



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104136026 B

(45)授权公告日 2018.03.02

(21)申请号 201280064763.1

(22)申请日 2012.10.31

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 104136026 A

(43)申请公布日 2014.11.05

(30)优先权数据
61/553,854 2011.10.31 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2014.06.26

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2012/062850 2012.10.31

(87)PCT国际申请的公布数据
W02013/151584 EN 2013.10.10

(73)专利权人 卫理公会医院研究所
地址 美国德克萨斯州

(72)发明人 大卫·S·巴斯肯
马丁·阿伦·夏普

(74)专利代理机构 中原信达知识产权代理有限
责任公司 11219
代理人 刘慧 杨青

(51)Int.Cl.
A61K 31/435(2006.01)
A61K 31/4375(2006.01)

(56)对比文件
WO 9429333 A1,1994.12.22,权利要求1-54,实施例1-24.
WO 9822110 A1,1998.05.28,权利要求1-15,实施例1-3.
WO 9429333 A1,1994.12.22,权利要求1-54,实施例1-24.

审查员 贺伊博

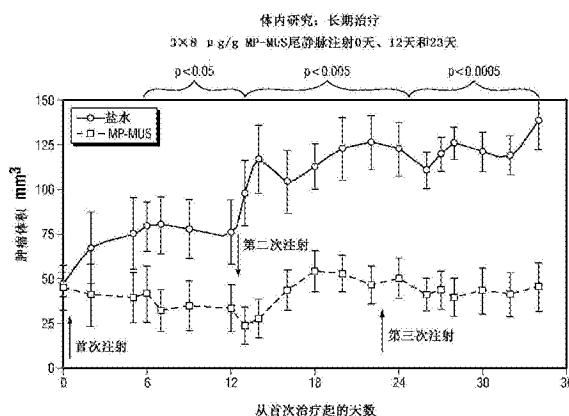
权利要求书3页 说明书31页 附图36页

(54)发明名称

包含MAO靶向/探寻器部分的人神经胶质瘤
治疗用化合物

(57)摘要

本发明公开了用于将化学治疗药剂靶向于哺乳动物线粒体的化合物。还公开了单胺氧化酶组合物、以及用其选择性治疗哺乳动物癌症、尤其是治疗人神经胶质瘤的方法。还公开了将所述新型被靶向的化学治疗药与一种或多种常规抗癌疗法一起使用的方法,所述常规抗癌疗法包括例如放射治疗。



1. 化合物, 包含第一靶向/探寻器部分, 所述第一靶向/探寻器部分对于哺乳动物单胺氧化酶B (MAO-B) 酶具有的特异性是相应的对于MAO-A酶的特异性的至少三倍并且所述第一靶向/探寻器部分能被MAO-B催化成其相应的1-甲基-4-(X)-吡啶鎓阳离子形式, 经由至少第一连接器部分可操作地连接至第一治疗部分, 其中所述第一治疗部分是中性的血脑屏障透过性前药, 而且其中得到的第一靶向部分的1-甲基-4-(X)-吡啶鎓阳离子形式以一定的速率促进哺乳动物细胞的线粒体膜摄取所述化合物, 所述速率是所述化合物的相应的非离子形式的速率的至少5倍~10倍, 其中所述第一靶向/探寻器部分选自: 1-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶、1-环丙基-1,2,3,6-四氢吡啶-, 及其任意组合; 以及其中所述至少第一连接器部分选自: 2-甲基丙酰胺、环己烷及其任意盐。

2. 权利要求1的化合物, 其中得到的所述第一靶向部分的1-甲基-4-(X)-吡啶鎓阳离子形式促进所述第一治疗部分在被施用了所述化合物的哺乳动物细胞群的线粒体中以一定的量积聚, 所述量是在将所述化合物施用于所述细胞时在所述细胞的细胞液中发现的所述第一治疗部分的浓度的50倍~500倍。

3. 权利要求1或2的化合物, 其中所述第一靶向/探寻器部分是1-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶。

4. 权利要求1或2的化合物, 其中所述第一治疗部分是DNA酰化剂或DNA损伤剂。

5. 权利要求1或2的化合物, 其中所述第一治疗部分为氮芥、硫芥、四硝酸铂、长春碱、多西他赛、依托泊苷、喜树碱、APE-SN38、卡莫司汀, 或其任意组合、或盐。

6. 权利要求1或2的化合物, 其中所述第一治疗部分为顺铂。

7. 权利要求1或2的化合物, 其中所述第一治疗部分可操作地连接至所述连接器基团, 并选自: 二(2-氯乙基)[连接器-TP]胺、1-[(2-R1-2-R2-2-[连接器-TP]乙基)硫烷基]-3-氯丙烷、([[(3-氯丙基)硫烷基]甲基])[连接器-TP]-R1-胺、3-[连接器-TP]-4-(-甲磺酰基甲氧基)丁基甲磺酸酯、1,10-二氯-5-[连接器-TP]-2,9-二氮杂-1,10-二铂癸烷-1,1,10,10-四胺或2,2-二氨基-5-[连接器-TP]-1,3-二氧杂-2-铂环己烷-4,6-二酮。

8. 权利要求1或2的化合物, 其中所述至少第一连接器部分包括2-甲基丙酰胺或其盐。

9. 权利要求1或2的化合物, 其被定义为 P^+ -MUS或 P^+ -SN38。

10. 一种药物组合物, 其包含权利要求1或2的化合物, 并混合有一种或多种药学可接受的载体。

11. 权利要求10的药物组合物, 其中药学可接受的载体包括稀释剂、赋形剂、或其任意组合。

12. 权利要求10的药物组合物, 其进一步包含一种或多种其他抗赘生物药剂、一种或多种其他细胞毒性药剂、一种或多种细胞抑制药剂、或其任意组合。

13. 权利要求10的药物组合物, 其进一步包含一种或多种治疗药剂。

14. 权利要求10的药物组合物, 其进一步包含一种或多种化学治疗药剂。

15. 权利要求10的药物组合物, 其进一步包含选自以下的药剂: 伊立替康、喜树碱、替莫唑胺、SN38、长春碱、多西他赛、依托泊苷、卡莫司汀、舒凡类、四硝酸铂、顺铂、拓扑异构酶、放射治疗药剂、其任何盐、及其任意组合。

16. 权利要求1或2的化合物, 其中所述化合物是经由第一化学连接器部分可操作地连接至至少第一化学治疗药剂的MAO-B-可转化的四氢吡啶化学治疗递送化合物, 所述第一化

学治疗药剂在哺乳动物神经胶质瘤癌细胞的线粒体中具有DNA酰化活性或DNA损伤活性。

17. 权利要求1或2的化合物,其被配制用于施用至哺乳动物宿主细胞。

18. 权利要求1或2的化合物,其适合于并被构造为治疗套包的一部分,所述套包包含所述化合物和至少第一组用于将所述化合物施用于有需要的人的说明书。

19. 权利要求1或2的化合物,其用于治疗、预防或改善以下的一种或多种症状:人神经胶质瘤、室管膜瘤、少突神经胶质细胞瘤、脑干神经胶质瘤、或其任意组合。

20. 权利要求1或2的化合物,其用于治疗、预防或改善星形细胞瘤。

21. 权利要求19的化合物,其用于治疗、预防或改善多形性成胶质细胞瘤或混合性神经胶质瘤的一种或多种症状。

22. 权利要求19的化合物,其用于治疗、预防或改善复发的多形性成胶质细胞瘤的一种或多种症状。

23. 包含权利要求1-9和16-22任一项的化合物的组合物,其用于治疗或改善以下的一种或多种症状:人神经胶质瘤、室管膜瘤、少突神经胶质细胞瘤、脑干神经胶质瘤、或其任意组合。

24. 包含权利要求1-9和16-22任一项的化合物的组合物,其用于治疗或改善星形细胞瘤。

25. 权利要求23的组合物,其用于治疗、预防或改善多形性成胶质细胞瘤或混合性神经胶质瘤的一种或多种症状。

26. 权利要求23的组合物,其用于治疗、预防或改善复发的多形性成胶质细胞瘤的一种或多种症状。

27. 包含权利要求1-9和16-22任一项的化合物的组合物或权利要求23-26任一项的组合物,其用于治疗、星形细胞瘤、室管膜瘤、少突神经胶质细胞瘤、脑干神经胶质瘤、或其任意组合。

28. 包含权利要求1-9和16-22任一项的化合物的组合物或权利要求23-26任一项的组合物,其用于治疗多形性成胶质细胞瘤。

29. 包含权利要求1-9和16-22任一项的化合物的组合物或权利要求23-26任一项的组合物,其用于治疗混合性神经胶质瘤。

30. 包含权利要求1-9和16-22任一项的化合物的组合物或权利要求23-26任一项的组合物,其用于治疗复发的多形性成胶质细胞瘤。

31. 根据权利要求1-9和16-22中任一项的化合物在制备用于治疗或改善哺乳动物对象的癌症的至少一种症状的药物中的用途。

32. 根据权利要求31的用途,其中所述哺乳动物对象为人、非人的灵长类动物、伴侣动物、外来动物或家畜。

33. 用于治疗动物对象的癌症的药物组合物,其至少包含权利要求1-9和16-22中任一项的化合物。

34. 根据权利要求16所述的化合物,其中所述第一化学治疗药剂是氮芥、硫芥、舒凡类、顺铂、四硝酸铂、替莫唑胺、喜树碱、伊立替康、卡莫司汀,前药喜树碱的SN38代谢物。

35. 用于治疗或改善哺乳动物对象的癌症的至少一种症状的组合物,其包含权利要求1-9和16-22任一项的化合物。

36. 根据权利要求35的组合物,其中哺乳动物对象为人、非人的灵长类动物、伴侣动物、外来动物或家畜。

包含MAO靶向/探寻器部分的人神经胶质瘤治疗用化合物

[0001] 发明背景

[0002] 本发明要求2011年10月31日提交的美国临时专利申请61/553,854的优先权,通过参考将其完整内容以其完整形式明确并入本文中。

技术领域

[0003] 本发明一般地涉及药物组合物和肿瘤治疗方法。特别地,本发明提供用于将化学治疗靶向于线粒体的改进组合物、以及用于选择性治疗哺乳动物癌症且尤其是人癌症如神经胶质瘤的方法。

[0004] 相关技术描述

[0005] 神经胶质瘤:预后及治疗

[0006] 每年约10000美国人被诊断为具有恶性神经胶质瘤。其中,50%的存活一年,且仅20%存活两年。五年存活率<3%。常规治疗包括三种方式:外科手术(如果位置允许)、放射治疗、化学治疗。在外科手术之后,开始化学治疗(通常采用DNA酰化试剂的形式例如替莫唑胺或卡莫司汀或更稀少的拓扑异构酶抑制剂伊立替康)。在特定患者中,卡莫司汀还可以以被植入到术后创伤内的晶片的形式被递送。

[0007] 神经胶质瘤是人类中被报道的最常见的恶性脑肿瘤。神经胶质瘤是由中枢神经系统失控的增生性细胞造成的神经元恶性肿瘤。诊断有神经胶质瘤癌症的患者具有令人低落的预后,且尽管症状随肿瘤的特定定位点的不同而变化,但其由于肿瘤细胞的快速生长行为而易于非常快速地发展。神经胶质瘤能够得自几种细胞类型,包括室管膜细胞、星形胶质细胞、少突胶质细胞和不同类型的神经胶质细胞。临床上,将神经胶质瘤分为四个级别,所述四个级别由肿瘤的病理评价来确定。低级别神经胶质瘤分化良好并生长缓慢,由此生物学上的侵袭性较低,并因此对患者提供相对更好的预后。相反,高级别神经胶质瘤是恶性的、快速生长并向相邻器官入侵。因此,高级别神经胶质瘤对患者提供更坏的预后。不幸地,这些级别中最活泼的级别4级或多形性成胶质细胞瘤(GBM)在人类也是最频繁的。因为大部分患有GBM的患者因其疾病而在不到一年内死亡(且基本没有GBM患者被认为可以“长期存活”),迫切寻求开发用于所述疾病的最有效的治疗方案已经超过了50年,不幸的是,至今仅取得了有限的成功。

[0008] 癌症、线粒体和作为有丝分裂原的过氧化氢

[0009] 过氧化氢是线粒体呼吸的产物,所述线粒体呼吸通过分子氧与氢的单电子反应而产生超氧化物;然后因超氧化物歧化酶的作用或由于自发歧化而产生过氧化物(Vizi, 2000; Boveris and Chance, 1973)。过氧化氢是强力的有丝分裂原,尤其是在小胶质中(Jekabsone et al., 2006; Mander et al., 2006)。癌细胞产生大量过氧化氢,其与癌症中的关键变化相关,包括细胞的增殖、抗凋亡性、转移、血管发生和缺氧诱发性因子1的激活(Droge, 2002)。在缺少线粒体产生的过氧化氢时,许多癌症上调其他酶,所述其他酶产生过氧化氢作为其功能的副产物。一种这种酶是单胺氧化酶。

[0010] 神经胶质瘤中的单胺氧化酶

[0011] 单胺氧化酶B(MAO-B)通过氧气到过氧化氢的双电子还原而催化多巴胺的脱氨基。在灵长类动物和小鼠的脑中,发现其仅在神经胶质和多巴胺能神经元中。MAO-B的活性在多形性成胶质细胞瘤、低级别星形细胞瘤中和在恶性星形细胞瘤中是在尸检对照大脑或脑膜瘤中的四倍(Gabilondo et al,2008)。明显的是,由神经胶质瘤MAO-B产生的过氧化氢是增殖信号的一部分。有趣地是,在高级别前列腺癌中,MAO-A增加四倍且另外由上调造成的有丝分裂性过氧化氢信号传导可能是这种致命性提高的触发器(Flamand et al,2010)。

[0012] 外源性MAO-B特异性底物

[0013] MAO-B的广泛已知的外源底物是(1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶)(MPTP),其通过神经胶质细胞被转化成其阳离子形式1-甲基-4-苯基吡啶鎓。MPP⁺是多巴胺模拟物,并通过多巴胺运输体在多巴胺能神经元内部浓缩。在这些神经元内部,MPP⁺经历第二浓缩效应;响应膜电位 $\Delta \Psi$ 而移入其线粒体内,在复合物I处造成抑制和超氧化物的产生两者,这能够导致线粒体功能的损失、caspase激活、多巴胺能细胞凋亡和表型的帕金森症(Fukuda, 2001)。

[0014] 现有技术的不足

[0015] GBM对治疗的抵抗性的一个原因是肿瘤自身的络合特征。如同名称GBM所暗示的,成胶质细胞瘤是多形性的。其在宏观(通常存在坏死和出血区域)和微观(包括假栅栏样(pseudopalisading)坏死、多晶晶核和细胞、以及微血管增殖)两方面都是多形性细胞瘤。而且,GBM通常呈多样性,具有各种缺失、扩增以及点突变,导致酪氨酸激酶受体如表皮生长因子受体(EGFR)和血小板衍生的生长因子受体(PDGFR)下游的信号传导路径激活并因INK4a-ARF损失或与细胞周期蛋白依赖性激酶4(CDK4)扩增或视网膜母细胞瘤蛋白质(Rb)损失相关的p53突变而造成细胞周期停止途径中断。

[0016] 在成功的GBM治疗方面的难度是肿瘤的外科切除术受到肿瘤自身局部解剖扩散本质的妨碍。而且,脑内GBM肿瘤细胞的位置也高度变化,导致不能完全切除这种肿瘤。神经胶质瘤细胞通过脑薄壁组织迁移远离初始肿瘤,集合在软膜边界紧下面(软膜下扩散),包围神经元和动脉(例如神经元周围和血管周的卫星状态),并迁移通过白质轨迹(例如束内扩散)。结果,各个肿瘤细胞在长距离上扩散,并扩散进入对于患者存活重要的脑区域内。该行为的极端实例是被称作“大脑胶质瘤病”的状况,其中在肿瘤本身最少或无中心焦点区域的条件下整个脑广泛渗入赘生性细胞。尽管神经胶质瘤不会通过血流转移,但其能够通过脑脊髓液扩散并在脊髓内造成被称作“下行转移”的状况。在尸体解剖时足足四分之一GBM患者展示多重或多中心GBM。因此,这些肿瘤的渗透性生长模式排除了医疗神经外科,且即使在认为“完全”的外科切除术之后,高级神经胶质瘤几乎总是复发。

[0017] 尽管近期在治疗方面取得了进展,但是恶性神经胶质瘤的治疗仍是治标不治本的。恶性星形细胞瘤的诊断后中值存活时间小于3年且多形性成胶质细胞瘤典型地仅12~14个月。当与外部束辐射随后辅以治疗一起使用时,口服的甲基化化学治疗药剂替莫唑胺变为被新诊断的成胶质细胞瘤的护理标准,尽管GBM持续低变得对辐射具有高抵抗性。即使在最佳环境下(其中几乎全部肿瘤都能够通过外科手术除去且患者完全用辐射和化学治疗进行治疗),这种疾病的平均存活率仅延长几个月的时间。

[0018] 对于疾病自身具有扩散本质的GBM的标准治疗的差结果,已经对目的也是杀死由主肿瘤散布的赘生性细胞的新治疗方法的大量尝试造成了影响。然而,至今,对于GBM的仅

有的显著的治疗选项限制为外科手术、放射治疗和常规化学治疗,所述化学治疗使用药物如卡莫司汀、洛莫司汀、长春新碱、丙卡巴肼、卡铂、顺铂、依托泊苷、伊立替康、及其活性代谢物和相关药剂。

[0019] 替莫唑胺(TMZ)和放射治疗(RT)的同时使用已经证明为被新诊断的GBM患者的主要“护理标准”。已经显示比单独的RT具有临床意义的存活率的改善,但所述增加也仍令人失望(利用TMZ/RT治疗的患者的平均存活时间为15个月,相对于利用RT单独治疗的患者仅存活12个月)。

[0020] 尽管成功引入了基于TMZ的组合治疗,然而,临床医生仍同意,仍显著需要开发新的化学治疗活性药剂以用于治疗神经胶质瘤,特别是用于GBM和所述疾病的高级别。类似地,在医学领域关于新的化学治疗药剂仍存在显著的、未满足的需要,以有效防止、治疗和/或改善过度增殖性病症中的一种或多种症状,尤其是用于侵略性形式的哺乳动物癌症如人神经胶质瘤肿瘤。

[0021] 原发性脑肿瘤根据其发病起源和病理组织类型分为10类以上,其实例包括神经胶质瘤和脑膜瘤。神经胶质瘤在发病率和恶性两方面尤其严重,并根据其详细的病理组织类型将所述神经胶质瘤分为七种或更多种类型如成胶质细胞瘤和恶性星形细胞瘤。疾病级别(即肿瘤的尺寸、末梢转移的存在)和组织学恶性用于确定原发性脑肿瘤的恶性程度,所述组织学恶性被分为四个水平的恶性进展程度(G1~G4)。例如,成胶质细胞瘤的恶性为G4(WHO4),而恶性星形细胞瘤的恶性为G3(WHO3),并将G3和G4两者都分类为恶性。由此,抗脑肿瘤药剂应首先靶向的那些原发性脑肿瘤是神经胶质瘤,尤其是成胶质细胞瘤或与高度恶性相关的退行发育的星形细胞瘤。

[0022] 尽管仅关于烷基化试剂和替莫唑胺证实了化学治疗的确定疗效,但其疗效仅限制于利用放射治疗的伴随使用。术后放射治疗还表明了延长寿命(虽然短暂)的效果。

[0023] 因此,本发明的重要目的是提供新型化合物(以及包含其的药物)以用于化学治疗方法,所述化学治疗方法的目的是治疗被诊断有一种或多种形式的神经胶质瘤的受影响的动物、尤其是哺乳动物如人的恶性癌症。

[0024] 发明概述

[0025] 本发明通过提供新型的、非显而易见的且有用的三重化合物(以及包含其的组合物)以防止、治疗和/或改善至少第一哺乳动物癌症的一种或多种症状,从而致力于解决相关肿瘤学和药物领域中固有的这些和其他未满足的不足。在总体的和大体的意义方面,这些化合物优选包含至少第一靶向或“探寻器”部分,所述第一靶向或“探寻器”部分可操作地连接(优选经由至少第一化学连接分子)到至少第一治疗部分。优选地,第一治疗部分是中性的血脑屏障透过性分子,在特定实施方案中为无活性或基本无活性的前药。这种治疗部分优选为DNA酰化剂或DNA损伤剂,在特定实施方案中为“氮芥”、“硫芥”、四硝酸铂、长春碱、多西他赛、依托泊苷、喜树碱(或其活性代谢物的一种如SN38、洛莫司汀、卡莫司汀或其衍生物、类似物、盐或其任意组合)。

[0026] 特别地,本发明通过提供用于治疗人神经胶质瘤的新型组合物和方法而克服了现有技术中固有的各种限制。在示例性实施方案中,发明人合成并试验了前药化合物,其为MAO-B特异性底物,所述特异性底物是为了杀死癌细胞如人神经胶质瘤而专门设计的。在前药氧化之后,阳离子成熟药物优先积聚在被靶向的癌细胞的线粒体中,在那里其使得线粒

体DNA和核糖体RNA酰化,由此通过破坏线粒体的正常功能而钝化和/或杀死癌细胞。

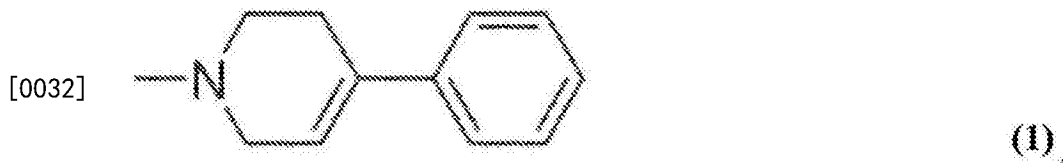
[0027] 使用在神经胶质瘤MAO-B中高度“上调”的酶,已经制备了中性的血脑屏障透过性前药,包括例如MP-MUS和SN38,且所述MP-MUS和SN38通过MAO-B转化分别被转化为不能透过的活性物质 P^+ -MUS和APE-SN38而对癌细胞显示了高度活性抵抗性。通过确保成熟的药物是靶向线粒体的阳离子物质,能够将连接化学治疗诸如DNA酰化剂、氮芥选择性地以有效破坏线粒体DNA的浓缩物形式递送。尽管在普通神经胶质瘤中发现了MAO-B,但所述酶在神经胶质瘤中上调至少五倍,使其成为用于将化学治疗药剂选择性靶向于神经胶质瘤线粒体的理想候选,因为神经胶质瘤细胞需要线粒体用于嘧啶合成。另外,因为线粒体DNA的损伤不会提高与核DNA损伤性化学治疗耐药性典型的典型碱基切除修复路径,所以优先递送到线粒体的化学治疗比常规化学治疗方案提供明显的优势。

[0028] 本发明提供新且有用的化合物,所述化合物可以有利地用于将一种或多种化学治疗药剂选择性地靶向于哺乳动物线粒体。本发明还提供包含这些化合物的新型组合物、以及使用这些化合物的方法,包括例如用于制备用于治疗一种或多种哺乳动物过度增殖性病症的药物,所述过度增殖性病症包括例如人神经胶质瘤癌症等。

[0029] 为了探究细胞毒性化合物在用于化学治疗方案中的化学治疗作用,发明人开发了独特的靶向部分,其活性通过酶的活性来调整,所述酶的活性在包含GBM在内的多种类型的癌细胞中上调。这些新型的靶向部分使得非细胞毒性的前药被递送到细胞,其然后通过积聚在哺乳动物细胞的线粒体内而转化为细胞毒性的活性化学治疗药剂,在那里所述化合物发挥其细胞毒性效应,包括例如DNA酰化和损伤。这种细胞毒性活性化合物的靶向递送,通过对其进行设计以优先被跨线粒体膜的细胞线粒体摄取,提高被递送的化学治疗剂的疗效,而同时,降低递送到细胞其他隔室的细胞毒性剂的量,所述其他隔室包括例如细胞核。

[0030] 优选地,本文中公开的化合物在本质上是多组分的,从而各种化合物优选包含可操作地连接(通过并入一个或多个化学连接器直接或间接地)到一个或多个“细胞毒性”或“化学治疗”部分的一个或多个“靶向”或“探寻器”部分,其中化合物的初始前药形式基本为“无活性”(即非细胞毒性),但因此通过哺乳动物的酶如单胺氧化酶(MAO)且特别是通过MAO-B的酶作用将前药酶合成为活性药物而转化成“活性”(即细胞毒性或化学治疗“弹头”)形式。在尤其优选的实施方案中,前药通过MAO-B的酶作用优先转化成活性药物,但仍因相关酶MAO-A的作用而未转化为活性药物。在特定实施方案中,多组分化合物对于MAO-B的特异性是对于MAO-A的特异性的至少约10倍,更优选至少约15倍,还更优选约20倍或更高。在示例性实施方案中,发明人已经设计了多组分化合物,所述化合物对于MAO-B催化的特异性至少是对于MAO-A的特异性的至少约10倍。

[0031] 用于开发本发明的三重化合物的MAO-B的示例性底物为MPTP。将MPTP 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶示于通式1中:

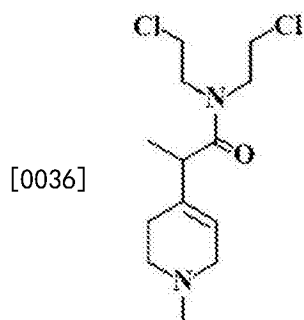


[0033] MPTP能够通过MAO-B而转化为示于通式2中的MPP⁺ (1-甲基-4-苯基吡啶鎓):



(2)。

[0035] 用于开发本发明的三重化合物的示例性化学治疗化合物MPTP化学连接至氮芥,从而形成MP-MUS (I) (N,N-二(2-氯乙基)-2-(1-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基)丙酰胺)(通式3)。MP-MUS由通过化学连接器可操作地连接至细胞毒性部分氮芥的线粒体靶向或“探寻器”部分构成。在原发性神经胶质瘤细胞培养物中MP-MUS (3) 已经显示是有效的。在这些研究中,MP-MUS (I) 在化学治疗剂量下杀死神经胶质瘤细胞;使得线粒体膜电位坍塌,提高线粒体蛋白质水平并使得大量mtDNA断裂。前药的效果因MAO-B特异性抑制剂司来吉兰的添加而几乎完全被消除。



(3)。

[0037] 在示例性实施方案中,化学治疗部分通过至少一个连接器基团如2-甲基丙酰胺和环己烷而可操作地连接至靶向/探寻器部分,从而提供治疗剂/连接器的组合,所述治疗剂/连接器的组合包括选自以下的一种或多种:二(2-氯乙基)[连接器-TP]胺、1-[(2-R1-2-R2-2-[连接器-TP]乙基)硫烷基]-3-氯丙烷、([[(3-氯丙基)硫烷基]甲基])[连接器-TP]-R1-胺、3-[连接器-TP]-4-(-甲磺酰基甲氧基)丁基甲磺酸酯、1,10-二氯-5-[连接器-TP]-2,9-二氮杂-1,10-二铂癸烷-1,1,10,10-四胺和2,2-二氨基-5-[连接器-TP]-1,3-二氧杂-2-铂环己烷-4,6-二酮。

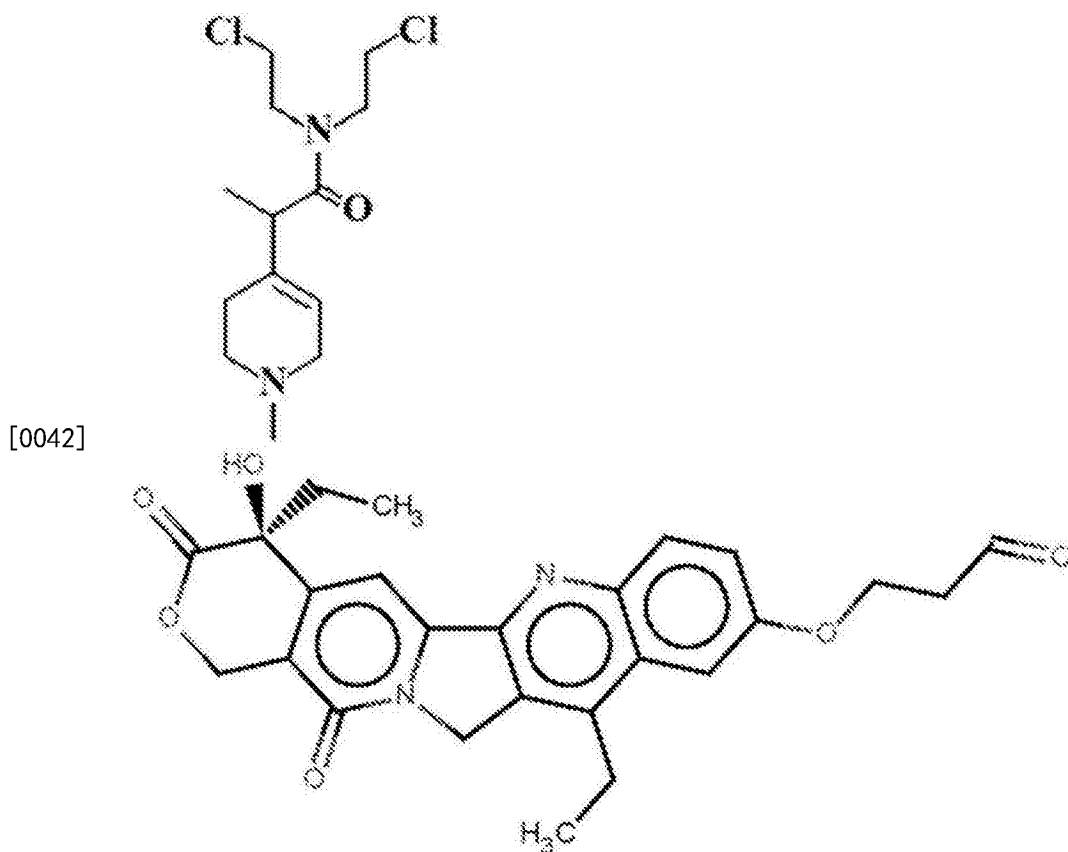
[0038] 优选地,第一靶向/探寻器部分被特异性地识别为哺乳动物单胺氧化酶(MAO)酶的底物,所述酶包括例如酶的MAO-A和MAO-B形式。在本发明的实践中,靶向/探寻器分子赋予所述化合物以选择性,使得其赋予化合物对一种形式的单胺氧化酶(优选MAO-B)的特异性是对另一种形式的酶(例如MAO-A)的特异性的至少两倍(优选至少三倍或更多,或甚至四倍或更多)。

[0039] 通过MAO的作用,将靶向/探寻器部分被转化成其相应的1-甲基-4-(X)-吡啶盐的阳离子形式,其中得到的靶向部分的1-甲基-4-(X)-吡啶盐的阳离子形式促进所述化合物在一定速率下跨哺乳动物细胞的线粒体膜的摄取的增强,所述速率是靶向部分的相应的非离子形式的速率的至少10倍(优选至少15倍,至少20倍,或至少30倍)。这提高了靶向/探寻器部分改变跨线粒体膜的化合物的位置的能力(实质性上部分地由于达到了跨所述膜的高电位),从而1-甲基-4-(X)-吡啶鎓阳离子的存在促进化合物在被施用了所述化合物的哺乳动物细胞群的线粒体中的积聚,所述积聚的量是保留在这种细胞的细胞液部分中的化合物的浓度的约50倍(还优选至少约100倍,至少约200倍,或甚至至少约500倍)。

[0040] 在示例性实施方案中,所述靶向/探寻器部分选自:1-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶和

1-环丙基-1,2,3,6-四氢吡啶-。

[0041] 根据本发明的示例性化合物包括但不限于, 2- R_3 -N- R_2 -N- R_1 -2-(1-X-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基) 乙酰胺、4-苯基-1-X-1,2,3,6-四氢吡啶、4-环己基-1-X-1,2,3,6-四氢吡啶和4-(5- R_1 -4- R_2 -3- R_3 -呋喃-2-基)-1-X-1,2,3,6-四氢吡啶, 其中 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_5 各自为卤素、羟基、氧代、氰基、硝基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、烷基、烷氧基、烷硫基、卤代烷基、芳基、芳烷基、杂芳基、杂芳烷基、杂环、杂环烷基、- NR_aR_b 、- $NR_aC(=O)R_b$ 、- $NR_aC(=O)NR_aNR_b$ 、- $NR_aC(=O)OR_b$ 、- $NR_aSO_2R_b$ 、- $C(=O)R_a$ 、 $C(=O)OR_a$ 、- $C(=O)NR_aR_b$ 、- $OC(=O)NR_aR_b$ 、- OR_a 、- SR_a 、- SOR_a 、- $S(=O)_2R_a$ 、- $OS(=O)_2R_a$ 、- $S(=O)_2OR_a$ 、取代的烷基、取代的芳基、取代的芳烷基、取代的杂环或取代的杂环烷基; 其中 R_a 和 R_b 相同或不同, 且独立地为氢、烷基、卤代烷基、取代的烷基、芳基、取代的芳基、芳烷基、取代的芳烷基、杂环、取代的杂环、杂环烷基或取代的杂环烷基, 另外其中X为治疗剂部分。在优选实施方案中, X为选自以下的化学治疗药物: 氮芥、硫芥、四硝酸铂、顺铂或其衍生物或盐。在示例性实施方案中, 所述化合物为MP-MUS或喜树碱活性代谢物的官能化形式SN38:



[0043] 在本发明的另一个方面中, 提供一种药物组合物, 所述药物组合物包含本文中公开的一种或多种化合物, 混合有一种或多种药学可接受的载体、稀释剂、赋形剂或其任意组合, 如本文中其他地方所描述的。在某些实施方案中, 所述组合物可以还任选地包含一种或多种其他抗肿瘤的、细胞毒性的细胞抑制药或化学治疗药剂或其任意组合。示例性药剂包括而不限, 舒凡类(sulfan)、四硝酸铂、氮芥、硫芥、顺铂、拓扑异构酶抑制剂(包括拓扑异构酶I和II抑制剂)、以及其衍生物、类似物、盐、活性代谢物或其组合。

[0044] 在示例性实施方案中, 所述一种或多种其他抗肿瘤药剂选自: 喜树碱、伊立替康、替莫唑胺、长春碱、多西他赛、依托泊苷、卡莫司汀、洛莫司汀、氮芥、硫芥、喜树碱的活性代

谢物(例如SN38)及其任意组合。

[0045] 本发明还提供一种在有需要的动物中治疗或改善一种或多种癌症症状的方法。这种方法一般包括至少将有效量的本文中公开的至少第一化学治疗化合物、或类似物、激动药、拮抗药或其衍生物或盐提供或施用于所述动物并持续足够时间以治疗或改善动物内的一种或多种癌症症状的步骤,所述施用无论是系统施用或是在动物身体内或周围的一个或多个区域或位点处的局部施用。

[0046] 在另外的方面中,本发明还提供用于抑制动物中癌细胞或肿瘤的生长方法。该方法总体上和一般意义上包括将一定量的本文中公开的一种或多种化学治疗化合物、或类似物、激动药、拮抗药或其衍生物或盐以足以抑制癌细胞或肿瘤生长的量和时间的方式提供给有需要的动物身体的一个或多个细胞或组织。

[0047] 在另一个方面中,本发明提供一种在对象并优选人中治疗癌症的方法。在总体和一般意义上,所述方法一般包括:将治疗有效量的本文中公开的一种或多种化学治疗化合物、或类似物、激动药、拮抗药或其衍生物或盐施用于有需要的对象;并施用一种或多种另外的化学治疗药、或治疗有效量的离子辐射或其组合。

[0048] 本发明还提供一种改善动物的癌症的一种或多种症状的方法。这种方法一般包括将有效量的化学治疗组合物提供给动物并持续足以改善动物的癌症的一种或多种症状的时间,所述化学治疗组合物包含:本文中公开的一种或多种治疗化合物、或类似物、激动药、拮抗药或其衍生物或盐;以及至少第一药学可接受的稀释剂。

[0049] 本发明提供的另外的方法是用于在损伤或杀死动物的一种或多种癌细胞或肿瘤中改变、影响、提高或改善化学治疗药剂的功效。该方法一般涉及:将这种药剂化学连接至MAO可转化的线粒体靶向/探寻型药物递送部分以形成以线粒体为靶向的组合物;然后将有效量的得到的化学治疗组合物提供给动物的一个或多个细胞、组织或器官,其中所述组合物杀死动物的一种或多种癌细胞的功效大于未连接的药剂单独的功效。

[0050] 本发明还提供一种将化学治疗药剂在需要抗癌治疗的动物内靶向于一种或多种癌细胞线粒体的方法。这种方法一般包括:将一种或多种线粒体活性的化学治疗药剂化学连接至一种或多种无活性前药的过程,当存在于线粒体中时,所述无活性前药展示至少第一化学治疗药的性能(例如DNA损伤活性或酰化活性)。这种化合物通过线粒体单胺氧化酶作用优选转化为相应的阳离子形式而从其无活性前药形式转换为活性形式,然后其在相对高的效率程度下并以具有得到的细胞毒性性质的量能够跨线粒体膜,然后将有效量的组合物提供给动物的一个或多个细胞、组织或器官,其中停留在线粒体内的化学治疗药剂的水平实质上高于保留在一个或多个癌细胞的细胞液内的化学治疗药剂的水平。这种示例性化合物包括但不限于,MP-MUS或APE-SN38。

[0051] 在本方法的实践中,过度增殖的状况优选为一种或多种癌症,包括但不限于神经胶质瘤癌症如多形性成胶质细胞瘤(GBM)、复发的多形性成胶质细胞瘤(rGBM)、星形细胞瘤、室管膜瘤、少突神经胶质细胞瘤、脑干神经胶质瘤或混合性神经胶质瘤。这种癌症可以诊断为或识别为癌症的晚期或高级别类型,包括但不限于晚期GBM。这种恶性神经胶质瘤可以包括一种或多种抗辐射的神经胶质瘤或神经胶质瘤干细胞。

[0052] 可被共同施用于所述对象的示例性其他药剂包括但不限于,一种或多种常规抗癌症药物如喜树碱、替莫唑胺、卡莫司汀及其组合。或者,本发明的方法还包括一种或多种外

科外科干预如肿瘤切除术,或可以还任选地包括治疗有效的电离辐射(即辐射治疗)的一个或多个过程。

[0053] 本发明还提供用于治疗动物对象的癌症的药物组合物,其中所述组合物包含本文中公开的一种或多种化学治疗化合物,且可以包含用于防止、治疗或改善人体对象的恶性神经胶质瘤的一种或多种症状的这种用途。

[0054] 在另一个方面中,本发明提供一种MAO可转化的(尤其是MAO-B可转化的)四氢吡啶化学治疗靶向/探寻器部分,所述部分可操作地连接至至少第一化学治疗药剂。这种药剂可以包括但不限于,氮芥、硫芥、舒凡类、顺铂、四硝酸铂衍生物、替莫唑胺、喜树碱、卡莫司汀、洛莫司汀、或其任意衍生物或类似物。优选地,MAO-B可转化的四氢吡啶化学治疗靶向的递送化合物具有通式1-甲基-4-(X)-吡啶,其中X如同图23中所定义的。在示例性实施方案中,将MAO-B可转化的四氢吡啶化学治疗递送化合物定义为MP-MUS或APE-SN38。

[0055] 在本发明的实践中,本发明的“探寻器/连接器/弹头”三重化合物优选与一种或多种药学可接受的媒介物或载体合并以提供治疗药物组合物,发现所述组合物在治疗和/或改善一种或多种哺乳动物(尤其是人)的疾病、功能障碍、失调、反常状况等的至少第一症状方面特别有用。在尤其优选的实施方案中,这些MAO转化性前药化合物可被提供在药物组合物中,以适用于递送给动物,从而用于诊断、治疗、预防和/或改善动物内的至少第一过度增殖性相关病症的至少一种或多种症状,并优选包括哺乳动物癌症如人神经胶质瘤等的病症的至少一种或多种症状。

[0056] 本发明还提供一种改变、影响、破坏或杀死动物体内或周围的一种或多种哺乳动物细胞的方法,所述动物具有、怀疑具有或已经诊断有一种或多种形式的哺乳动物癌症。这种方法一般涉及将治疗有效量的一种或多种公开的化学治疗制剂提供给一种或多种动物细胞并持续足以治疗和/或改善这种疾病的一种或多种症状的时间。

[0057] 本文中还提供如下方法:通过将有效量的一种或多种公开的治疗组合物提供给有需要的对象的一种或多种细胞、组织和/或器官并持续足以改变、调整、控制、提高和/或衰减至少一种组分、路径、酶或在这种细胞、组织、器官和/或体内的过度增殖细胞生长过程中所涉及的步骤的时间,从而改变、调整、控制、提高和/或衰减至少一种组分、路径、酶或在动物体内或周围过度增殖细胞生长过程中所涉及的步骤。

[0058] 本文中还提供治疗、预防和/或改善哺乳动物癌症的至少一种症状的方法,所述哺乳动物癌症包括但不限于人的神经胶质瘤。本文中还提供在一种或多种癌症、固体肿瘤等中控制速率、程度和/或至少第一哺乳动物细胞的代谢的方法和药物制剂。在特定实施方案中,所述方法一般包括:以足以中断、损伤、改变或削弱一种或多种线粒体核苷酸合成(例如通过如本文中所述的一种或多种DNA酰化“弹头”部分诱发DNA损伤)的量和时间将本发明的第一化学治疗化合物施用于这种细胞和/或组织,从而以足以促进杀死癌症和/或毁坏接受这种治疗的患者体内的癌症肿瘤的量和时间,充分损伤这种线粒体(以及所述线粒体所位于的细胞)的功能而中断或杀死动物体内或周围的一种或多种这种细胞(优选含这种细胞的哺乳动物肿瘤的部分或全部)。

[0059] 本文中还提供公开用于在经历治疗和/或癌症治疗的动物内治疗、预防和/或改善一种或多种(优选多种)癌细胞、组织、肿瘤等的人过度增殖性病症(例如哺乳动物神经胶质瘤等)的至少一种症状的方法。在特定实施方案中,以将化合物的无活性前药形式递送给动物

并然后通过酶MAO的分子内作用将前药转化为活性化学治疗药代谢物的方式对公开的多官能化合物进行设计,所述代谢物可有效控制、预防或促进破坏经历治疗的患者体内的一种或多种癌细胞群。在这种实施方案中,所述方法一般涉及以足以改变表达或调整一种或多种过度增殖癌细胞的活性的量和时间将至少第一MAO可活化的化合物施用于动物。尽管所述方法可能对各种肿瘤相关的状况提供益处,但这种激活的“弹头”化学治疗药剂在癌细胞线粒体内的浓度,这种线粒体膜电位促进的在癌细胞内的积聚,必然比常规化学治疗药剂提供更有利的性质,因为其促进降低所述药剂对动物的系统剂量,并优先通过癌细胞和/或肿瘤组织内线粒体单胺氧化酶的活性激活化学治疗药剂。当探究动物体内特定的癌症和/或肿瘤群的局部破坏或激活时,这是特别被预期期望的。

[0060] P14L30在相关方面中,本发明的化合物和组合物可以以靶向(即局部)或一般化(即系统)施用的方式降低特定类型的细胞在接收这种组合物的动物体内的活性或将其破坏。在这种实施方案中,所述方法一般涉及以足以降低或抑制一种或多种肿瘤细胞在为了接受治疗而选择的动物体内的活性的量和时间给药至少第一无活性前药化合物,其中一种或多种细胞单胺氧化酶作用导致无活性前药转化为活性化学治疗代谢物,所述代谢物在这种细胞的线粒体内优先具有活性。

[0061] 因此,根据本教导,现在能够设计药物组合物,所述药物组合物包含连接至MAO可活化的“弹头”(直接,或通过一个或多个化学连接器)的“探寻器”部分。

[0062] 化学治疗化合物及其药物制剂

[0063] 本发明的化合物以及包含其的组合物可以作为单一癌症治疗模态用于实践本发明,或替代性地可以与一种或多种另外的治疗药剂、诊断药剂和/或预防药剂合并,其包括但不限于:一种或多种蛋白质、肽、多肽(包括但不限于酶、抗体、抗原、抗原结合片段等);RNA分子(包括但不限于siRNA、iRNA、mRNA、tRNA以及催化RNA如核酶等)、DNA分子(包括但不限于寡核苷酸、聚核苷酸、基因、编码序列(CDS)、内含子、外显子、质粒、粘粒、噬菌体、杆状病毒、载体[包括但不限于,病毒载体、病毒粒体、病毒粒子等]);肽核酸、检测剂、成像剂、造影剂、可检测气体、放射性核素等、以及一种或多种另外的化学治疗药剂、外科干预(例如肿瘤切除术)、放射治疗等、或其任意组合以作为用于感染患者的多因子或多病灶治疗方案。

[0064] 本文中公开的组合物可以还另外任选地包含一种或多种另外的活性成分,包括但不限于一种或多种抗癌剂、一种或多种抗肿瘤药剂、一种或多种抗赘生物或细胞毒性药剂、一种或多种转录因子、免疫调节剂、免疫刺激剂、神经活性剂、抗炎剂、化学治疗药剂、激素、所谓的“营养因子”、细胞因子、趋化因子、受体激动药或拮抗剂等、或其任意组合。

[0065] 本发明的化学治疗制剂可以还另外任选地包含一种或多种另外的组分以帮助、促进或提高前药和/或活性代谢物的递送,优选地送到癌细胞的线粒体,包括但不限于,一种或多种脂质体、粒子、脂质复合物,且可还任选地包含一种或多种结合剂、细胞表面活性剂、表面活性剂、脂质复合物、niosomes、ethosomes、transferosomes、磷脂、sphingo lipids、sphingosomes或其任意组合,且可以任选地在药物制剂范围内提供,所述药物制剂包括一种或多种纳米粒子、微粒、纳米胶囊、微胶囊、纳米球、微球或其任意组合。

[0066] 优选地,通常配制本发明的化学治疗化合物及其盐、类似物和/或衍生物以用于系统和/或局部施用于动物,或施用于其一种或多种细胞或组织,特别地,进行配制以系统和/或局部施用于动物、或一种或多种癌细胞、肿瘤组织或受影响的器官。在特定实施方案中,

发现本文中公开的化合物和方法在将一种或多种抗肿瘤药剂系统和/或局部施用于人类的一种或多种细胞或组织方面特别有用。

[0067] 优选地,本文中公开的活性化合物的药物递送制剂在约4.2~约8.2的pH下至少基本稳定,更优选地,在约5~约7.5的pH下基本稳定。优选地,活性成分和靶向药物在给药其的动物的生理条件下基本呈活性。

[0068] 本发明还提供一种或多种公开的药物组合物在制造用于治疗 and/或改善疾病、病症、功能障碍或病况的一种或多种症状的药物中的用途,尤其是在制造用于治疗一种或多种疾病、功能障碍或病症如哺乳动物且尤其是人类哺乳动物中的神经胶质瘤癌症和肿瘤的药物中的用途。

[0069] 本发明还提供一种或多种公开的化学治疗药在制造用于治疗癌症且尤其是人神经胶质瘤的药物中的用途。在特定实施方案中,本发明还提供“探寻器”化合物,所述化合物可被连接至一种或多种新型或现有化学治疗组合物以促进哺乳动物癌症且尤其是人神经胶质瘤的治疗或预后的改进。

[0070] 化学治疗方法

[0071] 本发明的另一个重要方面涉及使用公开的MAO可活化的前药组合物,用于在具有、怀疑具有或存在发展成这种病况的危险的哺乳动物且尤其是被诊断有一种或多种神经胶质瘤癌症的那些哺乳动物中的疾病、病症、功能障碍或不足的症状进行治疗或改善的方法。这种方法一般涉及将一种或多种公开的抗癌组合物以足以治疗(或替代性地改善一种或多种症状)受影响的哺乳动物中的神经胶质瘤癌症的量和时间施用于哺乳动物(尤其是有需要的人)。

[0072] 在特定实施方案中,为了治疗癌症,根据需要将本文中所述的治疗作为单一治疗模态、作为单一给药提供给动物,或替代性地在几小时到几天、几天到几周的时间周期或甚至几周到几个月以上的时间周期内以多次给药的方式提供给患者。在某些方面中,期望在患者的整个寿命期内持续治疗。在其他实施方案中,期望以与一种或多种现有、或常规治疗方案组合的方式提供所述治疗。

[0073] 化学治疗套包

[0074] 包括一种或多种公开的化学治疗组合物的套包以及使用所述套包的说明书也代表本发明的优选方面。这种套包还包含单独地或以与一种或多种另外的治疗化合物、药物等组合的一种或多种公开的抗癌化合物。

[0075] 本发明的套包可以进行包装以用于商业分布,且可还任选地包含适用于将化学治疗组合物递送给动物的一种或多种递送装置(例如注射器、注射药等)。这种套包典型地包括至少一个小瓶、试管、瓶、瓶子、注射器或其他容器,药物组合物可以放置在其中并优选适当等分。在还提供第二药物的情况中,套包可以还包含第二截然不同的容器,将该第二组合物放入其中。或者,本文中公开的多种药物组合物可以以单一混合物如悬浮液或溶液的方式制备,或可以包装在单一容器如小瓶、瓶、注射器、导管、插管、瓶子或其他合适单一容器内。

[0076] 本发明的套包还典型地包括适用于以封闭限制的方式包含或持留小瓶或其他容器以用于商业销售的保留机制如注射成型或吹塑成型的塑料容器,在其中保留期望的小瓶或其他容器以使破裂最小化或防止破裂、暴露在太阳光下或其他不期望的因素,或允许现

成地使用包含在套包内的组合物。

[0077] 药物的制备

[0078] 本发明的另一个重要方面涉及将公开的化学治疗药剂以及包含其一种或多种的药物制剂用于制备一种或多种药物以治疗或改善动物如脊椎哺乳动物的癌症症状的方法。

[0079] 这种使用一般涉及将一种或多种公开的组合物以足以预防、治疗、减轻或治愈受影响动物的疾病、病症、功能障碍、病况或不足和/或改善其一种或多种症状的量和时间施用于有需要的动物。

[0080] 包含一种或多种公开的药物制剂的组合物也形成本发明的重要部分,所述药物制剂包含至少一种MAO可转化的化学治疗组合物。特别期望的是如下所述那些制剂:除了包含一种或多种这种化学治疗药剂,另外还包含至少一种药学可接受的赋形剂,使得所述组合物令人满意地用于哺乳动物的癌症治疗、尤其是人的治疗。

[0081] 这种制剂可任选地还包含适用于施用于动物的一种或多种另外的活性成分、检测试剂、媒介物、添加剂或佐剂、放射性核素、气体、或荧光标记。这种给药途径是已知的并可由本领域技术人员选择,且包括但不限于:递送装置,包括肌肉内、静脉内、动脉内、鞘内、腔内、心室内、皮下或直接递送、给药和/或注射入接受者动物内的器官、组织位点或细胞群。

[0082] 本发明还提供将治疗或预防量的MAO可活化的化合物提供给哺乳动物体内的至少第一细胞群或一个或多个组织的方法,所述方法一般包括将有效量的本文中公开的抗癌症组合物提供给有需要的哺乳动物并持续足以在哺乳动物的选定的细胞或组织内提供期望的治疗和/或预防的时间。

[0083] 药物制剂

[0084] 在特定实施方案中,本发明涉及一种或多种化学治疗化合物在药学可接受的组合物中的制剂,所述制剂单独或以与诊断、预防和/或治疗中的一种或多种其他模态组合的方式施用于细胞或动物。药学可接受的赋形剂和载体溶液的制剂对本领域技术人员是公知的,照原来的样子在各种治疗方案中开发用于使用本文中所述的特定组合物的剂量给药和治疗方案。

[0085] 在特定实施方案中,期望的是,将本文中公开的化学治疗组合物在适当配制的药物媒介物中或通过一种或多种标准递送装置的方式递送到动物体内或周围的一个或多个细胞、组织或器官,所述递送装置包括但不限于,皮下、肠胃外、静脉内、肌肉内、鞘内、经口、腹膜内、经皮、局部给药装置,通过口或鼻吸入,或通过直接注射。

[0086] 给药方法还包括在美国专利5,543,158、5,641,515和5,399,363中所述的那些模态,通过参考将各个专利以其完整形式明确并入本文中。作为游离碱或药理学上可接受的盐的活性化合物的溶液,可以在无菌的水中制备并与一种或多种表面活性剂如羟丙基纤维素适当混合。还可以在甘油、液体聚乙二醇、油或其混合物中制备分散液。在储存和使用的普通条件下,这些制备包含防腐剂以防止微生物生长。

[0087] 为了给药可注射的水溶液,在无限制的条件下,可以根据需要对溶液进行适当缓冲,并利用足够的盐水或葡萄糖首先使液体稀释剂是等渗的。这些特定的水溶液特别适用于静脉内、肌肉内、皮下、经皮、皮下和/或腹膜内给药。在这点上,本发明的组合物可以配制在一种或多种药学可接受的媒介物中,包括例如无菌水性介质、缓冲液、稀释剂等。例如,可以将给定剂量的活性成分溶于特定体积的等渗溶液(例如等渗NaCl基溶液)中并然后在推

荐的给药位点处进行注射,或进一步在媒介物中稀释以适用于静脉内输注(参见例如“Remington’s Pharmaceutical Sciences”15th Edition, pages 1035-1038 and 1570-1580)。尽管根据治疗对象的状况、治疗程度和给药位点需要对剂量进行一些改变,然而负责给药的人使用医学和药学领域的普通知识能够确定适用于各个对象的正确的剂量给药方案。

[0088] 通过将公开的药物递送媒介物以所需量并入具有所需要的上面列举的几种其他成分的合适溶剂中,随后过滤灭菌,可以制备无菌的可注射组合物。通常,通过将选择的经灭菌的活性成分并入经灭菌的媒介物中能够制备分散液,所述媒介物包含基础分散介质和上面列举的物质中所需要的其他成分。本文中公开的组合物还可以以中性或盐的形式配制。药学可接受的盐包括酸加成盐(与蛋白质的游离氨基形成的),且其与无机酸或有机酸形成,所述无机酸例如但不限于盐酸或磷酸,所述有机酸例如但不限于乙酸、草酸、酒石酸、扁桃酸等。与游离的羧基形成的盐还能够得自无机碱和有机碱,所述无机碱例如但不限于钠、钾、氨、钙或铁的氢氧化物,且所述有机碱例如异丙胺、三甲胺、组氨酸、普鲁卡因等。在配制时,以与剂量制剂相容并以对预期的应用有效的量给药溶液。所述制剂易于以各种剂量形式给药,如可注射的溶液,局部制剂,口服制剂,包括持续释放胶囊,水凝胶,胶体,粘性凝胶,经皮试剂,鼻内和吸入制剂。

[0089] 本文中公开的化学治疗组合物的量、剂量方案、配制和给药在具有本教导益处的普通技术人员的范围内。然而,可能的是,通过单一给药来给药治疗有效(即药物学上有效的)量的公开的抗癌症组合物,所述单一给药例如但不限于单一注射足够量的被递送药剂以向经历这种程序的患者提供期望的益处。或者,在某些情况中期望的是,在相对短或甚至相对长的时间内提供本文中公开的MAO调节的抗癌症组合物的多次或连续给药,这由对将这种组合物施用于选择的个体进行监视的医学从业者确定。

[0090] 典型地,本文中公开的一种或多种活性成分的制剂至少包含化学治疗有效量的活性剂。优选地,所述制剂可以包含至少约0.001%的各种活性成分,优选至少约0.01%的活性成分,但活性成分的百分比当然可以改变,且可以便利地以基于总制剂约0.01~约90重量%或体积%、或约0.1~约80重量%或体积%、以及更优选约0.2~约60重量%或体积%的量存在。自然地,以使得在任意给定单位剂量的化合物中得到合适剂量的方式准备活性化合物在各种组合物中的量。在制备这种药物制剂领域中的技术人员可以预期诸如溶解度、生物利用度、生物学 $t_{1/2}$ 、给药途径、产品寿命以及其他药理学考虑的因素,同样地,可以期望多种剂量和治疗方案。

[0091] 通过任意有效方法可以给药本文中公开的化学治疗组合物,所述方法包括但不限于,肠胃外、静脉内、肌肉内、或甚至如美国专利5,543,158、5,641,515和5,399,363(通过参考将其各个以其完整形式明确并入本文中)中所述的腹膜内给药。在适当混合表面活性剂如羟丙基纤维素的水中或以其他类似方式可以制备作为游离碱或药理学上可接受的盐的活性化合物的溶液。适用于可注射给药的药物形式包括无菌水溶液或分散液、以及用于临时制备无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末,所述无菌可注射溶液或分散液包括但不限于美国专利5,466,468(通过参考以其完整形式将其明确并入本文中)中所述的那些。在所有情况中,所述形式必须是无菌的并必须达到存在易于注射性的流体程度。其至少在制造和存储条件下足够稳定,并必须防止微生物如病毒、细菌、真菌等的污染作用。

[0092] 所述载体能够为溶剂或分散介质,包括但不限于水、乙醇、多元醇(例如丙三醇、丙

二醇和液态聚乙二醇等、或其组合)、一种或多种植物油或其任意组合,但可以包括另外的药学可接受的组分。

[0093] 例如通过使用涂层如卵磷脂、通过在分散的情况中保持所需要的粒径、通过使用表面活性剂或通过技术的任意组合,可以保持本文中公开的制剂的合适流动性。通过一种或多种抗菌或抗真菌剂如但不限于苯甲酸酯、氯丁醇、酚、山梨酸、噻汞撒等能够呈现抑制或预防微生物的作用。在许多情况中,优选包括等渗剂,所述等渗剂例如但不限于一种或多种糖或氯化钠、或其任意组合。通过在组合物中使用延迟吸收的试剂能够呈现可注射组合物的延长吸收,所述试剂例如但不限于单硬脂酸铝、明胶或其组合。

[0094] 尽管在本发明的许多实施方案中系统给药预期是有效的,但还可预期,所公开药物递送组合物的制剂可以适用于直接注射入身体的一个或多个器官、或细胞类型。使用合适手段给药的公开的组合物,所述手段包括相关医学领域中的技术人员所已知的那些手段。例如,可以使用医学领域中常规使用的任意方法来给药本文中公开的化学治疗药剂。在特定实施方案中,公开的化学治疗药剂和/或其前药形式可以使用一种或多种药物缓冲物、媒介物或稀释剂来配制,并期望通过合适途径施用于哺乳动物。

[0095] 本文中公开的制剂无论如何不能限制为仅用于人、或甚至灵长类或哺乳动物。在特定实施方案中,可以使用鸟类、两栖类、爬虫类或其他动物来使用本文中公开的方法和组合物。然而,在优选实施方案中,优选对本发明的组合物进行配制以在各种诊断、治疗和/或预防方案中施用于哺乳动物、尤其是施用于人。本文中公开的组合物还可设置在兽医给药可接受的制剂中,所述兽医给药包括但不限于选择的家畜、外来或驯化的动物、伴侣动物(包括宠物等)、非人灵长类动物以及动物学或另外的捕获样本等。

附图说明

[0096] 为了进一步理解本发明的原理,现在对附图中所示的实施方案或实例进行了参考并使用特定的语言对其进行描述。然而应理解,并不是因此来限制本发明的范围。实施方案中所述的任意变化和另外的变体、以及本文中所述的本发明原理的任意其他应用是可以预期的,这对于本发明相关领域中的技术人员是正常发生的。

[0097] 如下附图形成本说明书的一部分并包括所述附图以展示本发明的特定方面。结合附图,通过参考如下说明,将更好地理解本发明,在所述附图中类似的参考数字表示类似的元件,其中:

[0098] 图1A和图1B显示了用于本发明实践中的示例性的线粒体破坏性的弹头递送化合物。特别地,显示了MP-MUS(N,N-二(2-氯乙基)-2-(1-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基)丙酰胺)/P⁺-MUS(I)(4-(1-[二(2-氯乙基)氨基羰基]乙基)-1-甲基吡啶-1-鎓);

[0099] 图2A和图2B显示了单胺氧化酶底物特异性的计算机模拟。图2AI和II显示了“完美”取代的MPTP类似物的结构,所述类似物与酶袋轮廓具有高的MAO-A特异性I)或MAO-B II)特异性。图2A III显示了MP-MUS(I)且图2B显示了在装入MAO-B袋中时的化合物;

[0100] 图3显示了试卤灵-氨丙基醚对试卤灵的MAO催化氧化;

[0101] 图4显示了无活性SN38-氨丙基醚形式对其活性SN38代谢物的MAO催化氧化;

[0102] 图5显示了氯乙基-(甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基)丙酰基)氮丙啶鎓的示例性合成方案;

[0103] 图6A和图6B显示了MP-MUS (I)、替莫唑胺和母体芥 (parental mustard) 在24小时时的细胞毒性的比较。显示的是在使用二次正交技术 ($n=3$, ± 1 标准偏差) 的条件下MP-MUS (I)、替莫唑胺和母体芥对BT-111细胞的生长的影响。图6A显示了LDH的生长且图6B显示了线粒体XTT减少;

[0104] 图7A、图7B、图7C和图7D表明,在12 μ M的MP-MUS (I) 存在的条件下线粒体膜电位下降超过三分之一历时24小时。当将细胞与MAO-B抑制剂司来吉兰共同温育时90%的信号被保持,表明前药成熟作为可能的靶向机制;

[0105] 图8A、图8B和图8C表明,MP-MUS (I) 改变了神经胶质瘤细胞中的线粒体蛋白质水平;

[0106] 图9A、图9B、图9C、图9D、图9E和图9F显示了本发明的示例性实施方案,特别是在BT-111细胞中DNA断裂的测量和定量;

[0107] 图10A和图10B显示了在缺少和存在2 μ M司来吉兰下暴露在[APE-SN38]下的原发GBM的两种培养物中的细胞蛋白质%。在各个浓度下在3个孔中对司来吉兰处理的细胞进行了测量 (○),并在6个孔中对仅用APE-SN38处理的细胞进行了测量 (●)。误差条是在各个APE-SN38浓度下的SEM。使用BCA/SDS法 (具有0.1%十二烷基硫酸钠洗涤剂的二喹啉甲酸 (BCA) 蛋白质测试试剂盒, (Thermo Fisher Scientific Inc., Rockford, IL USA; Cat# 23235)) 对蛋白质进行了测量;

[0108] 图11A和图11B显示了在缺少和存在2 μ M司来吉兰下暴露在[APE-SN38]下的原发GBM的两种培养物中的细胞蛋白质%。在各个浓度下在3个孔中对司来吉兰处理的细胞进行了测量 (○),并在6个孔中对仅用APE-SN38处理的细胞进行了测量 (●)。误差条是在各个APE-SN38浓度下的SEM。使用图10A和图10B的图例中所述的BCA/SDS法对蛋白质进行了测量;

[0109] 图12显示了司来吉兰保护BT-111和BT115GBM培养物免于细胞死亡;

[0110] 图13A和图13B显示了MP-MUS向活性带电形式转化的示意图,其跨越线粒体膜并在在线粒体内得到1000倍的浓度;

[0111] 图14显示了APE-SN-38的示例性的示意性合成;

[0112] 图15显示了APE-SN-38的核磁共振 (NMR) 图谱;

[0113] 图16显示了MP-MUS的NMR图谱;

[0114] 图17显示了在本发明实践中可用的MP-MUS基多组分化合物的整个“家族”的纵览;

[0115] 图18显示了MP-MUS多组分化合物的示例性组合/排列变体,所述化合物包括具有四氢吡啶环取代的那些化合物,其中 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_5 和 R_6 包括但不限于,卤素、羟基、氧代、氰基、硝基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、烷基、烷氧基、烷硫基、卤代烷基、芳基、芳烷基、杂芳基、杂芳烷基、杂环和杂环烷基、以及 $-NR_aR_b$ 、 $-NR_aC(=O)R_b$ 、 $-NR_aC(=O)NR_aNR_b$ 、 $-NR_aC(=O)OR_b$ 、 $-NR_aSO_2R_b$ 、 $-C(=O)R_a$ 、 $C(=O)OR_a$ 、 $-C(=O)NR_aR_b$ 、 $-OC(=O)NR_aR_b$ 、 $-OR_a$ 、 $-SR_a$ 、 $-SOR_a$ 、 $-S(=O)_2R_a$ 、 $-OS(=O)_2R_a$ 和 $-S(=O)_2OR_a$ 。另外,可以利用一个或多个上述取代基对上面列出的各个取代基进一步进行取代,使得取代基包含取代的烷基、取代的芳基、取代的芳烷基、取代的杂环或取代的杂环烷基。在本文中 R_a 和 R_b 相同或不同,且独立地为氢、烷基、卤代烷基、取代的烷基、芳基、取代的芳基、芳烷基、取代的芳烷基、杂环、取代的杂环、杂环烷基或取代的杂环烷基;

[0116] 图19A、图19B、图19C、图19D、图19E、图19F、图19G、图19H、图19I和图19J显示了根据本发明一个方面的MP-MUS双官能化合物中连接器的示例性组合/排列变体；

[0117] 图20显示了将药物转化成根据本发明一个方面的MAO敏感前药的示例性的N-取代的-3-氯丙胺。本质上，具有活性醇或硫醇的任意常规药物都能够转化为前药，在MAO对得到的醚或硫醚进行酶作用之后所述前药才能够转化为活性药物形式。MAO-A和MAO-B的底物结合袋的底部的尺寸/疏水性将赋予底物选择性；

[0118] 图21A和图21B显示了用于将选择的治疗化合物转化成适用于本发明实践中的MAO敏感前药的示例性的N-取代的-3-氯丙胺。图21A显示了示例性醇，而图21B显示了示例性硫醇；取代基 R_1 、 R_2 和 R_3 包括但不限于，卤素、羟基、氧代、氰基、硝基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、烷基、烷氧基、烷硫基、卤代烷基、芳基、芳烷基、杂芳基、杂芳烷基、杂环和杂环烷基、以及 $-NR_aR_b$ 、 $-NR_aC(=O)R_b$ 、 $-NR_aC(=O)NR_aNR_b$ 、 $-NR_aC(=O)OR_b$ 、 $-NR_aSO_2R_b$ 、 $-C(=O)R_a$ 、 $C(=O)OR_a$ 、 $-C(=O)NR_aR_b$ 、 $-OC(=O)NR_aR_b$ 、 $-OR_a$ 、 $-SR_a$ 、 $-SOR_a$ 、 $-S(=O)_2R_a$ 、 $-OS(=O)_2R_a$ 和 $-S(=O)_2OR_a$ 。

[0119] 图22A、图22B、图22C和图22D显示了示例性的现有化学治疗药剂，所述化学治疗药剂根据本发明的方法能够转化为MAO敏感的前药；

[0120] 图23A、图23B、图23C、图23D和图23E显示了在本发明实践中可用的各种MPTO衍生物的MAO-A活性和MAO-B活性；

[0121] 图24A和图24B显示了24小时的MP-MUS处理的效果。观察到肿瘤体积统计学上显著下降约50%；

[0122] 图25显示，肿块是肿瘤。提取肿块并切碎，放入细胞培养介质中，观察到一小块肿块充满了GBM，所述GBM生长到肿块外，到达细胞培养孔的底部；

[0123] 图26A和图26B显示了源自未处理的和用MP-MUS处理的肿瘤的GBM。尽管未处理的细胞呈现恰好如同母体BT111，但用MP-MUS处理的细胞的状态差，通过大量细胞碎片所证实（即使已经对其进行了洗涤）；

[0124] 图27显示了在治疗和未治疗的小鼠中肿瘤尺寸的图，误差条为SEM。在顶部的统计学差异，首先 $p < 0.05$ 、然后 $p < 0.005$ ，最后 $p < 0.0005$ ；

[0125] 图28显示了数据的不同图（未治疗的减去治疗的平均值）。曲线的形状表明，在首次注射之后肿瘤收缩60%，然后MP-MUS细胞的生长小于未治疗速率的50%；且

[0126] 图29显示了肿瘤尺寸在两个小鼠群体中的分布。治愈了两个小鼠，且所有MP-MUS治疗的小鼠低于未治疗动物的平均大小。经治疗小鼠的90%的肿瘤小于最小的未治疗的肿瘤。未治疗小鼠的分布是高斯（Gaussian）分布（即正态分布），但在MP-MUS治疗的中最大的一个使其呈非高斯分布。

[0127] 示例性实施方案说明

[0128] 下面对本发明的示例性实施方案进行说明。为了清楚，在该说明书中未对实际执行的所有特征进行说明。当然应理解，在任一这种实际实施方案的开发中，必须制定大量执行的具体决策以实现开发者的具体目标如符合系统相关的和商业相关的约束，其将从一个执行变化到另一个。而且应理解，这种开发尝试可能负责并耗时，但本领域技术人员所采用的路线应具有本发明的益处。

[0129] 神经胶质瘤特异性药物的设计标准

[0130] 设计通过产生线粒体聚集毒素而特异性杀死神经胶质瘤的药物需要三个主要标准。

[0131] 首先,药物必须具有有毒的“弹头”,其将毁坏线粒体(靶向mtDNA和线粒体核糖体RNA)。

[0132] 第二,药物必须具有高的MAO-B/MAO-A的特异性之比,从而神经胶质瘤且不是通常的细胞成为主要的靶。

[0133] 第三,药物必须具有固有的“类药性”并能够跨血脑屏障。

[0134] 类药性是经过计算的药物级别,其通过将潜在的药物化合物的结构与具有有用的药物性质的已知化合物进行比较而得到(Slimak,2010;Gimenez et al,2010;Lajiness et al,2004;Lipinski et al,2001;Lipinski等人,1997;Verber等人,2002)。

[0135] MAO-A和MAO-B酶在癌细胞中的水平

[0136] 开发MP-MUS作为本发明中的示例性化学治疗药是以化合物MPTP生物转化成线粒体靶向阳离子MPP+的公知能力为基础的。根据该工作,现在能够选择性地合成MPTP的变体以具有MAO-A和/或MAO-B的特异性,所述MPTP已经显示因MAO-A和MAO-B而具有不同的生物转化水平。例如,在高级别前列腺癌中已经观察到了MAO-A酶的高水平表达(True等人,2006)。469良性样品和889癌症样品的比较表明,相对于良性分泌上皮,MAO-A蛋白质表达在癌症上皮中升高($P<0.0001$),且相对于Gleason3样品,MAO-A表达在Gleason4或5样品中明显升高($P<0.0001$)。已经表明,MAO-B的活性在星形细胞瘤、低级别星形细胞瘤中和恶性星形细胞瘤中明显高于尸检对照脑中的($p<0.01$) (Gabilondo等人,2008)。

[0137] 基于MPTP类似物的MP-MUS类似物

[0138] 已经制备了大量MPTP类似物,并对其MAO A/B底物的性质进行了研究。人的MAO-A和MAO-B的晶体结构是已知的,且所述知识允许建模研究和合理的药物设计。已经发现:1) 在四氢吡啶环的4位和5位处的双键对于化合物成为MAO底物是关键的;2) 在四氢吡啶环的C-4和N-1位置处的取代基有利地提高了MAO-A/MAO-B氧化的动力学,并改变了底物针对两种酶的特异性(典型地,位于四氢吡啶环之外的烷基消除针对MAO-A和MAO-B两者的反应性,但差别性地改变了底物对两种酶的特异性);3) 将在N-1位置处的取代限制为小取代基(N-甲基呈现为理想的大小,而诸如N-H、N-甲基、N-乙基和N- α -羟乙基不太有利);4) 苯环对于MAO底物的化合物不是必须的,且利用1-甲基-2-吡咯基-、苯甲基-或苯氧基-基团对苯环进行置换提高MAO的反应性(例如4-环己基类似物对作为MPTP的底物是有效的);和5) 在苯环上的对位取代基产生对反应性不利的空间位阻,而邻-和间-取代基可以在活性位点内具有稳定相互作用而提高反应性。

[0139] MP-MUS变体

[0140] 本发明可扩展到各种化学治疗MAO-A和MAO-B化合物,所述化合物具有图17中所示的一般结构。MP-MUS“母体”化合物呈现在三个功能块中:N-取代的四氢吡啶(靶向部分或“探寻器”);连接基团,对所述连接基团进行改造以固定MAO-A和/或MAO-B中任意一者的酶袋;以及治疗部分(或“弹头”),其具有对生物大分子如蛋白质、DNA和RNA造成损害的性质或充当对生命生死攸关的酶或运输器或信号系统的特异性抑制剂。

[0141] 示例性定义

[0142] 如本文中所使用的术语“约”和“大致”,是可交换的,且应通常理解为是指在给定

数值附近的数值范围、以及在数值引用范围内的所有数值(例如“约5~15”是指“约5~约15”,除非有另外说明)。而且,本文中的所有数值范围都应理解为包括在所述范围内的各个完整整数。

[0143] 如本文中所使用的术语“例如”,仅通过实例来使用,而不适用于限制,且不应解释为仅是指说明书中明确列举的那些项。

[0144] 如本文中所使用的,术语“载体”用于包括任意溶剂、分散介质、涂层、稀释剂、缓冲物、等渗剂、溶液、悬浮液、胶体、惰性物质等、或其组合,其对于相关动物的给药在药物学上是可接受的。通常的用于化学化合物的一种或多种递送媒介物、特别是化学治疗药的使用,对药物学领域中的技术人员是公知的。除了在任意常规介质或试剂与活性成分不相容的范围之外,其在诊断、预防和治疗组合物中的使用是可以预期的。一种或多种补充活性成分也可以并入一种或多种公开的化学治疗组合物中、或与其一起给药。

[0145] 如本文中所使用的,术语“患者”(还可互换地称作“宿主”或“对象”)是指能够接受本文中公开的一种或多种药物组合物的任意宿主。优选地,所述对象为脊椎动物,其倾向于是指任意动物物质(优选哺乳动物物质如人类)。在特定实施方案中,“患者”是指包括但不限于任意哺乳动物宿主的任意动物宿主。优选地,所述术语是指任意哺乳动物宿主,后者包括但不限于,人和非人灵长类、牛、犬、羊、豚鼠、乌鸦、epines、马、猫、山羊、兔子、野兔、狼、鼠科动物、绵羊、猪、蛙科动物、racines、狐狸等,包括家畜、动物学样本、外来物质以及伴侣动物以及在兽医从业者照料下的任意动物。患者能够为所述患者通过产生免疫响应而对接种本疫苗能够做出响应的任意年龄。在特定实施方案中,哺乳动物患者优选为人。

[0146] 短语“药学可接受的”是指分子实体和组合物,其在施用于哺乳动物时且由其是施用于人时不会产生过敏或类似的麻烦反应。如本文中所使用的,“药学可接受的盐”是指优选保持母体化合物期望的生物活性并不会损害任意不期望的毒理学效果的盐。这种盐的实例包括但不限于,由无机酸(例如盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、硝酸等)形成的酸加成盐;由有机酸形成的加成盐,所述有机酸包括但不限于,乙酸、草酸、酒石酸、琥珀酸、马来酸、富马酸、葡糖酸、柠檬酸、苹果酸、抗坏血酸、苯甲酸、鞣酸、帕莫酸(扑酸)、海藻酸、茶酸、聚谷氨酸、茶磺酸、茶二磺酸、聚半乳糖醛酸;具有多价金属阳离子如锌、钙、铋、钡、镁、铝、铜、钴、镍、镉等;利用有机阳离子形成的盐,所述有机阳离子由N,N'-二苯甲基乙二胺或乙二胺及其组合形成。

[0147] 本文中使用的“蛋白质”可以与“肽”和“多肽”互换,并包括以合成、重组或体外的方式制造的肽和多肽、以及在将核酸序列施用入宿主动物或人类对象之后体内表达的肽和多肽两种。术语“多肽”优选倾向于是指任意的氨基酸链长度,包括在长度上约2~约20个氨基酸残基的短肽的多肽、在长度上约10~约100个氨基酸残基的寡肽、以及在长度上包括约100个氨基酸残基或更大的更长的多肽。此外,所述术语还倾向于包括酶,即包括至少一个氨基酸聚合物的功能生物分子。本发明的多肽和蛋白质还包括进行或已进行转录后修饰的多肽和蛋白质,并包括添加到主氨基酸链的任意糖或其他衍生物或结合物。

[0148] 如本文中所使用的,关于组分的量的术语“基本不含”或“实质不含”优选是指组合物包含小于约10重量%、优选小于约5重量%且更优选小于约1重量%的化合物。在优选实施方案中,这些术语是指小于约0.5重量%、小于约0.1重量%或小于约0.01重量%。

[0149] 如本文中所使用的术语“神经胶质瘤”,包括但不限于,由中枢神经系统的非神经

元细胞如神经胶质和相关细胞如室管膜细胞、星形胶质细胞、少突胶质细胞等造成的肿瘤。术语神经胶质瘤包含疾病状况,例如但不限于,室管膜瘤、星形细胞瘤(尤其是成胶质细胞瘤)、少突神经胶质细胞瘤、少突神经星形细胞瘤和混合源的其他神经胶质瘤,例如源自超过一种类型的细胞的那些肿瘤,所述细胞包括星形胶质细胞、室管膜细胞和/或少突胶质细胞的细胞。受影响的组织可以包括神经系统的任意一个或多个部分,例如但不限于,脑、脊髓组织等。

[0150] 如本文中所使用的术语“药学可接受的盐”是指本发明的得自药学可接受的碱、无机酸或有机酸的化合物。合适的酸的实例包括但不限于,盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、过氯酸、富马酸、马来酸、磷酸、羟基乙酸、乳酸、水杨酸、琥珀酸、对甲苯磺酸、酒石酸、乙酸、柠檬酸、甲基磺酸、甲酸、苯甲酸、丙二酸、萘-2-磺酸、三氟乙酸和苯磺酸。得自合适的碱的盐包括但不限于,诸如钠和氨的碱。

[0151] 如本文中所使用的,术语“预防”和“抑制”是指在疾病状态的临床症状发作之前单独或以包含在药物组合物中的方式给药化合物,从而防止疾病状态的任意症状、方面或特征。这种防止和抑制不必是在医学上认为是绝对有用的。

[0152] 如本文中所使用的,术语“治疗”是指在疾病状态的临床症状发作之后给药一种或多种化合物(单独或以包含在一种或多种药物组合物中的方式),从而降低或消除疾病状态的任意症状、方面或特征。这种治疗不必是在医学上认为是绝对有用的。同样地,术语“治疗”可以是指治疗、或改善或减轻疾病的程度或严重性、其一种或多种症状的程度或严重性,无论是在其发展使患者遭受病患折磨之前或之后。

[0153] 如本文中所使用的,短语“需要治疗”是指由诸如医师或兽医的护理者做出的判断,以决定患者是否需要治疗(或以一种或多种方式获得益处)。根据各种因素做出这种判断,所述因素归属于护理者的专业领域,且可以包括确定患者是否由疾病状态造成生病的知识,所述疾病状态可以通过诸如本文中提出的一种或多种化合物或药物组合物治疗。

[0154] 如本文中所使用的术语“例如”,仅通过实例来使用,倾向于不用于限制,并不应解释为仅是指说明书中明确列举的那些项。

[0155] 根据长期专利法公约,单词“a”和“an”,当用于该说明书中、包括权利要求书中时,是指“一个或多个”。

实施例

[0156] 包括如下实例以展示本发明的示例性实施方案。本领域技术人员应理解,这些实例中公开的技术代表为了更好地实践本发明而发现的技术,由此认为其构成用于实践本发明的优选模式。然而,本领域技术人员根据本发明应理解,在不背离本发明的主旨和范围的条件能够在公开的特定实施方案中完成多种变化并仍获得相同或类似的结果。

[0157] 实施例1-神经胶质瘤-特异性药物设计(1)

[0158] 使用上述标准,发明人已经设计并合成了新型前药,已经对所述新型前药的活化形式进行了特异性设计以杀死哺乳动物神经胶质瘤。通过哺乳动物MAO-B酶对被称作MP-MUS(I)的这种前药进行活化以形成酰化剂 P^+ -MUS(I),其离子电荷和固有的亲脂性导致药剂的线粒体聚集。在原发性人成胶质细胞瘤细胞中对该化合物成功进行了试验,并显示体内具有有效的抗癌性质。

[0159] 1.MP-MUS (I) 是用于癌症治疗的线粒体特异性“智能炸弹”。

[0160] 设计MAO-B特异性“弹头”化合物。由MAO-B介导将1-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶部分转化成1-甲基-吡啶鎓阳离子促进本文中所述新型治疗药的线粒体靶向(图1A)。

[0161] 这种“智能炸弹”化学治疗药的“弹头”是氮芥,自二十世纪四十年代就将其用于治疗癌症。将N-氯乙烷环化成反应性氮丙啶(基于铵的三元环)促进DNA/RNA碱、尤其是鸟嘌呤上的N-7基团的酰化。

[0162] 传统的氮芥经历水解,并在中性pH下具有约10~90分钟的半衰期(Price,1968)。在理想的“弹头”中,针对神经胶质瘤MAO-B的生物转化对“弹头”的反应性进行调整,使得“弹头”活性的一部分尽可能大地发生在MAO活性靶癌细胞的线粒体内。

[0163] 本发明人设计了一种较低反应性的氮芥,其在人体内持续足够长的时间以被神经胶质瘤MAO-B活化,但不是MAO-B自杀底物,因为并入了羰基氧(参见例如图1B)。所述羰基是吸引电子的,从而其使得氮丙啶形式不稳定,并产生两种期望的效果:第一,仅少部分前药/药物在任意时间都具有反应性;第二,不稳定的氮丙啶比“典型的”氮芥的反应性更高。

[0164] 氮丙啶的稳定提供化合时间以在神经胶质瘤内通过MAO-B进行生物转化,并确保成熟的线粒体靶向活性化合物的强力。

[0165] 另外,可通过消除HCl和亚胺/乙基氯的环化来形成恶唑,这也将提高酰化基团的稳定性。

[0166] 开发药物靶向系统。与MAO-A相比,MPTP优先被MAO-B氧化的速率,典型地表示为两种 K_{cat} 之比;其中 K_{cat} 是除以 K_m 的最大催化活性(Heikkila等人,1988)。MAO-B/MAO-A之比在4~10的数量级上,这取决于特定的缓冲条件(参见例如Heikkila等人,1988;Castagnoli等人,1999;Nimkar等人,1999;Palmer等人,1997;Castagnoli等人,1997)。而且,对于在MPTP的双环系统上的宽范围的不同取代的MAO-B/MAO-A动力学已经广泛进行了研究(参见例如Castagnoli等人,1999;Nimkar等人,1999;Palmer等人,1997;Castagnoli等人,1997)。

[0167] 使用关于不同MPTP类似物的动力学的可获得的信息(例如Palmer,1998),发明人设计了一对计算机“理想”的MAO-A-特异性MPTP类似物和MAO-B-特异性MPTP类似物(参见图2A)。MAO-A/B的底物结合位点能够分为三个区域:在FAD部分周围的胺结合袋P1';以及由两个隔壁P2'和P3'构成的“选择性空隙”(遵循Efange和Boudreau,1991的术语)。P2'是MAO-A中既最大又更靠近FAD位点,而P3'在MAO-B中最大(Flamand等人,2010;Castagnoli等人,1999;Nimkar等人,1999;Palmer等人,1997;Castagnoli等人,1997;Palmer,1998;Efange和Boudreau,1991;Binda等人,2007)(参见图2A)。

[0168] 对MP-MUS (I) 进行设计,使其以计算机方式配合进入人MAO-B的袋中。图2B显示了MP-MUS (I) 在人MAO-B的袋中的配合;(结构识别代码,2V60;Binda等人,2007)。

[0169] “类药性”。如上所述,用于治疗神经胶质瘤的候选药物化合物应具有“类药性”,即其应具有可被预测导致口服生物利用度、易于跨血脑屏障并具有足够的化学和代谢稳定性以及最小的中毒效果的性质。使用Molinspiration性质计算器(Slimak,2010)对前药MP-MUS (I) 和成熟活性“杀手”化合物 P^+ -MUS (I) 两者进行了检验。将这些数据示于表1中。

[0170] 表1

[0171]

MP-MUS(I)/P ⁺ -MUS 和 MPTP/MPP ⁺ 的类药性							
法则	参数	MP-MUS	MPTP	P ⁺ -MUS	MPP ⁺	MP	P ⁺
Lipinski	LogP	2.24	2.33	-3	-2.73	>1-5<	<<0
	MW	293	173	290	170	<450	
	H 键受体	3	1	3	1	≤10	
	H 键供体	0	0	0	0	≤5	
Veber	可旋转的键	6	1	6	1	>6-10<	
	Mol 极性 SA	23.6	3.24	24.2	3.9	>15-40<	

[0172] 本领域已知的广泛用于估计类药性的是Lipinski的“五倍率法则”(参见例如 Gimenez等人,2010;Lajiness等人,2004;Lipinski等人,2001;and Lipinski等人,1997)。Lipinski法则表明,通常口服活性药物应不违背超过一个的如下标准:1) 不超过五个氢键供体(即具有一个或多个氢原子的氮原子或氧原子);2) 不超过10个氢键受体(即氮原子或氧原子);3) 小于500道尔顿的分子量;以及4) 辛醇-水的分配系数的logP不大于5。

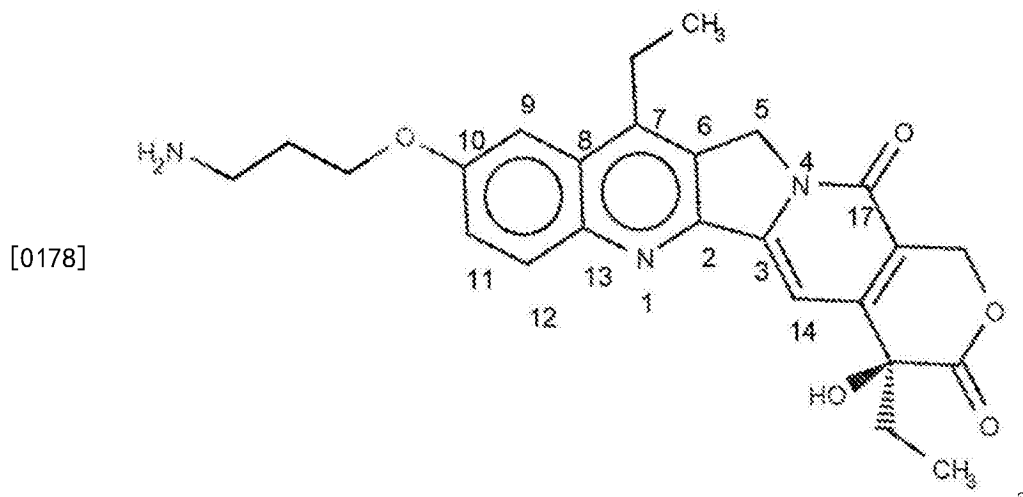
[0173] MP-MUS(I) 进入脑的能力以及P⁺-MUS(I) 保留在脑内、不能再跨血脑屏障的能力能够根据分配系数logP来推断(van de Waterbeemd等人,1998;Verber等人,2002;Lajiness等人,2004;Lipinski等人,2001;Lipinski等人,1997)。前药具有适当的亲脂性以跨膜,但足以溶解在水介质中而以口服形式供应(van de Waterbeemd等人,1998)。阳离子P⁺-MUS(I) 能够跨线粒体膜(由 $\Delta\psi$ 驱动),具有高的溶解度,并在细胞基质中不会从溶液中结晶。

[0174] MP-MUS(I) 还满足关于可旋转键和极性表面积(参见表1)的“Veber法则”(Veber等人,2002),并具有明显的“类药性”,使得成熟的药物化合物P⁺-MUS(I) 以比存在于细胞液中的大1000×的浓度积聚在线粒体内(由膜电位驱动)。

[0175] 实施例2-神经胶质瘤特异性药物设计(2)

[0176] 用于癌症治疗的APE-SN38拓扑异构酶特异性“智能炸弹”

[0177] Albers及其共同工作者(2007)表明,氨基丙基醚在MAO存在下不稳定,且该性质导致开发了一种新型的MAO-A/MAO-B检测系统。7-(3-氨基丙氧基)-3H-吩恶嗪-3-酮被MAO(通过亚胺和醛中间体)氧化而释放荧光化合物试卤灵,并通过β-消除反应而释放丙醛(图3)。利用相同的亚胺和醛中间体,以及随后的β-消除反应,因此应可能将具有四级/酚醇基团的现有药物化合物转化为MAO特异性的可生物转化的药物。例如,SN38是前药喜树碱和化学治疗药伊立替康的活性代谢物(Yao等人,2011)。为了表明可便利地利用本文所述方法中具有四级/酚醇基团的现存治疗化合物,发明人对SN38进行了探究而开发了新的“弹头”靶向型治疗药。在示例性实施方案中,本发明人利用丙胺对SN38喜树碱结构的环A的位置10的酚醇进行了修饰,从而形成化合物7-乙基-10-(3-氨基丙)-氧基-喜树碱:



[0179] 根据IUPAC命名法则,得到的化合物的系统名称还能够描述为如下任意一者:(S)-4,11-二乙基-3,4,12,14-四氢-4-羟基-3,14-二氧代-1H-吡喃并[3',4':6,7]-吲哚并[1,2-b]喹啉-9-氧基-丙胺或(19S)-7-(3-氨基丙氧基)-10,19-二乙基-19-羟基-17-氧杂-3,13-二氮杂戊环[11.8.0.0^{2,11}.0^{4,9}.01^{5,20}]henicosa-1(21),2,4(9),5,7,10,15(20)-七烯-14,18-二酮。在本实例中,作为本发明方法中的治疗部分对该化合物的适宜性进行了试验。

[0180] 材料和方法

[0181] 原发GBM。原发成人胶质细胞瘤细胞得自外科手术室,并随后在具有青霉素/链霉素和10%FBS(Invitrogen corporation,Carlsbad,CA USA)的MEM中生长。在生长并分裂2周或更长时间之后,将250μL得到的细胞(在 1×10^4 个细胞/mL的密度下)放入96孔微滴定板中(Corning, NYC, NY, USA),并通过在37℃下温育至少24小时以生长至汇合。

[0182] 在24小时之后,利用20μL/mL的乙醇对细胞进行处理,所述乙醇包含试验药物、抑制剂或不含添加剂(内部对照)。

[0183] 基于公布的报告(Hao等人,1995),在2~10μM的浓度下将司来吉兰(L-苄甲炔胺)(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)用作MAO-B的特异性抑制剂,并基于MAO-B在GBM中的表达水平是正常细胞中的约八倍,在至少八倍高的浓度($2\mu\text{M} = 8 \times 0.25\mu\text{M}$)下使用。

[0184] 表面荧光显微镜法。使用安装有CoolSnap ES数字相机系统(Roper Scientific, Tucson, AZ, USA)的Nikon Eclipse TE2000-E荧光显微镜获取信号,所述数字相机系统包含通过Peltier装置冷却的CCD-1300-Y/HS1392×1040成像阵列。

[0185] 使用Nikon NIS-Elements软件版本3.2(Nikon Instruments Inc. Melville, NY, USA)记录图像,并将图像储存为jpg2000文件。使用相同的NIS-Elements软件对图像进行了分析。

[0186] 细胞生存力测量。使用μM Hoechst33258(Cat#H1398)在存在和不存在500nM Mitotracker®Red(Cat#M22425)或反应性氧物质特异性试剂H₂DCFDA(6-羧基-2'',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯)的条件下将细胞培育1显示(试剂得自Invitrogen(Eugene, OR, USA)。使用的缓冲液为在37℃下的5mM葡萄糖/3mM Tris/30mM HEPES/10mM NaCl缓冲液(pH7.4)。

[0187] 细胞的固定、洗涤和渗透。将细胞固定在冰冷却的2%低聚甲醛/磷酸盐缓冲盐水(PFA)中并持续24小时,在11.9mM的磷酸盐、137mM的NaCl和2.7mM的KCl(PBS; Fisher Bioreagents, Fair Lawn, New Jersey, USA)中对细胞进行洗涤并然后在PBS+0.1%Triton

X-100 (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) 的三次洗涤中进行渗透。

[0188] 生存力截断值:在4×倍率下对细胞计数,如果细胞的Hoechst信号水平是在未处理细胞中发现的水平的>5倍,则认为所述细胞不能生存。

[0189] ddTUNEL。通过以1:5对125mM Tris-HCl、1M二甲胂酸钠、1.25mg/mL BSA且pH6.6的原料溶液进行稀释并以1:25对25mM的氯化钴原料溶液进行稀释,日常制备了Tdt反应缓冲液。将样品在该溶液中洗涤两次,然后将≈50μL的含20单位/mL的Tdt和250nM标记的ddUTP的反应缓冲液施加到各个切片,然后在增湿箱中在室温下温育过夜或在37℃下温育2小时。在整个过程中使用Roche Biotin-16-ddUTP (Roche Diagnostics, Branford, CT, USA) 并使用Texas-Red标记的Avidin (Baskin等人, 2010a; Baskin等人, 2010b) 来观测。

[0190] 抗体标记。抗线粒体的核糖体蛋白质L11兔抗体(ab74285)和抗细胞色素c抗体(ab13575)得自Abeam (Cambridge, MA, USA), 并使用标记的二次抗体进行观测; Alexa Fluor594山羊抗小鼠IgG (A-11032) 和Alexa Fluor488山羊抗兔IgG (A-11034) 得自Invitrogen。利用10%的马血清 (Invitrogen) 将经过渗透的细胞封闭1小时, 在PBS/0.1% Triton X-100中洗涤并然后利用一级抗体(1:1000)温育过夜, 在PBS/0.1% Triton X-100中洗涤两次, 第二次温育过夜, 然后洗涤两次以上。使用DAPI (Invitrogen), 通过在PBS中利用30nM DAPI温育5分钟对DNA进行染色, 然后在PBS/0.1% Triton X-100中将细胞洗涤两次。然后将孔充满100μL PBS/0.1% Triton X-100, 并实施成像。

[0191] XTT检测。使用XTT (2,3-二(2-甲氧基-4-硝基-5-硫苯基)-2H-四唑-5-甲酰苯胺) 线粒体和线粒体外脱氢酶试验法 (Berridge等人, 2005; Huet等人, 1992) Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 对线粒体的功能进行试验。从细胞中抽取介质, 然后在5mM葡萄糖/3mM Tris/30mM HEPES/10mM NaCl的缓冲液(pH7.4)中对所述细胞进行洗涤并利用0.5mg/mL的XTT在相同的缓冲液中进行37℃下处理1小时。在565~490nm下读出formazan的产生水平。

[0192] LDH试验。在确定XTT水平之后, 使用2×250μL的5mM葡萄糖/3mM Tris/30mM HEPES/10mM NaCl的缓冲液(pH7.4)对细胞进行洗涤。然后在各个孔(Corning, NYC, NY, USA)中在洗涤剂(Korzeniewski and Callewaert, 1983; Decker and Lohmann-Matthes, 1988)存在下对乳酸盐脱氢酶的活性水平进行了试验。最后的试验混合物包含100μL的110mM乳酸盐、3.35mM NAD⁺、350μM刃天青(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)以及在5mM葡萄糖/3mM Tris/30mM HEPES/10mM NaCl缓冲液(pH7.4)和0.45% Triton X-100中的2.2单位/mL的心肌黄酶。使用在530/25nm激发(ex)和590/35nm发射(em)在板式读出器中在15分钟的过程中对形成的试卤灵进行了测量。试卤灵的形成速率与LDH水平以及因此的细胞数成正比(Korzeniewski and Callewaert, 1983; Decker and Lohmann-Matthes, 1988)。

[0193] 蛋白质试验。使用源自Thermo Scientific (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) 的微型BCA蛋白质测试试剂盒, 在补充1%的十二烷基硫酸钠以稳定所有蛋白质的条件下对细胞蛋白质进行了测量。

[0194] 合成MP-MUS

[0195] 根据公布的技术(Differding and Ghosez, 1985)使用反应、随后哌啶环的氢化铝锂还原以及酯的酯水解以三个步骤的方式合成了起始化合物甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基-丙酸。

[0196] 合成(1-甲基哌啶-4-亚基)丙酸乙酯(1)

[0197] 在氩气下将N-甲基-4-哌啶酮(0.5g,4.42mmol)溶于干燥烧瓶中的无水醚(5mL)中并添加2-磷酸丙酸三乙酯(1.58g,6.63mmol),随后在0℃下在10分钟内添加氢氧化钠(0.12g,4.86mmol)。当薄层色谱(TLC)分析表明不含起始材料时,在回流(50℃)下将反应混合物加热4小时。在真空下蒸发溶剂,将残余物溶于二氯甲烷(50mL)中并利用水(3×50mL)对溶液进行洗涤。对有机相进行干燥(MgSO₄),蒸发干燥并使用在二氯甲烷中的2%的甲醇在二氧化硅凝胶柱上进行提纯。在62%的收率下得到了纯化合物1(0.54gm)。¹H NMR1(CDCl₃) δ:4.15(m,2H),2.41-2.36(m,7H),2.15(s,3H),2.00(t,J=7.2,4H),1.19(t,J=7.6,3H)。MS:(M+1)计算值198.27,实测值198.35。

[0198] 合成(1-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基)丙酸乙酯(2)

[0199] 在氩气气氛下在-68℃下在10分钟内将化合物1(0.4g,2.02mmol)溶于干燥烧瓶中的无水THF(5mL)中。向该混合物滴加氢化铝锂(3mL,3.04mmol)并搅拌1小时。当TLC显示无起始材料残留时,将混合物加热至室温并再次搅拌1小时。利用100μL的NH₄Cl对反应进行淬灭,过滤并在真空下蒸发。将粗残余物溶于二氯甲烷(50mL)中并用水(3×50mL)洗涤。对有机相进行干燥并得到不饱和酯2(~100%的粗产物),将其直接皂化成酸。¹H NMR2(CDCl₃) δ:5.78(t,J=7.1,1H),4.39(m,2H),3.16(m,1H),2.88(d,2H),2.52(m,2H),2.18(s,3H),2.01(t,J=7.2,2H),1.21(t,J=8.1,3H),1.1(d,3H)。MS:(M+1)计算值198.27,实测值198.33。

[0200] 合成甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基-丙酸(3)

[0201] 将化合物2(0.35g,1.77mmol)溶于TFA(5mL)中并向该混合物添加2mL1N的NaOH溶液。当TLC显示不含起始材料时,在回流(70℃)下将反应混合物加热2小时。在真空下蒸发溶剂,将粗产物溶于二氯甲烷(50mL)中并利用盐水(3×50mL)进行洗涤。对有机相进行干燥(MgSO₄),蒸发干燥并使用在二氯甲烷中的2%的甲醇作为洗脱剂在二氧化硅凝胶柱上进行提纯。这提供产物3,其为白色固体(0.24g,80%的收率)。¹H NMR3(CDCl₃) δ:10.2(bs,1H),5.72(t,J=7.2,1H),3.19(m,1H),2.85(d,2H),2.50(m,2H),2.18(s,3H),2.03(t,J=7.1,2H),0.91(d,3H)。

[0202] MS:(M+1)计算值170.22,实测值170.28。

[0203] 合成氯乙基-(甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基)丙酰氮丙啶鎓(4)

[0204] 在氩气气氛下将化合物3(0.23g,1.36mmol)溶于干燥烧瓶中的无水二氯甲烷(5mL)中并添加苯并三唑氧三(二甲基氨基)膦六氟磷酸盐(Sigma-Aldrich,St.Louis,MO,USA)(0.9g,2.04mmol),随后在0℃下在10分钟内添加二(2-氯乙基)胺(0.36g,2.04mmol)。当TLC显示无起始材料残留时,将反应混合物加热至室温并再次搅拌3小时。在真空下蒸发溶剂,利用二氯甲烷(50mL)对粗产物进行提取中并用水(3×50mL)洗涤。对提取的有机物进行干燥并蒸发。在二氧化硅凝胶柱上并使用在二氯甲烷中的2%的甲醇作为洗脱剂对粗产物进行提纯以在77%的收率下分离化合物4(0.27gm)。MS:M+K,计算值296.78,实测值296.90。¹H NMR4(DMSO-d₆) δ:4.03(m,5H,CH₂&ArH),3.05(m,2H,CH₂),2.78(d,J=10.5Hz,5H,CH₂,CH&ArCH₂),1.23(m,10H,ArCH₂&CH₃)。将合成路径示于图5中。

[0205] 实施例3-使用MP-MUS(I)体外杀死原发性人多形性成胶质细胞瘤细胞

[0206] 1) MP-MUS(I)对细胞生长和线粒体的影响。原发神经胶质瘤人细胞(内部编码为“BT-111”),得自多形性成胶质细胞瘤肿瘤的(首次)切除术,并在96孔微板格中或在滑槽中生长。利用三种不同药物对细胞进行温育;传统处理;替莫唑胺、氮芥或MP-MUS(I)。将在原

发GBM细胞BT-111中存在MP-MUS (I)、母体芥和替莫唑胺的条件下对细胞生长和线粒体功能的影响示于图6A和图6B中。这些结果表明,MP-MUS (I) 是强力的神经胶质瘤毒素,同时LD₅₀是标准化学治疗药物替莫唑胺的1/5。其中特别感兴趣的是这两种化合物在线粒体上观察到了不同的效果。MP-MUS (I) 在 $\approx 2\mu\text{M}$ 的浓度下废除了线粒体复合物活性的一半,而替莫唑胺在 $>10\mu\text{M}$ 的浓度下造成线粒体在BT-111细胞中的水平提高。

[0207] 使用乳酸盐脱氢酶试验法并还利用XTT线粒体复合物活性试验,对利用试验药物或单独的乙醇媒介物进行处理的细胞的生长(在微板孔中持续24小时或48小时)。从利用母体氮芥(二-(2-氯乙基)-胺)收集的数据显示,其在低于 $100\mu\text{M}$ 的浓度下无明显毒性。

[0208] 2) MP-MUS (I) 对线粒体膜电位($\Delta\Psi$)的影响

[0209] 使用($\Delta\Psi$)探针Mitotracker® Red确认线粒体靶向。利用在添加或不添加 $10\mu\text{M}$ 司来吉兰(Geha等人,2001)即MAO-B特异性抑制剂的条件下利用 $12\mu\text{M}$ 的MP-MUS (I) 对BT-111细胞处理24小时。然后,利用 500nM 的Mitotracker® Red将细胞温育1小时并在洗涤之后在 $40\times$ 倍率下在96孔的板中对活的细胞成像(参见图7A、图7B、图7C和图7D)。司来吉兰对 $\Delta\Psi$ 无影响,但MP-MUS (I) 将信号降低至统计学上显著的31%,下降几乎被利用MAO-B抑制剂司来吉兰进行的共同温育而完全阻止。

[0210] 3) MP-MUS (I) 对线粒体蛋白质的影响。为了进一步证明被靶向的线粒体,在利用MP-MUS (I) 温育24小时或48小时之后,在细胞中使用特异性抗体对在膜间空间中发现的线粒体基体蛋白质L11、部分的线粒体核糖体和细胞色素c的水平分别进行了探测。已经证明,在仅温育24小时之后,L11(红色)和细胞色素c(绿色)的水平提高。将温育时间延长至48小时导致细胞死亡 $>95\%$,同时对幸存者造成极大损害。

[0211] 对照细胞显示,两种蛋白质共同位于细胞液中。在利用 $10\mu\text{M}$ 的MP-MUS (I) 温育24小时之后,细胞具有典型形态的普通细胞核,但显示了更多的线粒体蛋白质。温育延长至48小时,导致形态损失、发胀的细胞核和确定的线粒体的损失。尽管L11的水平仍高,但是细胞色素c几乎完全损失。

[0212] 一对样品在利用DNA聚合酶/dNTP温育之后经历相同的连接,从而所有外伸的端部都转化为平头端部。蓝色信号显示了DAPI染色的DNA,而红色信号显示了平头端部且总体断裂(参见图9中上面板和下面板)。显然,MP-MUS (I) 在诱发DNA断裂时极其良好,比常规的酰化剂替莫唑胺好得多。而且,绝大部分损伤位于细胞核外,表明线粒体DNA是靶。另外,外伸的端部是观察到的最普通类型的断裂。

[0213] 实施例4-使用APE-SN38体外杀死原发性人多形性成胶质细胞瘤细胞

[0214] APE-SN38对细胞生长的影响;通过蛋白质水平和活细胞计数来测量。

[0215] 原发神经胶质瘤人细胞(本文中称作“BT-111”和“BT-115”)得自两个单独患者的多形性成胶质细胞瘤肿瘤的切除术,并在96孔格中生长。

[0216] 使用公布的方法(Geha等人,2001)在 $2\mu\text{M}$ 下在存在或不存在MAO-B特异性抑制剂的条件下利用APE-SN38的滴定对细胞进行温育。在温育24小时之后,使用BCA/SDS法对总的细胞蛋白质的质量进行了测量,并在两种一级细胞培养物中发现 $\approx 50\mu\text{M}$ APE-SN38的LD₅₀,但MAO-B抑制剂司来吉兰向细胞提供几乎完全的保护(图10A和10B),表明MAO-B的生物转化。

[0217] 将细胞计数(在各个浓度下五个孔的)也用于确立在各个浓度下活的细胞的数量(图11A和图11B)。

[0218] 通过利用2 μ M司来吉兰的共同温育可以防止在高浓度APE-SN38下的细胞死亡(参见图12)。图12显示保护BT-111和BT115GBM培养物免于细胞死亡。在利用APE-SN38温育24小时之后观察到所提供的保护。将细胞温育24小时,然后利用Hoechst生存力染色进行处理,并固定。

[0219] 实施例5-合成APE-SN38

[0220] 利用3-氯丙胺使用Albers、Rawls和Chang的路线合成了APE-SN38(尽管N-R₁取代的氯丙胺示于图15中所示的反应方案中)。

[0221] 对N-R₁,3-氯-丙胺进行Boc保护,以提供胺保护的3-氯丙基N-氨基甲酸叔丁基酯(1)。Boc保护的衍生物用于使用在DMF中的K₂CO₃产生SN-38(7-乙基-10-羟基喜树碱)醚。产物是醚;利用三氟乙酸对9-(Boc(R₁)氨基丙氧基)7-乙基-10-羟基喜树碱(2)进行处理以提供最终产物(其中R₁=H);(19S)-7-(3-氨基丙氧基)-10,19-二乙基-19-羟基-17-氧杂-3,13-二氮杂戊环并henicosa-1,2,4,5,7,10,15-七烯-14,18-二酮(3),并通过HPLC进行提纯。

[0222] 将最终产物APE-SN38(R₁=H)的NMR图谱示于图16中。

[0223] 实施例6-关于MP-MUS的NMR图谱

[0224] 在DMSO中,氯乙基-(甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基)丙酰)氮丙啶鎓(4)是观察到的最常见形式。在DMSO-d₆中记录了质子NMR显示了(4)的²H-信号(参见图16)。

[0225] ¹H NMR(4)(DMSO-d₆) δ : 4.03 (m, 5H, CH₂ and ArH), 3.05 (m, 2H, CH₂), 2.78 (d, J = 10.5 Hz, 5H, CH₂, CH and ArCH₂), 1.23 (m, 10H, ArCH₂ and CH₃)。

[0226] 实施例7-示例性SN-38相关的化合物及其衍生物

[0227] 对醇或硫醇为了发挥其作用而存在要求的任意化学治疗药,通过使用N-取代的3-氯丙胺转化成醚或硫醚来进行修饰,由此还代表可以用于本发明实践中的另外的化合物。除了R₁=H(即SN38)之外,另外的替代性的R₁基团也预期用于产生示例性化合物APE-SN38的类似物和/或衍生物,其也预期在本发明的方法中在药理学上是有效地。这种变量包括但不限于,取代的和未取代的C₁~C₆烷基(包括甲基、乙基)、苯甲基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环庚基。

[0228] 该实例表明,已经合成了二丙基丙酰胺基连接器,其具有高的MAO-B/活性/特异性(图19A)。先前公布的工作(Palmer等人,1998;和Yu等人,2006)显示了具有高的MAO-A和/或MAO-B的催化活性和/或特异性的N-取代的四氢吡啶化合物的一般特征。例如,4-环己基-1-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶(图19B)和1-甲基-4-(3-甲基咪唑-基)-1,2,3,6-四氢吡啶(图19C)是展示高度MAO-B特异性的MAO-B的底物。

[0229] 在图19A中,R₁、R₂和R₃各自由“弹头”和/或其他取代基构成,其中O=还可被取代为硫(S=),且酰胺的氮还可被替换成C-R₄。在图19B中,R₂、R₃和R₄各自由“弹头”部分和/或其他取代基构成,且R₁和R₅为其他取代基。在图19C中,R₂、R₃和R₄各自由“弹头”部分和/或其他取代基构成,且R₁和R₅为其他取代基。在图19D中,R₁、R₂和R₃各自由“弹头”和/或其他取代基构成,其中咪唑的-O-还可被替换成硫-S-(噻吩)、N-R₄(X-吡咯)或R₄-C-R₅(5-R₄-5-R₅-环戊-1,3-二烯)。R₁、R₂、R₃、R₅和R₆取代基可以包括但不限于如下中的一个或多个:卤素、羟基-、氧代、氰基、硝基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、烷基、烷氧基、烷硫基、卤代烷基、芳基、芳烷基、杂芳基、杂芳烷基、杂环、杂环烷基、以及-NR_aR_b、-NR_aC(=O)R_b、-NR_aC(=O)NR_aNR_b、-NR_aC

(=O)OR_b、-NR_aSO₂R_b、-C(=O)R_a、C(=O)OR_a、-C(=O)NR_aR_b、-OC(=O)NR_aR_b、-OR_a、-SR_a、-SOR_a、-S(=O)₂R_a、-OS(=O)₂R_a以及-S(=O)₂OR_a。另外,各个这些取代基还可被上述取代基中的一个或多个取代,包括但不限于,取代的烷基、取代的芳基、取代的芳烷基、取代的杂环和/或取代的杂环烷基。本文中的R_a和R_b相同或不同,且独立地为氢、烷基、卤代烷基、取代的烷基、芳基、取代的芳基、芳烷基、取代的芳烷基、杂环、取代的杂环、杂环烷基和/或取代的杂环烷基。

[0230] “弹头”治疗部分。示例性治疗部分包括但不限于,其将DNA和RNA两者结合的能力是已知的的甲基化/酰化试剂。实例包括氮芥和硫芥、舒凡类衍生物和铂。在图20中,示例性DNA/RNA酰化试剂显示,其还能够与连接器和本发明的N-取代的四氢吡啶[连接器-TP]部分合并以产生具有期望性质的另外的化学治疗药。

[0231] 实施例8-MP-MUS治疗颅内人成胶质细胞瘤的能力

[0232] 在本实例中,已经显示,在裸小鼠侧腹模型中MP-MUS成功治疗人多形性成胶质细胞瘤异种移植物培养物。本研究表明了MP-MUS在人成胶质细胞瘤中裸小鼠头颅内模型中的功效,并表明MP-MUS能够跨血/脑屏障。

[0233] 脑模型的开发。近来,Iwami和共同工作者(2012)已经开发了一种创新技术以通过下颌窝后壳顶孔将人成胶质细胞瘤培养物注射入小鼠脑内。先前的原位异种移植物模型典型地需要正式开颅术,要求皮肤切开、骨头去除和皮肤缝合,其都是易高度感染并对动物造成过大的应力。通过下颌窝后壳顶孔经皮注入成年小鼠脑内在技术上更简单,时间效率明显更高,且重要的是,小鼠经历较小的应力程序,其都造成更少的手术并发症。

[0234] 下颌窝后壳顶孔注射。最开始的研究表明,可将成胶质细胞瘤培养物直接注射入小鼠脑内,而不需要通过头骨穿孔。一部分在注射并从麻醉剂恢复之后五分钟,小鼠可以四处走动并在1小时内表型正常。利用2.5μL在组织培养介质中的成胶质细胞瘤(1,000,000个细胞/mL)通过下颌窝后壳顶孔对五十个小鼠进行了注射。在注射之后的约19~20天之间症状开始发作,同时小鼠损失一部分依附到调查者手指的能力。

[0235] 在下表2中列出了示例性研究的时间线。将人的GBM细胞用作接种物,所述GBM细胞在裸小鼠侧腹中生长36天,然后在组织培养介质中生长。

[0236] 对肿瘤和症状进行监控。在第一天的六个小时内以1000000个细胞/mL对六十只小鼠分别注射2.5μL在组织培养介质中的成胶质细胞瘤。在第六天,对小鼠称重并分为四组:两个对照组和两个治疗组。然后,在第7天、第14天和第21天,通过尾静脉注射,向小鼠提供200μL的盐水或200μL在盐水中的1mg/mL的MP-MUS。

[0237] 一个对照/治疗对,组A和组X,用于测量在盐水/MP-MUS治疗8天、15天和22天之后n=5的肿瘤的24小时收缩。使用CO₂将这些组中的五只小鼠安乐死,测量其肿瘤体积,然后用于建立组织培养物。第二个对照/治疗对,组B和组Y用于产生症状和死亡曲线。对这些组中的小鼠每隔1~2天监控一次,并通过耳朵穿孔来表示由头颅内的肿瘤造成的症状的发作。在约20天症状开始发作,且小鼠在轻偏瘫之后约10天通常需要安乐死。

[0238] 表2

[0239] MP-MUS对头颅内GBM模型的影响的检验研究

[0240]

第 1 天	注射 2.5 μL 成胶质细胞瘤(1,000,000 细胞/mL)的 60 只裸小鼠			
	对照组		MP-MUS 组	
第 6 天	组 A(15)	组 B(15)	组 X(15)	组 Y(15)
第 7 天	在尾部 200 μL 的盐水		在尾部 200 μL 的 1 mg/mL 的 MP-MUS	
第 8 天	除去 n=5 的肿瘤		除去 n=5 的肿瘤	
第 13 天	组 A(10)	组 B(15)	组 X(10)	组 Y(15)
第 14 天	在尾部 200 μL 的盐水		在尾部 200 μL 的 1 mg/mL 的 MP-MUS	
第 15 天	除去 n=5 的肿瘤		除去 n=5 的肿瘤	
第 20 天	组 A(5)	组 B(15)	组 X(5)	组 Y(15)
第 21 天	在尾部 200 μL 的盐水		在尾部 200 μL 的 1 mg/mL 的 MP-MUS	
第 22 天	除去 n=5 的肿瘤		除去 n=5 的肿瘤	
第 XX 天	监控组 B n=15, 直至 n=0		监控组 Y n=15, 直至 n=0	

[0241] 参考文献

[0242] 如下参考文献,在其对本文中提出的内容提供示例性程序或其他细节补充的范围内,通过参考以其完整形式明确并入本文中:

[0243] Albers, A.E., K.A. Rawls, 和 C.J. Chang, "Activity-based fluorescent reporters for monoamine oxidases in living cells," *Chem. Comm. (Comb.)*, 44:4647-4649 (2007).

[0244] Baskin, D.S., M.A. Widmayer, 和 M.A. Sharpe, "Quantification and calibration of images in fluorescence microscopy," *Anal. Biochem.*, 404:118-126 (2010).

[0245] Baskin, D.S., M.A. Widmayer, 和 M.A. Sharpe, "Quantification of DNase type I ends, DNase type II ends, and modified bases using fluorescently labeled ddUTP, terminal deoxynucleotidyl transferase, and formamidopyrimidine-DNA glycosylase," *Biotechniques*, 49(1):505-512 (2010).

[0246] Berridge, M.V. 等人, "Tetrazolium dyes as tools in cell biology: New insights into their cellular reduction," *Biotechnol. Annu. Rev.*, 11:127-152 (2005).

[0247] Binda, C. 等人, "Structures of human monoamine oxidase B complexes with

selective noncovalent inhibitors:safmamide and coumarin analogs,"J.Med.Chem., 50 (23) :5848-5852 (2007) .

[0248] Boveris,A.和B.Chance,"The mitochondrial generation of hydrogen peroxide.General properties and effect of hyperbaric oxygen,"Biochem.J,134 (3) :707-716 (1973) .

[0249] Castagnoli,K.,等人,"The neuronal nitric oxide synthase inhibitor7-nitroindazole also inhibits the monoamine oxidase-B-catalyzed oxidation of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine,"Chem.Res.Toxicol,10 (4) :364-368 (1997) .

[0250] Castagnoli,K.,S.Palmer,和Castagnoli N,Jr., "Neuroprotection by (R)-deprenyl and7-nitroindazole in the MPTP C57BL/6mouse model of neurotoxicity," Neurobiol,7 (2) :135-149 (1999) .

[0251] Decker,T.和M.L.Lohmann-Matthes,"A quick and simple method for the quantitation of lactate dehydrogenase release in measurements of cellular cytotoxicity and tumor necrosis factor (TNF) activity,"J.Immunol.Methods,115 (1) :61-69 (1988) .

[0252] De Colibus,L.,等人,"Three-dimensional structure of human monoamine oxidase A (MAO-A) :Relation to the structures of rat MAO-A and human MAO-B," Proc.Natl.Acad.Sci.USA,102:12684-12689 (2005) .

[0253] Differding,E.和L.Ghosez,"Intramolecular Diels-alder cyclo-additions of vinylketenimines:a convergent route to carbazoles and pyridocarbazole alkaloids,"Tetrahedron Lett.,26 (13) :1647-1650 (1985) .

[0254] Droge,W., "Free radicals in the physiological control of cell function,"Physiol.Rev.,82 (1) :47-95 (2002) .

[0255] Efange,S.M.N.和R.J.Boudreau,"Molecular determinants in the bioactivation of the dopaminergic neurotoxin N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) ,"J.Comp.Aided Mol.Des.,5 (5) :405-417 (1991) .

[0256] Flamand,V.,H.Zhao,和D.M.Peehl."Targeting monoamine oxidase A in advanced prostate cancer,"J.Cancer Res.Clin.Oncol,136 (11) :1761-1771 (2010) .

[0257] Fukuda,T., "Neurotoxicity of MPTP,"Neuropathology,21 (4) :323-332 (2001) .

[0258] Gabilondo,A.M.,等人,"Monoamine oxidase B activity is increased in human Gliomas,"Neurochem.Int.,52 (1-2) :230-234 (2008) .

[0259] Geha,R.M.,I.Rebrin,K.Chen,和J.C.Shih,"Substrate and inhibitor specificities for human monoamine oxidase A and B are influenced by a single amino acid,"J.Biol.Chem.,276 (13) :9877-9882 (2001) .

[0260] Gimenez,B.G.,等人,"Evaluation of blockbuster drugs under the rule-of-five.Pharmazie,65 (2) :148-152 (2010) .

[0261] Hao,R.,M.Ebadi,和R.F.Pfeiffer,"Selegiline protects dopaminergic neurons in culture from toxic factor(s) present in the cerebrospinal fluid of

patients with Parkinson's disease,"*Neurosci.Lett.*,200 (2):77-80 (1995).

[0262] Hare,M.L.C., "Tyramine oxidase:A new enzyme system in liver,"*Biochem.J.*,22 (4):968-979 (1928).

[0263] Heikkila,R.E.,等人,"Importance of monoamine oxidase A in the bioactivation of neurotoxic analogs of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine,"*Proc.Natl.Acad.Sci.USA*,85:6172-6176 (1988).

[0264] Huet,O.,等人,"NADH-dependent dehydrogenase-activity estimation by flow cytometric analysis of 3-(4,5-dimethylthiazolyl-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction,"*Cytometry*,13 (5):532-539 (1992).

[0265] Iwami,K.,等人,"A novel method of intracranial injection via the postglenoid foramen for brain tumor mouse models,"*J.Neurosurgery*,116:630-635 (2012).

[0266] Jekabsone,A.,等人,"Fibrillar beta-amyloid peptide A β ₁₋₄₀ activates microglial proliferation via stimulating TNF- α release and H₂O₂ derived from NADPH oxidase:a cell culture study,"*J.Neuroinflammation*,3:24 (2006).

[0267] Jian,Y., "Synthesis and mechanistic studies on the monoamine oxidase (MAO) catalyzed oxidation of 1,4-disubstituted-1,2,3,6-tetrahydropyridines," in *Chemistry*, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA, USA, p.179 (1998).

[0268] Korzeniewski,C.和D.M.Callewaert,"An enzyme-release assay for natural cytotoxicity,"*J.Immunol.Methods*,64 (3):313-320 (1983).

[0269] Lajiness,M.S.,M.Vieth,和J.Erickson,"Molecular properties that influence oral drug-like behavior,"*Curr.Opin.Drug Discov.Develop.*,7 (4):470-477 (2004).

[0270] Lipinski,C.A.,等人,"Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings,"*Adv.Drug Delivery Rev.*,46 (1-3):3-26 (2001).

[0271] Lipinski,C.A.,等人,"Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings,"*Adv.Drug Delivery Rev.*,23:3-25 (1997).

[0272] Malmstrom,B.G.,L.E.Andreasson,和B.Reinhammar,"Copper-containing oxidases and superoxide dismutase.in:P.D.Boyer, (Ed.),*The Enzymes*,Academic Press,New York,pp.507-579 (1975).

[0273] Mander,P.K.,A.Jekabsone,和G.C.Brown,"Microglia proliferation is regulated by hydrogen peroxide from NADPH oxidase,"*J.Immunol*,176 (2):1046-1052 (2006).

[0274] Nimkar,S.K.,等人,"Studies on the monoamine oxidase-B-catalyzed biotransformation of 4-azaaryl-1-methyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine

derivatives,"J.Med.Chem.,42(10):1828-1835(1999).

[0275] Palmer,S.L."The investigation of the active sites of monoamine oxidase(MAO)A and B and the study of MAO-A mediated neurotoxicity using4-substituted

[0276] tetrahydropyridines,"Ph.D.thesis,Department of Chemistry,Virginia Polytechnic Institute,Blacksburg,VA,USA(1998).

[0277] Palmer,S.L.,S.Mabic,和N.Castagnoli Jr., "Probing the active sites of monoamine oxidase A and B with1,4-di-substituted tetrahydropyridine substrates and inactivators,"J.Med.Chem.,40(13):1982-1989(1997).

[0278] Price,C.C.,等人,"Relative reactivities for mono functional nitrogen mustard alkylation of nucleic acid components,"Biochim.Biophys.Acta,166(2):327-359(1968).

[0279] Sharpe,M.A.,等人,"Thimerosal-derived ethylmercury is a mitochondrial toxin in human astrocytes:possible role of Fenton chemistry in the oxidation and breakage of mtDNA,"J.Toxicol,2012:1-12(2012).

[0280] Slimak,D.M., "Molinspiration Cheminformatics,"retrieved from <http://www.molinspiration.com/> (2010).

[0281] Toninello,A.,等人,"Amine oxidases in apoptosis and cancer,"Biochim.Biophys.Acta,1765:1-13(2006).

[0282] True,L.,等人,"A molecular correlate to the Gleason grading system for prostate adenocarcinoma,"Proc.Natl.Acad.Sci.USA,103(29):10991-10996(2006).

[0283] van de Waterbeemd,H.,等人,"Estimation of blood-brain barrier crossing of drugs using molecular size and shape and H-bonding descriptors,"J Drug Target.,6(2):151-165(1998).

[0284] Veber,D.F.,等人,"Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates,"J.Med.Chem.,45(12):2615-2623(2002).

[0285] Vizi,E.S., "Role of high-affinity receptors and membrane transporters in nonsynaptic communication and drug action in the central nervous system,"Pharmacol.Rev.,52:63-90(2000).

[0286] Wang,Y.X.和N.J.Castagnoli,"Studies on the monoamine oxidase (MAO)-catalyzed oxidation of phenyl-substituted 1-methyl-4-phenoxy-1,2,3,6-tetrahydropyridine derivatives:factors contributing to MAO-A and MAO-B selectivity,"J.Med.Chem.,38(11):1904-1910(1995).

[0287] Yao,Y.-S.,等人,"Total synthesis of7-ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN38)and its application to the development of Cis-functionalized camptothecin derivatives,"Chemistry,17(37):10462-10469(2011).

[0288] Youngster,S.K.,P.K.Sonsalla,和R.E.Heikkila,"Evaluation of the biological activity of several analogs of the dopaminergic neurotoxin1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine,"J.Neurochem.,48(3):929-934(1987).

[0289] 根据本发明,在不实施不适当实验的条件下能够完成并实施本文中公开和主张的所有组合物和方法。尽管在示例性实施方案方面已经对本发明的组合物和方法进行了描述,但本领域技术人员应理解,在不背离本发明的概念、主旨和范围的条件下可以将变体应用于组合物、方法和本文中所述方法的步骤中或步骤序列中。更具体地,应理解,在化学和生理学两方面相关的特性试剂可以取代本文中所述的试剂,而会获得相同或类似的结果。对本领域技术人员明显的所有这种类似取代和变体人文在本文中限定的本发明的主旨、范围和概念内。

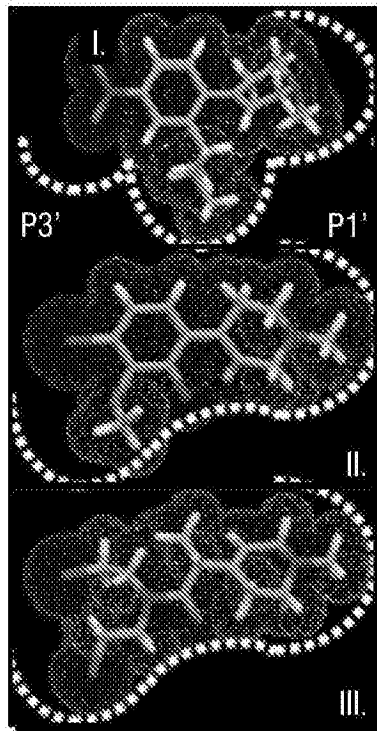


图2A

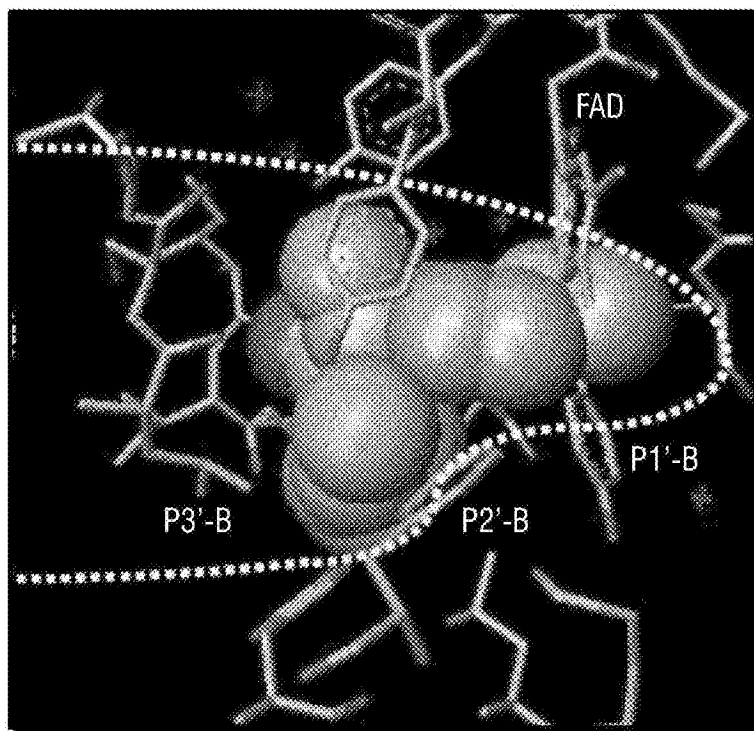


图2B

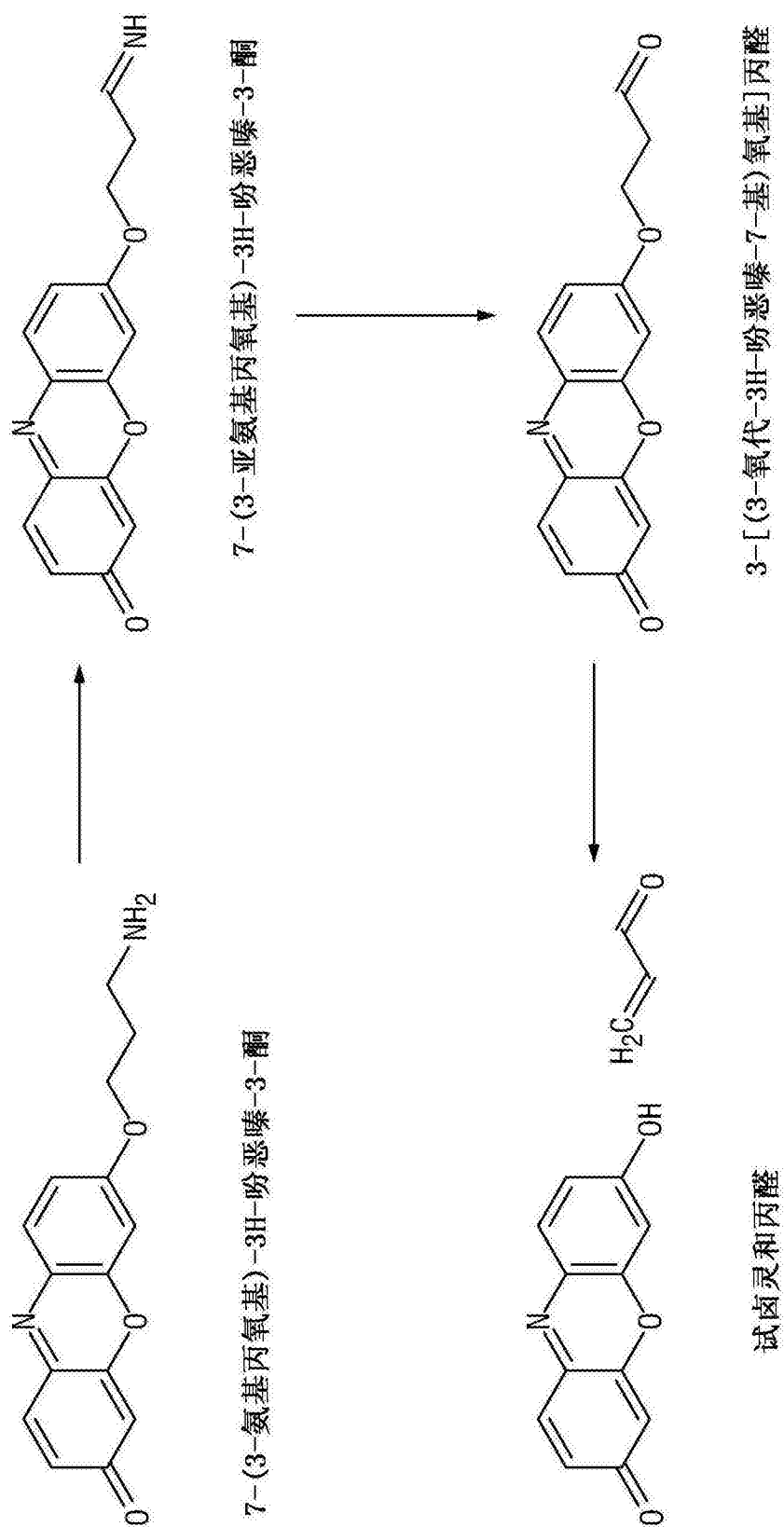


图3

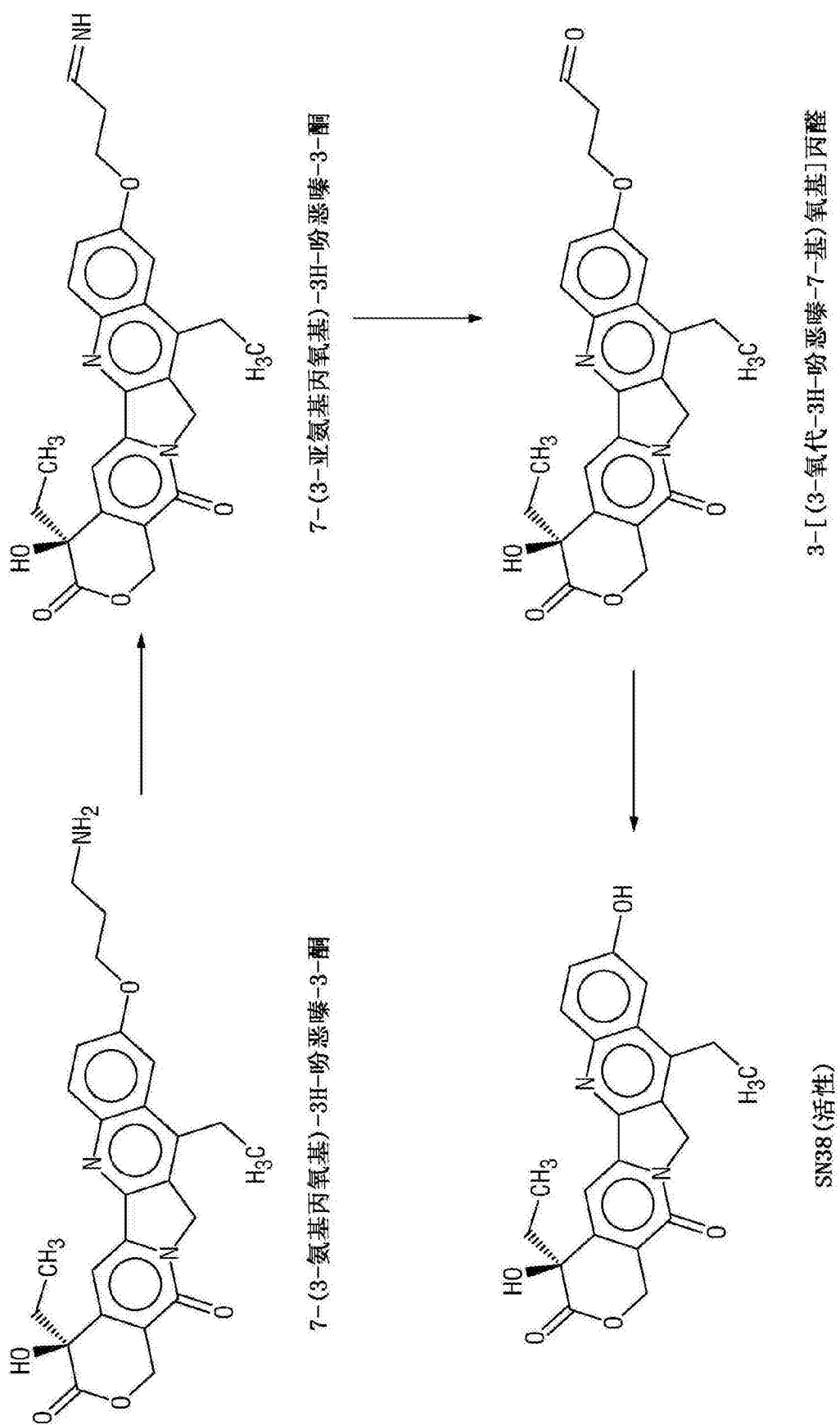


图4

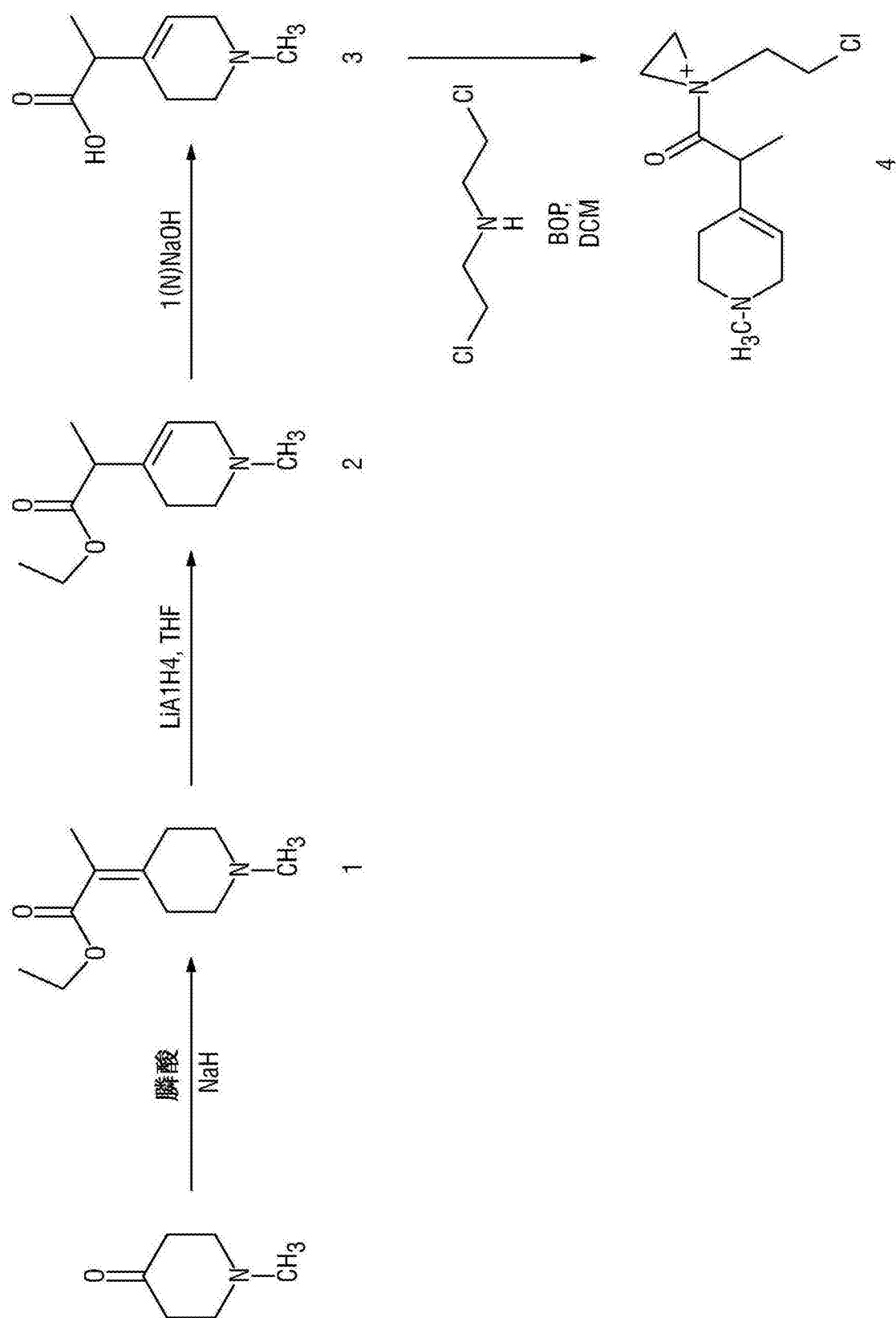


图5

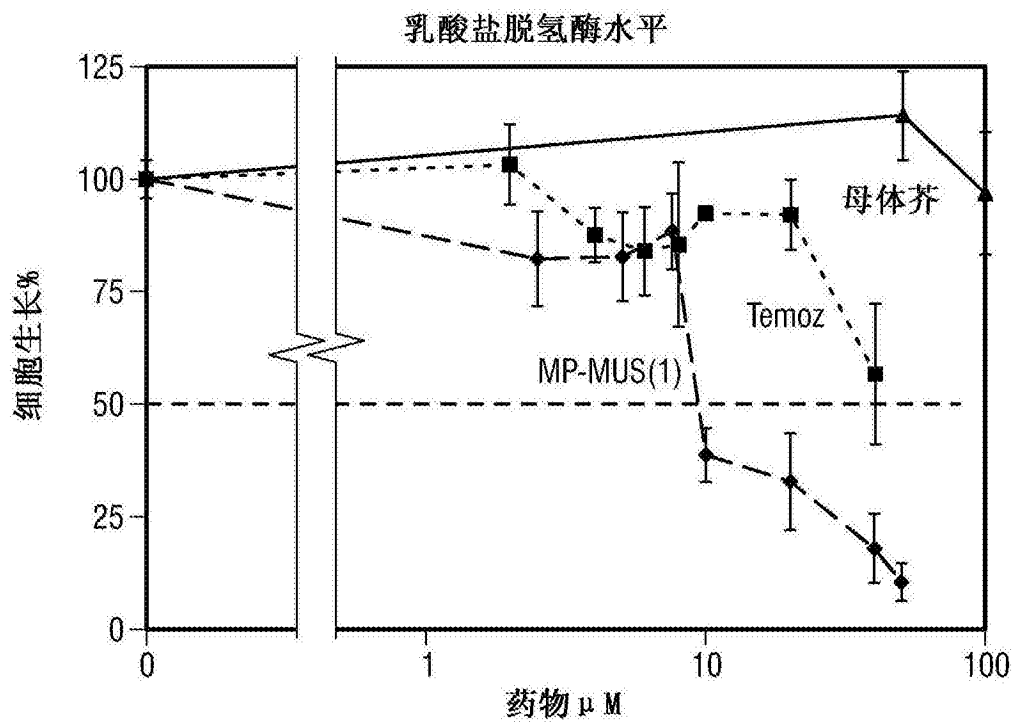


图6A

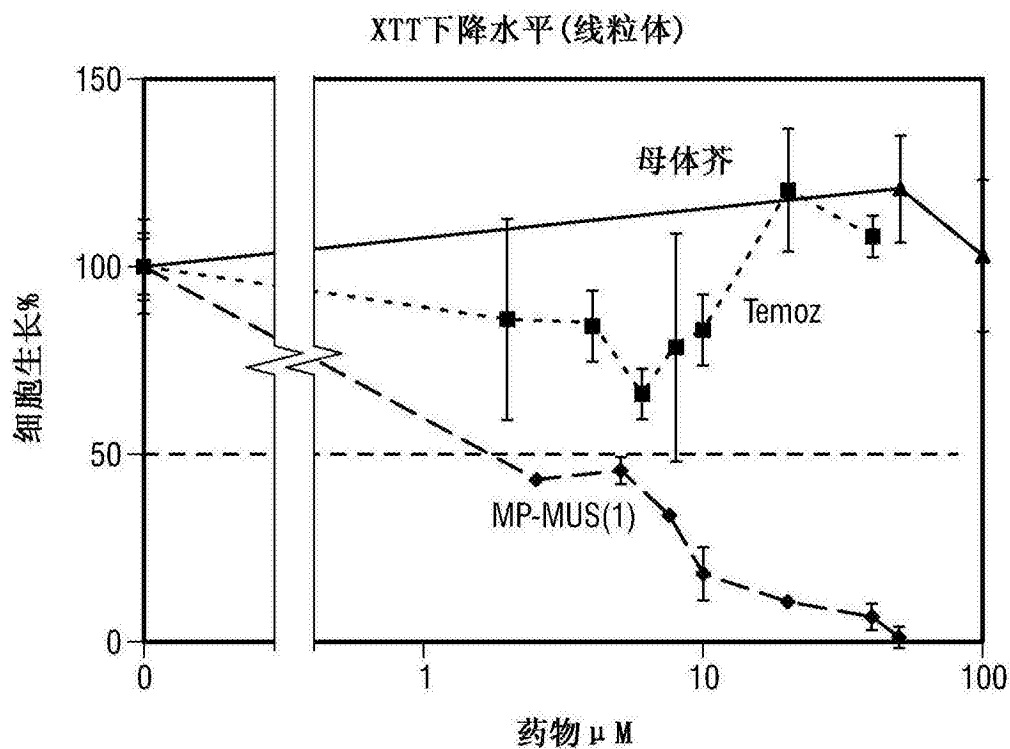


图6B

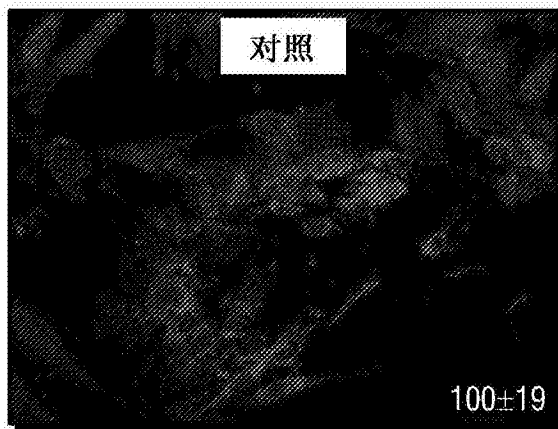


图7A

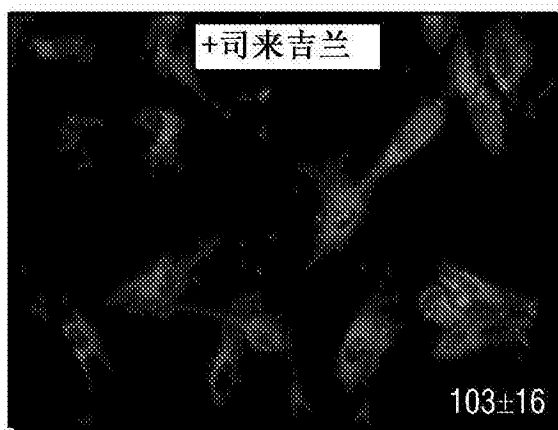


图7B

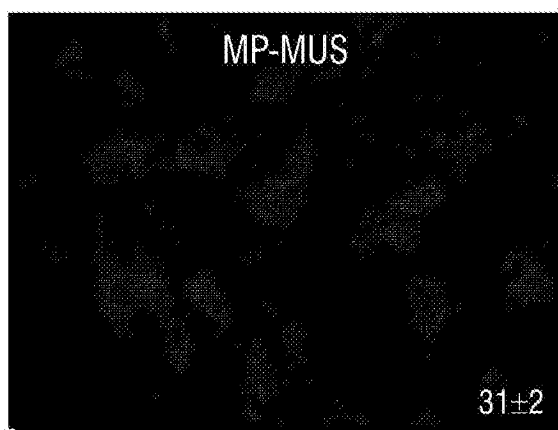


图7C

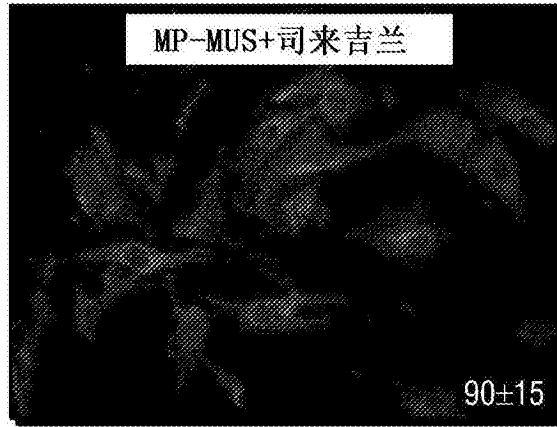


图7D

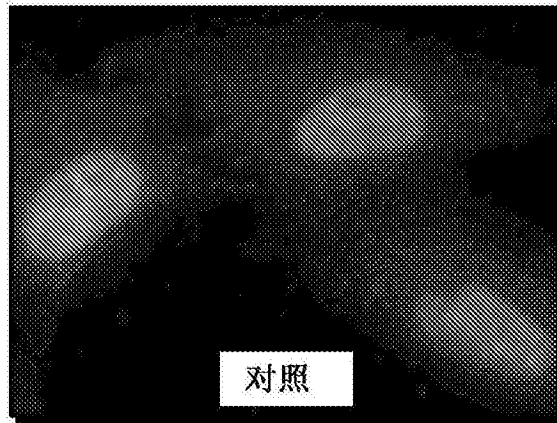


图8A

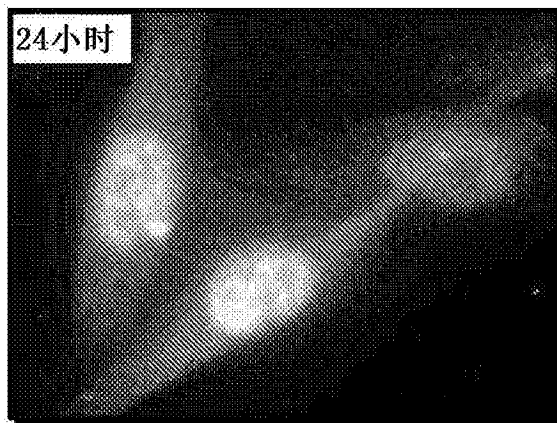


图8B

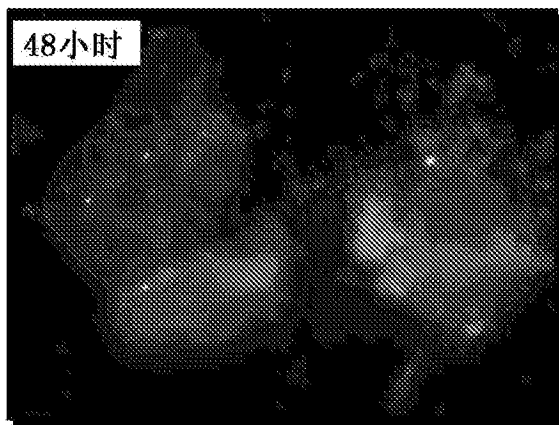


图8C

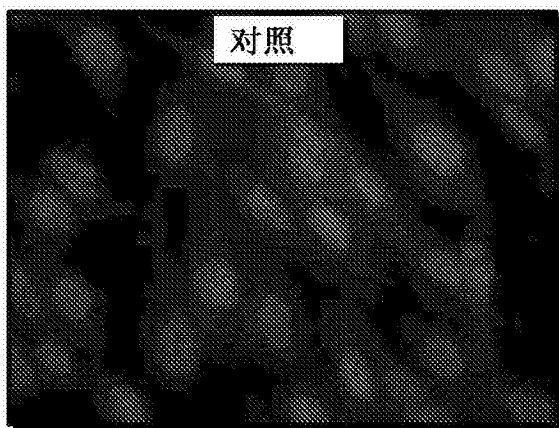


图9A

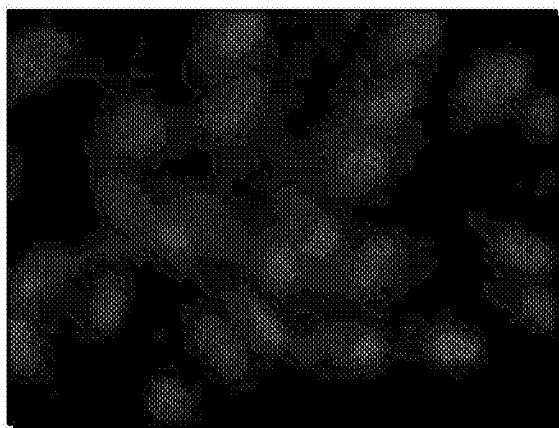


图9B

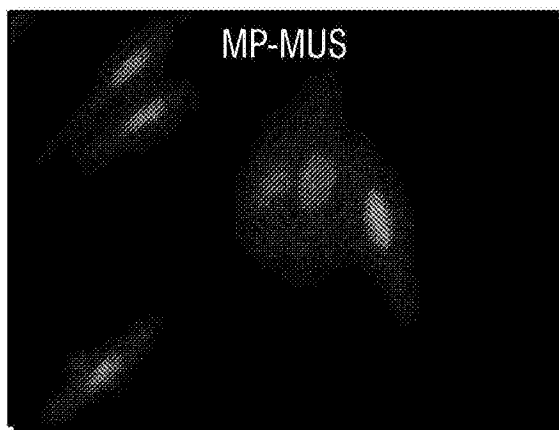


图9C



图9D

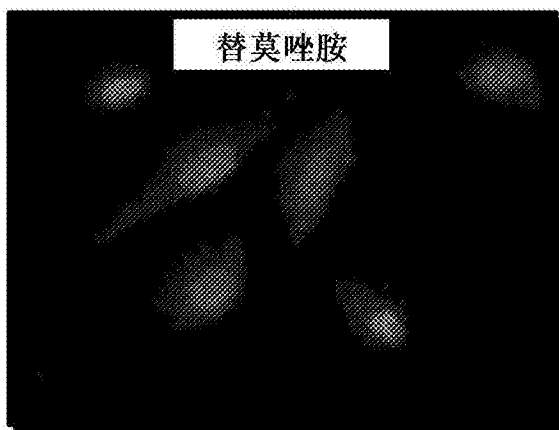


图9E

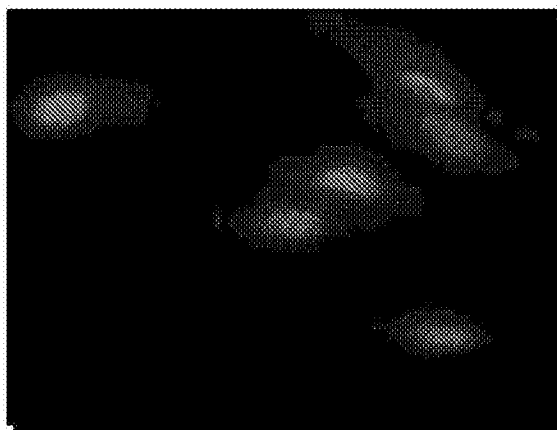


图9F

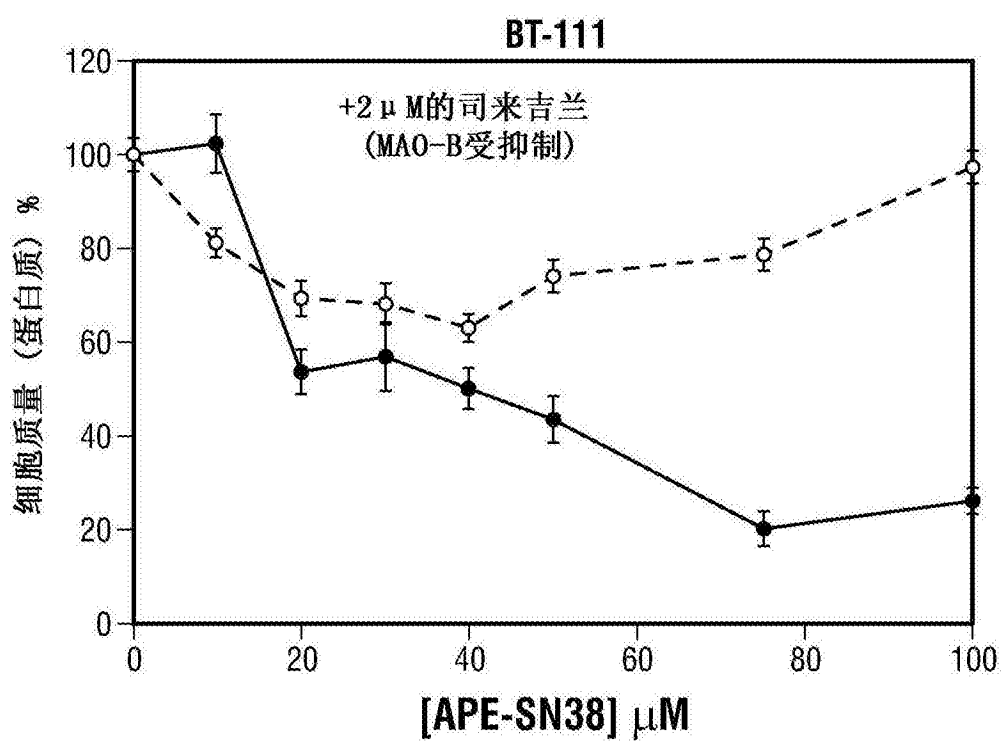


图10A

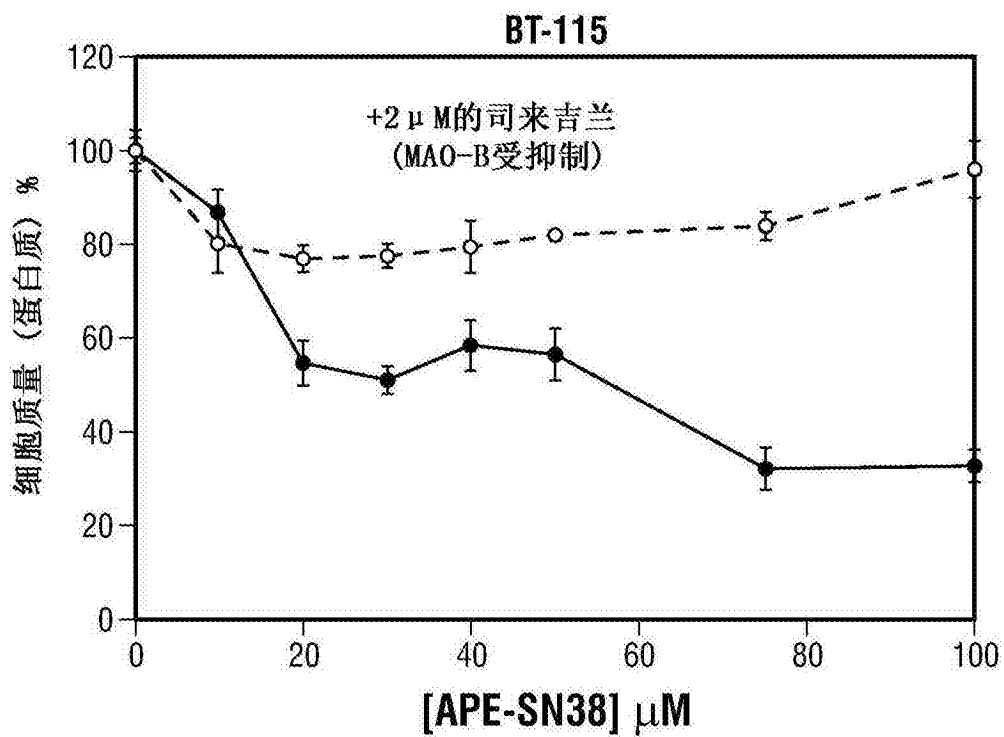


图10B

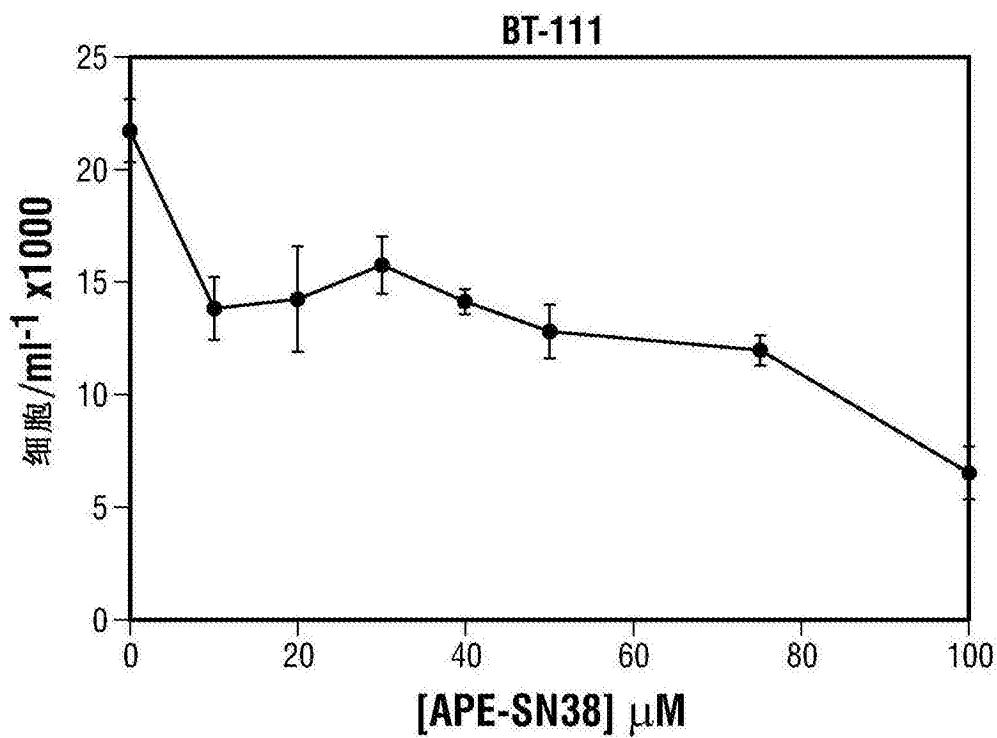


图11A

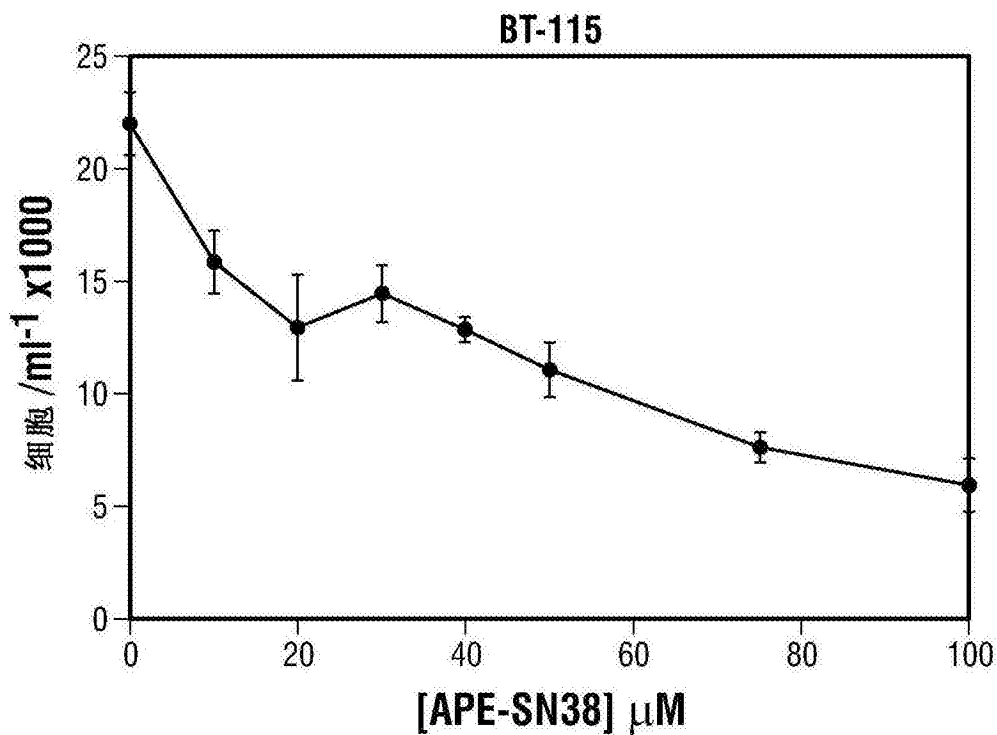


图11B

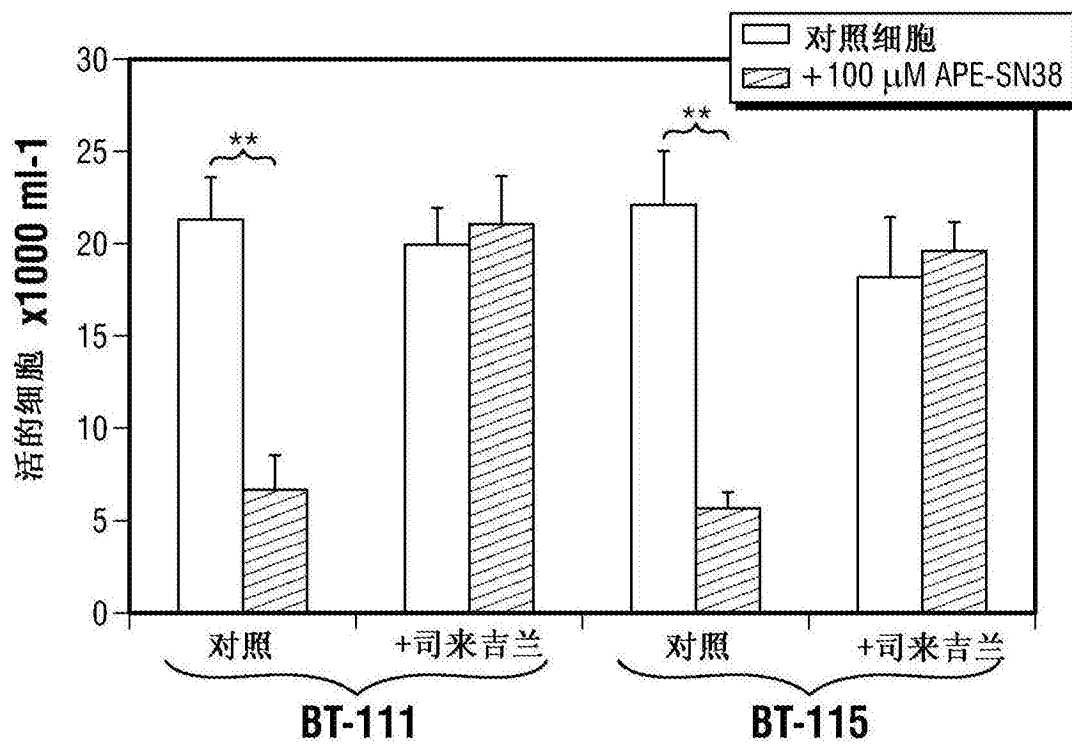


图12

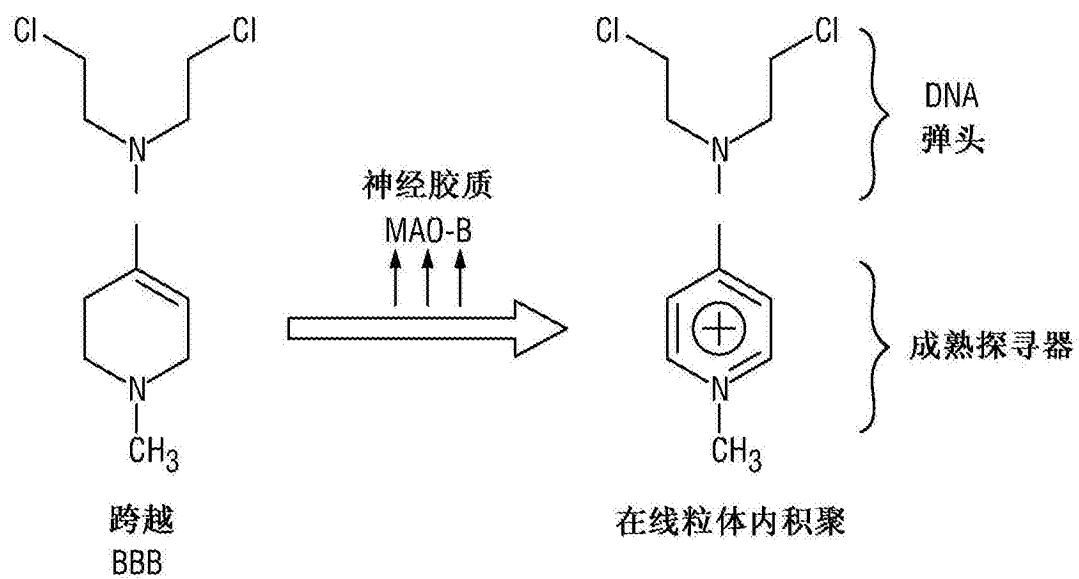


图13A

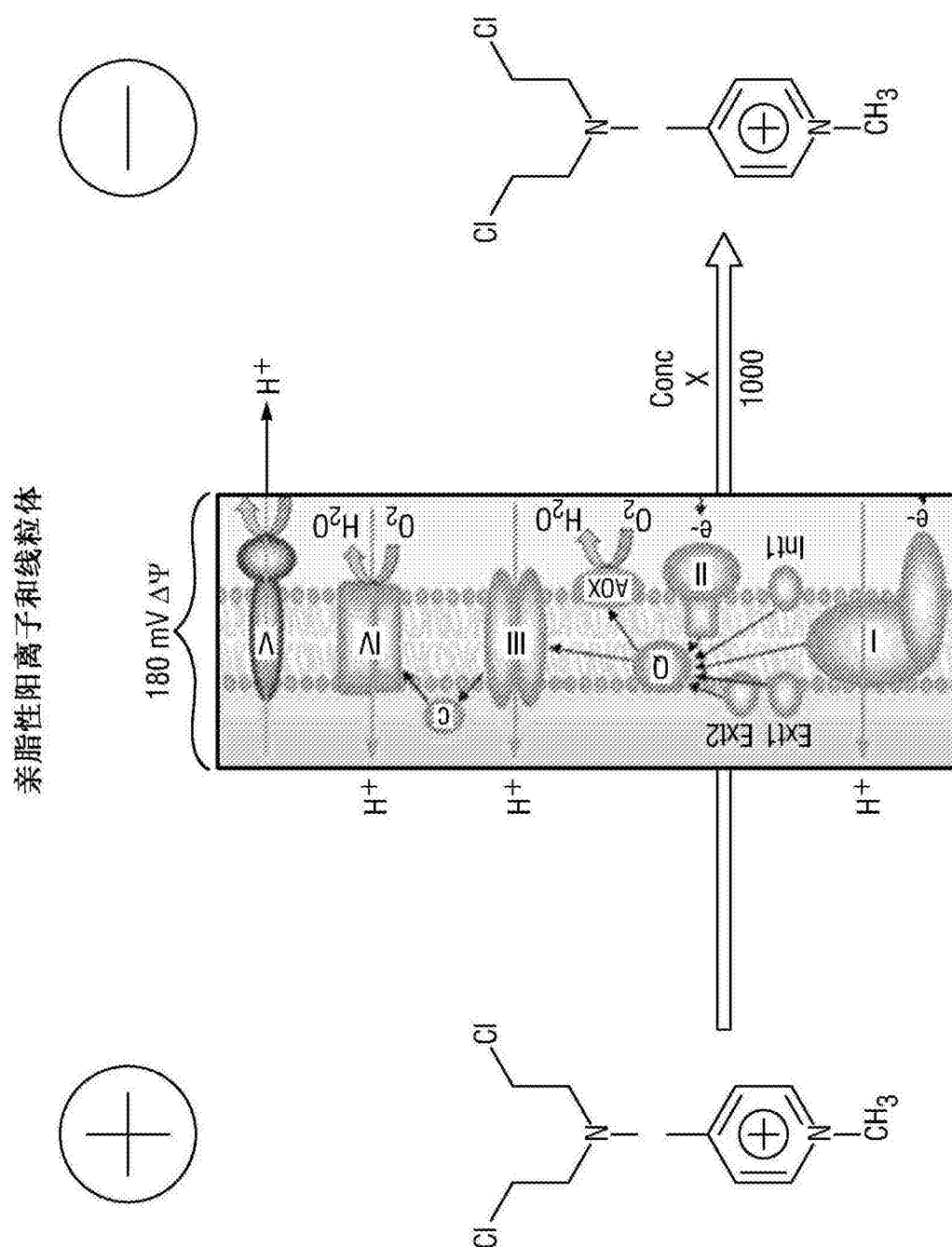


图13B

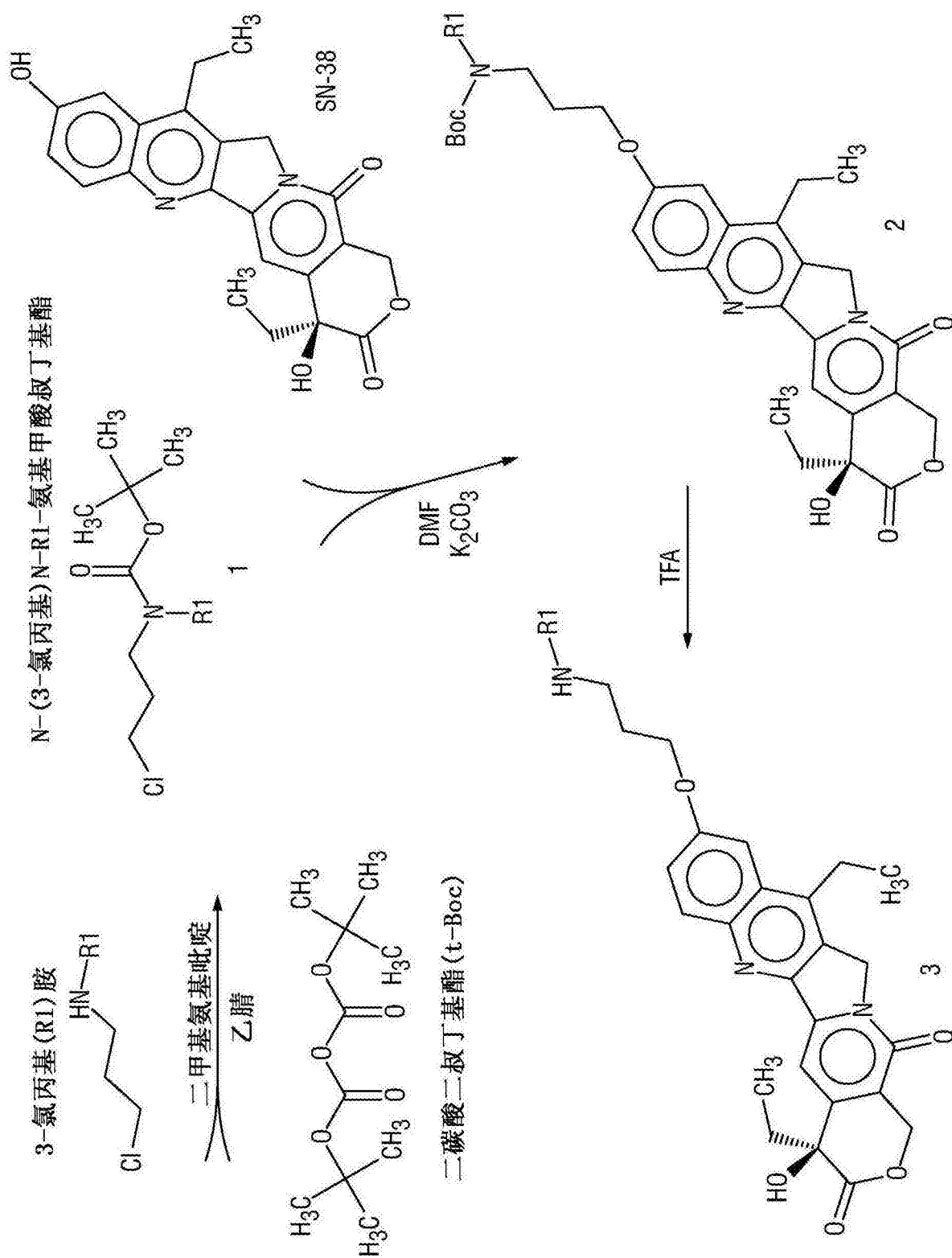


图14

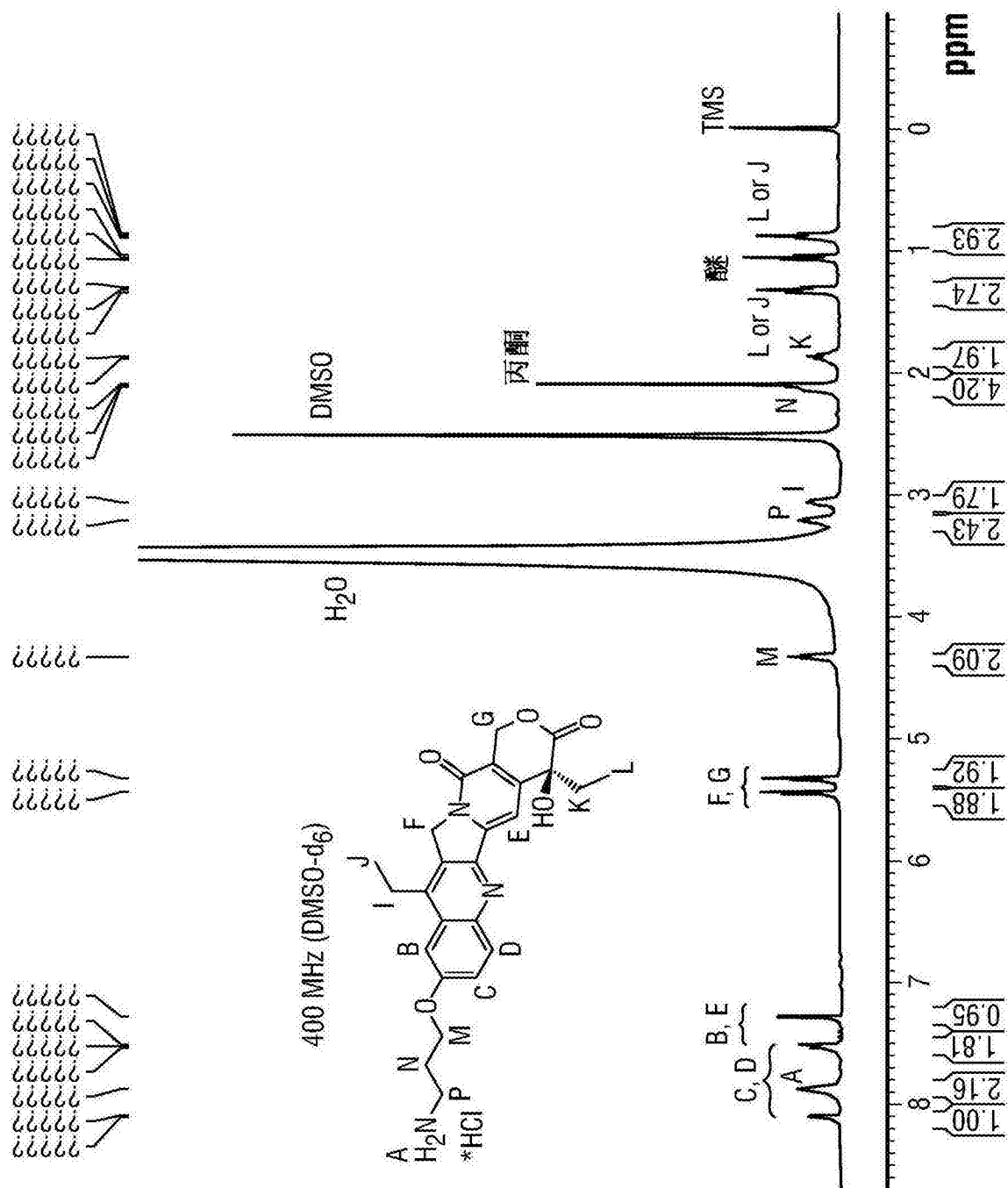


图15

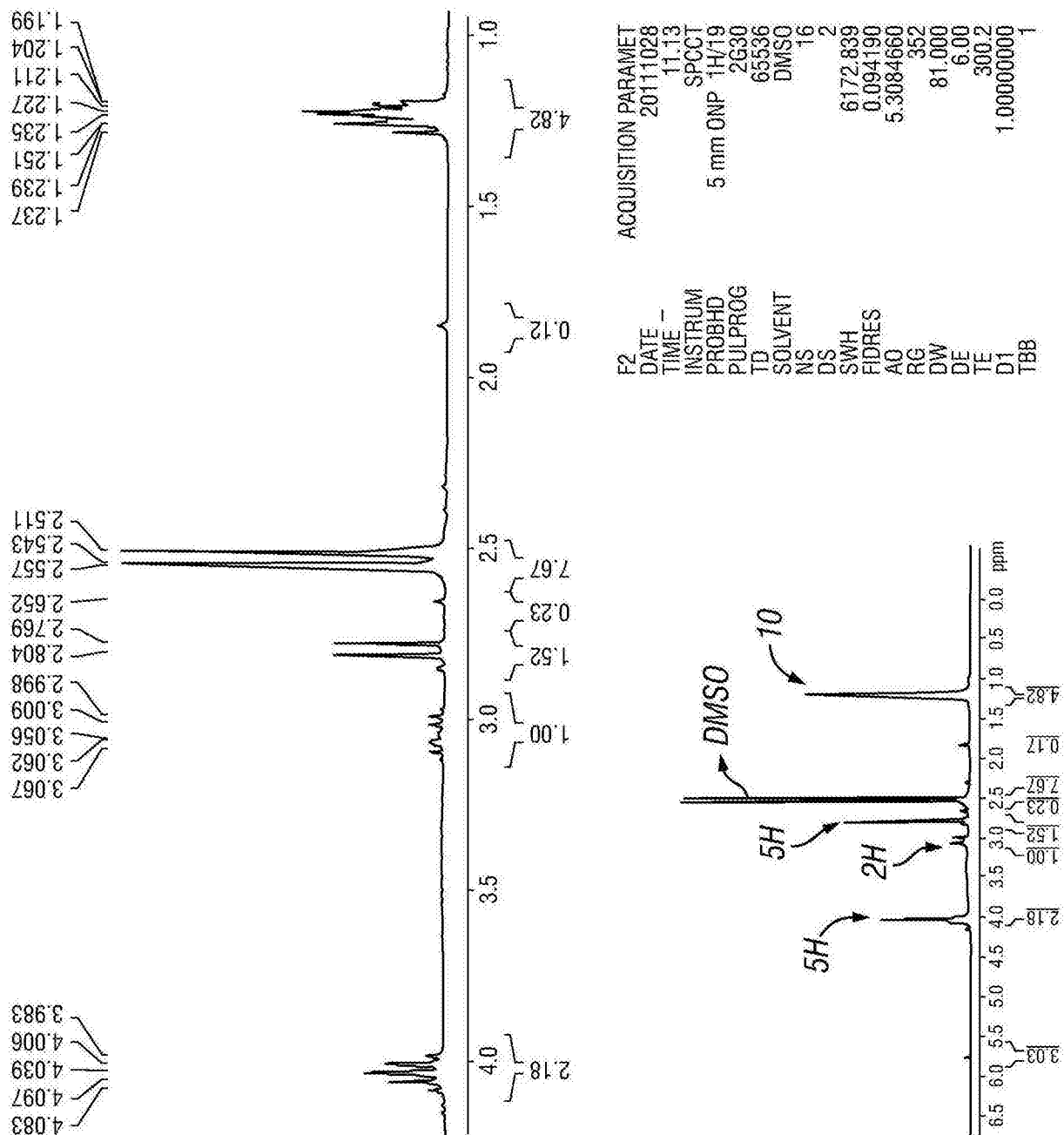


图16

部分	功能	实例
化学治疗部分 (即“弹头”)	损害大分子	氮芥、四硝酸铂
连接器	将弹头连接到探寻器 并提供MAO A/B特异性	2-甲基丙酰胺, 环己烷
靶向部分 (即“探寻器”)	转化成吡啶鎓阳离子且成熟物质在线粒体内积聚	1-甲基-1, 2, 3, 6-四氢吡啶, 1-环丙基-1, 2, 3, 6-四氢吡啶-

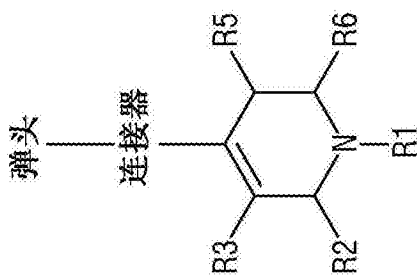


图17

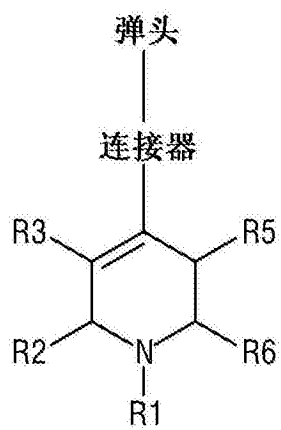


图18

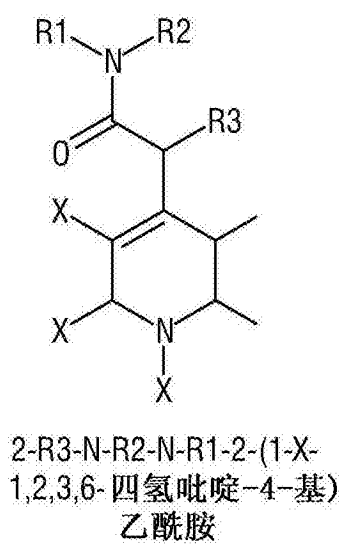
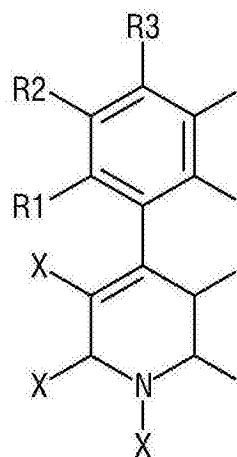
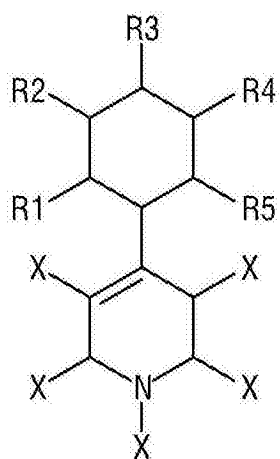


图19A



4-苯基-1-X-1, 2, 3, 6-
-四氢吡啶

图19B



4-环己基-1-X-1, 2, 3, 6-
四氢吡啶

图19C

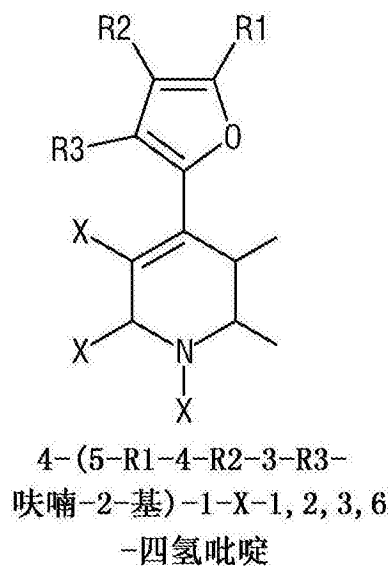
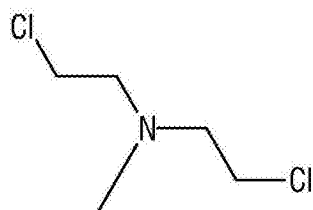


图19D

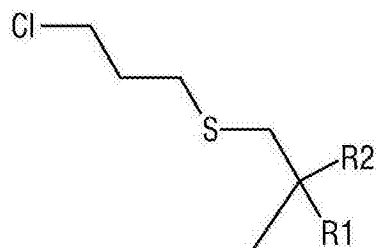
氮芥:



连接器-TP

二(2-氯乙基)[连接器-TP]胺

图19E

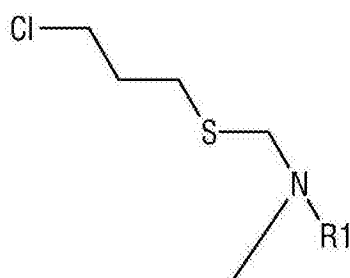


连接器-TP

1-[(2-R1-2-R2-2-
[连接器-TP]乙基)
硫烷基]-3-氯丙烷

图19F

硫芥:

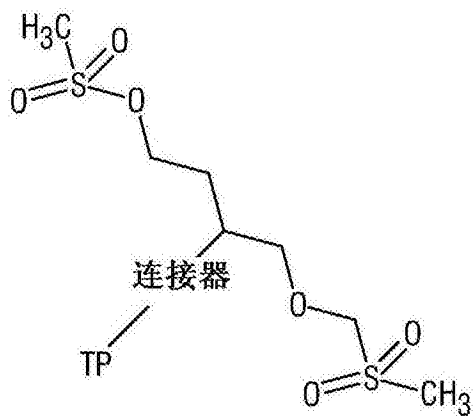


连接器-TP

([(3-氯丙基)硫烷基]甲基)
[连接器-TP]-R1-胺

图19G

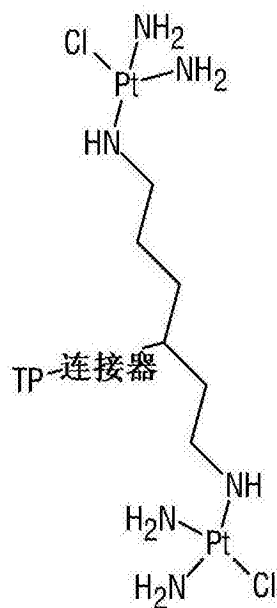
舒凡类:



3-[连接器-TP]-4-
(甲磺酰基甲氧基)
丁基甲磺酸酯

图19H

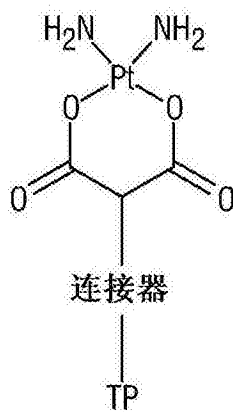
四硝酸铂:



1, 10-二氯-5-[连接器-TP]
-2, 9-二氮杂-1, 10-二铂癸烷
-1, 1, 10, 10-四胺

图19I

顺铂衍生的:



2, 2-二氨基-5-[连接器-TP]-
1, 3-二氧杂-2-铂环己烷-4, 6-二酮

图19J

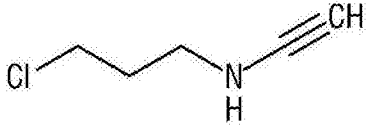
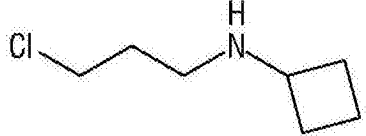
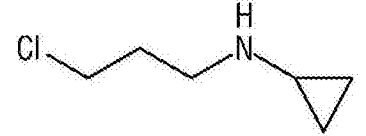
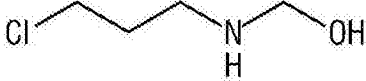
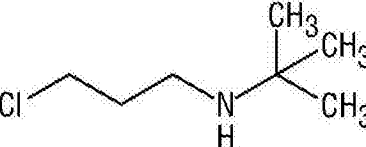
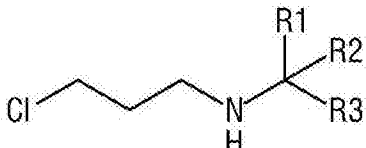
结构	名称
	(3-氯丙基)(乙炔基)胺
	N-(3-氯丙基)环丁胺
	N-(3-氯丙基)环丙胺
	[(3-氯丙基)氨基]甲醇
	叔丁基(3-氯丙基)胺
	[R1、R2、R3、甲基](3-氯丙基)胺
取代基R1、R2和R3包括但不限于，卤素、羟基、氧代、氰基、硝基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、烷基、烷氧基、烷硫基、烷基、卤代烷基、芳基、芳杂芳基、杂芳烷基、杂环和杂环烷基、以及 -NR _a R _b , -NR _a C(=O)R _b , -NR _a C(=O)NR _a NR _b , -NR _a C(=O)OR _b , -NR _a SO ₂ R _b , -C(=O)R _a , -C(=O)OR _a , -C(=O)NR _a R _b , -OC(=O)NR _a R _b , -OR _a , -SR _a , -SOR _a , -S(=O) ₂ R _a , -OS(=O) ₂ R _a 和 -S(=O) ₂ OR _a .	

图20

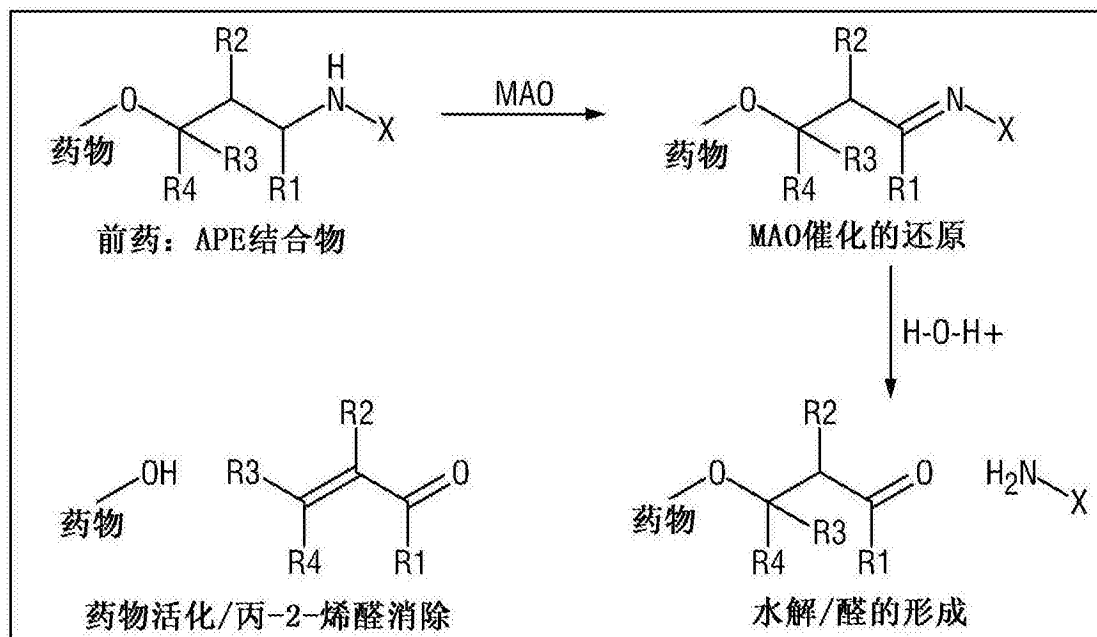


图21A

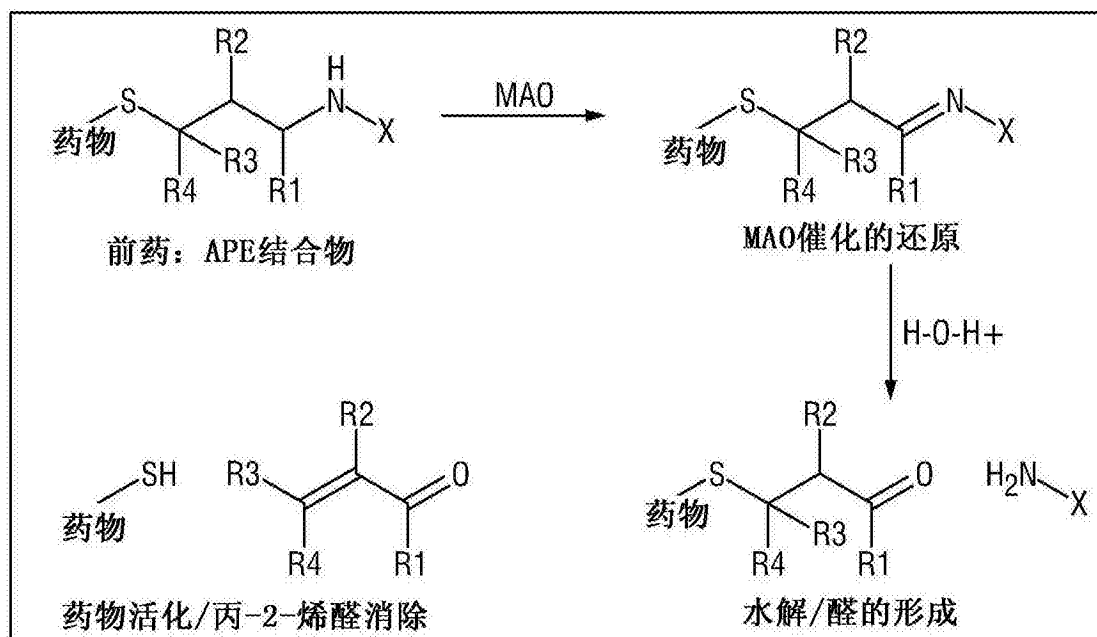
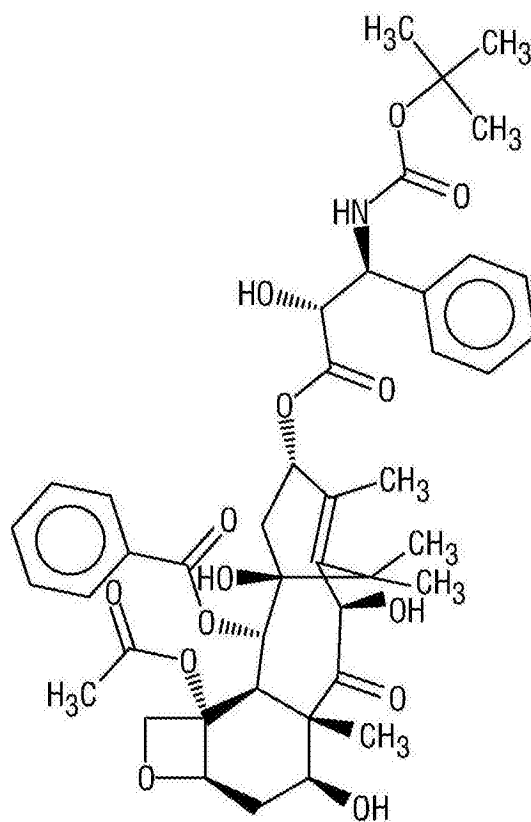
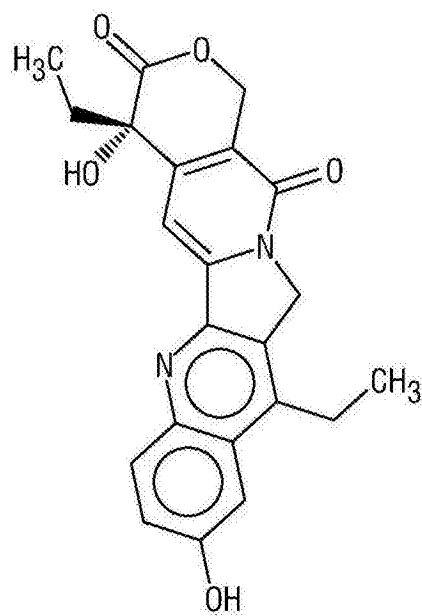


图21B



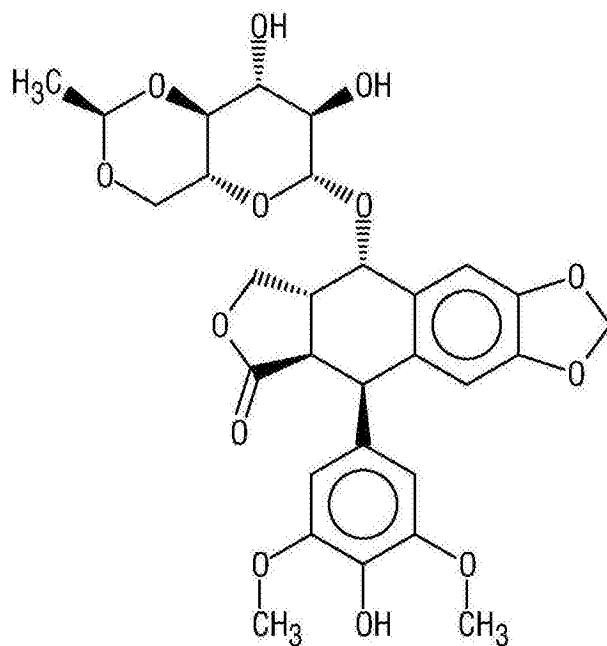
多西他赛 (taxel)

图22B



SN-38 (拓扑异构酶I)

图22C



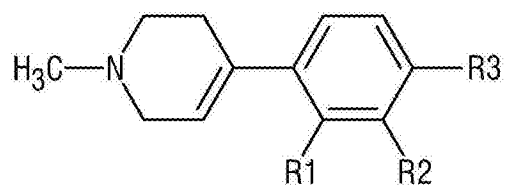
依托泊苷(拓扑异构酶II)

图22D

各种MPTP衍生物的MAO-A活性和MAO-B活性				
底物	取代	MAO-A的K _{cat}	MAO-B的K _{cat}	B/A
MPTP	3x H	143	523	3.66
R1	-CH ₃	593	1,275	2.15
R1	-CH ₂ CH ₃	688	295	0.4
R1	-正丙基	658	86	0.131
R1	-OCH ₃	511	233	0.456
R1	-CF ₃	520	0.33	0.000635
R1	-F	100	1,054	10.54
R1	-Cl	400	1,353	3.383
R1	-异丙基	1,131	51	0.0451
R2	-CH ₃	76	650	8.553
R2	-F	391	900	2.302
R2	-Cl	567	1,132	1.9965
R2	-Br	300	2,036	6.79
R2	-OCH ₃	0	944	>1000
R2	-CF ₃	214	514	2.4
R3	-CH ₃	58	345	5.95
R3	-F	0	423	>1000
R3	-Cl	69	595	8.63
R3	-NH ₂	12	54	4.5
R3	-NO ₂	185	16	0.087

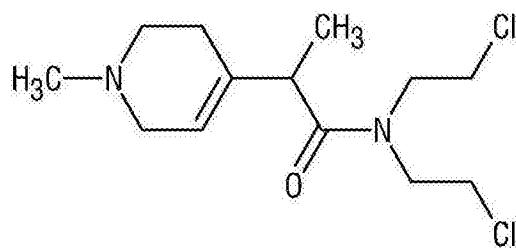
源自Palmer等人1997和Palmer 1998的数据。
显示了在MPTP上的取代对MAO-A/B动力学的影响。

图23A



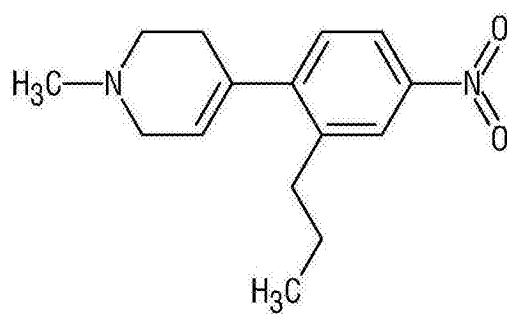
MPTP

图23B



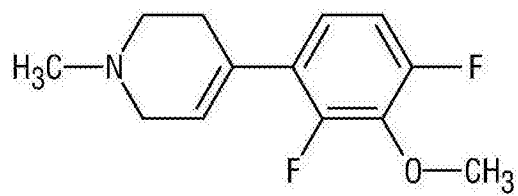
MAO-B

图23C



理想的MAO-A底物

图23D



理想的MAO-B底物

图23E

体内研究:

Q1: MP-MUS使得GBM肿瘤快速收缩
在24小时单次8 μ g/g MP-MUS尾静脉注射

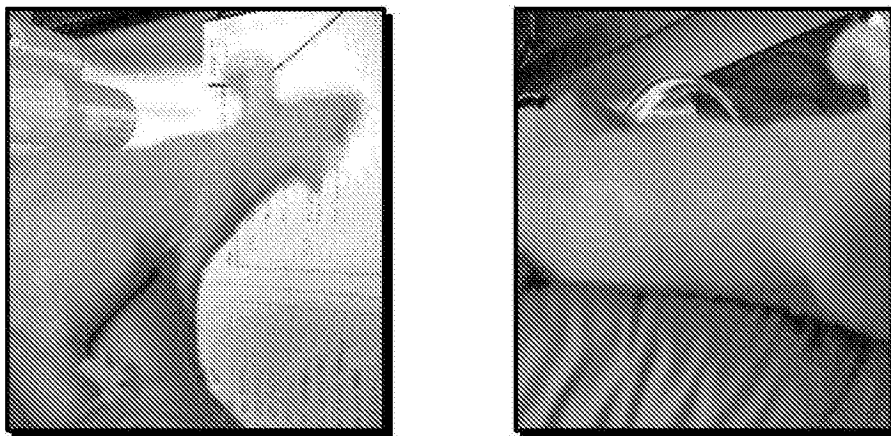


图24A

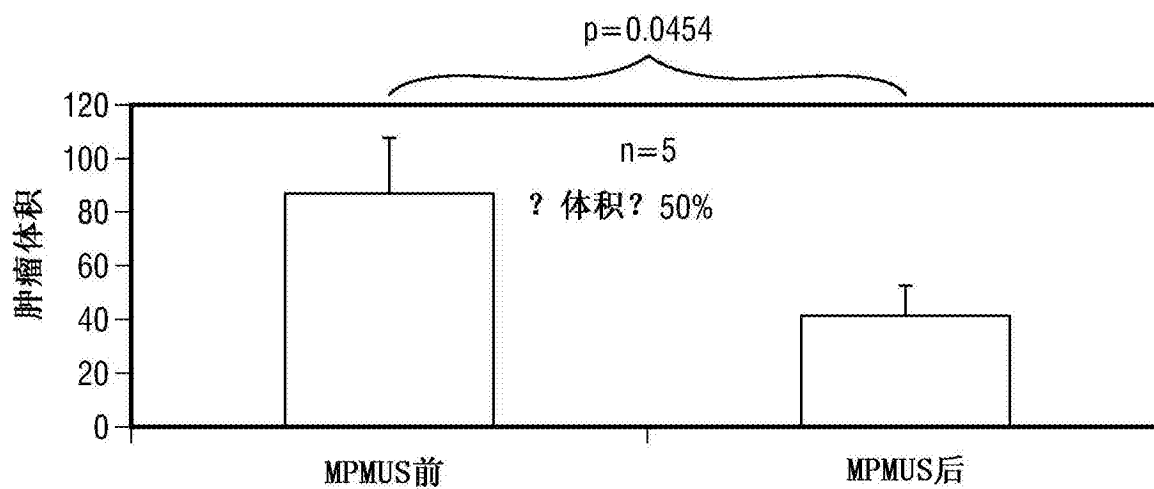


图24B

GBM细胞长到肿瘤外

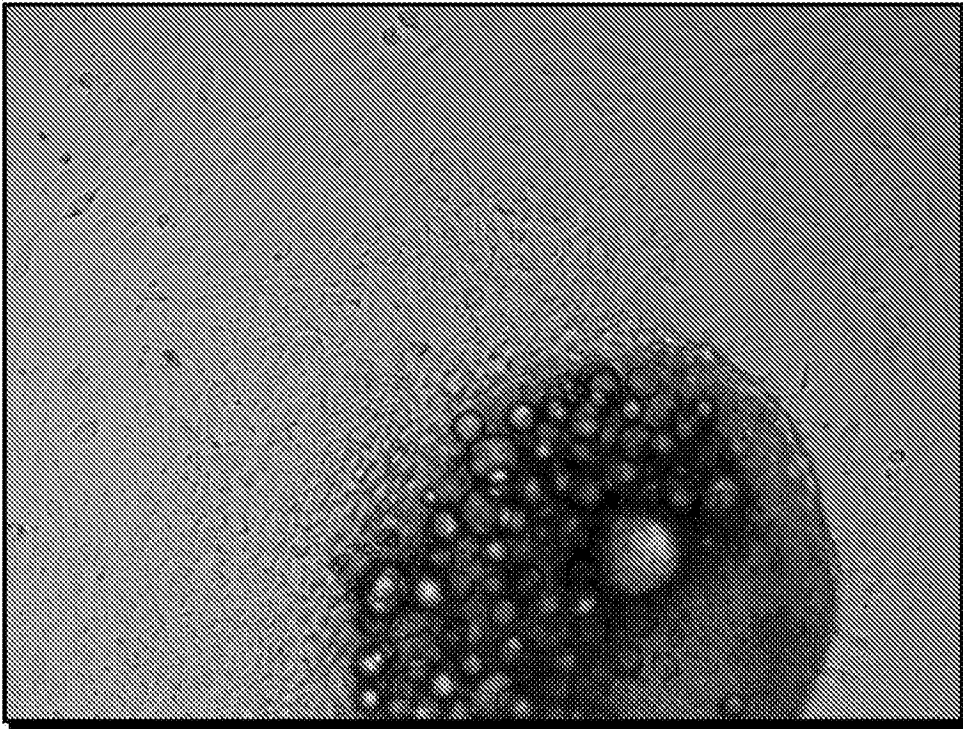


图25

源自盐水处理的GBM

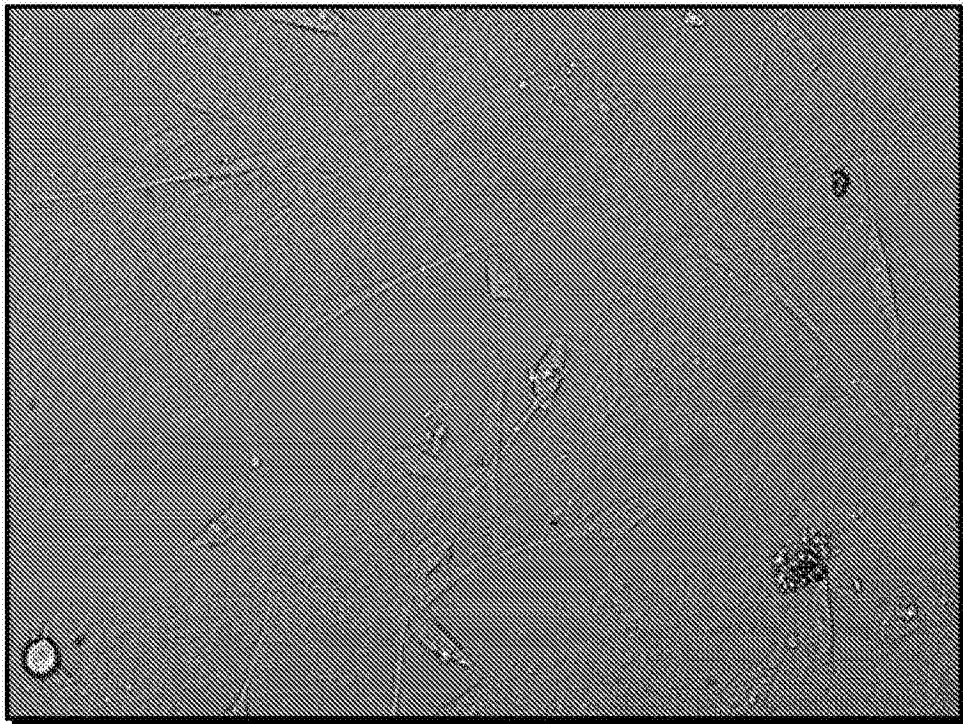


图26A

源自MP-MUS处理的GBM

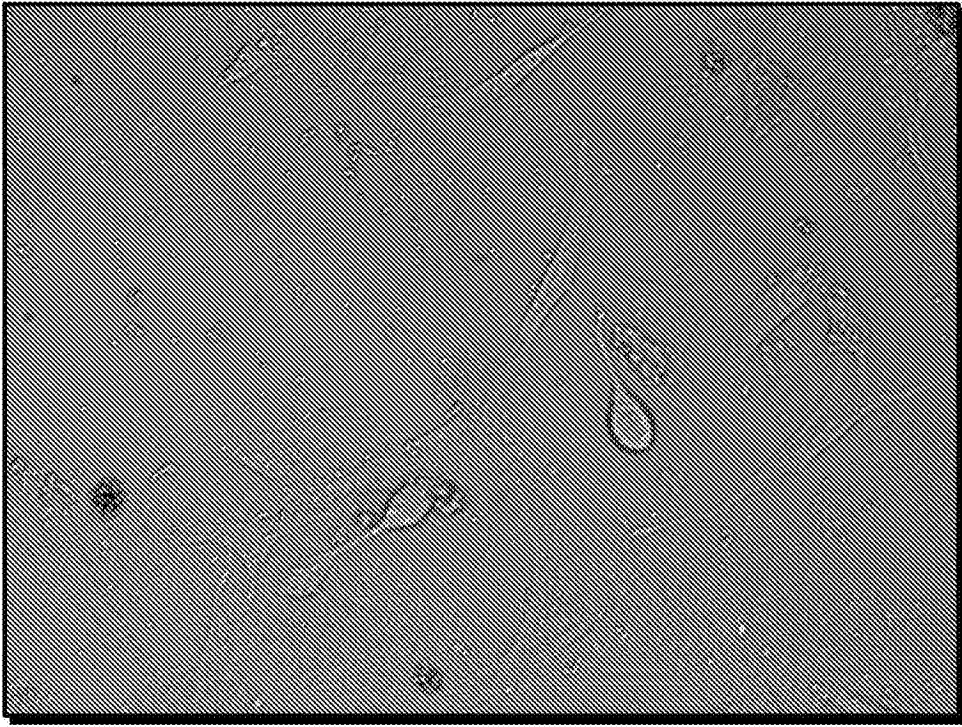


图26B

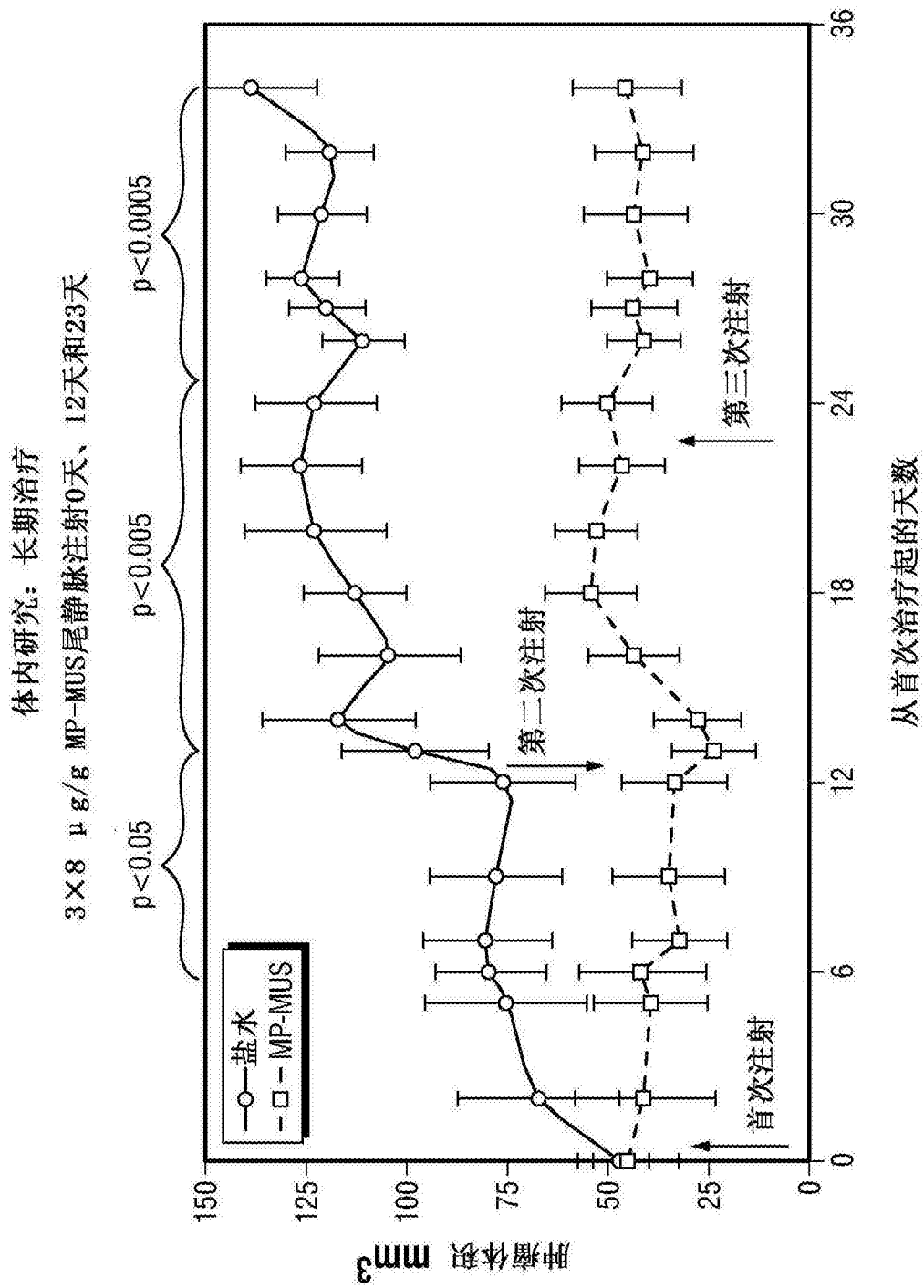


图27

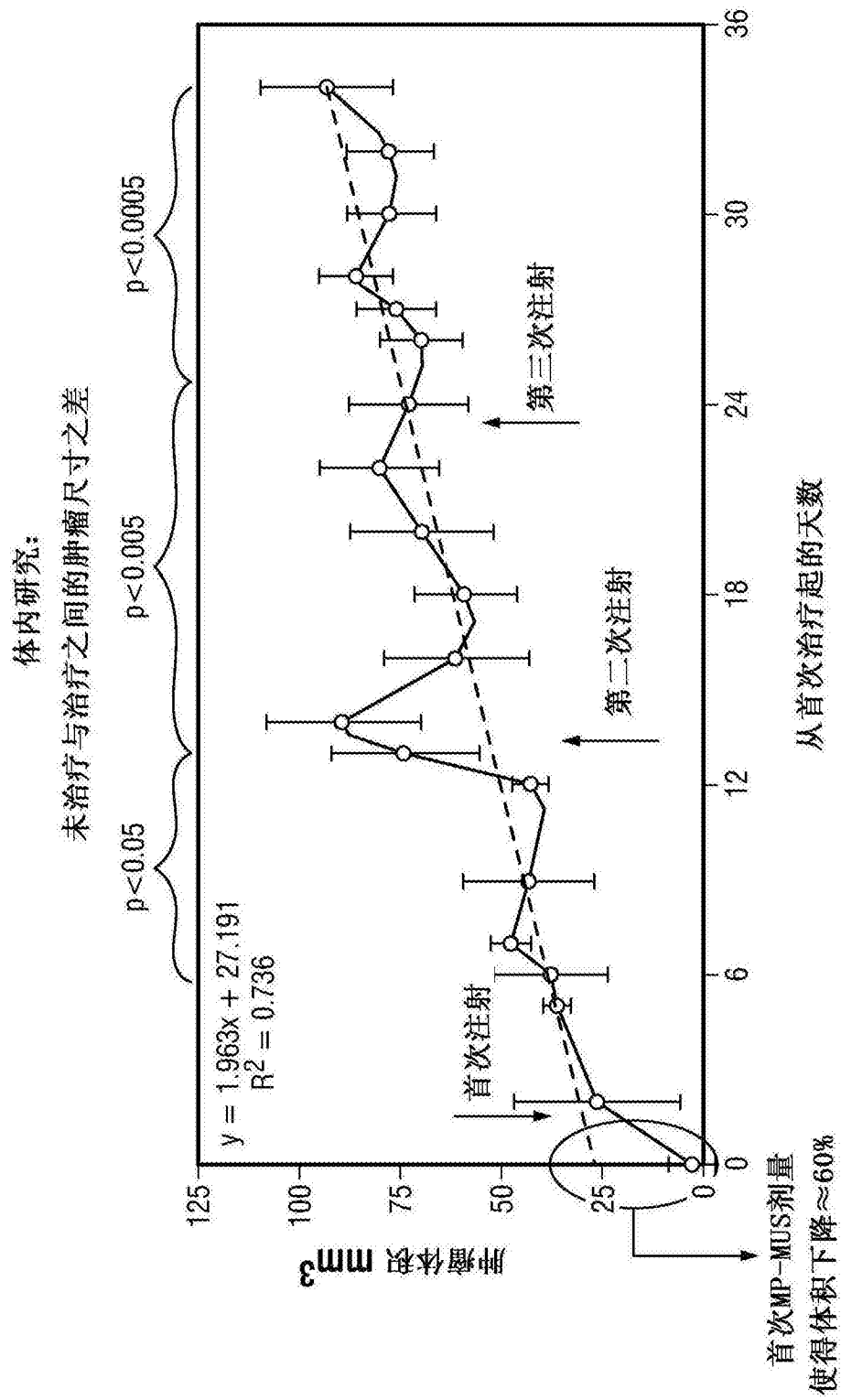


图28

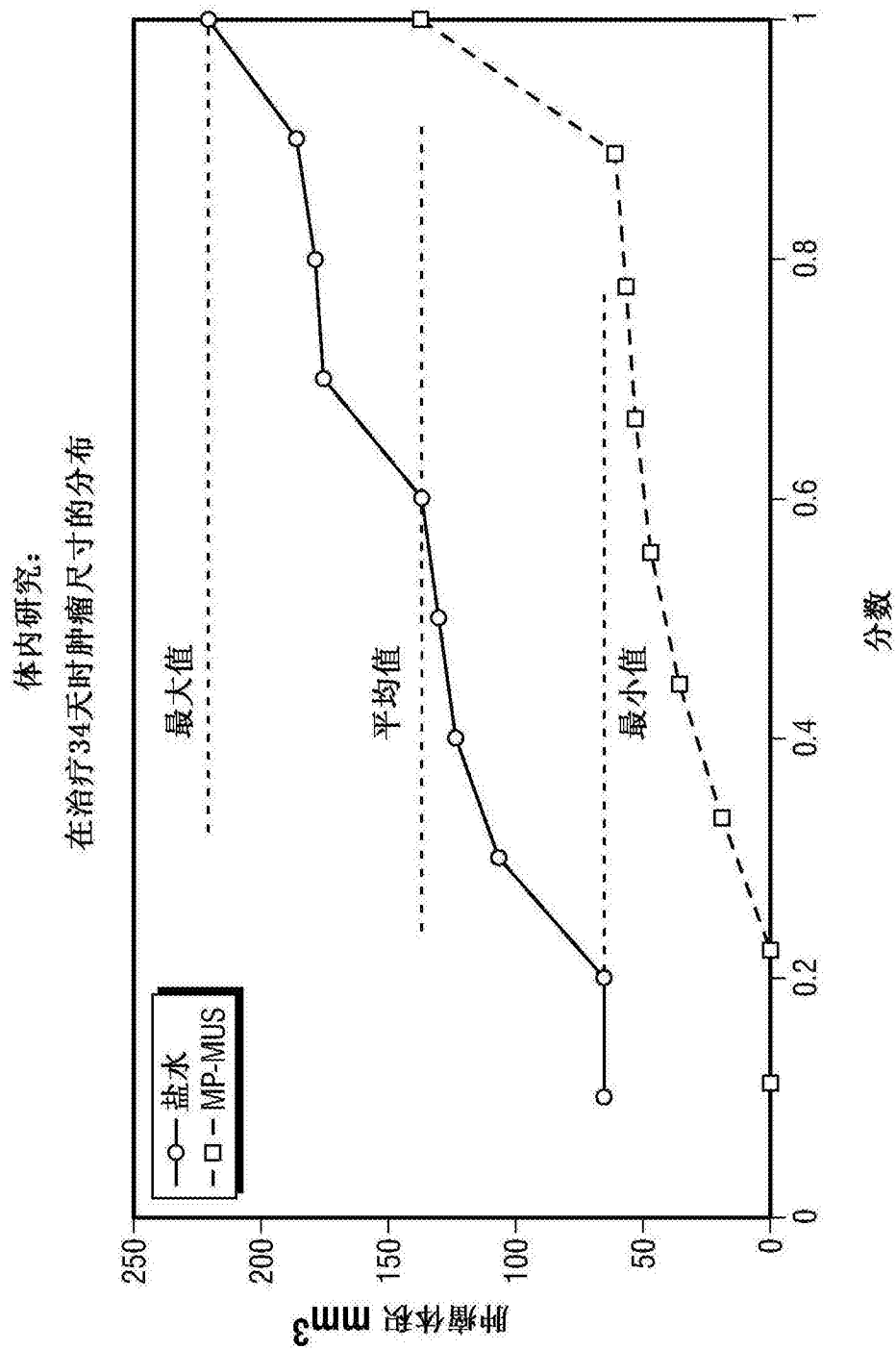


图29