胞之后, 进行MTT细胞毒性试验。如 Chen TC等“Green tea epigallocatechin gallate enhances therapeutic efficacy of temozolomide in orthotopic mouse glioblastoma models. Cancer Lett. 2011, Mar 28;302 (2) :100-8”所描述的进行所述MTT细胞毒性试验。图12显示对TMZ 敏感细胞 (U251)、TMZ抗性细胞 (U251TR) 和正常星形细胞进行的MTT 细胞毒性试验的结果。TMZ-POH显示出对TMZ敏感的U251细胞和TMZ 抗性的U251细胞二者的细胞毒性, 但对正常星形细胞不显示细胞毒性。

[0152] 实施例10: 替莫唑胺POH氨基甲酸酯 (POH-TMZ) 对BEC、TuBEC 和正常星形细胞的体外细胞毒性研究

[0153] 在用TMZ-POH偶联物处理细胞之后, 进行MTT细胞毒性试验。如 Chen TC等“Green tea epigallocatechin gallate enhances therapeutic efficacy of temozolomide in orthotopic mouse glioblastoma models. Cancer Lett. 2011, Mar 28;302 (2) :100-8”所描述的进行所述MTT细胞毒性试验。图13显示对正常 星形细胞、脑内皮细胞 (BEC; 融合的和亚融合的) 和肿瘤脑内皮细胞 (TuBEC) 进行的MTT细胞毒性试验的结果。TMZ-POH对正常星形细胞、融合的BEC或TuBEC未诱导显著的细胞毒性。在高浓度的TMZ-POH下, 在亚融合的BEC中显示出轻度到中度的细胞毒性。

[0154] 实施例11: 替莫唑胺 (TMZ) 和替莫唑胺POH氨基甲酸酯 (POH-TMZ) 对USC-04神经胶质瘤癌干细胞的体外细胞毒性研究

[0155] 在用单独的TMZ、单独的POH或TMZ-POH偶联物处理细胞之后, 进 行MTT细胞毒性试验。如Chen TC等“Green tea epigallocatechin gallate enhances therapeutic efficacy of temozolomide in orthotopic mouse glioblastoma models. Cancer Lett. 2011, Mar 28;302 (2) :100-8”所描述的进行 所述MTT细胞毒性试验。图14显示在USC-04神经胶质瘤癌干细胞上进行 的MTT细胞毒性试验的结果。TMZ在浓度升高的情况下 (0-400uM) 未 诱导显著的细胞毒性。TMZ-POH以150uM的IC50显示出细胞毒性的证据。图15显示对用POH处理的USC-04神经胶质瘤癌干细胞进行的MTT细胞 毒性试验的结果。POH在浓度

升高的情况下 (0-2mM) 显示出对USC-04 的细胞毒性。

[0156] 实施例12:替莫唑胺 (TMZ) 和替莫唑胺POH氨基甲酸酯 (POH-TMZ) 对USC-02神经胶质瘤癌干细胞的体外细胞毒性研究

[0157] 在用单独的TMZ、单独的POH或TMZ-POH偶联物处理细胞之后,进行MTT细胞毒性试验。如Chen TC等“Green tea epigallocatechin gallate enhances therapeutic efficacy of temozolomide in orthotopic mouse glioblastoma models.Cancer Lett. 2011, Mar 28;302 (2):100-8”所描述的进行所述MTT细胞毒性试验。图16显示在USC-02神经胶质瘤癌干细胞上进行的MTT细胞毒性试验的结果。TMZ在浓度升高的情况下 (0-400uM) 未诱导显著的细胞毒性。TMZ-POH以60uM的IC50显示出细胞毒性的证据。图17显示在用POH处理的USC-02神经胶质瘤癌干细胞上进行的MTT细胞毒性试验的结果。POH在浓度升高的情况下 (0-2mM) 显示出对USC-02 的细胞毒性。

[0158] 实施例13:替莫唑胺POH氨基甲酸酯 (POH-TMZ) 对TMZ敏感和 TMZ抗性的神经胶质瘤细胞的体外ER应激研究

[0159] 在用TMZ-POH偶联物处理TMZ敏感和TMZ抗性的神经胶质瘤细胞 18小时后进行蛋白质印迹分析。图18显示了表明TMZ-POH在TMZ敏感 和TMZ抗性的U251神经胶质瘤细胞中诱导ER应激 (ERS) 的蛋白质印迹。在低至60uM的TMZ-POH浓度下显示出促凋亡蛋白 (proapoptotic protein) CHOP的激活。

[0160] 本发明的范围不受上文中具体显示和描述的内容所限制。本领域技术人员将认识到所描述的材料、构造、结构和尺寸的示例存在合适的替代物。在本发明说明书中引用并讨论了大量参考文献,包括专利和各种出版物。提供这些参考文献的引用和讨论仅仅为了阐明本发明的描述,并非承认任何参考文献是本文所描述的发明的现有技术。所有在本说明书中引用和讨论的参考文献均以其全部内容通过引用结合到本文中。本领域技术人员将明白在本文中描述的内容的变型、修改及其他实施方式不背离本发明的精神和范围。尽管已经显示和描述了本发明的某些实施方案,但是可在不背离本发明的精神和范围的情况下进行变化和修改,这对本领域技术人员来说是显而易见的。提供上述说明书和附图中所列的事物仅仅为了举例说明 而不是作为限制。

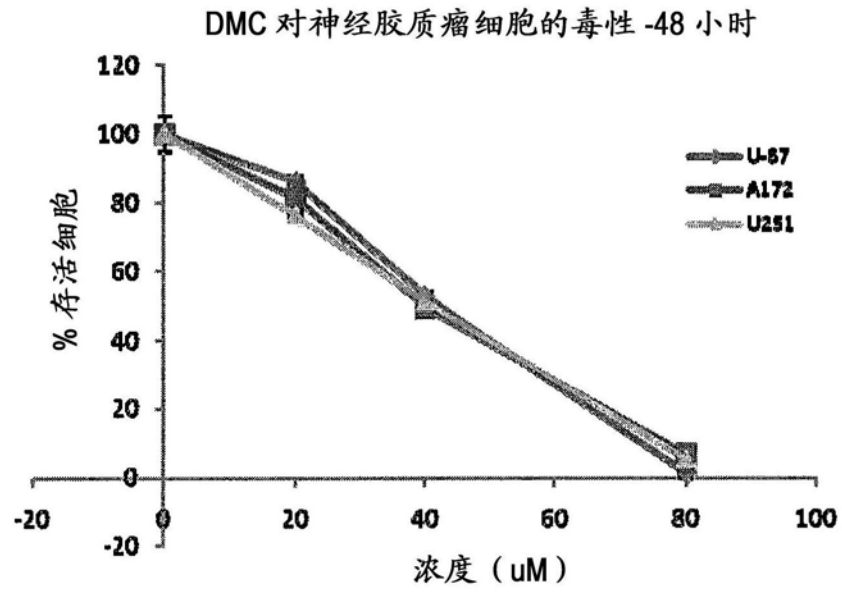


图1

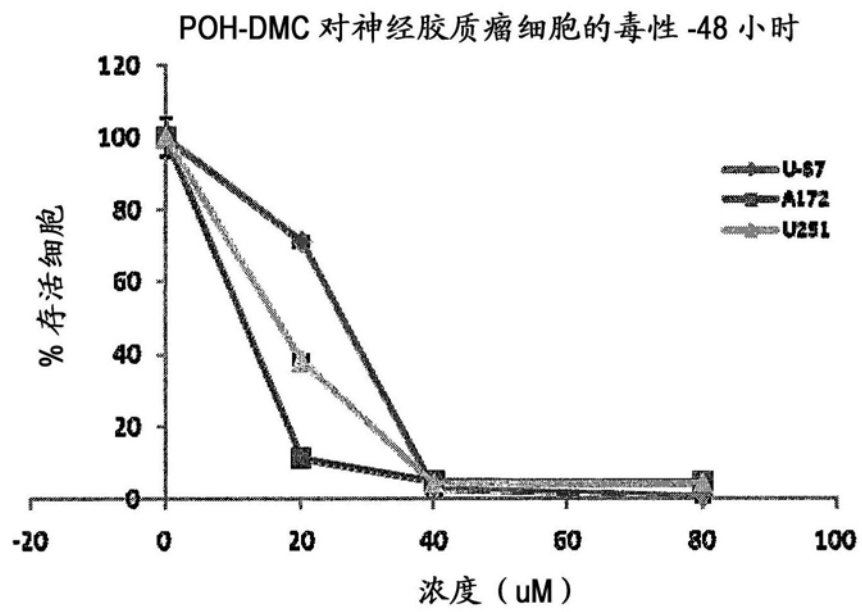


图2

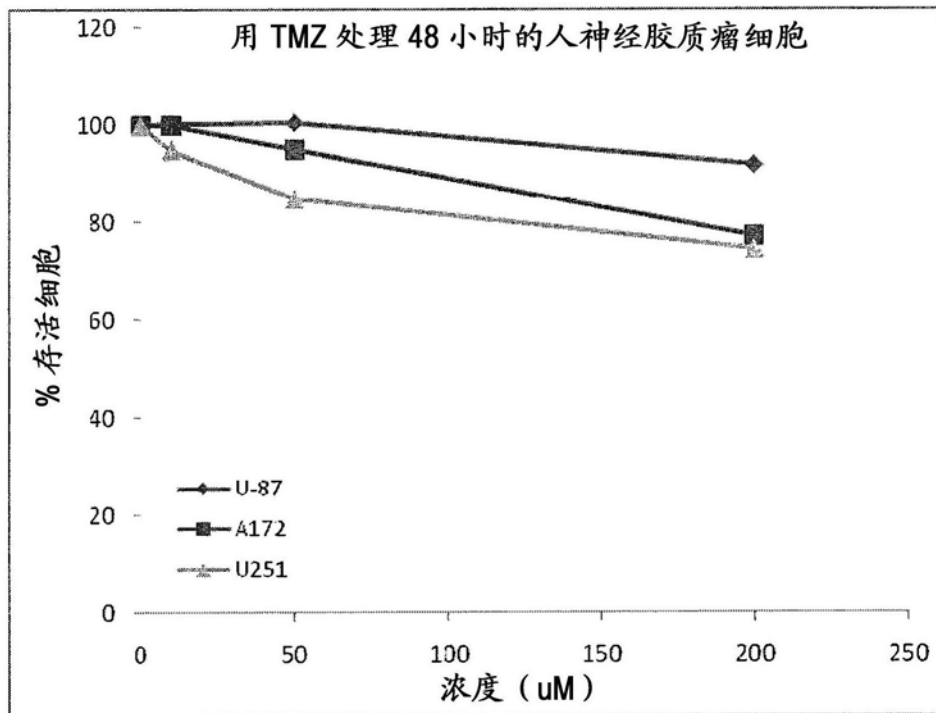


图3

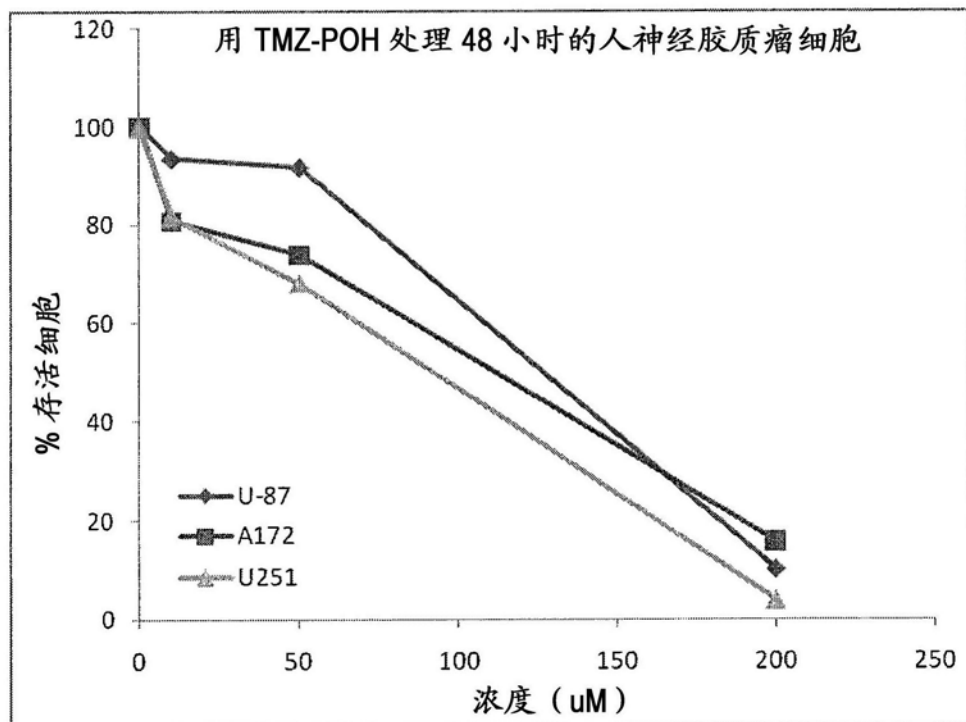


图4

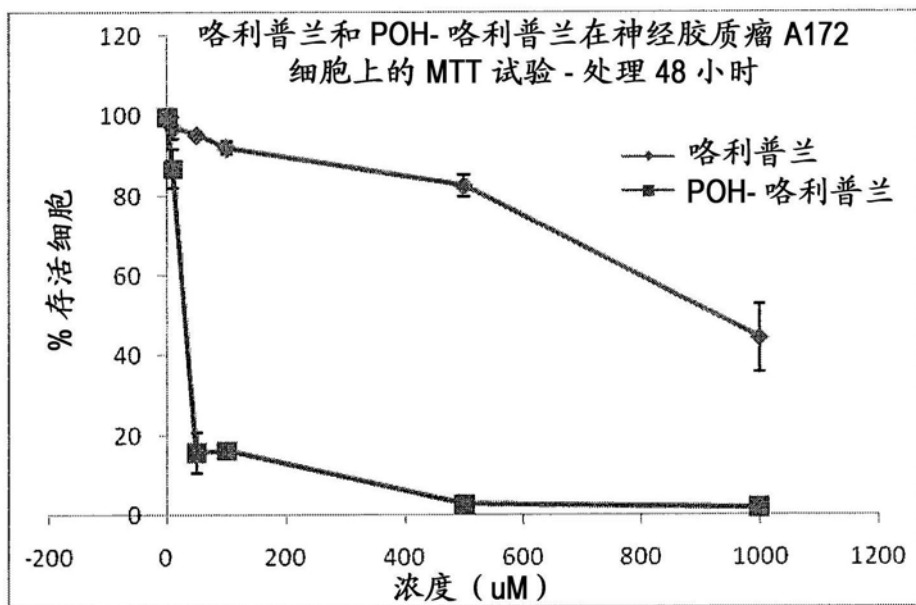


图5

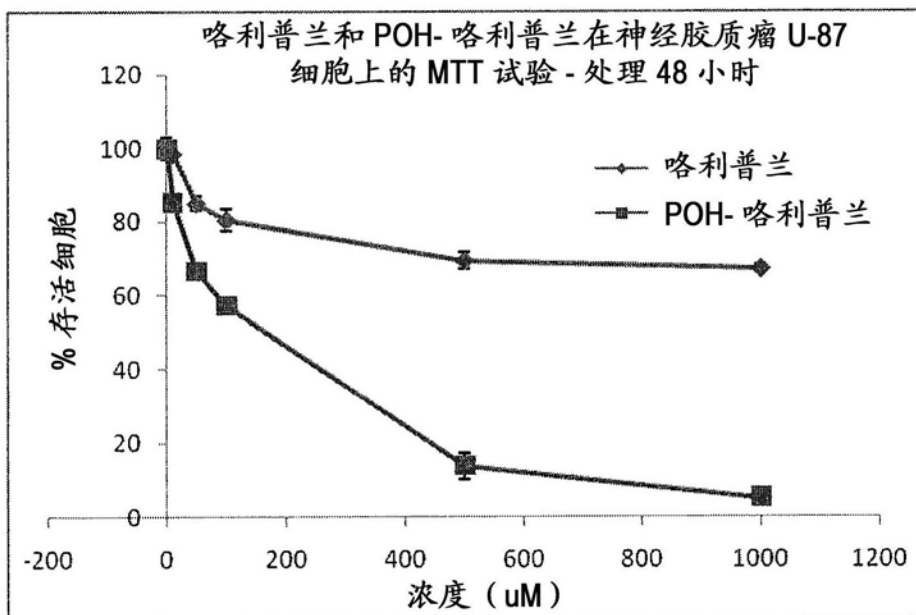


图6

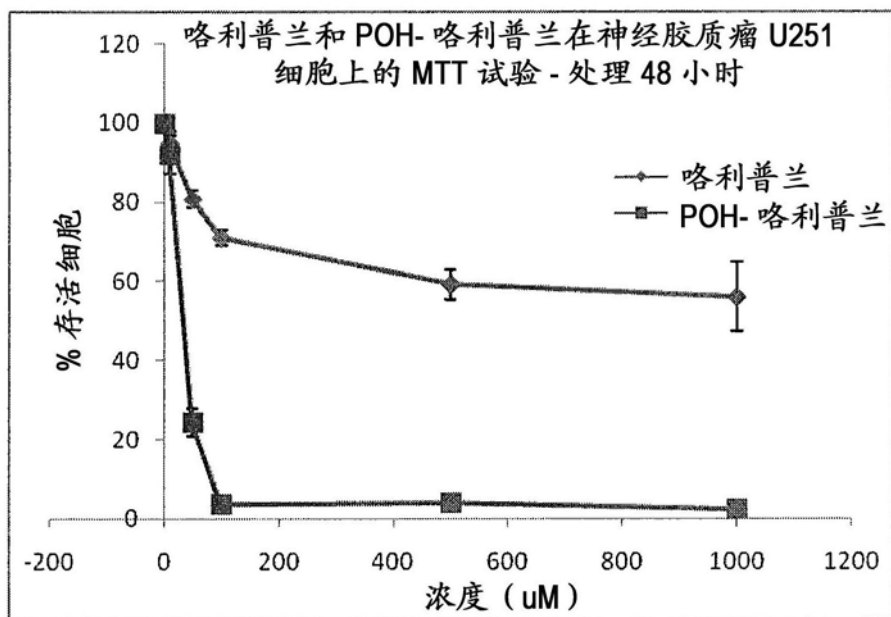


图7

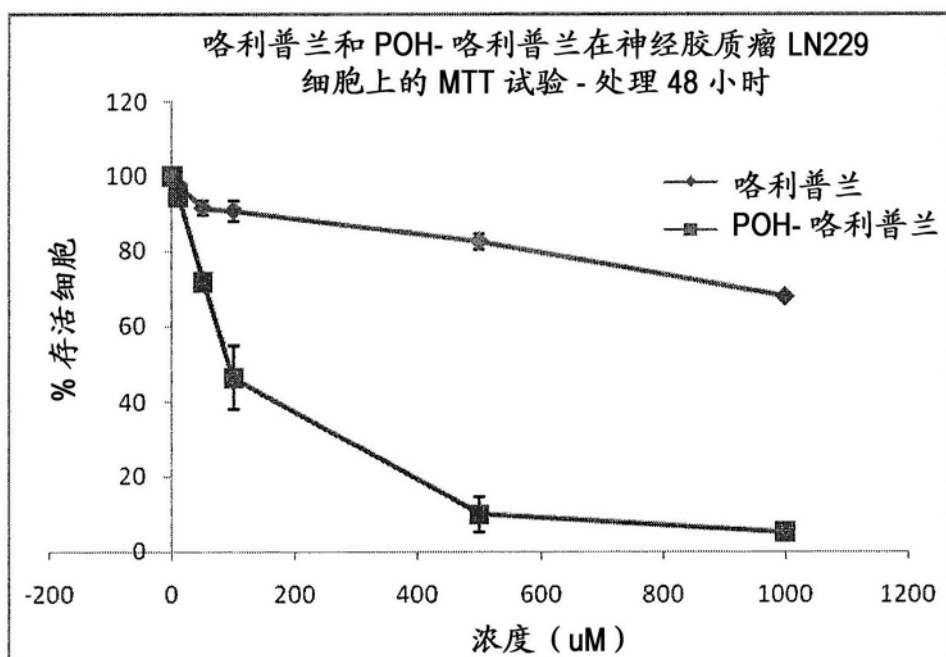


图8

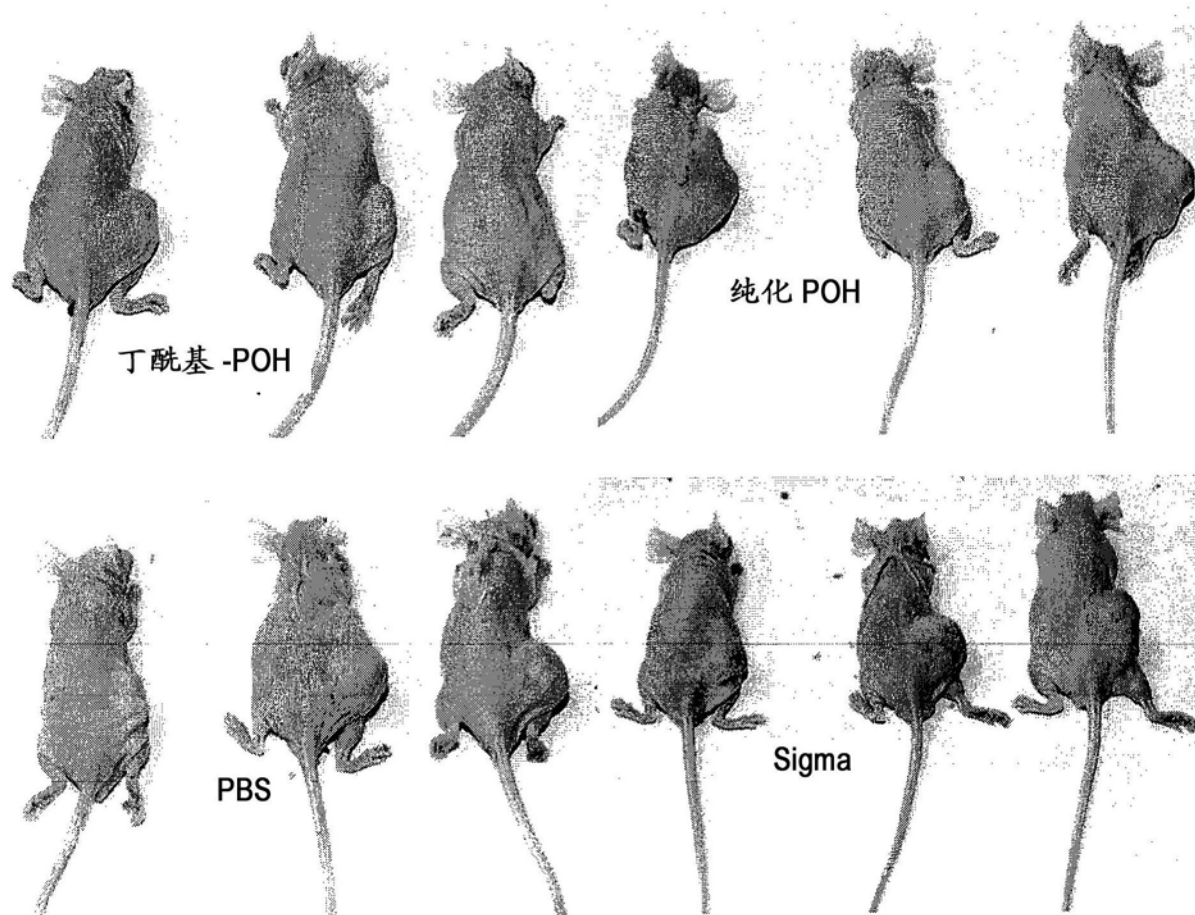


图9A

随时间的平均肿瘤生长

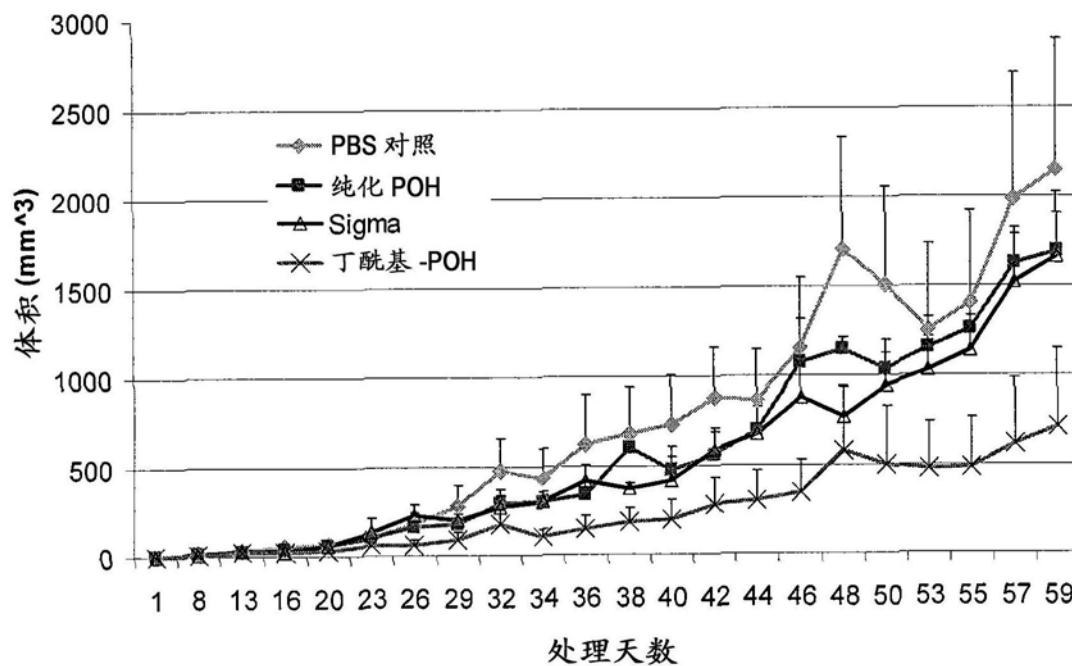


图9B

TMZ 和 TMZ-POH 在 TMZ 敏感和 TMZ 抗性的神经胶质瘤细胞上的集落形成试验 - 处理 72 小时

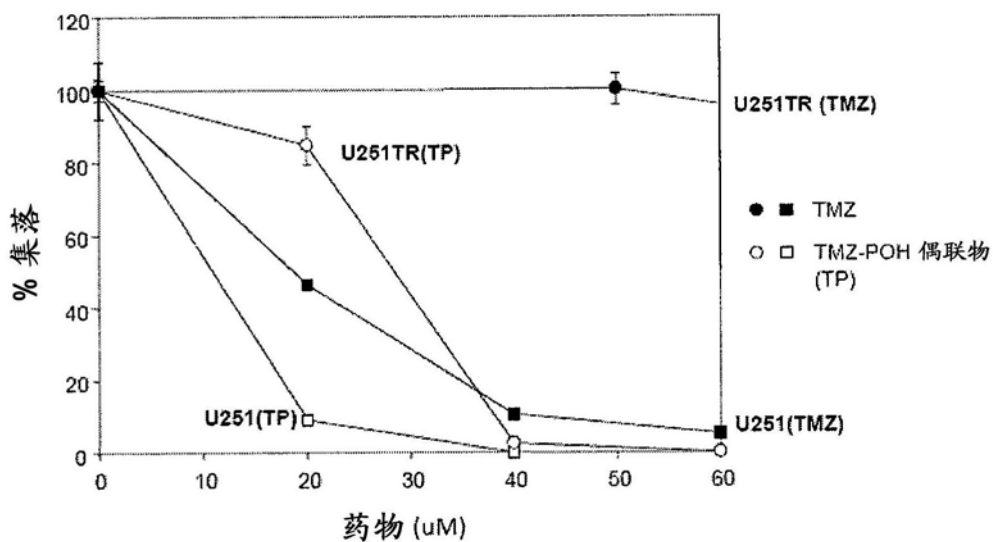


图10

POH 处理的 U251 和 U251TR 的集落形成
试验 - 处理 72 小时

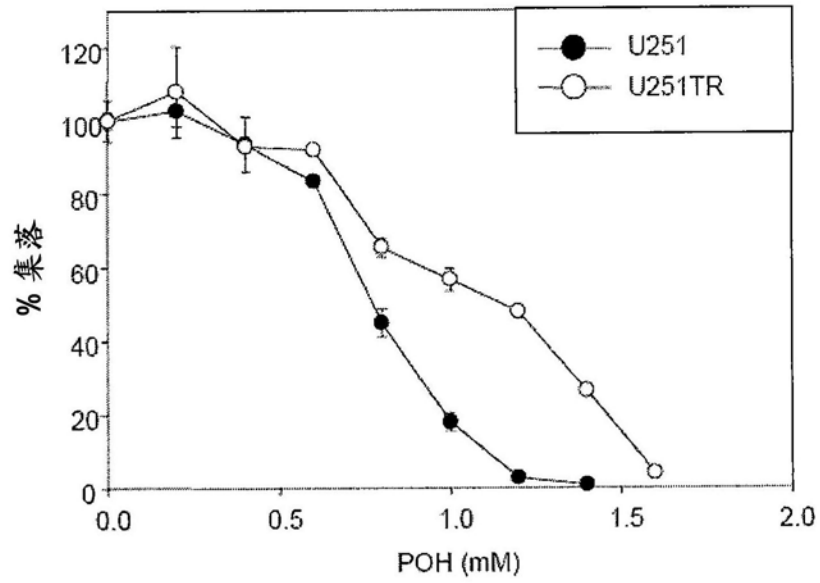


图11

TMZ-POH 在 U251、U251TR 和正常星形胶质细胞上的
MTT 试验 - 处理 72 小时

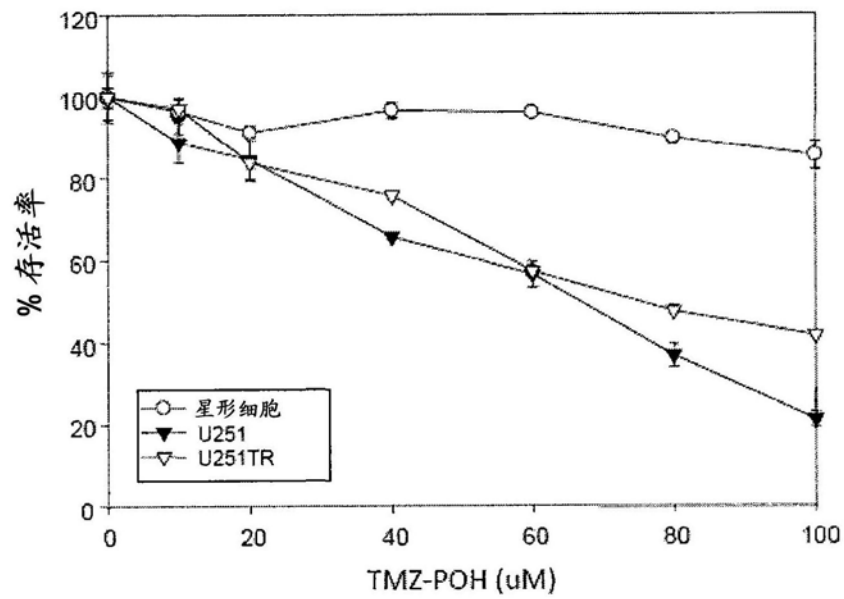


图12

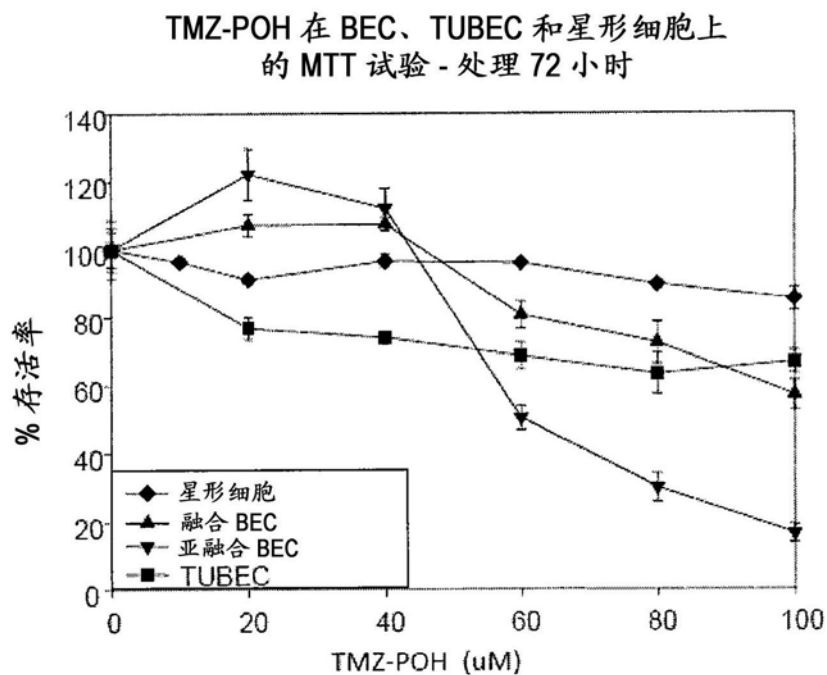


图13

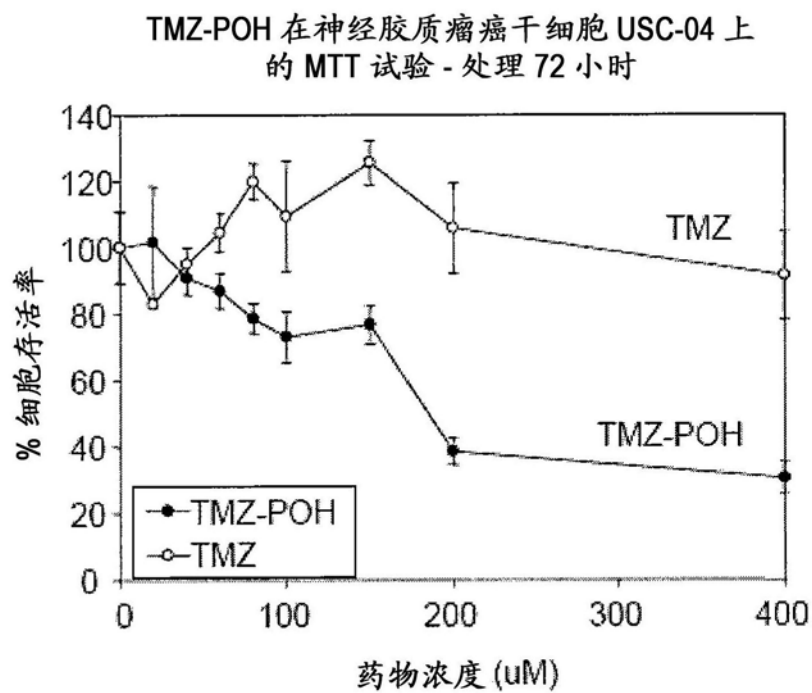


图14

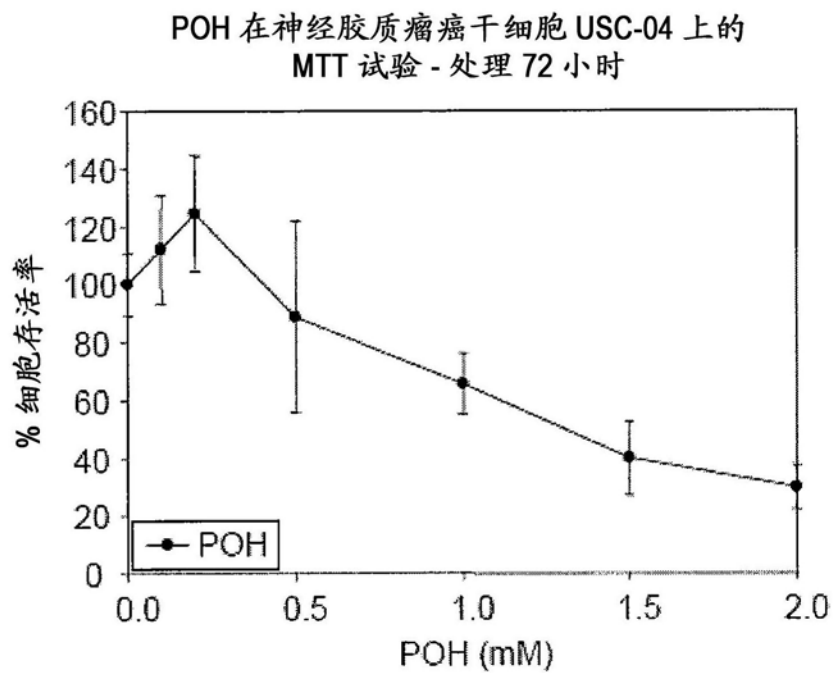


图15

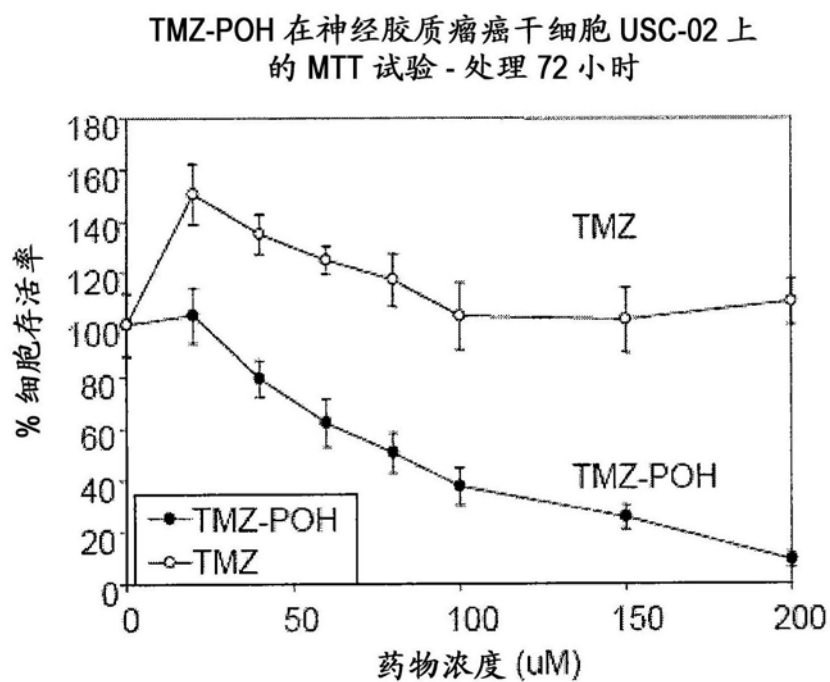


图16

POH 在神经胶质瘤干细胞 USC-02 上的
MTT 试验 - 处理 72 小时

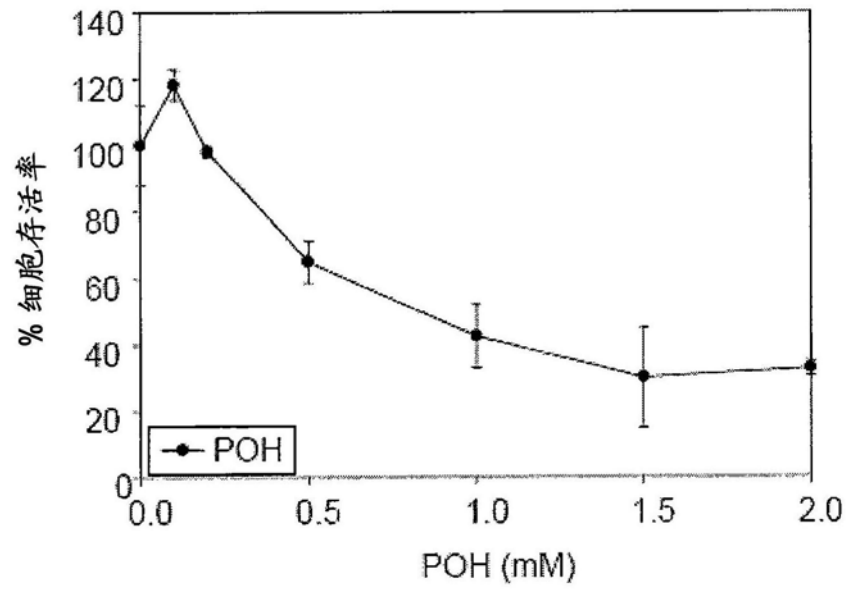


图17

TMZ-POH 处理 U251-TMZs 和 U251-TMZr 细胞后
(处理 18 小时) 的蛋白质印迹

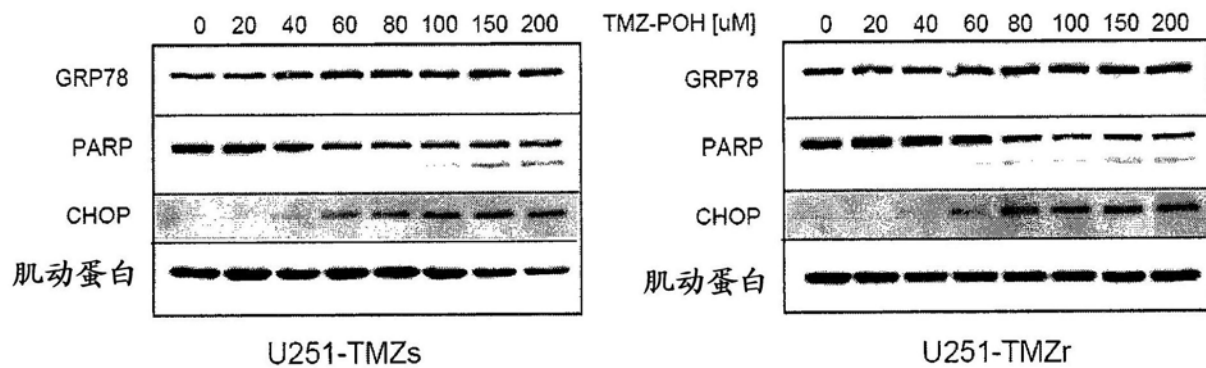


图18