



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111373246 A

(43)申请公布日 2020.07.03

(21)申请号 201880075241.9

(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所
11256

(22)申请日 2018.11.20

代理人 陈文平 吕小羽

(30)优先权数据

62/590,226 2017.11.22 US

(51)Int.Cl.

G01N 25/20(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2020.05.20

G01K 17/00(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/061944 2018.11.20

(87)PCT国际申请的公布数据

WO2019/104001 EN 2019.05.31

(71)申请人 希成生物医药

地址 美国新泽西州

(72)发明人 S·卡班达 H·辛格

权利要求书2页 说明书19页 附图11页

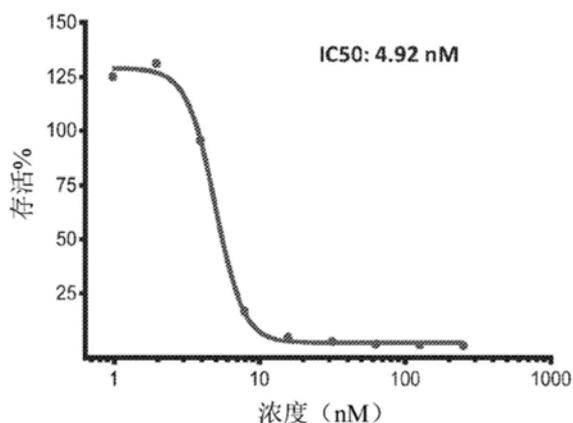
(54)发明名称

包括硼替佐米的聚合物纳米颗粒

(57)摘要

本发明涉及包括硼替佐米的聚合物纳米颗粒和用于治疗某些疾病的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用这些聚合物纳米颗粒。

Velcade-NP对RPMI8226的作用



1. 一种组合物,其包括:
 - a) 聚合物纳米颗粒,所述聚合物纳米颗粒包括聚(乳酸)-聚(乙二醇)-聚(丙二醇)-聚(乙二醇) (PLA-PEG-PPG-PEG) 四嵌段共聚物,以及
 - b) 硼替佐米 (bortezomib)。
2. 根据权利要求1所述的组合物,其中所述PLA-PEG-PPG-PEG四嵌段共聚物由PEG-PPG-PEG三嵌段共聚物与PLA的化学缀合形成。
3. 根据权利要求1所述的组合物,其中PLA的分子量介于约10,000与约100,000道尔顿之间。
4. 根据权利要求1所述的组合物,其中PLA的分子量介于约20,000与90,000道尔顿之间。
5. 根据权利要求1所述的组合物,其中PLA的分子量介于约30,000与80,000道尔顿之间。
6. 根据权利要求1所述的组合物,其中PEG-PPG-PEG的分子量介于约8,000道尔顿与18,000道尔顿之间。
7. 根据权利要求1所述的组合物,其中PEG-PPG-PEG的分子量介于约10,000道尔顿与15,000道尔顿之间。
8. 根据权利要求1所述的组合物,其中所述共聚物中的PLA的分子量介于17,000道尔顿与72,000道尔顿之间并且PEG-PPG-PEG的分子量为12,500道尔顿。
9. 根据权利要求1所述的组合物,其进一步包括第二治疗剂或靶向抗癌剂。
10. 根据权利要求9所述的组合物,其中所述第二治疗剂选自自由以下组成的组:克唑替尼 (crizotinib)、来那度胺 (lenalidomide)、格列卫 (gleevec)、赫赛汀 (herceptin)、阿瓦斯汀 (avastin)、PD-1检查点抑制剂、PDL-1检查点抑制剂和CTLA-4检查点抑制剂。
11. 一种药物组合物,其包括根据权利要求1所述的组合物以及药学上可接受的载剂。
12. 根据权利要求11所述的药物组合物,其中所述聚合物纳米颗粒进一步包括附接到所述聚合物纳米颗粒外部的靶向部分。
13. 一种治疗表现出癌症症状的细胞的方法,所述方法包括使所述细胞与治疗有效量的根据权利要求1所述的化合物接触。
14. 根据权利要求13所述的方法,其中所述细胞是来自受试者的细胞或培养的细胞中的一个或多个。
15. 根据权利要求14所述的方法,其中来自所述受试者的所述细胞是以下中的一个或多个:骨髓基质细胞 (BMSC)、外周血单核细胞 (PBMC)、淋巴细胞、毛囊、血细胞、其它上皮细胞、骨髓浆细胞、原发性癌细胞、源自患者的肿瘤细胞、正常或癌性造血干细胞、神经干细胞、实体瘤细胞或星形胶质细胞。
16. 一种用于治疗处于血液恶性肿瘤或与血液恶性肿瘤相关的病症的风险中或患有血液恶性肿瘤或与血液恶性肿瘤相关的病症的受试者的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的根据权利要求1所述的化合物以及药学上有效的载剂。
17. 根据权利要求16所述的方法,其中所述血液恶性肿瘤或病症是多发性骨髓瘤 (MM) 或淋巴瘤。
18. 根据权利要求16所述的方法,其中所述血液恶性肿瘤是骨髓增生异常综合征、霍奇

金氏淋巴瘤 (Hodgkin's lymphoma)、慢性淋巴细胞白血病、急性骨髓性白血病或B细胞淋巴瘤。

19. 根据权利要求17所述的方法,其中所述受试者处于有意义未明单克隆丙种球蛋白病(MGUS)、郁积型骨髓瘤、无症状性MM或症状性MM的风险中。

20. 根据权利要求19所述的方法,其中所述症状性MM是新诊断出的MM。

21. 根据权利要求19所述的方法,其中所述症状性MM是晚期复发性/难治性MM。

22. 根据权利要求16所述的方法,其进一步包括向所述受试者施用另外的抗癌疗法。

23. 根据权利要求22所述的方法,其中所述另外的抗癌疗法是手术、化学疗法、放射、激素疗法、免疫疗法或其组合。

24. 根据权利要求22所述的方法,其中所述另外的抗癌疗法减少了骨吸收。

25. 根据权利要求22所述的方法,其中所述另外的抗癌疗法减少了破骨细胞介导的骨再吸收。

26. 根据权利要求24所述的方法,其中所述另外的抗癌疗法是二膦酸盐。

26. 根据权利要求17所述的方法,其中所述受试者是人。

27. 根据权利要求17所述的方法,其中施用是通过选自由以下组成的组的途径进行的:皮下递送、静脉内递送和腹膜内递送。

28. 根据权利要求17所述的方法,其中所述组合物的施用不诱导所述受试者的体重减轻。

29. 一种降低患有多发性骨髓瘤的受试者的多发性骨髓瘤细胞的增殖能力、存活能力、迁移能力或群落形成能力的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的根据权利要求1所述的化合物以及药学上有效的载剂。

30. 根据权利要求29所述的方法,其中施用是通过选自由以下组成的组的途径进行的:皮下递送、静脉内递送和腹膜内递送。

31. 一种抑制受试者的骨髓瘤转移的方法,所述方法包括向患有骨髓瘤的受试者施用治疗有效量的根据权利要求1所述的组合物以及药学上有效的载剂。

32. 根据权利要求31所述的方法,其中施用是通过选自由以下组成的组的途径进行的:皮下递送、静脉内递送和腹膜内递送。

包括硼替佐米的聚合物纳米颗粒

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2017年11月22日提交的USSN 62/590,226的优先权。本申请的内容通过引用整体并入本文。

技术领域

[0003] 本发明涉及纳米技术领域,并且更具体地说,涉及可生物降解的聚合物纳米颗粒用于递送治疗剂(如硼替佐米(bortezomib))的用途。

背景技术

[0004] 硼替佐米(N-2-吡嗪羰基-L-苯丙氨酸-L-亮氨酸硼酸),一种具有L-亮氨酸部分和L-苯丙氨酸部分的硼化二肽化合物,是选择性蛋白酶体抑制剂。硼替佐米对蛋白酶体的抑制以多种方式影响癌细胞,包括引起细胞周期停滞和细胞凋亡。所述化合物已经获得监管批准用于治疗多发性骨髓瘤(包含复发性多发性骨髓瘤)和某些淋巴瘤(包含套细胞淋巴瘤)。还已经报道了硼替佐米的其它潜在用途,包含治疗淀粉样变性。

发明内容

[0005] 本公开部分地基于以下发现:在治疗多发性骨髓瘤(MM)中,包括硼替佐米的纳米颗粒比单独的硼替佐米更有效。因此,一方面,本发明提供了一种组合物,所述组合物包括:聚合物纳米颗粒,所述聚合物纳米颗粒包括嵌段共聚物,所述嵌段共聚物包括聚(乳酸)(PLA)和聚(乙二醇)(PEG);以及硼替佐米。

[0006] 本公开提供了一种组合物,所述组合物包括:聚合物纳米颗粒,所述聚合物纳米颗粒包括聚(乳酸)-聚(乙二醇)-聚(丙二醇)-聚(乙二醇)(PLA-PEG-PPG-PEG)四嵌段共聚物;以及硼替佐米。

[0007] 在所述组合物的各个实施例中,所述PLA-PEG-PPG-PEG四嵌段共聚物由PEG-PPG-PEG三嵌段共聚物与PLA的缀合形成。例如,所述缀合是化学缀合。

[0008] 在所述组合物的各个实施例中,PLA的分子量介于约10,000与约100,000道尔顿之间;介于约20,000与90,000道尔顿之间;介于约30,000与80,000道尔顿之间;介于约8,000道尔顿与18,000道尔顿之间;或介于约10,000道尔顿与15,000之间。例如,PLA的分子量为约10,000;20,000;30,000;40,000;50,000;60,000;70,000;80,000;90,000或100,000道尔顿。在另外的实施例中,PLA的分子量为约12,500道尔顿(即,12.5kDa)或约72,000道尔顿(即,72kDa)。在一个实施例中,用于生成呈A-B结构的四嵌段(即,具有规则交替的A子单元和B子单元的交替共聚物)的PEG-PPG-PEG的分子量为12.5kDa。

[0009] 在各个实施例中,所述组合物进一步包括化学治疗剂或靶向抗癌剂,所述化学治疗剂或所述靶向抗癌剂选自以下组成的组:来那度胺、克唑替尼、格列卫、赫赛汀、阿瓦斯汀、PD-1检查点抑制剂、PDL-1检查点抑制剂和CTLA-4检查点抑制剂和其组合。

[0010] 在所述组合物的各个实施例中,所述聚合物纳米颗粒由聚合物形成,所述聚合物

基本上由聚(乳酸)-聚(乙二醇)(PLA-PEG)二嵌段共聚物组成。

[0011] 在所述组合物的各个实施例中,所述聚合物纳米颗粒由聚合物形成,所述聚合物基本上由聚(乳酸)-聚(乙二醇)-聚(丙二醇)-聚(乙二醇)(PLA-PEG-PPG-PEG)四嵌段共聚物组成。

[0012] 在所述组合物的各个实施例中,所述聚合物纳米颗粒进一步包括附接到所述聚合物纳米颗粒外部的靶向部分,并且其中所述靶向部分是抗体、肽或适体。在各个实施例中,所述靶向部分包括免疫球蛋白分子、scFv、单克隆抗体、人源化抗体、嵌合抗体、人源化抗体、Fab片段、Fab'片段、F(ab')₂、Fv和二硫键连接的Fv。

[0013] 在本文所提供的组合物或方法中的任何组合物或方法的各个实施例中,纳米颗粒由包括聚(乳酸)(PLA)和聚(乙二醇)的嵌段共聚物(PEG);以及硼替佐米形成。在一个实施例中,纳米颗粒在一定时间段内释放硼替佐米。在另外的实施例中,所述时间段为至少1天到20天。在所述方法的各个实施例中,所述时间段为约5天到10天。

[0014] 本公开还提供了一种药物组合物,所述药物组合物包括:聚合物纳米颗粒,所述聚合物纳米颗粒包括聚(乳酸)-聚(乙二醇)-聚(丙二醇)-聚(乙二醇)(PLA-PEG-PPG-PEG)四嵌段共聚物;硼替佐米;以及药学上可接受的载剂。在某些实施例中,所述聚合物纳米颗粒进一步包括附接到所述聚合物纳米颗粒外部的靶向部分。

[0015] 本公开还提供了一种治疗表现出癌症症状的细胞的方法,所述方法包括使所述细胞与治疗有效量的包括聚合物纳米颗粒和硼替佐米的组合物接触,所述聚合物纳米颗粒包括聚(乳酸)-聚(乙二醇)-聚(丙二醇)-聚(乙二醇)(PLA-PEG-PPG-PEG)四嵌段共聚物。在某些实施例中,所述细胞是来自受试者的细胞或培养的细胞中的一个或多个。在具体实施例中,来自所述受试者的所述细胞是以下中的一个或多个:骨髓基质细胞(BMSC)、外周血单核细胞(PBMC)、淋巴细胞、毛囊、血细胞、其它上皮细胞、骨髓浆细胞、原发性癌细胞、源自患者的肿瘤细胞、正常或癌性造血干细胞、神经干细胞、实体瘤细胞或星形胶质细胞。

[0016] 本公开还提供了一种用于治疗处于有血液恶性肿瘤或与血液恶性肿瘤相关联的病症的风险或患有血液恶性肿瘤或血液恶性肿瘤相关联的受试者的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的包括聚合物纳米颗粒和硼替佐米的组合物以及药学上有效的载剂,所述聚合物纳米颗粒包括聚(乳酸)-聚(乙二醇)-聚(丙二醇)-聚(乙二醇)(PLA-PEG-PPG-PEG)四嵌段共聚物。

[0017] 在某些实施例中,所述血液恶性肿瘤或病症是多发性骨髓瘤(MM)或淋巴瘤。在其它实施例中,所述血液恶性肿瘤是骨髓增生异常综合征、霍奇金氏淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病、急性骨髓性白血病或B细胞淋巴瘤。在其它实施例中,所述受试者处于有意义未明单克隆丙种球蛋白病(MGUS)、郁积型骨髓瘤、无症状性MM或症状性MM的风险中。任选地,所述症状性MM是新诊断出的MM或晚期复发性/难治性MM。

[0018] 在某些实施例中,所述方法还包含向所述受试者施用另外的抗癌疗法。在某些实施例中,所述另外的抗癌疗法是手术、化学疗法、放射、激素疗法、免疫疗法或其组合。任选地,所述另外的抗癌疗法减少了骨吸收或减少破骨细胞介导的骨再吸收。在某些实施例中,所述另外的抗癌疗法是二膦酸盐。在其它实施例中,所述受试者是人。

[0019] 在某些实施例中,施用是通过选自以下组成的组的途径进行的:皮下递送、静脉内递送和腹膜内递送。在另一个实施例中,所述组合物的施用不诱导所述受试者的体重减

轻。

[0020] 本公开还提供了一种降低患有多发性骨髓瘤的受试者的多发性骨髓瘤细胞的增殖能力、存活能力、迁移能力或群落形成能力的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的包括聚合物纳米颗粒和硼替佐米的组合物以及药学上有效的载剂,所述聚合物纳米颗粒包括聚(乳酸)-聚(乙二醇)-聚(丙二醇)-聚(乙二醇)(PLA-PEG-PPG-PEG)四嵌段共聚物。

[0021] 在某些实施例中,所述血液恶性肿瘤或病症是多发性骨髓瘤(MM)或淋巴瘤。在其它实施例中,所述血液恶性肿瘤是骨髓增生异常综合征、霍奇金氏淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病或B细胞淋巴瘤。在其它实施例中,所述受试者处于有意义未明单克隆丙种球蛋白病(MGUS)、郁积型骨髓瘤、无症状性MM或症状性MM的风险中。任选地,所述症状性MM是新诊断出的MM或晚期复发性/难治性MM。在某些实施例中,施用是通过选自由以下组成的组的途径进行的:皮下递送、静脉内递送和腹膜内递送。

[0022] 在某些实施例中,所述方法还包含向所述受试者施用另外的抗癌疗法。在某些实施例中,所述另外的抗癌疗法是手术、化学疗法、放射、激素疗法、免疫疗法或其组合。在某些实施例中,所述另外的抗癌疗法减少了骨吸收。在其它实施例中,所述另外的抗癌疗法减少了破骨细胞介导的骨再吸收。在某些实施例中,所述另外的抗癌疗法是二膦酸盐。在某些实施例中,所述受试者是人。在某些实施例中,施用是通过选自由以下组成的组的途径进行的:皮下递送、静脉内递送和腹膜内递送。

[0023] 本公开还提供了一种降低患有多发性骨髓瘤的受试者的多发性骨髓瘤细胞的增殖能力、存活能力、迁移能力或群落形成能力的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的包括聚合物纳米颗粒和硼替佐米的组合物以及药学上有效的载剂,所述聚合物纳米颗粒包括聚(乳酸)-聚(乙二醇)-聚(丙二醇)-聚(乙二醇)(PLA-PEG-PPG-PEG)四嵌段共聚物。在某些实施例中,施用是通过选自由以下组成的组的途径进行的:皮下递送、静脉内递送和腹膜内递送。

[0024] 本公开还提供了一种抑制受试者的骨髓瘤转移的方法,所述方法包括向患有骨髓瘤的受试者施用治疗有效量的包括聚合物纳米颗粒和硼替佐米的组合物以及药学上有效的载剂,所述聚合物纳米颗粒包括聚(乳酸)-聚(乙二醇)-聚(丙二醇)-聚(乙二醇)(PLA-PEG-PPG-PEG)四嵌段共聚物。在某些实施例中,施用是通过选自由以下组成的组的途径进行的:皮下递送、静脉内递送和腹膜内递送。

[0025] 在所述方法的各个实施例中,所述癌症是血液学癌症或相关病状。

[0026] 在所述方法的各个实施例中,所述癌症是乳腺癌、前列腺癌、非小细胞肺癌、转移性结肠癌、胰腺癌或恶性肿瘤。例如,癌症包括PD-1难治性肿瘤。

[0027] 本领域的技术人员将意识到,本文所描述的本发明受制于除具体描述的那些变化和修改之外的变化和修改。应当理解的是,本文所描述的本发明包含所有此类变化和修改。本发明还包含在本说明书中单独地或共同地参考或指示的所有此类步骤、特征、组合物和化合物,以及步骤或特征中的任何两个或更多个的任何组合和所有组合。

附图说明

[0028] 以下附图构成本说明书的一部分并且被包括以进一步展示本发明的各方面。

[0029] 图1A和1B是示出了在含有硼替佐米的纳米颗粒的浓度增加(图1A)或剂量增加(图1B)时的RPMI-8226多发性骨髓瘤细胞的存活百分比的曲线图。

[0030] 图2A和2B是示出了在含有硼替佐米的纳米颗粒的浓度增加(图2A)或剂量增加(图2B)时的OPM-2多发性骨髓瘤细胞的存活百分比的曲线图。

[0031] 图3是示出了用含有硼替佐米的纳米颗粒(圆形)或媒剂(方形)治疗的植入的RPMI-8226MM动物异种移植物中随时间推移的肿瘤体积的曲线图。

[0032] 图4是示出了用含有硼替佐米的纳米颗粒或媒剂治疗的RPMI-8226MM异种移植小鼠的体重随时间推移的曲线图。

[0033] 图5是示出了用1.5mg/kg单独的硼替佐米或含有硼替佐米的纳米颗粒治疗的野生型小鼠的体重变化随时间推移的曲线图。

[0034] 图6是示出了用3.0mg/kg单独的硼替佐米或含有硼替佐米的纳米颗粒治疗的野生型小鼠的体重变化随时间推移的曲线图。

[0035] 图7是示出了用6.0mg/kg单独的硼替佐米或含有硼替佐米的纳米颗粒治疗的野生型小鼠的体重变化随时间推移的曲线图。

[0036] 图8是示出了用9.0mg/kg单独的硼替佐米或含有硼替佐米的纳米颗粒治疗的野生型小鼠的体重变化随时间推移的曲线图。

[0037] 图9是示出了用12.0mg/kg单独的硼替佐米或含有硼替佐米的纳米颗粒治疗的野生型小鼠的体重变化随时间推移的曲线图。

[0038] 图10A和10B是硼替佐米四嵌段聚合物纳米颗粒的透射电子显微照片。

[0039] 图11是示出了硼替佐米在无细胞缓冲系统中的缓慢且持续的体外释放的曲线图。

[0040] 图12是示出了MCF-7激素依赖性乳腺癌细胞系在暴露于不同浓度的硼替佐米(蓝色,底部的线)和硼替佐米纳米颗粒(红色,顶部的线)时的增殖百分比的曲线图。

[0041] 图13是示出了在nu/nu小鼠中作为s.c.异种移植物生长的RPMI-8226多发性骨髓瘤细胞的肿瘤体积(mm^3)随时间推移的曲线图。

具体实施方式

[0042] 提供了包括尤其对治疗或预防癌症(包含血液学癌症)有用的硼替佐米(产品名称VELCADE®)的纳米颗粒。血液学癌症包含例如多发性骨髓瘤和淋巴瘤和与其相关联的病状。

[0043] 定义

[0044] 为方便起见,在进一步描述本发明之前,这里收集了说明书、实例和所附权利要求中所使用的某些术语。这些定义应根据本公开的剩余部分且如本领域技术人员所理解的那样理解。除非另有定义,否则本文所使用的所有技术术语和科学术语都具有与本领域的普通技术人员通常理解的含义相同的含义。除非另外在具体实例中有所限制,否则贯穿本说明书所使用的术语定义如下。

[0045] 使用冠词“一个/一种(a/an)”和“所述(the)”指代冠词的语法宾语中的一个或多个(即,至少一个)。

[0046] “抗癌疗法”意指使肿瘤的生长或转移或肿瘤的转移减缓的任何治疗。

[0047] “吸收”意指吸收某物的过程(例如,抗癌疗法)或被吸收的过程。

[0048] “免疫疗法”是使用物质来刺激或抑制免疫系统以帮助身体对抗癌症、感染和其它疾病的疗法。一些类型的免疫疗法仅靶向免疫系统的某些细胞。其它类型的免疫疗法以一般的方式影响免疫系统。免疫疗法的类型包含细胞因子、疫苗、卡介苗 (BCG) 和一些单克隆抗体。

[0049] 术语“包括 (comprise/comprising)”、“包含 (including)”、“含有 (containing)”、“特征在于 (characterized by)”和其语法等效物以包含性开放的意义使用,意指可以包含另外的要素。所述术语并不旨在被解释为“仅由...组成”。

[0050] 如本文所使用的,“由...组成”和其语法等效物不包括权利要求中未指定的任何要素、步骤或成分。

[0051] 如本文所使用的,术语“约”或“大约”通常意指在给定值或范围的20%之内、更优选地在10%之内、并且仍最优选地在5%之内。

[0052] 如本文所使用的术语“可生物降解”是指聚合物结构的酶分解或降解和非酶分解或降解两者。

[0053] 术语“阳离子”是指在相应的环境条件下具有净正电荷或正 ζ 电位的任何药剂、组合物、分子或硅绝缘体。在各个实施例中,本文所描述的纳米颗粒包含阳离子聚合物、肽、蛋白质载剂或脂质。

[0054] “激素疗法”意指增加、阻碍或去除激素的治疗。

[0055] “免疫疗法”意指使用物质来刺激或抑制免疫系统以帮助身体对抗癌症、感染和其它疾病的疗法。一些类型的免疫疗法仅靶向免疫系统的某些细胞。其它类型的免疫疗法以一般的方式影响免疫系统。免疫疗法的类型包含细胞因子、疫苗、卡介苗 (BCG) 和一些单克隆抗体。

[0056] “破骨细胞”意指大、多核且与骨再吸收相关联的骨细胞。

[0057] “骨组织的再吸收”意指破骨细胞分解骨^[1]中的组织并释放矿物质,从而使得钙从骨组织转移到血液的过程。

[0058] “淋巴瘤”意指B细胞或T细胞在淋巴系统中的恶性生长,所述淋巴瘤任选地包含霍奇金氏淋巴瘤或非霍奇金氏淋巴瘤 (NHL)。在实施例中,非霍奇金氏淋巴瘤选自自由以下组成的组:侵袭性NHL、转化的NHL、惰性NHL、复发性NHL、难治性NHL、低度恶性非霍奇金氏淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、大细胞淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、NK细胞淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、急性淋巴细胞淋巴瘤和皮肤T细胞癌症,包含蕈样真菌病 (mycosos fungoides)/塞扎里氏综合征 (Sezry syndrome)。“惰性”非霍奇金氏淋巴瘤是一种包含淋巴瘤的缓慢生长形式的分类。所述“惰性”非霍奇金氏淋巴瘤涵盖在工作分类中称为低度恶性NHL和一些类别的中度恶性NHL的NHL。惰性NHL有时对常规癌症疗法(如化学疗法和放射疗法)无反应。惰性NHL和其它恶化前形式的NHL也可以进展为NHL。关于恶化前形式或良性形式的疾病,任选地,组合物和其方法除了治疗之外或代替治疗可以应用于预防,例如任选地应用于停止疾病进展为恶性形式的NHL。“转化的”非霍奇金氏淋巴瘤是有时用于描述获取侵袭性的方面并且变得对标准化学疗法更具反应性的惰性NHL的分类。

[0059] “多发性骨髓瘤”意指特征在于终末分化的B细胞(浆细胞)在骨髓中积聚的任何类型的B细胞恶性肿瘤。多发性骨髓瘤癌症可以是产生 κ 型轻链和/或 λ 型轻链若干个多发性骨

髓瘤癌症；和/或侵袭性多发性骨髓瘤，包含原发性浆细胞白血病 (PCL)，和/或任选地包含可以进展为多发性骨髓瘤的良性浆细胞病症，如MGUS (意义未明单克隆丙种球蛋白病) 和/或华氏巨球蛋白血症 (WM，也称为淋巴浆细胞性淋巴瘤)；和/或郁积型多发性骨髓瘤 (SMM)、和/或惰性多发性骨髓瘤、和/或多发性骨髓瘤的重新治疗、也可以进展为多发性骨髓瘤的恶化前形式的多发性骨髓瘤；和/或原发性淀粉样变性之一。关于恶化前形式或良性形式的疾病，任选地，组合物和其方法除了治疗之外或代替治疗可以应用于预防，例如任选地应用于停止疾病进展为恶性形式的多发性骨髓瘤。

[0060] 如本文所使用的，“难治性骨髓瘤”是尽管有积极治疗仍会进展的疾病。难治性多发性骨髓瘤可以包含两种类型的患者：1. 原发性难治性患者，所述患者在仍在进行诱导疗法 (包含化疗疗法) 时从未实现反应和进展，或所述患者的骨髓瘤最初对治疗从未有反应。2. 继发性难治性患者，所述患者对诱导化学疗法有反应但在复发之后对治疗无反应。这包含骨髓瘤药物最初起作用但在复发性疾病复发之后不再起作用的情形。

[0061] 如本文所使用的，术语“纳米颗粒”是指直径范围介于10nm与1000nm之间的颗粒，其中直径是指体积与颗粒相同的完美球体的直径。术语“纳米颗粒”与“一个或多个纳米颗粒”可以互换使用。在一些情况下，颗粒直径的范围为约1到1000nm、10到500nm、20到300nm或100到300nm。在各个实施例中，直径为约30到170nm。在实施例中，纳米颗粒的直径为1、5、10、25、50、75、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、600、625、650、675、700、725、750、775、800、825、850、875、900、925、950、975或1000nm。

[0062] 在一些情况下，可能存在颗粒群。如本文所使用的，纳米颗粒的直径是特定群的分布的平均值。

[0063] 如本文所使用的，术语“聚合物”被赋予其在所属领域中使用的普通含义，即包括通过共价键连接的一个或多个重复单元 (单体) 的分子结构。重复单元可以全部是相同的，或在一些情况下，聚合物内可以存在多于一种类型的重复单元。

[0064] 如本文所使用的，术语“化学治疗剂”“治疗剂”和“药物”可以互换使用，并且还旨在不仅涵盖具有固有药理学活性或生物活性的化合物或物种，而且还涵盖包含这些活性化合物或物种中的一个或多个活性化合物或物种以及缀合、修饰和药理学活性片段的材料和其抗体衍生物。

[0065] “靶向部分”是将选择性地结合到所靶向的细胞的表面的分子。例如，靶向部分可以是与在特定类型的细胞上发现的或与在其它细胞上相比，在靶细胞上以比更高的频率表达的细胞表面受体结合的配体。

[0066] 靶向部分或治疗剂可以是肽或蛋白质。“蛋白质”和“肽”是本领域中熟知的术语，并且如本文所使用的，这些术语被赋予其在所属领域中的普通含义。通常，肽是长度小于约100个氨基酸的氨基酸序列，但是可以包含多达300个氨基酸。蛋白质通常被认为是至少100个氨基酸的分子。氨基酸可以呈D-构型或L-构型。蛋白质可以是例如蛋白质药物、抗体、重组抗体、重组蛋白质、酶等。在一些情况下，可以例如通过添加如以下等化学实体来修饰肽或蛋白质的氨基酸中的一或多个氨基酸：碳水化合物基团、磷酸基团、法尼基团、异法尼基团、脂肪酸基团、用于缀合、功能化或其它修饰 (如环化、旁环化和旨在赋予肽和蛋白质更有利的特性的许多其它修饰中的任何修饰) 的连接子。在其它实例中，肽或蛋白质的氨基酸中

的一个或多个氨基酸可以通过利用一个或多个非天然存在的氨基酸取代来修饰。肽或蛋白质可以选自如噬菌体文库、酵母文库或体外组合文库等组合文库。

[0067] 如本文所使用的术语“组合”、“治疗组合”或“药物组合”是指两个或更多个治疗剂的组合施用(例如,共递送)。可以同时或依次施用组合疗法的组分,即在暂时不同于一个或多个其它组分的时间上施用组合的至少一个组分。在实施例中,在一个或多个其它组分的一个月、一周、1到6天、18、12、10、9、8、7、6、5、4、3、2、1小时或30、20、15、10或5分钟内施用一个或多个组分。

[0068] 如本文所使用的术语“药学上可接受的”是指在正确医学判断的范围内适合于与温血动物(例如,哺乳动物或人)的组织接触而不会产生过多毒性、刺激、过敏反应和与合理的效益/风险比相称的其它问题并发症的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0069] 包括一个或多个治疗剂的聚合物纳米颗粒的“治疗有效量”是相对于用组合治疗的病症的基线临床可观察体征和症状足以提供可观察或临床上显著改善的量。

[0070] 如本文所使用的术语“受试者”或“患者”旨在包含可能遭受或患有癌症或直接或间接涉及癌症的任何病症的动物。受试者的实例包含哺乳动物,例如人、猿、猴、狗、牛、马、猪、绵羊、山羊、猫、小鼠、兔、大鼠和转基因非人类动物。在一个实施例中,受试者是人,例如患有、有风险患有或潜在可能患有癌症的人。

[0071] 如本文所使用的术语“治疗(treating/treatment)”包括缓解、减少或减轻至少一种受试者症状或使疾病进展延迟的治疗。例如,治疗可以是削弱病症的一种或若干种症状或完全消除病症(如癌症)。在本公开的含义内,术语“治疗”还表示阻滞和/或降低疾病恶化的风险。如本文所使用的术语“预防(prevent/preventing/prevention)”包括预防与状态、疾病或病症被预防相关联或由其引起的至少一种症状。

[0072] 如本文所使用的,术语“血液学病症”意指表现为由在血癌中发现的细胞的开始于如骨髓等造血组织或免疫系统的细胞的癌性或癌前状态所表现出的疾病或病状。实例包含多发性骨髓瘤、白血病、淋巴瘤(也称为血癌)和与其相关联的疾病或病状。另外的疾病或病状可以包含例如白血病,例如急性非淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、急性粒细胞白血病、慢性粒细胞白血病、急性早幼粒细胞白血病、成人T细胞白血病、非白血性白血病(a leukemic leukemia)、白血性白血病、嗜碱细胞性白血病(basophylic leukemia)、母细胞白血病、牛白血病、慢性髓细胞性白血病、皮肤白血病、胚胎性白血病、嗜酸细胞性白血病、格罗斯白血病(Gross' leukemia)、毛细胞白血病、成血细胞性白血病(hemoblastic leukemia)、成血细胞性白血病(hemocytoblastic leukemia)、组织细胞性白血病、干细胞白血病、急性单核细胞白血病、白细胞减少性白血病、淋巴性白血病、成淋巴细胞性白血病、淋巴细胞性白血病、淋巴原性白血病(lymphogenous leukemia)、淋巴样白血病、淋巴肉瘤细胞白血病、肥大细胞白血病、巨核细胞白血病、小原粒细胞白血病(micromyeloblastic leukemia)、单核细胞性白血病、成髓细胞性白血病、髓细胞性白血病、髓样粒细胞性白血病、髓单核细胞白血病、内格利型白血病(Naegeli leukemia)、浆细胞白血病、浆细胞性白血病、早幼粒细胞白血病、李德尔氏细胞性白血病(Rieder cell leukemia)、希林氏性白血病(Schilling's leukemia)、干细胞白血病、亚白血性白血病和未分化细胞白血病。

[0073] 在一些实施例中,可以使用本文所公开的方法以便对患有复发性(recurrent)或复发性(relapsed)多发性骨髓瘤(即,在得到控制的周期之后(例如,在治疗性治疗之后)再

现的多发性骨髓瘤)的个体的疾病进行分期或再分期。

[0074] 在复发性和/或难治性的上下文中,存在三组患者。第一组是患有“复发性”疾病的一组,其具体包含首次进展发生在成功进行初始疗法之后没有任何疗法的情况下的患者。尽管复发性疾病的定义要求血清或尿蛋白增加 $\geq 25\%$ 并且 $\geq 0.5\text{mg/dL}$,但是仅存在“生化”复发并不作为另外的全身疗法的指示。因为患者复发的时间可能变化很大(几周到几个月),所以患者在进行初始疗法之前应患有某种形式的症状性复发,因为许多患者可以在具有生化进展的情况下存活一些时间,但除了仔细监测之外不需要另外的疗法。下一类别包含被定义为在进行特定疗法下或在完成给定疗法(International Myeloma Working Group Consensus Panel),国际骨髓瘤研讨会(International Myeloma Workshop),2009年2月)的60天内进展的患有复发性和难治性疾病的患者(国际骨髓瘤工作组共识小组)。

[0075] 从历史上看,这限制于类固醇或烷基化方法;因此,“难治性”为通用术语。但最近,难治性与特定药剂(如硼替佐米或来那度胺)难治性复发相关联。这显然很重要,因为用硼替佐米难治的患者可能仍对来那度胺有反应或反之亦然,并且此药剂特异性抗性可能继续与正在复发性环境中开发的新药剂的序贯评估和整合相关。在已经接受多个先前系列的疗法并且在临床试验之外几乎没有治疗选择的患者组中,此组患者可能尤其具有挑战性。

[0076] 最后一个类别是原发性难治性,其还表示在诱导疗法之后没有实现反应的一组潜在具有挑战性的患者。正如难治性疾病一样,此类别在特定药剂或组合的上下文中描述时最有用,区分尽管最初有抵抗力但仍具有侵略性速度较小的可变病程的患者组尤其重要。

[0077] 包括硼替佐米的聚合物纳米颗粒

[0078] 硼替佐米是本领域中熟知的并且在例如美国专利号6,713,446,Albanell和Adams,《药物的未来(Drugs of the Future)》27:1079-1092(2002)中公开,所述美国专利报道了硼替佐米(N-2-吡嗪羰基-L-苯丙氨酸-L-亮氨酸硼酸)在人肿瘤异种移植模型中表现出显著的抗肿瘤活性。另外参见,Richardson等人,《新英格兰医学杂志(New Engl. J. Med.)》,348:2609(2003),所述文献报道了硼替佐米的2期研究的结果,所述结果表明硼替佐米在治疗复发性和难治性多发性骨髓瘤中的有效性。

[0079] 本文提供的是用于递送硼替佐米的可生物降解的聚合物纳米颗粒。可以使用在以下中描述的方法来制备包括硼替佐米的纳米颗粒:例如,US 2015-0353676 A1;PCT/US2016/060276(2017年5月11日公开);和于2017年11月1日提交的、2018年5月11日公开的PCT/US2017/059542。

[0080] 在一个实施例中,本文所提供的聚合物纳米颗粒包括嵌段共聚物,所述嵌段共聚物包括聚(乳酸)(PLA)和聚(乙二醇)(PEG)。聚(乳酸)(PLA)是疏水性聚合物,并且是用于合成聚合物纳米颗粒的优选聚合物。然而,还可以使用聚(乙醇酸)(PGA)和聚乳酸-羟基乙酸共聚物(poly lactic acid-co-glycolic acid,PLGA)的嵌段共聚物。疏水性聚合物还可以是生物衍生的或生物聚合物。所使用的PLA的分子量通常在约2,000g/mol到80,000g/mol的范围内。因此,在一个实施例中,所使用的PLA通常在约10,000g/mol到80,000g/mol的范围内。PLA的平均分子量还可以为约70,000g/mol。

[0081] PEG是用于形成聚合物纳米颗粒的聚合物的另一个优选组分,因为其赋予亲水性、对巨噬细胞的抗吞噬作用以及对免疫识别的抵抗力。如聚(乙二醇)-聚(丙二醇)-聚(乙二醇)(PEG-PPG-PEG)等嵌段共聚物是可以在本发明中使用的亲水性共聚物或亲水-疏水共聚

物。嵌段共聚物可以具有两个、三个、四个或更多数量的不同嵌段。

[0082] 如本文所使用的,一g/mole相当于一“道尔顿”(即,道尔顿和g/mole在指代聚合物的分子量时可以互换)。如本文所使用的“千道尔顿”是指1,000道尔顿。

[0083] 在另外的实施例中,本文所提供的聚合物纳米颗粒包括聚(乳酸)-聚(乙二醇)(PLA-PEG)二嵌段共聚物。

[0084] 在又另外的实施例中,本文所提供的聚合物纳米颗粒包括聚(乳酸)-聚(乙二醇)-聚(丙二醇)-聚(乙二醇)(PLA-PEG-PPG-PEG)四嵌段共聚物。在各个实施例中,纳米颗粒包括NANOPRO™,其是可生物降解、长血液循环、隐形、四嵌段聚合物纳米颗粒平台(马萨诸塞州NanoProteagen公司)。PLA-PEG-PPG-PEG四嵌段共聚物可以由PEG-PPG-PEG三嵌段共聚物与PLA的化学缀合形成。

[0085] 在PCT公开号W02013/160773中描述了包括聚(乳酸)-聚(乙二醇)-聚(丙二醇)-聚(乙二醇)(PLA-PEG-PPG-PEG)四嵌段共聚物的纳米颗粒的合成和表征,所述申请通过引用整体并入本文。已经表明包括聚(乳酸)-聚(乙二醇)-聚(丙二醇)-聚(乙二醇)(PLA-PEG-PPG-PEG)四嵌段共聚物的聚合物纳米颗粒是安全的、稳定的和无毒性的。

[0086] 用于形成此四嵌段共聚物的过程包括将PEG-PPG-PEG共价附接到聚-乳酸(PLA)基质,从而使得嵌段共聚物变为所述基质(即,纳米颗粒递送系统)的一部分。这防止乳化剂泄浸出到介质中。

[0087] 在一些实施例中,亲水-疏水嵌段共聚物(例如,PEG-PPG-PEG)的平均分子量(Mn)通常在1,000到20,000g/mol的范围内。在另外的实施例中,亲水-疏水嵌段共聚物的平均分子量(Mn)为约4,000g/mol到15,000g/mol。在一些情况下,亲水-疏水嵌段共聚物的平均分子量(Mn)为4,400g/mol、8,400g/mol或14,600g/mol。在某些实施例中,PEG-PPG-PEG的Mn为1,100到15,000g/mol,例如,4,000到13,000g/mol。在某些实施例中,PEG-PPG-PEG的Mn为10,000到13,000g/mol。在其它实施例中,PEG-PPG-PEG的Mn为约12,500g/mol。

[0088] 在一些实施例中,本发明的嵌段共聚物基本上由聚(乳酸)(PLA)的片段和聚(乙二醇)-聚(丙二醇)-聚(乙二醇)(PEG-PPG-PEG)的片段组成。

[0089] 在一个实施例中,特定的可生物降解的聚合物纳米颗粒由嵌段共聚物聚(乳酸)-聚(乙二醇)-聚(丙二醇)-聚(乙二醇)(PLA-PEG-PPG-PEG)形成。

[0090] 本发明的另一个特定的可生物降解的聚合物纳米颗粒由嵌段共聚物聚(乳酸)-聚(乙二醇)-聚(丙二醇)-聚(乙二醇)-聚(乳酸)(PLA-PEG-PPG-PEG-PLA)形成。

[0091] 在实施例中,包括硼替佐米的纳米颗粒不包含NuBCP-9肽、MUC-1肽和/或肿瘤坏死因子 α (TNF α)。

[0092] 本发明的可生物降解的聚合物可以通过使用共价键利用亲水-疏水嵌段共聚物化学修饰PLA来形成。

[0093] 在各个实施例中,本发明的可生物降解的聚合物纳米颗粒具有在约1到1000nm的范围内的尺寸、在约30到300nm的范围内的尺寸、在约100到300nm的范围内的尺寸、在约100到250nm的范围内的尺寸或至少约100nm的尺寸。

[0094] 在各个实施例中,本发明的可生物降解的聚合物纳米颗粒具有在约30到120nm的范围内的尺寸、约120到200nm的尺寸、约200到260nm的尺寸或至少约260nm的尺寸。

[0095] 在一个实施例中,本发明的可生物降解聚合物基本上不含乳化剂,或可以包括约

0.5重量%到5重量%的量的外部乳化剂。

[0096] 在一个实施例中,本发明的可生物降解的聚合物纳米颗粒是PLA-PEG-PPG-PEG,并且聚(乳酸)嵌段的平均分子量为约60,000g/mol,PEG-PPG-PEG嵌段的平均量为约8,400g/mol或约14,600g/mol,并且外部乳化剂为约0.5重量%到5重量%。

[0097] 在另一个实施例中,本发明的可生物降解的聚合物纳米颗粒是PLA-PEG-PPG-PEG,并且聚(乳酸)嵌段的平均分子量小于或等于大约16,000g/mol,PEG-PPG-PEG嵌段的平均量为约8,400g/mol或约14,600g/mol,并且其中组合物基本上不含乳化剂。

[0098] 在一个实施例中,可生物降解的聚合物纳米颗粒是PLA-PEG-PPG-PEG,并且聚(乳酸)嵌段的平均分子量为约72,000g/mol(或72kDa),PEG-PPG-PEG嵌段的平均量为约8,400g/mol或约14,600g/mol,并且外部乳化剂为约0.5重量%到5重量%。

[0099] 在另一个实施例中,可生物降解的聚合物纳米颗粒是PLA-PEG-PPG-PEG,并且聚(乳酸)嵌段的平均分子量小于或等于大约12,000g/mol(或12kDa),PEG-PPG-PEG嵌段的平均量为约8,400g/mol或约14,600g/mol,并且其中组合物基本上不含乳化剂。

[0100] 在另一个实施例中,本文所提供的聚合物纳米颗粒进一步包括阳离子肽。

[0101] 在另一方面中,本文提供了一种由聚合物形成的聚合物纳米颗粒,所述聚合物基本上由PLA-PEG-PPG-PEG四嵌段共聚物或PLA-PEG二嵌段共聚物组成,其中聚合物纳米颗粒负载有硼替佐米和任选地第二治疗剂。

[0102] 纳米颗粒(本文中也称为“NP”)可以生产为纳米胶囊或纳米球。在纳米颗粒中负载硼替佐米可以通过吸附过程或包封过程来进行(Spada等人,2011;聚合物纳米颗粒的蛋白质递送(Protein delivery of polymeric nanoparticles);《世界科学、工程与技术学院(World Academy of Science,Engineering and Technology)》:76)。通过使用被动靶向策略和主动靶向策略两者,纳米颗粒可以提高癌细胞中的药物的细胞内浓度,同时避免对正常细胞产生毒性。当纳米颗粒结合到特定受体并进入细胞时,所述纳米颗粒通常通过受体介导的内吞作用被核内体包覆,从而绕过P-糖蛋白的识别(主要药物抗性机制之一)(Cho等人,2008,用于癌症中的药物递送的治疗性纳米颗粒(Therapeutic Nanoparticles for Drug Delivery in Cancer),《临床癌症研究(Clin.Cancer Res.)》,2008,14:1310-1316)。纳米颗粒通过调理作用和吞噬作用从体内去除(Sosnik等人,2008;聚合物纳米载体:用于优化药物的技术方面的新尝试(Polymeric Nanocarriers:New Endeavors for the Optimization of the Technological Aspects of Drugs);《生物医学工程最新专利(Recent Patents on Biomedical Engineering)》,1:43-59)。基于纳米载剂的系统可以用于有效的药物递送,其中优点在于:改善细胞内渗透、局部递送、阻止药物过早降解、控制药代动力学和药物组织分布概况、降低剂量要求以及具有成本效益(Farokhzad OC等人;用于体内癌症化学疗法的靶向纳米颗粒-适体生物缀合物(Targeted nanoparticle-aptamer bioconjugates for cancer chemotherapy in vivo)《美国科学院院报(Proc Natl Acad Sci USA)》2006,103(16):6315-20;Fonseca C等人,负载紫杉醇的PLGA纳米颗粒:制备、物理化学表征和体外抗肿瘤活性(Paclitaxel-loaded PLGA nanoparticles:preparation, physicochemical characterization and in vitro anti-tumoral activity)《受控释放杂志(J.Controlled Release)》2002;83(2):273-86;Hood等人,《纳米医学(Nanomedicine)》,2011,6(7):1257-1272)。

[0103] 纳米颗粒的摄取与其小尺寸间接成比例。已经发现,由于聚合物纳米颗粒的尺寸较小,所述聚合物纳米颗粒免于被网状内皮系统 (RES) 识别和摄取,并且因此可以在血液中循环延长一段时间 (Borchard等人,1996,《药学研究 (Pharm. Res.)》7:1055-1058)。纳米颗粒还能够在病理部位 (就像实体肿瘤的渗露的脉管) 处外渗,从而提供了被动靶向机制。由于较高的表面积导致较快的溶解速度,纳米尺寸的结构通常显示较高的血浆浓度和曲线下面积 (AUC) 值。较低的颗粒尺寸有助于避免宿主防御机制并且增加血液循环时间。纳米颗粒尺寸影响药物释放。较大的颗粒使药物较慢地扩散到系统中。较小的颗粒提供较大的表面积但是会导致药物释放快速。较小的颗粒在储存和运输纳米颗粒分散体期间往往会聚集。因此,期望纳米颗粒的小尺寸与最大稳定性之间的折衷。药物递送系统中使用的纳米颗粒的尺寸应足够大以阻止其迅速渗漏到血液毛细血管中,但也应足够小以避免被滞留在网状内皮系统 (如肝脏和脾脏) 中的固定巨噬细胞捕获。

[0104] 除所述纳米颗粒的尺寸之外,纳米颗粒的表面特性也是确定循环期间的寿命与命运的重要因素。纳米颗粒应该理想地具有亲水性表面以避免巨噬细胞捕获。由具有亲水结构域和疏水结构域的嵌段共聚物形成的纳米颗粒符合这些标准。受控的聚合物降解还允许针对患病状态递送增加水平的药剂。聚合物降解还可以受颗粒尺寸的影响。降解速率随体外颗粒尺寸的增加而增加 (生物聚合物纳米颗粒 (Biopolymeric nanoparticles); Sundar等人,2010,《先进材料科学与技术 (Science and Technology of Advanced Materials)》; doi:10.1088/1468-6996/11/1/014104)。

[0105] 聚 (乳酸) (PLA) 已经被US FDA批准应用于组织工程、医疗材料和药物载剂,并且基于聚 (乳酸)-聚 (乙二醇) PLA-PEG的药物递送系统在本领域中是已知的。US2006/0165987A1描述了一种隐形聚合物可生物降解的纳米球,所述隐形聚合物可生物降解的纳米球包括聚 (酯)-聚 (乙烯) 多嵌段共聚物和用于赋予纳米球以刚性并且整合药物化合物的任选组分。US2008/0081075A1公开了一种具有功能性内核和亲水性外壳的新型混合胶束结构,所述新型混合胶束结构由接枝高分子和一个或多个嵌段共聚物自组装而成。US2010/0004398A1描述了一种具有相间区域的壳/核构型的聚合物纳米颗粒和其生产方法。

[0106] 在各个实施例中,本发明进一步包括与治疗性分子相互作用以形成稳定的纳米复合物和/或充当细胞穿透肽的阳离子分子。在各个实施例中,阳离子分子细胞包括穿透肽或包括蛋白质转导结构域。在各个实施例中,阳离子分子是促进治疗剂向细胞核转导的阳离子肽。

[0107] 本文提供用于制备包括硼酮或更多治疗剂的聚合物纳米颗粒的方法。所产生的聚合物纳米颗粒不仅无毒、安全和可生物降解,而且在体内稳定,具有高储存稳定性,并且可以在医学领域中的纳米载剂系统或药物递送系统中安全使用。在实施例中,本文所提供的聚合物纳米颗粒可以在体内增加可递送药物或治疗剂的半衰期。

[0108] 制备方法可以包含提供硼替佐米、在溶剂中溶解嵌段聚合物以形成嵌段共聚物溶液;以及向嵌段共聚物溶液添加络合物以形成包括络合物和嵌段共聚物的溶液。

[0109] 在一个实施例中,嵌段共聚物是PLA-PEG二嵌段共聚物。

[0110] 在一个实施例中,嵌段共聚物是PLA-PEG-PPG-PEG四嵌段共聚物。

[0111] 在一个实施例中,嵌段共聚物溶液是以介于约2mg/ml与10mg/ml之间的浓度制备的。在另外的实施例中,嵌段共聚物溶液是以约6mg/ml的浓度制备的。

[0112] 在一个实施例中,所述方法进一步包括将向包括表面活性剂的溶液添加包括硼替佐米的溶液。在另外的实施例中,搅拌通过将硼替佐米与嵌段聚合物溶液组合而产生的溶液直到形成稳定的纳米颗粒。

[0113] 在各个实施例中,聚合物纳米颗粒在膨胀或收缩时可以采用非球形构型。

[0114] 在各个实施例中,纳米颗粒本质上具有两亲性。

[0115] 可以计算出纳米颗粒的 ζ 电位和PDI(多分散指数)(参见美国专利号9,149,426)。

[0116] 聚合物纳米颗粒的尺寸可以使用透射电子显微镜来测量。在适合的实施例中,本文提供的聚合物纳米颗粒的直径介于约100nm与350nm之间、或介于100nm与30nm之间或介于100nm与250nm之间。在另外的实施例中,本文所提供的聚合物纳米颗粒的直径为约100nm、110nm、120nm、130nm、140nm、150nm、160nm、170nm、180nm、190nm、200nm、210nm、220nm、230nm、240nm或250nm。

[0117] 在一个实施例中,聚合物纳米颗粒包括络合物,所述络合物的 ζ 电位介于约+5mV到-90mV之间,例如,+4mV到-75mV、+3mV到-30mV、+2mV到-25mV、+1mV到-40mV。在另外的实施例中,络合物的 ζ 电位为约-30mV。

[0118] 本文提供了用于聚合纳米颗粒形成的具体方法和在药物组合物中的用途以供参考。这些方法和用途可以通过对于本领域技术人而言显而易见的各种各样的方法来执行。

[0119] 药物组合物

[0120] 本文还提供了一种药物组合物,所述药物组合物包括在医学领域和使用载剂系统或纳米颗粒的储存器或储库的其它领域中使用的硼替佐米聚合物纳米颗粒。纳米颗粒可以在预后、治疗、诊断和/或治疗诊断组合物中使用。适当地,本发明的纳米颗粒用于(例如,在肿瘤细胞内的)药物和药剂递送,以及用于人和动物的疾病诊断和医学成像。因此,本发明提供了一种用于使用进一步包括如本文所描述的治疗剂的纳米颗粒来治疗疾病的方法。本发明的纳米颗粒还可以用于其它应用,如需要储存器或储库的化学反应或生物反应、如生物传感器、如用于固定酶的药剂等。

[0121] 因此,一方面,本文提供了一种药物组合物,所述药物组合物包括:

[0122] a) 聚合物纳米颗粒,所述聚合物纳米颗粒包括嵌段共聚物,所述嵌段共聚物包括聚(乳酸)(PLA)和聚(乙二醇)(PEG);以及

[0123] b) 硼替佐米。

[0124] 在一个实施例中,聚合物纳米颗粒包括聚(乳酸)-聚(乙二醇)(PLA-PEG)二嵌段共聚物。

[0125] 在一个实施例中,聚合物纳米颗粒包括聚(乳酸)-聚(乙二醇)-聚(丙二醇)-聚(乙二醇)(PLA-PEG-PPG-PEG)四嵌段共聚物。

[0126] 在另外的实施例中,PLA-PEG-PPG-PEG四嵌段共聚物由PEG-PPG-PEG三嵌段共聚物与PLA的化学缀合形成。

[0127] 在一个实施例中,PLA的分子量介于约10,000道尔顿与约100,000道尔顿之间。

[0128] 在本文所提供的组合物一个实施例中,聚合物纳米颗粒由聚合物形成,所述聚合物基本上由聚(乳酸)-聚(乙二醇)(PLA-PEG)二嵌段共聚物组成。

[0129] 在本文所提供的组合物一个实施例中,聚合物纳米颗粒由聚合物形成,所述聚合物基本上由聚(乳酸)-聚(乙二醇)-聚(丙二醇)-聚(乙二醇)(PLA-PEG-PPG-PEG)四嵌段

共聚物组成。

[0130] 在本文所提供的组合物的一个实施例中，聚合物纳米颗粒进一步包括附接到聚合物纳米颗粒外部的靶向部分，并且其中所述靶向部分是抗体、肽或适体。

[0131] 适合的药物组合物或调配物可以含有一个或多个活性成分的例如约0.1%到约99.9%、优选地约1%到约60%。用于肠内或肠外施用的药物调配物是例如单位剂型(如糖衣片剂、片剂、胶囊或栓剂或安瓿剂)的药物调配物。如果没有另外指明，则这些药物调配物是以本身已知的方式制备的，例如通过常规的混合、制粒、糖衣、溶解或冻干过程。应当理解的是，每个剂型的单独剂量中所含的组合物成员的单位含量本身不必构成有效量，因为可以通过施用多个剂量单位达到必要的有效量。

[0132] 药物组合物可以含有与一个或多个药学上可接受的载剂(赋形剂)组合的纳米颗粒中的一个或多个纳米颗粒作为活性成分。在制备本发明的组合物中，典型地将活性成分与赋形剂混合，用赋形剂稀释或封装在此类载剂之内，所述载剂呈例如胶囊、药袋(sachet)、纸或其它容器的形式。当赋形剂作为稀释剂时，所述赋形剂可以是固体、半固体或液体材料，其可以作为活性成分的媒剂、载剂或介质而起作用。因此，组合物可以呈片剂、丸剂、粉剂、锭剂、药袋、扁囊剂、酏剂、悬浮液、乳液、溶液、糖浆剂、气溶胶(作为固体或在液体介质中)、含有例如高达10重量%的活性化合物的软膏、软明胶胶囊和硬明胶胶囊剂、栓剂、无菌可注射溶液以及无菌包装粉剂的形式。

[0133] 适合的赋形剂的实例包含乳糖(例如，乳糖一水化物)、右旋糖、蔗糖、山梨醇、甘露醇、淀粉(例如，淀粉乙醇酸钠)、阿拉伯树胶、磷酸钙、藻酸盐、黄蓍胶、明胶、硅酸钙、胶体二氧化硅、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮(例如，聚维酮)、纤维素、水、糖浆、甲基纤维素和羟丙基纤维素。调配物可以另外地包含：润滑剂，如滑石、硬脂酸镁、矿物油；润湿剂；乳化剂和悬浮剂；防腐剂，如甲基和丙基羟基苯甲酸酯；甜味剂；和调味剂。

[0134] 可以并入口服施用或注射施用的本发明的化合物和组合物的液体形式包含水溶液、适当调味糖浆、水性或油性悬浮液、以及含食用油(如棉籽油、麻油、椰子油或花生油)的调味乳剂以及酏剂和类似的药用媒剂。

[0135] 治疗方法

[0136] 本文所公开的纳米颗粒可以用于治疗或预防已知或疑似从用硼替佐米的治疗中获益的任何病状或病症，例如需要选择性抑制蛋白酶体的病状或病症。

[0137] 一方面，含有硼替佐米的纳米颗粒用于治疗或预防癌症或癌前病状。在实施例中，疾病是血液疾病。血液疾病的实例包含例如造血恶性肿瘤，如急性早幼粒细胞白血病、T细胞白血病、急性成淋巴细胞性白血病、套细胞淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、急性淋巴细胞性T细胞白血病、神经母细胞瘤、腺癌、尤因氏肉瘤、胶质母细胞瘤、上皮癌、宫颈腺癌或高分化脂肪肉瘤癌症。

[0138] 在实施例中，所治疗的病状包含范围从新诊断出到晚期复发性/难治性的多发性骨髓瘤、淋巴瘤或相关病状，例如，意义未明单克隆丙种球蛋白病(MGUS)、郁积型骨髓瘤、无症状性MM、症状性MM。淋巴瘤相关的病状的实例包含例如霍奇金氏淋巴瘤或非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)。在实施例中，非霍奇金氏淋巴瘤选自以下组成的组：侵袭性NHL、转化的NHL、惰性NHL、复发性NHL、难治性NHL、低度恶性非霍奇金氏淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、大细胞淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、NK细胞淋巴瘤、弥漫性大B细

胞淋巴瘤、急性淋巴细胞淋巴瘤和皮肤T细胞癌症,包含蕈样真菌病/塞扎里氏综合征。

[0139] 另外,本文所公开的组合物可以用于治疗或预防自身免疫性疾病、炎症性疾病、淀粉样蛋白疾病、代谢性疾病、发育性疾病、心血管疾病、肝脏疾病、肠道疾病、感染性疾病、内分泌疾病和神经病症。在实施例中,用于受试者的药物组合物包含聚合物纳米颗粒,所述聚合物纳米颗粒包括嵌段共聚物和硼替佐米,所述嵌段共聚物包括聚(乳酸)(PLA)和聚(乙二醇)(PEG)。

[0140] 炎症性疾病包含例如多发性硬化症(MS)、系统性红斑狼疮(SLE)纤维化和移植(例如,心脏、肺、肾脏或肝移植)时抗体介导的排斥反应。

[0141] 淀粉样蛋白疾病包含例如阿尔茨海默氏病、路易体痴呆症、额颞叶痴呆症、2型糖尿病、亨廷顿病、帕金森病、与肾衰竭血液透析相关联的淀粉样变性、唐氏综合征、遗传性脑出血伴淀粉样变、库鲁病、克雅氏病、格-斯-施综合征(Gerstmann-Straussler-Scheinker disease)、致死性家族性失眠症、英国型家族性痴呆、丹麦型家族性痴呆、家族性角膜淀粉样变性、家族性角膜营养不良、甲状腺髓样癌、胰岛瘤、孤立性心房淀粉样变性、垂体淀粉样变、主动脉淀粉样变、浆细胞病症、家族性淀粉样变性、老年性心脏淀粉样变性、炎症相关联的淀粉样变性、家族性地中海热、系统性淀粉样变性和家族性系统性淀粉样变性或tau蛋白病(tauopathy)(例如,额颞叶痴呆、慢性创伤性脑部病变、进行性核上性麻痹、皮质基底节变性)。

[0142] 一方面,本文提供了一种用于治疗有需要的受试者的疾病的方法,所述方法包括向受试者施用治疗有效量的药物组合物,所述药物组合物包括a)聚合物纳米颗粒,所述聚合物纳米颗粒由包括PLA-PEG二嵌段共聚物的聚合物形成;以及硼替佐米。

[0143] 在本文所提供的方法的实施例中,药物组合物进一步包括选自由以下组成的组的化学治疗剂或靶向抗癌剂:来那度胺、克唑替尼、格列卫、赫赛汀、阿瓦斯汀、PD-1检查点抑制剂、PDL-1检查点抑制剂和CTLA-4检查点抑制剂、阿霉素、柔红霉素、地西他滨、伊立替康、SN-38、阿糖胞苷、多西他赛、雷公藤甲素、格尔德霉素、17-AAG、5-FU、奥沙利铂、卡铂、泰索帝、甲氨喋呤、紫杉醇和茚并氧喹啉。

[0144] 在本文所提供的方法的一个实施例中,疾病是癌症、自身免疫性疾病、炎症性疾病、代谢性疾病、发育性疾病、心血管疾病、肝脏疾病、肠道疾病、感染性疾病、内分泌疾病和神经系统病症。

[0145] 在另一个实施例中,疾病是癌症。

[0146] 在又一个实施例中,癌症是乳腺癌、前列腺癌、非小细胞肺癌、转移性结肠癌或胰腺癌。

[0147] 在另一个实施例中,癌症包括PD-1难治性肿瘤。

[0148] 在本文所提供的方法的一个实施例中,纳米颗粒由聚合物形成,所述聚合物基本上由PLA-PEG二嵌段共聚物组成。

[0149] 在本文所提供的方法的一个实施例中,纳米颗粒由聚合物形成,所述聚合物基本上由PLA-PEG-PPG-PEG四嵌段共聚物组成。

[0150] 在一个实施例中,聚合物纳米颗粒由聚合物形成,所述聚合物基本上由PLA-PEG二嵌段共聚物组成。

[0151] 在一个实施例中,聚合物纳米颗粒由聚合物形成,所述聚合物基本上由PLA-PEG-

PPG-PEG四嵌段共聚物组成。

[0152] 如本文所使用的,术语“施用”是指将包括聚合物纳米颗粒的药物、前体药物、抗体或其它药剂给予生理系统(例如,受试者或体内、体外或离体细胞、组织和器官)的行为。对人体施用的示例性途径可以通过眼睛(眼)、嘴巴(口)、皮肤(透皮)、鼻子(鼻)、肺(吸入)、口腔粘膜(经颊)、耳朵、通过注射(例如,静脉内、皮下、瘤内、腹膜内等)等。

[0153] 在实施例中,静脉内(IV)、皮下(Sub-Cu)或腹膜内(IP)施用聚合物颗粒。

[0154] 与例如在不使用本文所描述的聚合物纳米颗粒系统或通过任何其它常规方法的情况下递送药剂相比,本文所提供的药物组合物的施用不仅可以对减轻症状、延迟症状的进展或抑制症状产生有益效果,而且还进一步产生令人惊讶的有益效果,例如,更少的副作用、更持久的反应、改善的生活质量或降低的发病率。

[0155] 本文所提供的有效剂量的聚合物纳米颗粒可以根据以下因素而变化:所用的特定蛋白质、核酸和或其它治疗剂、施用方式、所治疗的病状以及正在治疗的病状的严重程度。因此,聚合纳米颗粒的剂量方案是根据各种因素(包含施用途径、患者的肝肾功能)选择的。

[0156] 为了确定疗效,治疗可以进一步包括将一个或多个治疗前或治疗后表型与标准表型进行比较。标准表型是参考细胞或细胞群中的对应表型。参考细胞是以下中的一种或多种:来自未疑似患有蛋白质降解病症的人或受试者的细胞、来自受试者的细胞、培养的细胞、来自受试者的培养的细胞或来自受试者治疗前的细胞。来自受试者的细胞可以包含例如骨髓基质细胞(BMSC)、外周血单核细胞(PBMC)、淋巴细胞、毛囊、血细胞、其它上皮细胞、骨髓浆细胞、原发性癌细胞、源自患者的肿瘤细胞、正常或癌性造血干细胞、神经干细胞、实体瘤细胞、星形胶质细胞等。

[0157] 组合治疗

[0158] 本文所提供的组合物任选地进一步包括另外的治疗模态,例如,连同硼替佐米一起向受试者施用的治疗剂(例如,化学治疗剂)、辐射药剂、激素药剂、生物药剂或抗炎剂。

[0159] 可以在与硼替佐米的组合疗法中使用的治疗剂可以包含例如来那度胺、克唑替尼或组蛋白脱乙酰酶抑制剂(HDAC),如在美国专利号8,883,842中公开的那些治疗剂。另外的治疗剂包含例如格列卫、赫赛汀、阿瓦斯汀、PD-1检查点抑制剂、PDL-1检查点抑制剂和CTLA-4检查点抑制剂、他莫昔芬、曲妥珠单抗(trastuzumab)、雷洛昔芬、多柔比星、氟尿嘧啶/5-fu、帕米膦酸二钠、阿那曲唑、依西美坦、环磷酰胺、表阿霉素、来曲唑、托瑞美芬、氟维司群、氟甲睾酮、曲妥珠单抗、甲氨喋呤、醋酸甲地孕酮(megastrol acetate)、多西他赛、紫杉醇、睾内酯、氮丙啶、长春碱、卡培他滨、乙酸戈舍瑞林、唑来膦酸、紫杉醇、长春碱和/或长春新碱。有用的非类固醇抗炎药剂包含但不限于阿司匹林、布洛芬、双氯芬酸、萘普生、苯恶洛芬、氟比洛芬、非诺洛芬、氟布芬、酮洛芬、吲哚洛芬、吡洛芬、卡洛芬、奥沙普秦、普拉洛芬、莫罗洛芬、三恶洛芬(trioxaprofen)、舒洛芬、氨布洛芬(aminoprofen)、噻洛芬酸、氟洛芬(fluprofen)、布氯酸、吲哚美辛、舒林酸、托美汀、佐美酸、硫平酸、齐多美辛、阿西美辛、芬替酸、环氯萘酸、奥昔平酸、甲芬那酸、甲氯芬那酸钠、氟芬那酸、尼氟灭酸、托芬那酸、二氟尼柳、氟苯柳、吡罗昔康、舒多昔康、伊索昔康;水杨酸衍生物,包含阿司匹林、水杨酸钠、胆碱三水杨酸镁、双水杨酸酯、二氟尼柳、双水杨酸、柳氮磺吡啶和奥沙拉嗪;对氨基苯酚衍生物(para-aminophenol derivative),包含对乙酰氨基酚和非那西丁;吲哚和茛乙酸,包含吲哚美辛、舒林酸和依托度酸;杂芳基乙酸,包含托美汀、双氯芬酸和酮咯酸;邻氨基苯甲

酸(苯甲酸酯),包含甲芬那酸和甲氯芬那酸;烯醇酸,包含奥昔康星(吡罗昔康、替诺昔康)和吡唑烷二酮(苯基丁氮酮、氧吩嗪松(oxyphenthartazone));和链烷酮,包含萘丁美酮和其药学上可接受的盐和其混合物。有关NSAID的更详细说明,参见Goodman和Gilman的《治疗学的药理学基础(The Pharmacological Basis of Therapeutics)》617-57(Perry B.Molinhoff和Raymond W.Ruddon等人,第9版(增订版)1996)中的Paul A.Insel,治疗痛风中采用的镇痛解热和抗炎药和药物(Analgesic-Antipyretic and Antiinflammatory Agents and Drugs Employed in the Treatment of Gout)和Glen R.Hanson,雷明顿镇痛、解热和消炎药:药学的科学与实践(Analgesic,Antipyretic and Anti-Inflammatory Drugs in Remington:The Science and Practice of Pharmacy)第II卷1196-1221(A.R.Gennaro ed第19版1995),所述文献通过引用整体并入本文。

[0160] 在一个实施例中,另外的化学治疗剂或靶向抗癌剂选自以下组成的组:阿霉素、柔红霉素、地西他滨、伊立替康、SN-38、阿糖胞苷、多西他赛、雷公藤甲素、格尔德霉素、17-AAG、5-FU、奥沙利铂、卡铂、泰索帝、甲氨喋呤、紫杉醇和茚并氧喹啉。

[0161] 虽然已经参照本发明主题的某些实施例相当详细地描述了本发明主题,但其它实施例是可能的。如此,所附权利要求的精神和范围不应限于其中含有的具体实施例的描述。

[0162] 实例

[0163] 现将用工作实例对本公开进行说明,并且所述工作实例旨在说明本公开的工作,而并不旨在对本公开的范围进行任何限制。除非另外定义,否则本文使用的所有技术术语和科学术语具有与本公开所属领域的普通技术人员通常所理解的含义相同的含义。尽管类似于或等同于本文所描述的那些方法和材料的方法和材料可以用于实践所公开的方法和组合物,但是本文描述了示例性方法、装置和材料。

[0164] 实例1.PLA-PEG-PPG-PEG嵌段共聚物的聚合物纳米颗粒的制备

[0165] 从西格玛奥德里奇公司(Sigma-Aldrich)(密苏里州圣路易斯)获得了聚(乳酸)(MW.-45,000到60,000g/mol)、PEG-PPG-PEG(表1)和组织培养试剂。除非另有说明,否则所有试剂均为分析级或以上并且直接使用。从印度浦那国家细胞科学中心(NCCS)或从美国马里兰州美国标准生物物品收藏中心(ATCC)获得细胞系。

[0166] 在250ml圆底烧瓶中的100ml CH_2Cl_2 (二氯甲烷)中溶解平均分子量为60,000g/mol的5gm的聚(乳酸)(PLA)。向此溶液添加0.7g的PEG-PPG-PEG聚合物(分子量范围为1100到8400Mn)。在0℃下将溶液搅拌10到12小时。向此反应混合物添加5ml的1%的N,N-二环己基碳二亚胺(DCC)溶液,然后在-4℃到0℃/零下温度下缓慢添加5ml的0.1%的4-二甲氨基吡啶(DMAP)。将反应混合物搅拌持续接下来的24小时,然后用乙醚对PLA-PEG-PPG-PEG嵌段共聚物进行沉淀并且使用沃特曼(Whatman)1号滤纸进行过滤。如此获得的PLA-PEG-PPG-PEG嵌段共聚物沉淀物在低真空下干燥并且在2℃到8℃下储存直到进一步使用。

[0167] PLA-PEG-PPG-PEG纳米颗粒是通过乳液沉淀方法制备的。将100mg通过上述过程获得的PLA-PEG-PPG-PEG共聚物单独地溶解在有机溶剂(例如,乙腈、二甲基甲酰胺(DMF)或二氯甲烷)中以获得聚合物溶液。

[0168] 通过将此聚合物溶液逐滴添加到20ml蒸馏水的水相来制备纳米颗粒。在室温下将溶液磁力搅拌10到12小时以允许残留溶剂蒸发和纳米颗粒的稳定。然后,纳米颗粒通过在25,000rpm下离心10分钟来收集并且使用蒸馏水洗涤三次。纳米颗粒进一步冻干并且在2℃

到8℃下储存直到进一步使用。

[0169] 通过上述过程获得的纳米颗粒的形状基本上呈球形。颗粒尺寸范围为约30到120nm。使用动态光散射(DLS)工具来测量纳米颗粒的流体动力学半径并且所述流体动力学半径的范围为110到120nm。

[0170] 实例2. 包封硼替佐米的纳米颗粒的制备

[0171] 本发明的纳米颗粒本质上具有两亲性并且能够负载有两种疏水性药物,如硼替佐米。

[0172] 将使用实例1的方法制备的100g PLA-PEG-PPG-PEG纳米颗粒溶解在5ml的有机溶剂(如乙腈(CH₃CN)、二甲基甲酰胺(DMF;C₃H₇NO)、丙酮或二氯甲烷(CH₂Cl₂))中。

[0173] 将1到5mg的硼替佐米溶解在水溶液中并且添加到以上聚合物溶液中。硼替佐米通常在聚合物的约10-20重量%的重量范围内被吸收。将此溶液在250到400rpm下短暂超声处理10到15秒,以产生细初级乳液。

[0174] 使用注射器/微量移液管将细初级乳液逐滴地添加到20ml蒸馏水的水相中并且在25℃到30℃下以250到400rpm磁力搅拌10到12小时以允许溶剂蒸发和纳米颗粒稳定。水相进一步包括糖添加剂。允许在开放、无遮盖的条件下将所产生的纳米颗粒悬浮液搅拌过夜以蒸发残留有机溶剂。通过在10,000g下离心10分钟或通过3000g下超过滤15分钟来收集包封硼替佐米的聚合物纳米颗粒(美国密理博公司(Millipore)具有100,000NMWL的Amicon Ultra,Ultracel膜)。纳米颗粒重新悬浮于蒸馏水中,洗涤三次并冻干。所述纳米颗粒在2℃到8℃下储存直到进一步使用。聚合物纳米颗粒具有高度稳定性。对使用不同重量的共聚物制备的聚合物纳米颗粒的负载功效进行比较。

[0175] 实例3. 含有硼替佐米的纳米颗粒对多发性骨髓瘤细胞系RPMI-8226和OPOM-2的细胞增殖/活力的作用

[0176] 使用阿尔玛蓝(Alamar Blue)试剂来评估含有硼替佐米的纳米颗粒对多发性骨髓瘤细胞活力的作用。基于纳米颗粒的生长速率,将1500到4000个细胞/孔的RPMI-8226和OPOM-2铺板在96孔板中并允许其在37℃、5%的CO₂下生长过夜。利用不同浓度的含有硼替佐米的纳米颗粒处理细胞持续五天,其中对八个浓度进行三倍连续稀释。

[0177] 然后,将Alamar Blue试剂(在培养基中1:10稀释)添加到孔中并且将所述试剂温育2到4小时。当在570nm处激发并且在600nm处发射时测量吸收的变化。与未处理对照组相比,活力百分比计算为100%。使用两种不同的软件(左和右)绘制剂量反应曲线。

[0178] 结果示于图1(RPMI-8226)和图2(OPOM-2)中。两个曲线图中都示出了存活百分比(y轴)作为纳米颗粒浓度(x轴)的函数。

[0179] 对于RPMI-8226细胞系,IC₅₀为4.92nM和5.6nM(图1)。对于OPOM-2细胞系,IC₅₀为6.12nM和7.23nM(图2)。两个细胞系中的值相当。

[0180] 实例4: 含有硼替佐米的纳米颗粒对植入小鼠中的RPMI-8226细胞的抗肿瘤活性的评估

[0181] 检查了含有硼替佐米的纳米颗粒抑制植入小鼠中的RPMI-8226肿瘤细胞的生长能力。

[0182] 将5×10⁶个RPMI-8226多发性骨髓瘤细胞注射到4到6周龄的Balb/c nu/nu小鼠的左翼。将带有建立的RPMI-8226肿瘤(90到120mm³)的小鼠随机分为每组6个小鼠的组并对其

进行以下i.p治疗：(i) 利用媒剂对照组每天进行或(ii) 利用1mg/kg VEL-纳米颗粒每周进行一次，持续3周。每隔一天用卡尺测量肿瘤，并且使用公式 $(A \times B^2) / 0.5$ 计算肿瘤体积，其中A和B分别是最长肿瘤直径和最短肿瘤直径。使用Origin8.0 (Origin Lab) 通过单向ANOVA和Dunnett测试对肿瘤体积进行统计学分析。

[0183] 结果示于图3中。示出了肿瘤体积 (y轴) 随时间 (x轴) 变化。利用媒剂对照组治疗的小鼠中的肿瘤体积达到5000mm³。相比之下，利用含有硼替佐米的纳米颗粒治疗的小鼠中的肿瘤体积不超过1000mm³。

[0184] 实例5. 利用含有硼替佐米的纳米颗粒治疗的RPMI-8226多发性骨髓瘤 (MM) 异种移植小鼠的体重的评估

[0185] 对如以上在实例2中所讨论的利用含有硼替佐米的纳米颗粒治疗的RPMI-8226MM异种移植小鼠和对照小鼠的体重进行了21天的检查并且将所述体重与用媒剂治疗的小鼠中的经过相同时间的体重进行比较。

[0186] 结果示于图4中。在研究期间，两组的体重都保持稳定或略有增加。这些结果证实含有硼替佐米的纳米颗粒不会对体重产生不利影响。

[0187] 实例6. 不同剂量的硼替佐米和含有硼替佐米的纳米颗粒对野生型小鼠的比较毒性

[0188] 在野生型小鼠中检查了纳米颗粒对缓解硼替佐米的毒性的作用。将不同剂量的单独的硼替佐米 (1.5、3、6、9和12mg/kg) 或硼替佐米纳米颗粒 (NP) (0.9、1.8、3.6、5.4和7.2mg/kg) 注射到CD1野生型中。在单独的硼替佐米的每个组和硼替佐米NP组中使用三个小鼠，每天测量体重、食物和水的摄取，持续22天。

[0189] 结果示于图5到图9中。结果示出了利用单独的硼替佐米和硼替佐米-NP治疗的小鼠的体重变化或致死性。在测试的最低剂量的硼替佐米下，相对于单独用硼替佐米治疗的小鼠，利用含有硼替佐米的纳米颗粒治疗的小鼠在研究结束时体重显著升高 (图5；剂量为1.5mg/kg的硼替佐米和剂量为0.9mg/kg的硼替佐米-NP)。

[0190] 在接下来测试的两个更高剂量下，在单独用硼替佐米治疗的小鼠中测试观察到致死性；单独用硼替佐米治疗的小鼠存活均不超过五天 (图6；剂量为3mg/kg) 或两天 (图7；剂量为6mg/kg)。相比之下，利用浓度为1.8和3.6mg/kg的含有硼替佐米的纳米颗粒治疗的小鼠在体重基本不变的情况下在研究期间存活。

[0191] 在测试最高浓度的硼替佐米下，在两组中均观察到致命性 (图8；9mg/kg)。然而，含有硼替佐米的纳米颗粒组中的小鼠在5.4mg/kg剂量下存活直到研究的第10天，而在没有纳米颗粒的情况下利用硼替佐米治疗的组的所有成员在第1天之后死亡。

[0192] 这些结果证实纳米颗粒缓解增加硼替佐米的剂量对小鼠的毒性作用。

[0193] 实例7. 含有硼替佐米的纳米颗粒的表征

[0194] 图10A和图10B提供了透射电子显微照片，所述透射电子显微照片提供了以上实例中使用的含有硼替佐米的纳米颗粒的尺寸和形状。由图10B中的两个NP中的红线所示出的直径为130nm。图11是示出了硼替佐米在体外无细胞缓冲系统中在10天内从纳米颗粒中缓慢且持续释放的曲线图。

[0195] 图12提供了示出硼替佐米纳米颗粒减少MCF-7激素依赖性乳腺癌细胞系的增殖的初步初始数据。利用不同浓度的硼替佐米 (底部的蓝色曲线) 或硼替佐米-NP (顶部的红色曲

线) 来治疗MCF-7乳腺癌细胞,持续48小时。通过台盼蓝染料排除法来测量细胞增殖。硼替佐米-NP的IC50小于20nM。

[0196] 实例8.不同施用途径中的VEL-NP的体内疗效的比较

[0197] 为了调查VEL-NP在不同施用途径中是否有效,对携带建立的皮下RPMI-8226多发性骨髓瘤肿瘤的nu/nu小鼠进行体内研究。基于7天内从NP中释放的硼替佐米的动力学,携带RPMI-8226多发性骨髓瘤的小鼠,腹膜内(i.p.) 1mg/kg、每周一次、持续3周。

[0198] 结果呈现于图13中,所述图是示出了在SC(菱形符号)、IP(三角形符号)或IV(方形符号)施用的nu/nu小鼠中作为s.c.异种移植物生长的RPMI-8226多发性骨髓瘤细胞的肿瘤体积(mm^3) 随时间推移的曲线图。用圆形符号表示接受缺少硼替佐米的NP(“空NP”)的对照小鼠。与利用不包含硼替佐米的纳米颗粒(空NP)治疗的小鼠相比,利用1mg/kg VEL-NP的治疗与肿瘤的大量消退相关联(图13)。有趣的是,利用1mg/kg的VEL-NP对小鼠进行静脉内(IV)、皮下(Sub-Cu)或腹膜内(IP)的治疗与肿瘤的类似消退相关联(图13)。

[0199] 对存活的分析进一步证实了通过所有三种施用途径利用VEL-NP治疗的小鼠存活显著长于利用空NP治疗的那些小鼠。显著地,在利用VEL-NP治疗的小鼠中未观察到体重损失或其它明显毒性(数据未示出)。在经过VEL-NP治疗的组中观察到大量的组织坏死。

Velcade-NP对RPMI8226的作用

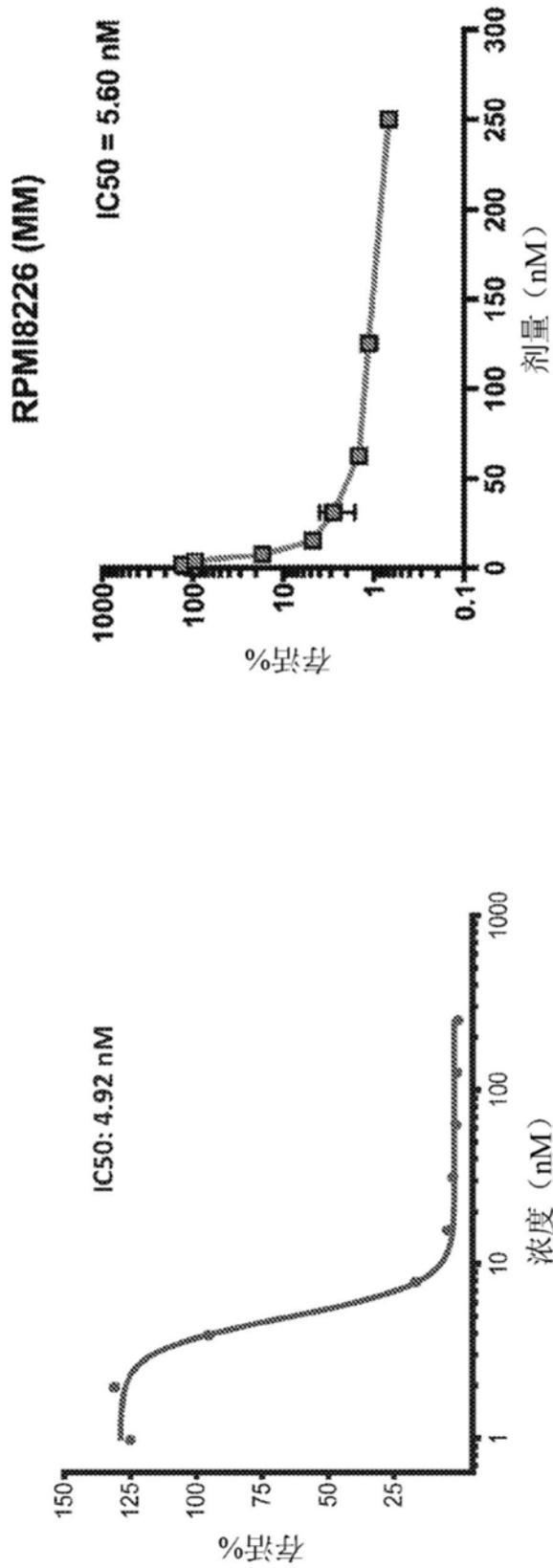


图1A和图1B

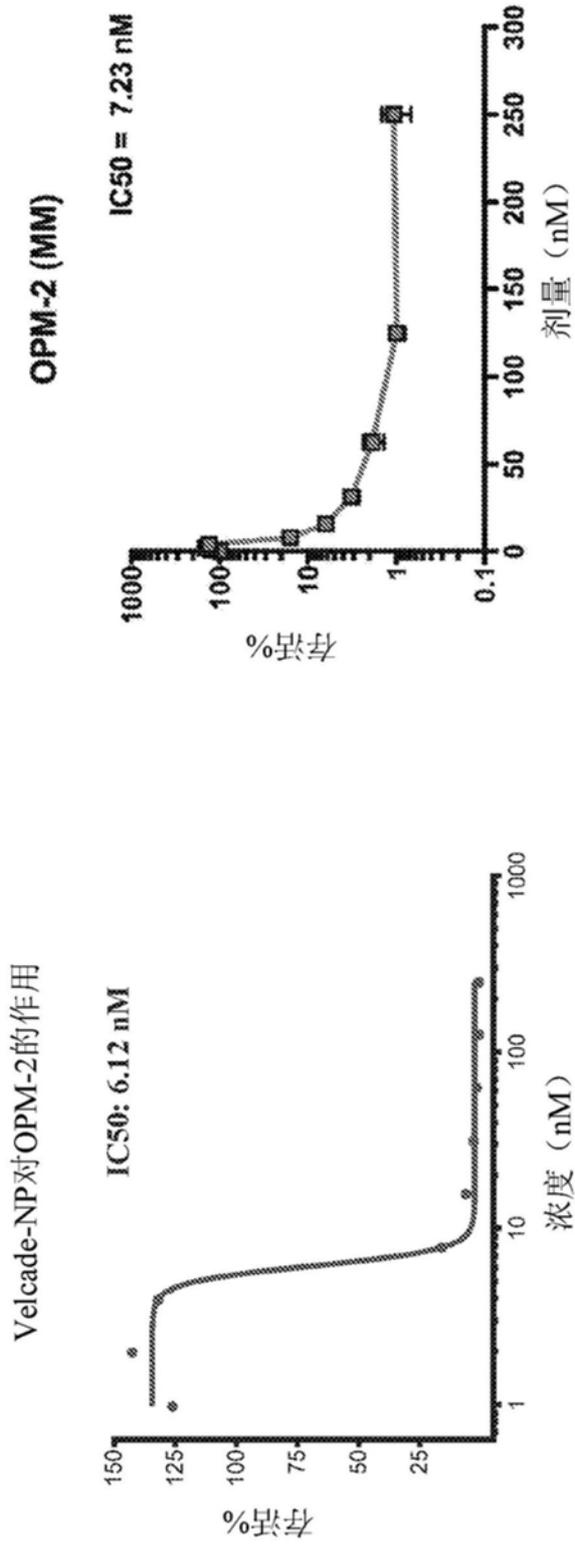


图2A和图2B

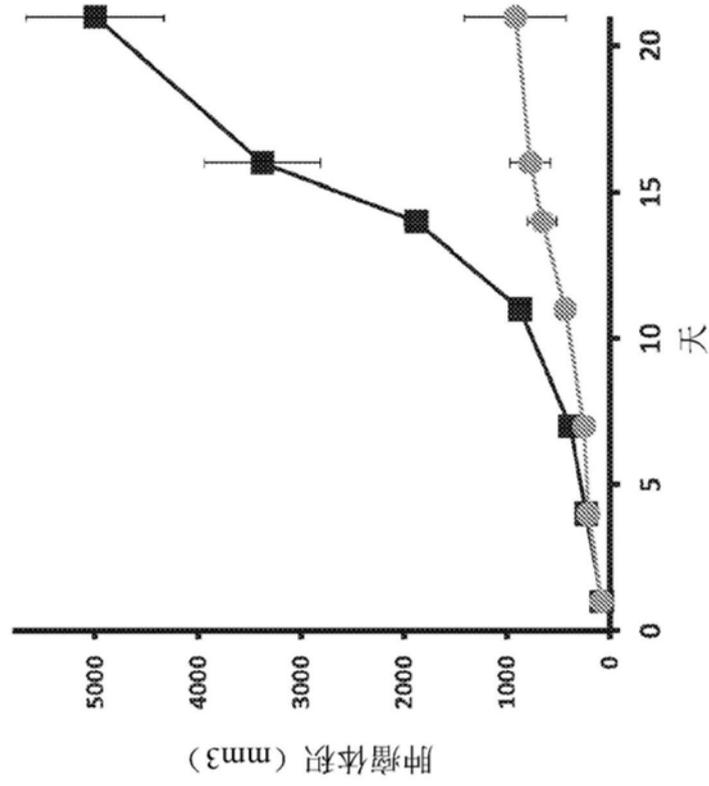


图3

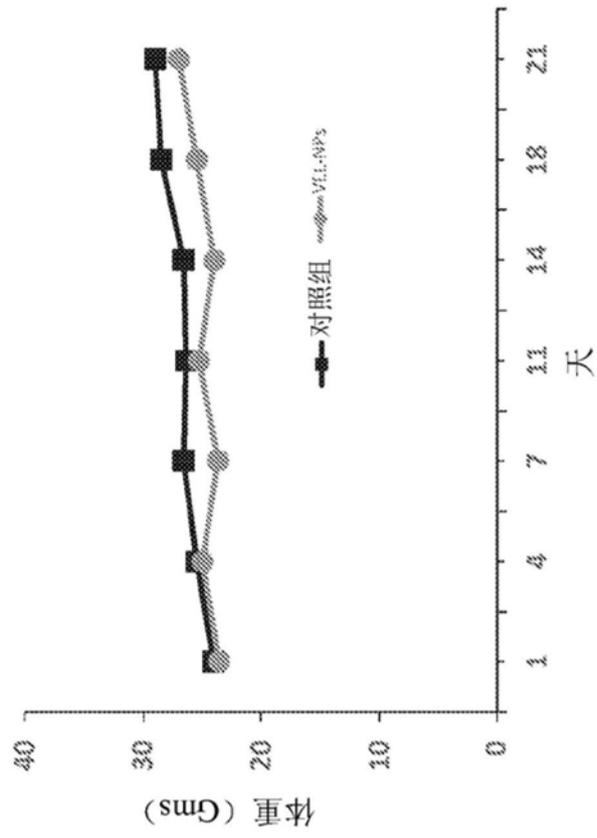


图4

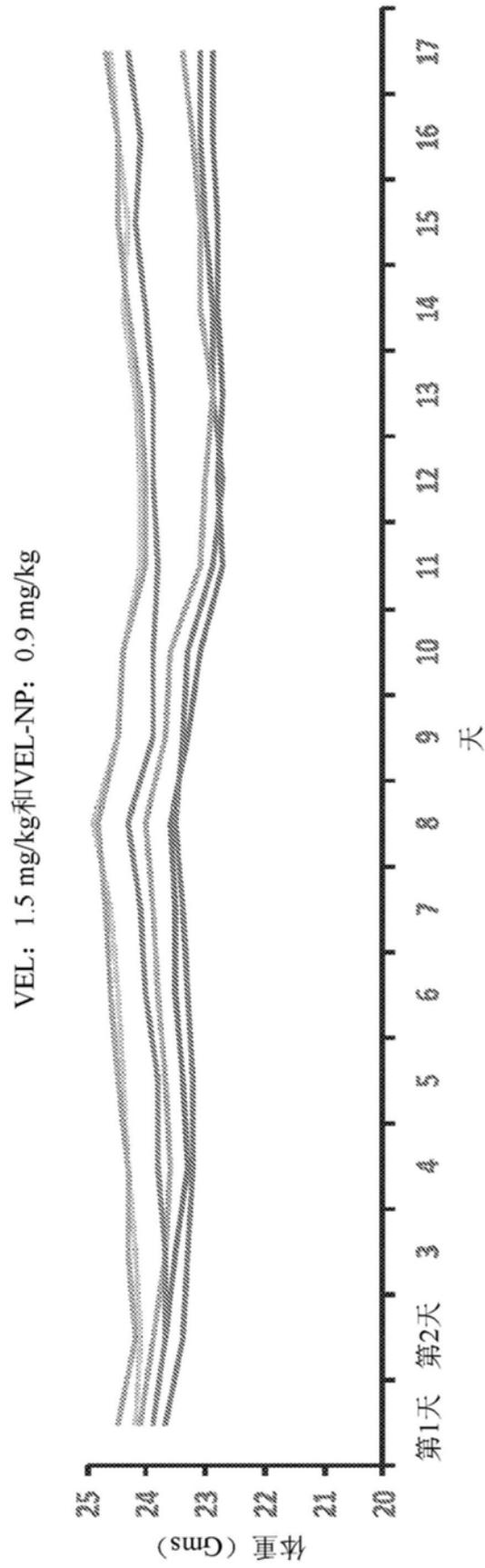


图5

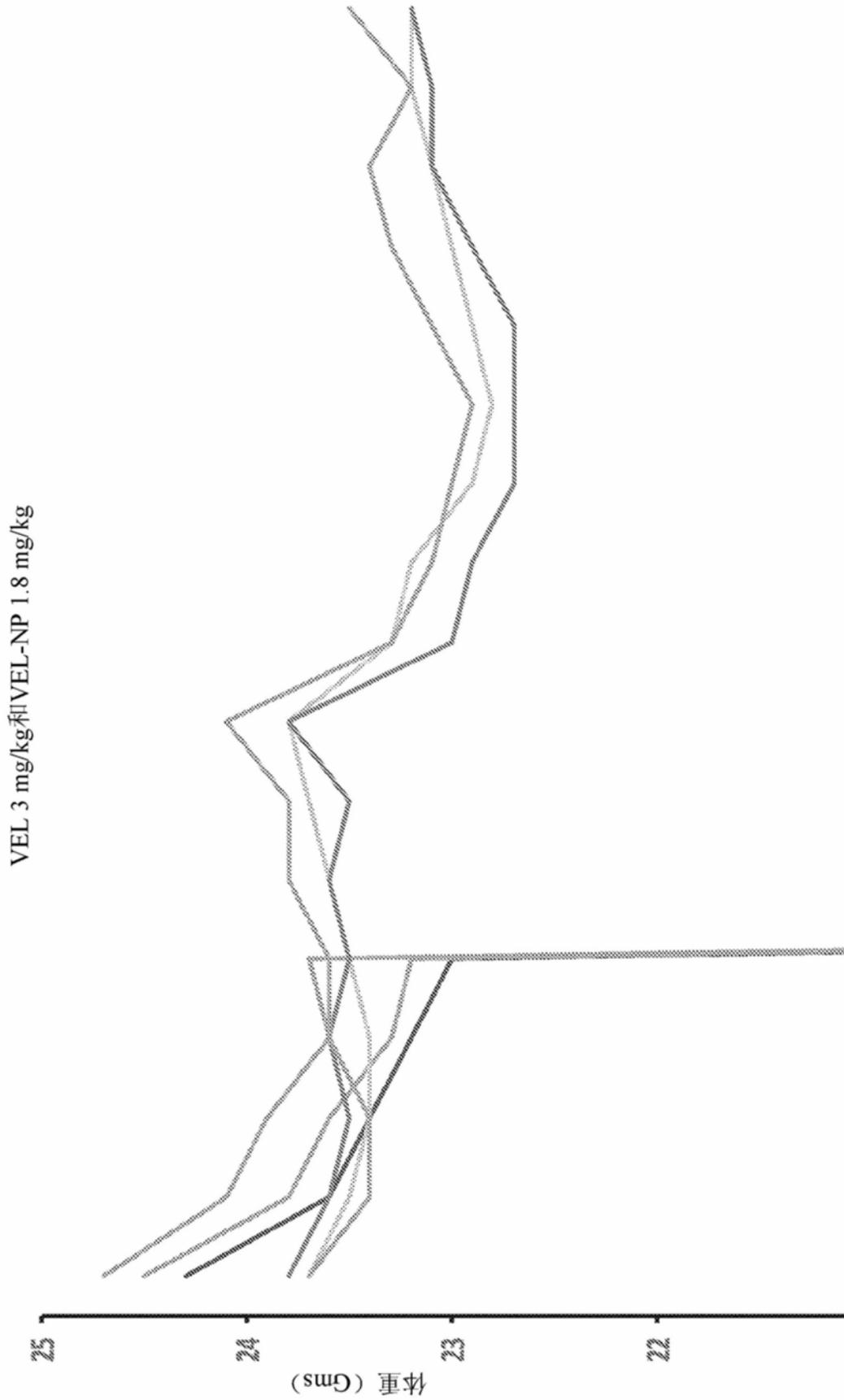


图6

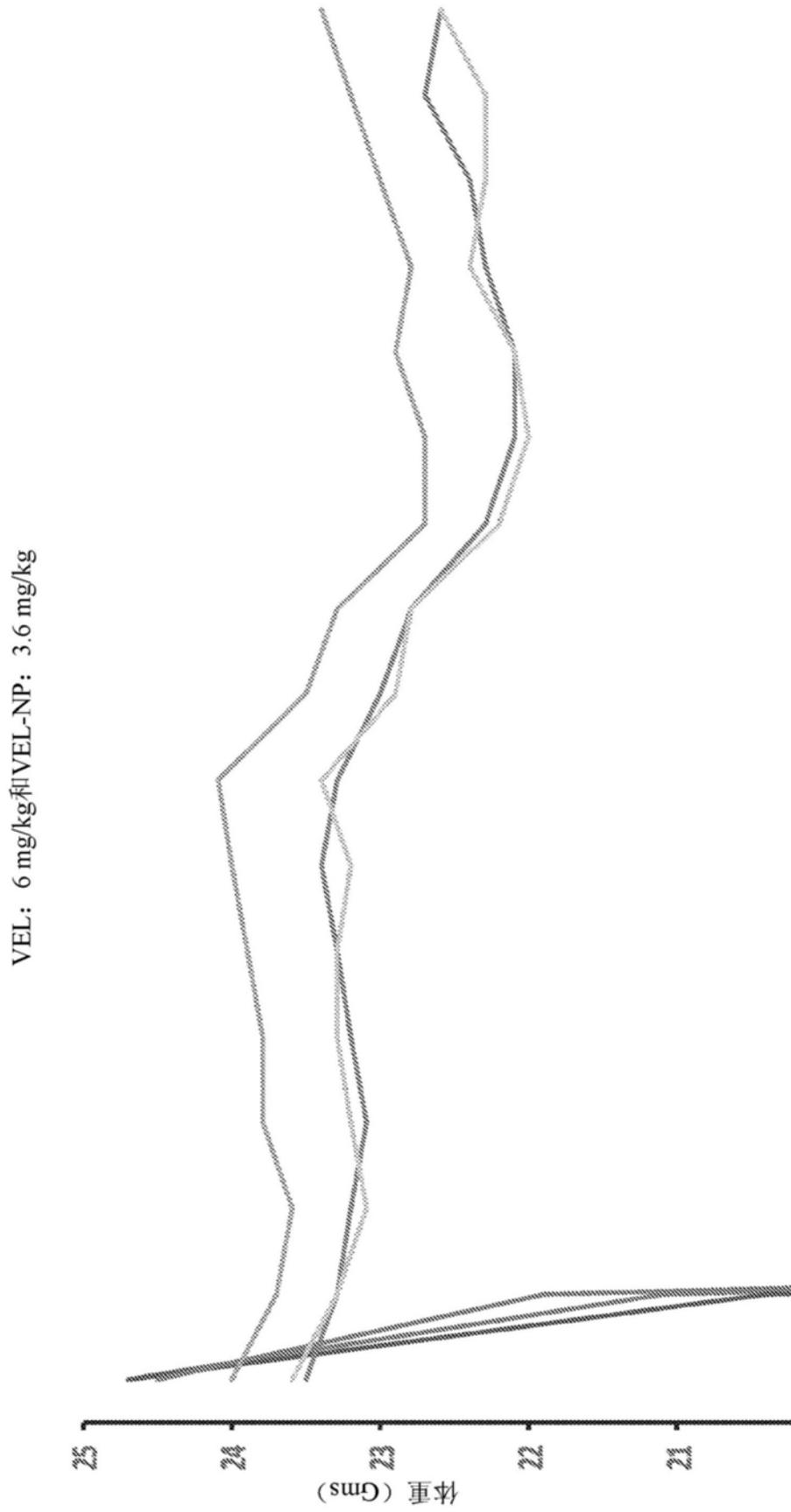


图7

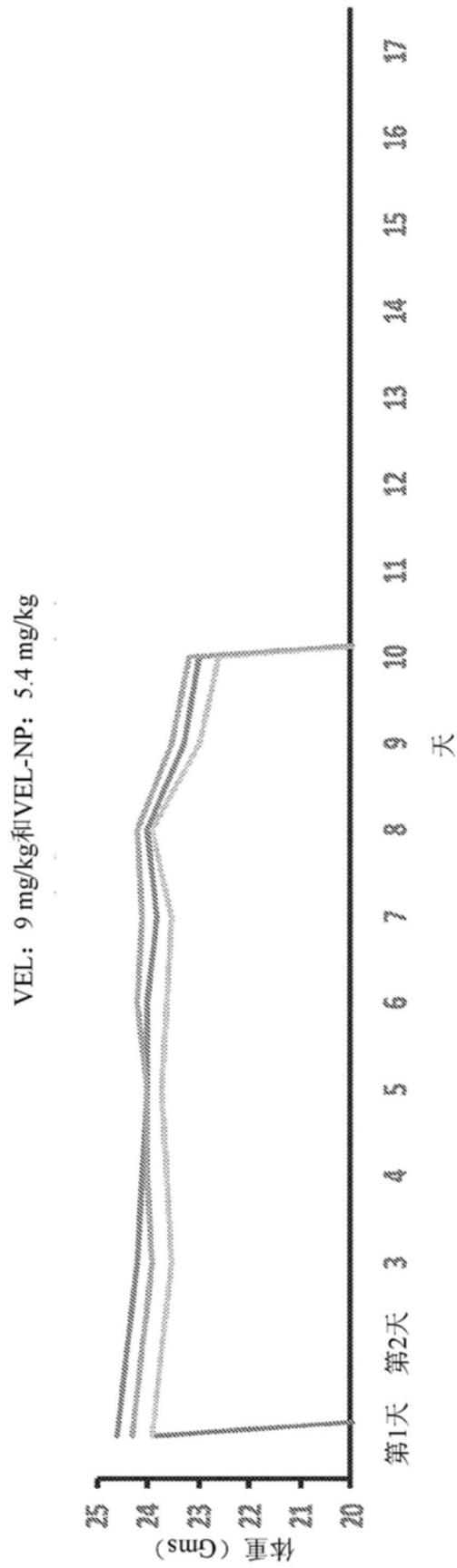


图8

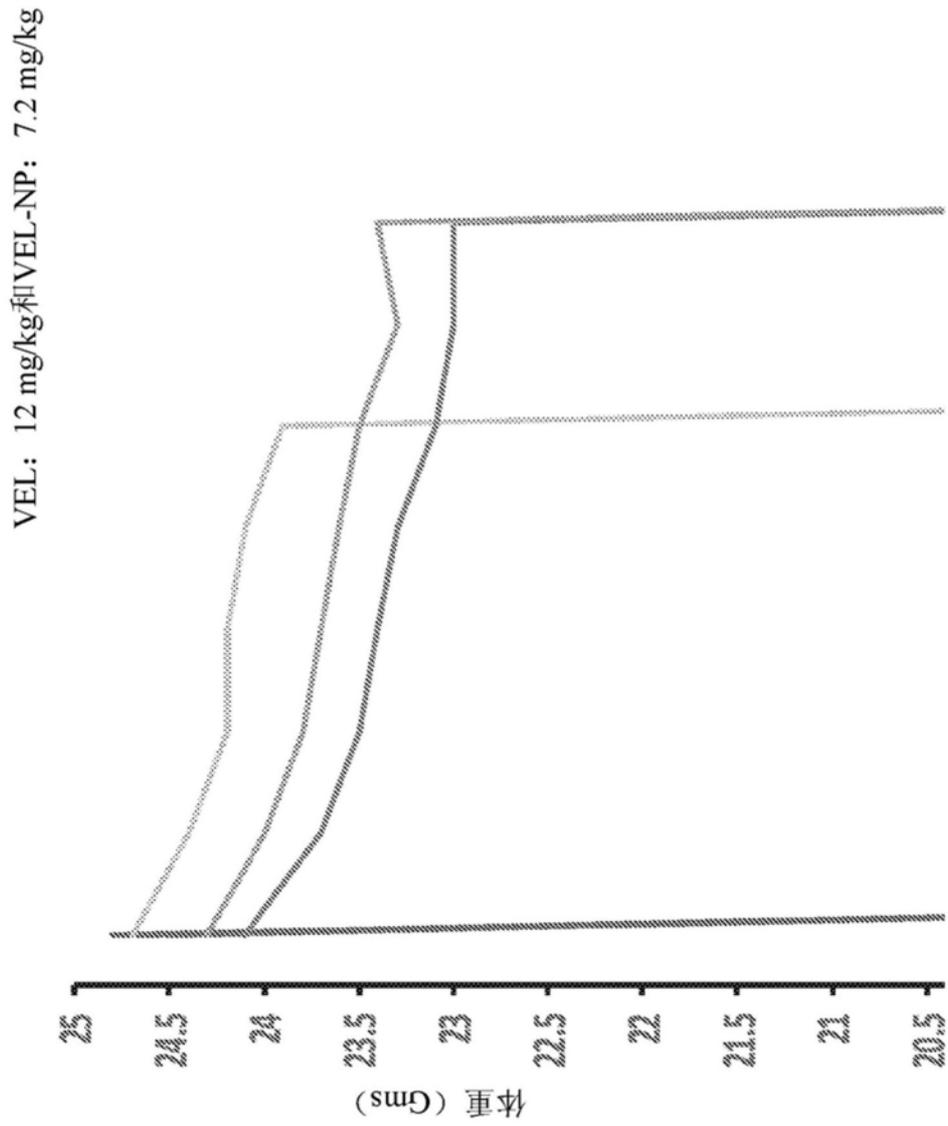
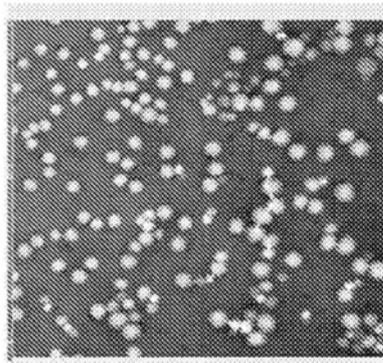
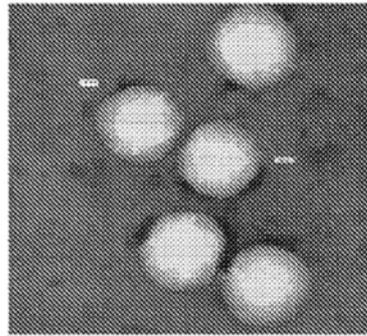


图9



A



B

图10A和图10B

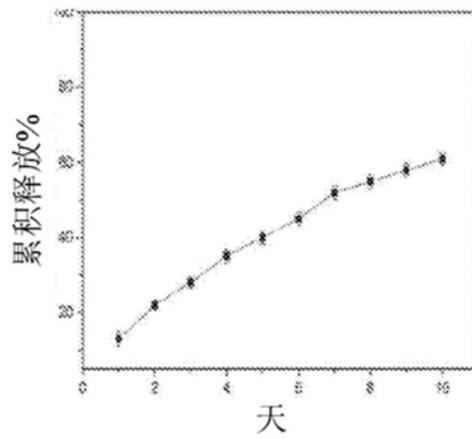


图11

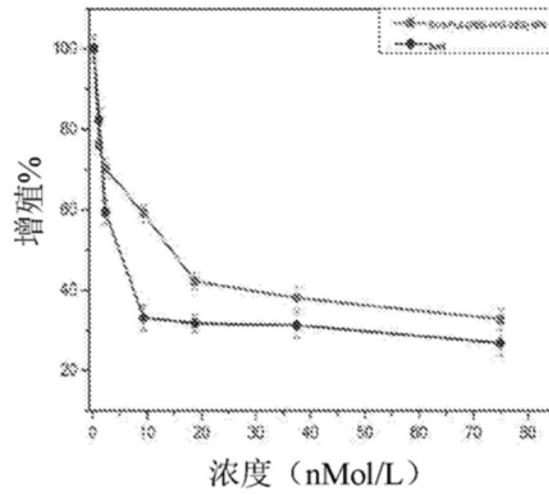


图12

RPMI8226 MM异种移植研究

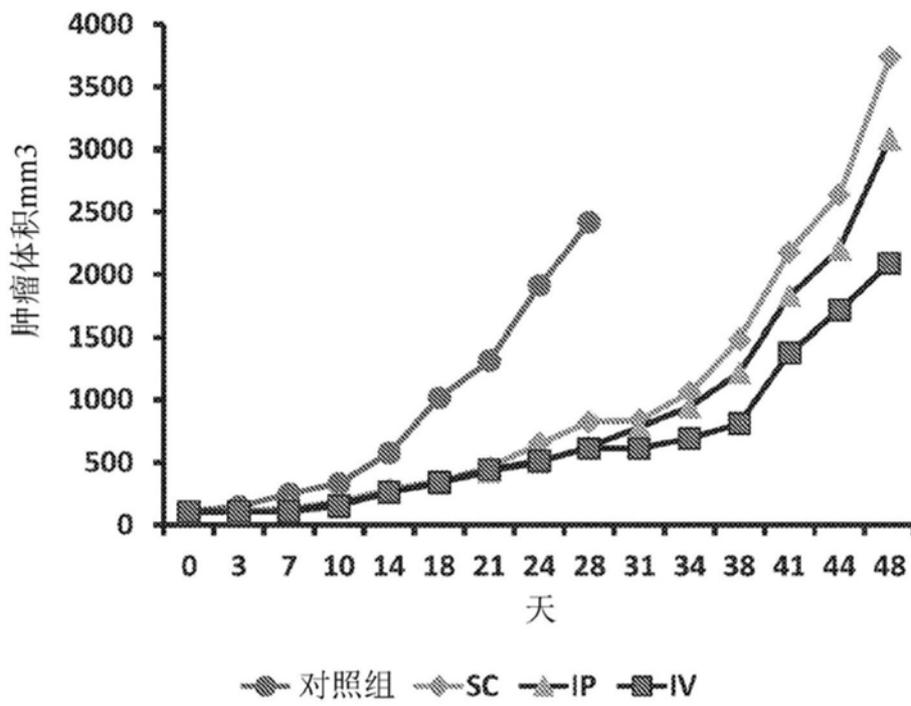


图13