



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112107558 A

(43) 申请公布日 2020.12.22

(21) 申请号 202010861645.X

(22) 申请日 2014.05.30

(30) 优先权数据

13305712.5 2013.05.30 EP

61/828,794 2013.05.30 US

(62) 分案原申请数据

201480031188.4 2014.05.30

(71) 申请人 库拉迪格姆公司

地址 法国巴黎

(72) 发明人 阿格尼丝·波迪艾尔

劳伦特·莱维

马里-艾迪斯·梅尔

奥德蕾·达尔蒙 马蒂厄·热尔曼

(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 金海霞 刘慧

(51) Int.Cl.

A61K 9/51 (2006.01)

A61K 9/127 (2006.01)

A61K 9/14 (2006.01)

A61K 31/704 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

权利要求书1页 说明书13页 附图2页

(54) 发明名称

药物组合物、制备及其用途

(57) 摘要

本发明涉及药物组合物、制备及其用途。具体地,本发明涉及包含(i)生物相容纳米粒子和(ii)目标药物化合物的组合的药物组合物,所述药物组合物要被施用至需要这种目标化合物的受试者,其中所述纳米粒子增强了所述目标化合物的功效。生物相容纳米粒子的最长尺寸通常为约4nm~约500nm,并且其绝对表面电荷值为至少10mV(|10mV|)。本发明还涉及用于将目标化合物施用于需要的受试者中的这种组合物,其中将纳米粒子和目标化合物彼此相隔大于5分钟至约72小时施用于所述受试者。



1. 包含 (i) 生物相容的基于脂质的纳米粒子或者基于聚合物或共聚物的纳米粒子和 (ii) 目标药物化合物的组合在制备药物组合物中的用途, 其中所述纳米粒子的最长尺寸为约4nm~约500nm, 并且所述纳米粒子的表面电荷值为低于-10mV的负电荷, 其中所述药物组合物包含与所述目标药物化合物的标准药物剂量相比降低至少10%的剂量的所述目标药物化合物, 并且其中所述组合物用于在需要的受试者中的治疗、预防或诊断方法中, 所述治疗、预防或诊断方法包括将所述目标药物化合物施用于所述受试者的步骤以及施用所述纳米粒子的分开的步骤, 其中将所述纳米粒子在所述目标药物化合物之前大于5分钟至约72小时施用于所述受试者。

2. 根据权利要求1所述的用途, 其中所述基于脂质的纳米粒子是脂质体。

3. 根据权利要求1所述的用途, 其中所述纳米粒子还覆盖有生物相容包衣。

4. 根据权利要求1所述的用途, 其中所述目标药物化合物是选自生物化合物、小分子靶向治疗剂和细胞毒化合物的有机化合物。

5. 根据权利要求4所述的用途, 其中所述细胞毒化合物是蒽环霉素、烷化试剂、干扰微管聚合或代谢物合成的药物、或者化学治疗试剂。

6. 根据权利要求4所述的用途, 其中所述目标药物化合物选自抗体、寡核苷酸和合成肽。

7. 根据权利要求1至6中的任一项所述的用途, 其中所述目标药物化合物是选自金属纳米粒子、金属氧化物纳米粒子、金属硫化物纳米粒子及其任何混合物的无机化合物。

8. 根据权利要求1至6中的任一项所述的用途, 其中所述目标药物化合物被包裹在载体中。

9. 根据权利要求1至6中的任一项所述的用途, 其中所述目标药物化合物结合至载体。

10. 一种药物组合物, 所述药物组合物包含 (i) 生物相容的基于脂质的纳米粒子或者基于聚合物或共聚物的纳米粒子和 (ii) 目标药物化合物的组合, 其中通过动态光散射 (DLS) 测定的所述纳米粒子的最长尺寸为4nm~500nm, 并且所述纳米粒子的表面电荷值为负并且低于-10mV, 并且其中所述药物组合物包含与所述目标药物化合物的标准药物剂量相比降低至少10%的剂量的所述目标药物化合物。

药物组合物、制备及其用途

[0001] 本申请是国际申请日2014年5月30日、国际申请号PCT/EP2014/061296于2015年11月30日进入中国国家阶段、申请号201480031188.4、发明名称“药物组合物、制备及其用途”的申请的分案申请。

发明领域

[0002] 本发明涉及包含(i)生物相容纳米粒子和(ii)目标化合物的组合的药物组合物,所述药物组合物要被施用至需要这种化合物的受试者,其中所述纳米粒子增强了所述化合物的功效。生物相容纳米粒子的最长尺寸通常为约4~约500nm,并且其绝对表面电荷值为至少10mV($|\pm 10\text{mV}|$)。

[0003] 本发明还涉及用于将目标化合物施用于需要所述目标化合物的受试者中的这种组合物,其中纳米粒子和目标化合物在所述受试者中被有序施用,通常彼此相隔大于5分钟至约72小时。

[0004] 当与在以标准药物剂量施用由目标化合物诱导的药物益处和毒性相比时,向受试者组合且通常有序地施用生物相容纳米粒子和目标化合物维持了所述目标化合物的药物(即治疗、预防或诊断)益处,降低了其在所述受试者中的毒性,或者在毒性相等或降低的情况下增加了药物益处。

[0005] 与施用的化合物的标准药物剂量相比时,本发明的药物组合物通常允许降低至少10%的所述化合物药物剂量,同时在受试者的毒性相等、优选毒性降低的情况下维持相同的药物益处,或同时在受试者的毒性相等或降低的情况下增加药物益处。

背景技术

[0006] 为了保证安全性和疗效,需要将治疗化合物在需要的受试者中以最佳速率选择性地递送至它们的靶位点。

[0007] 药代动力学(pK)是致力于确定外部施用至生命有机体的物质的结果的药理学分支。这一确定包含在足够长的时期内测定全部主要组织中化合物浓度的步骤,优选直到化合物的清除。药代动力学有必要有效地描述化合物在体内的行为,包括其吸收和分布机制以及其在有机体中的化学变化。可以使用各种程序拟合血液中的pK曲线,从而获得定量地描述身体如何处理所述化合物的关键pK参数。重要参数包括最大浓度($C_{\text{最大}}$)、半衰期($t_{1/2}$)、清除率、曲线下面积(AUC)、和平均驻留时间(MRT)即化合物留在有机体中的平均时间。当观察到化合物制剂的血液循环延长时,其通常伴有 $t_{1/2}$ 增加、清除率降低、AUC增加和MRT增加。pK数据经常被用于确定维持所需血液浓度的最佳剂量和给药方案,以便以最低的副反应提高疗法的功效。此外,如技术人员所公知的,通常对于游离药物,在大多数情况下化合物的血液浓度与其疗效和毒性相关联。

[0008] 治疗以及预防性化合物的物理-化学性质对于它们在身体中的药代动力学和代谢结果有着重大影响。因此,当设计这种化合物时,关键是选择合适的物理-化学性质。然而,因为化合物不总是由有机体本身内源性地提供并通常由外部进行施用,所以必须对其生物

分布性质进行优化,以便匹配且优选优化其所需的药理作用。

[0009] 已经探索了几种方法来优化化合物向其靶位点的递送。一种策略是设计具有隐形性能的治疗化合物,以延长其血液半衰期并且因此提高其向靶位点的积聚。一个有利的方法是将聚乙二醇(PEG)共价连接至治疗化合物,其已经证实提高循环化合物的体内半衰期($t_{1/2}$),体内半衰期增加的水平部分地根据化合物的性质和根据包衣的性质而变化。另外,已经开发了药物载体如脂质体、乳剂或胶团以通过修饰它们在受体者身体中的生物分布性质来提高药物的治疗疗效。

[0010] 然而,治疗化合物的生物分布缺乏选择性仍是一个问题。目前为止,差的药代动力学和高毒性是治疗药物开发失败的重要原因。

[0011] 作为一个实例,在癌症治疗的情况下,为了杀死癌细胞而有意抑制身体的重要功能会导致正常细胞中靶点命中或机理命中毒性,并且临床医师必须依赖于肿瘤与正常组织之间剂量-响应和治疗化合物分布的差异以找出可行的治疗窗。值得注意的是,由于药物诱导的肝中细胞损伤的直接和间接的机制,肝毒性仍是从药物开发和临床使用中撤销药物的主要原因。

[0012] 为纳米粒子化合物如药物载体提出的一种方法[Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems (治疗药物载体系统的评论性综述) 11 (1):31-59 1994]是预注射一种假载体以使网状内皮系统(RES)的吞噬能力降低、饱和、或甚至失活。损伤或阻断可与调理素分子的血浆水平降低有关。在施用测试粒子之前,特定试剂如脂肪酸的烷基酯、硫酸葡聚糖、稀土元素的盐(如 $GdCl_3$)、药物载体、空白或胶囊的氯膦酸盐的静脉内施用,已被证明诱导了中等到大幅的库普弗细胞(kupffer cell)摄取的降低。

[0013] 例如,“Biomimetic amplification of nanoparticle homing to tumors(归巢至肿瘤的纳米粒子的仿生扩增)”[PNAS 2007]的作者报道了RES在清除他们的纳米粒子“CREKA-SPIO”中的作用。初始实验显示静脉内(IV)注射的“CREKA-SPIO”纳米粒子并不有效地累积在MDA-MB-435乳腺癌移植瘤中。相反,在RES组织中看到了高浓度的粒子。通过用氯膦酸盐脂质体耗尽肝中的RES巨噬细胞,他们发现他们的粒子的半衰期延长了5倍。然而,氯膦酸盐试剂诱导了来自肝和脾的巨噬细胞的凋亡,这被认为是总体有害的,因为巨噬细胞耗尽增加了与免疫抑制和感染相关的风险。在第二个实验中,作者测试了作为潜在假粒子的用螯合Ni(II)包衣的脂质体,假定氧化铁和Ni(II)将吸引相似的血浆调理素,且因此Ni脂质体可在系统循环中耗尽它们。的确,静脉内(IV)注射的Ni脂质体,不论是在注射CREKA-SPIO纳米粒子前5分钟还是48小时进行施用,都允许纳米粒子的血液半衰期增加五倍。然而,在肿瘤小鼠中观察到了造成死亡的高毒性。同样测试了代替Ni脂质体的普通脂质体。然而,尽管与所述Ni脂质体相比降低了毒性,但普通脂质体远远没有Ni脂质体有效。的确,血液半衰期增加仅为约2倍。

[0014] W02005086639涉及通常在超声或X射线暴露的情况下、或在磁共振成像(MRI)的情况下、以及在治疗的情况下选择性地将所需试剂施用至受试者中靶位点的方法。所述方法的目的是提高或保持目标试剂的功效,同时由于无活性假载体的共同施用而降低具体施用的试剂的总剂量。

[0015] 所述发明采用了一种基于概率的方法。将非靶向无活性试剂(“无活性载体”)与显示相似物理特征的靶向目标试剂(以“活性组合物”存在)共施用(即“基本上同时”),以便促

进靶向目标试剂避开RES系统,由此允许目标试剂在期望位点的摄取提高。这一方法导致患者对目标试剂的更低暴露,结果导致所述目标试剂更低的每剂量成本。活性组合物和无活性假载体的施用彼此在5分钟内、优选彼此在2分钟内、或甚至更少。这一方法依赖于大大过量的非靶向“载体”或“假”载体的存在,并且依赖于这一过量的假载体在存在靶向期望位置的载体的情况下进行供应时将会与靶向目标试剂竞争被网状内皮系统摄取的概率。被RES捕获的粒子的半衰期是剂量依赖性的,即随着剂量增加粒子的循环半衰期增加。与更高的剂量相关的更低的清除率被认为有利于保持总试剂的高浓度,从而允许降低要施用的目标试剂的剂量。换句话讲,根据W02005086639的作者,总试剂因其更高的总体剂量而导致的增加的半衰期应该有益于靶向试剂。该方法所包含的要求是,活性试剂和无活性试剂不论它们各自的组成如何,关于它们在RES中的清除率特性方面表现相似。

[0016] 在该方法中,需要无活性试剂与活性试剂的准-共同注射以增加存在于血液中的试剂的总体量,并且因此延长它们的血液半衰期。这种明确依赖于基于概率的方法的策略必须需要将活性试剂与靶向试剂关联,以便于通过赋予所述活性试剂相比于无活性试剂的优势来实现其在靶位点上的成功累积。此外,由于准-共同注射,所以根据活性组合物的预期用途可能需要无活性载体的特定设计。

[0017] 由现有技术显而易见并且尽管有着很长的药物需求,对于因它们不可接受的毒性或因它们不利的药代动力学参数而不能在患者中有效使用的化合物(包括治疗、预防以及诊断化合物)的改进仍是一个问题。

发明内容

[0018] 本发明现在允许优化目标化合物(本文中也被称为“所述化合物”)的功效,不论其在治疗、预防或诊断的情况中的预期用途是什么。本文中描述的组合物是(i)生物相容纳米粒子和(ii)至少一种目标化合物的组合,其优化了所述至少一种目标化合物的药代动力学参数,并且结果上现在使得可以开发否则由于它们不可接受的毒性而不能开发的治疗化合物。

[0019] 本发明的典型组合物(本文中通常称为“药物组合物”)是如下的组合物,其包含(i)生物相容纳米粒子和(ii)至少一种化合物(“目标化合物”)的组合,其中生物相容纳米粒子的最长尺寸通常为约4nm~约500nm,并且生物相容纳米粒子的绝对表面电荷值为至少10mV。

[0020] 本发明的优选客体是用于将目标药物化合物施用于需要的受试者中的药物组合物,其中所述药物组合物包含(i)生物相容纳米粒子和(ii)目标药物化合物的组合,其中生物相容纳米粒子的最长尺寸为约4nm~约500nm,并且生物相容纳米粒子的绝对表面电荷值为至少10mV($|10\text{mV}|$),其中将纳米粒子和目标化合物彼此相隔大于5分钟至约72小时施用于需要所述目标化合物的受试者。

[0021] 通过本发明的组合物向受试者组合施用生物相容纳米粒子和目标化合物,当与由标准药物剂量的所述化合物诱导的药物益处和毒性相比时,通常在其受试者毒性降低的情况下允许(保持)相同的药物(即治疗、预防或诊断)益处,或在其受试者毒性相等或降低(优选毒性降低)的情况下增加化合物的药物益处。

[0022] 本发明的药物组合物当与标准剂量的所述化合物相比时,通常允许降低至少

10%、优选至少15%的施用化合物的药物(即治疗、预防或诊断)剂量,(i)同时在受试者的毒性相等、优选毒性降低的情况下维持相同的药物益处,或者(ii)同时在受试者的毒性相等或降低的情况下增加药物益处。

[0023] 因为粒子的形状能够影响其“生物相容性”,所以具有非常均一形状的离子在本文中是优选的。因此出于药代动力学原因,优选形状基本上是球形、圆形或卵形的纳米粒子。这种形状也利于纳米粒子与细胞相互作用或被细胞摄取。球形或圆形形状是特别优选的。

[0024] 在本发明的主旨中,术语“纳米粒子”是指产品,特别是合成的产品,其尺寸在纳米范围内,通常为约1nm~约500nm,优选为约4nm~约500nm,约4nm~约400nm,约30nm~约300nm,约20nm~约300nm,约10nm~约300nm,例如约4nm~约100nm,例如约10nm、15nm或20nm~约100nm,或约100nm~约500nm,通常约100nm~约300nm。

[0025] 术语“纳米粒子的尺寸”、“纳米粒子的最大尺寸”和“纳米粒子的最长尺寸”在本文中通常是指“纳米粒子的最长或最大尺寸”或当形状为球形或卵形是为“纳米粒子的直径”。透射电子显微镜(TEM)或冷冻透射电子显微镜可用于测量纳米粒子的尺寸。同样,动态光散射(DLS)可用于测量溶液中纳米粒子的流体动力学直径。这两种方法可以进一步一个接一个使用以比较尺寸测量和确认所述尺寸。优选的方法是DLS(参见国际标准ISO22412粒度分析-动态光散射,国际标准化组织(ISO)2008)。

[0026] 要在本发明的情况下可用,那么生物相容纳米粒子的绝对静电表面电荷(在本文中也被称作“电荷”或“表面电荷”)要高于 $|10\text{mV}|$ (绝对电荷)。通常通过在水性介质中测量 ζ 电势而测定纳米粒子的表面电荷,所述水性介质中纳米粒子浓度为 $0.2\sim 10\text{g/L}$ 、pH为 $6\sim 8$ 、且通常水性介质中电解质浓度为 $0.001\sim 0.2\text{M}$ 如 0.01M 或 0.15M 。

[0027] 通常,本发明的生物相容纳米粒子具有的电表面电荷为至少 $|10\text{mV}|$,即低于 -10mV 或高于 $+10\text{mV}$,例如低于 -12mV 或 -15mV 和 -20mV 之间或高于 $+12\text{mV}$ 或 $+15\text{mV}$ 和 $+20\text{mV}$ 之间,通常低于 -15mV 或高于 $+15\text{mV}$ 。优选地,本发明的生物相容纳米粒子具有大于 10mV 的绝对电表面电荷值(“绝对表面电荷值”),所述电荷甚至更优选为负电荷。

[0028] 本发明的情况下可用的纳米粒子可以是有机或无机的,只要其带电即可。还可使用有机和无机纳米粒子的混合物。

[0029] 当是有机的时,纳米粒子可以是基于脂质的纳米粒子(甘油脂质、磷脂质、固醇脂质等),在本文中也可称作“蛋白-纳米粒子”的基于蛋白的纳米粒子(如白蛋白),基于聚合物的纳米粒子(“聚合纳米粒子”),基于共聚物的纳米粒子(“共聚纳米粒子”),基于碳的纳米粒子,病毒状纳米粒子(如病毒载体)。

[0030] 有机纳米粒子还可以是纳米球(普通纳米粒子)或纳米囊(中空纳米粒子)如脂质体、凝胶、水凝胶、胶团、树状物等。也可使用本文中描述的有机纳米粒子的混合物。聚合物或共聚物可以是来自天然的或合成的。

[0031] 在本发明情况下可用于制备有机纳米粒子的合成(人造)和天然聚合物或共聚物的实例可选自聚乳酸(PLA)、聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)、聚乙二醇(PEG)、聚乙醇乳酸(Polyglactin)、聚交酯、聚氧乙烯脂肪酸酯、聚丙二醇、聚山梨醇酯、聚乙烯醇、聚丙烯酰胺、聚甲基丙烯酸甲酯、聚氰基丙烯酸酯、聚乳酸-羟乙酸酯共聚物、聚酰胺-胺、聚乙烯亚胺、海藻酸、纤维素和纤维素衍生物聚合物、胶原、透明质酸、聚赖氨酸(PGA)、肌动蛋白、多糖和明胶。

[0032]

[0033] 当是无机的且当其最长尺寸通常低于约10nm,例如低于约8nm,低于约7nm,通常为约7nm~约4nm,例如低于约6nm,低于约5nm或低于约4nm时,纳米粒子可由任何无机材料制成。无机材料例如可包含来自门捷列夫元素周期表的第3、第4、第5、第6周期以及镧系的金属元素。当纳米粒子的最长尺寸通常低于约10nm时,纳米粒子可以以更大的结构组装。纳米粒子以更大的结构组装可通常由纳米粒子与生物相容聚合物、蛋白等之间的相互作用诱发。通过在载体,通常为普通载体如明胶结构(在本文中也称作“明胶纳米粒子”)或中空载体如脂质体中捕获纳米粒子,也可获得更大的结构。在体内施用后,那些更大的结构可进一步释放纳米粒子。

[0034] 当是无机的且当所述纳米粒子的最长尺寸通常为至少10nm,通常为10~500nm时,纳米粒子可包含如下中的至少一种或可在于:(i)选自例如Mg、Ca、Ba和Sr的一种或多种二价金属元素,(ii)选自例如Fe和Al的一种或多种三价金属元素,和(iii)包含Si的一种或多种四价金属元素。

[0035] 在一个特定实施方式中,纳米粒子的无机材料选自:(i)选自例如Mg、Ca、Ba和Sr的一种或多种二价金属元素,(ii)选自例如Fe和Al的一种或多种三价金属元素,和(iii)一种或多种包含Si的四价金属元素。

[0036] 在另一个特定实施方式中,纳米粒子的无机材料选自碳酸钙(CaCO_3)、碳酸镁(MgCO_3)、氢氧化镁($\text{Mg}(\text{OH})_2$)、氢氧化铁($\text{Fe}(\text{OH})_2$)、氧氢氧化铁(FeOOH)、氧化铁(Fe_3O_4 或 Fe_2O_3)、氧化铝(Al_2O_3)、氢氧化铝($\text{Al}(\text{OH})_3$)、氧氢氧化铝(AlOOH)和氧化硅(SiO_2)。

[0037] 本文中描述的组合物中使用的纳米粒子是要生物相容的,即与生命组织相容。当被它们的组合物所需时,纳米粒子由此用生物相容材料进行涂布从而变得可用。在本发明的特定实施方式中,本文中提到的纳米粒子由此用生物相容包衣覆盖。

[0038] 生物相容材料可以是允许与生物靶的相互作用的试剂。当纳米粒子的绝对电荷为至少10mV时,这种试剂将通常在纳米粒子表面上产生正或负电荷。

[0039] 在纳米粒子表面上形成正电荷的试剂可以例如选自氨基丙基三乙氧基硅烷或聚赖氨酸。在纳米粒子表面上形成负电荷的试剂可以例如选自磷酸盐(例如聚磷酸盐、偏磷酸盐、焦磷酸盐等),羧酸盐(例如柠檬酸盐或二元羧酸,特别是琥珀酸)或硫酸盐。

[0040] 在一个特定实施方式中,只要纳米粒子的绝对电荷为至少10mV($|10\text{mV}|$),则可用选自显示空间组的试剂的生物相容材料涂布纳米粒子。这种组可选自如聚乙二醇(PEG);聚环氧乙烷;聚乙烯醇;聚丙烯酸酯;聚丙烯酰胺(聚(N-异丙基丙烯酰胺));聚碳酸酰胺;生物聚合物;聚糖如葡聚糖、木聚糖和纤维素;胶原;两性离子化合物如聚磺基甜菜碱;等。

[0041] 生物相容包衣可有利地是“全包衣”(完整单层)。这意味着极高密度的生物相容分子的存在在纳米粒子的全部表面上产生合适的电荷。

[0042] 生物相容包衣可还包含标记试剂,通常是允许使用标准成像设备可视化颜色的试剂。

[0043] 生物相容纳米粒子与目标化合物一起的组合施用通常当在需要目标化合物的受试者中彼此相隔大于5分钟至约72小时施用,当与所述化合物的标准药物、通常治疗剂量所诱导的药物益处和毒性相比时,在受试者毒性降低的情况下维持目标化合物的药物(即治疗、预防或诊断)、通常治疗益处,或者在受试者毒性相等或降低的情况下增加化合物的

药物益处。

[0044] 在一个特定实施方式中,生物相容纳米粒子与目标化合物的组合施用通常当在需要目标化合物的受试者中彼此相隔大于5分钟至约72小时施用时,当与所述化合物的标准治疗剂量相比时,允许施用的化合物治疗剂量降低至少10%、优选至少15%,同时在受试者的化合物毒性相等或降低(优选毒性降低)的情况下维持相同的治疗益处,或者同时在受试者的化合物毒性相等或降低的情况下增加治疗益处。在一个特定实施方式中,纳米粒子与几种目标化合物、通常两种目标化合物施用。

[0045] 在施用至需要目标化合物的受试者之后,纳米粒子优选通常在1小时到6周例如1月(4周)内,在1小时到1月内,例如在1小时和3周之间,或在1小时和2周之间,或在1小时和1周之间从已被施用所述纳米粒子的受试者中清除。

[0046] 构成纳米粒子的材料(包括存在时的生物相容包衣)在决定纳米粒子的生物持久性方面是重要的。纳米粒子可以视为生物可降解的(例如由生物可降解的聚合物如PLGA或PLA构成时),可溶解的(例如氧化铁)或生物不可降解的和不可溶的。生物可降解的和可溶的纳米粒子促进纳米粒子从受试者的快速清除。

[0047] 根据本教导,可将不同的分子或试剂用作所述至少一种目标化合物,通常用作所述至少一种目标药物化合物,与如上文描述的生物相容纳米粒子组合施用。该化合物可以如前所述是治疗、预防或诊断化合物。其可以是有机化合物或无机化合物。

[0048] 可用作目标化合物的有机化合物的实例可选自生物化合物,抗体,寡核苷酸,合成肽,小分子靶向治疗剂,细胞毒化合物,以及任何相应的前药或其衍生物,等。

[0049] 在一个特定实施方式中,本发明的情况下使用的目标化合物是优选选自生物化合物、小分子靶向治疗剂和细胞毒化合物的有机化合物。在另一个特定实施方式中,目标化合物选自抗体、寡核苷酸和合成肽。

[0050] 生物化合物例如是抗体,优选为单克隆抗体(“mAb”),例如英利昔单抗、阿达木单抗、贝伐单抗、利妥昔单抗、曲妥单抗、雷珠单抗、西妥昔单抗、panatimumab;蛋白或重组蛋白如恩博(依那西普)或干扰素 β -1a;肽或重组肽如甘精胰岛素或倍泰龙;疫苗如沛儿13或加德西;生物仿制药如epogin;酶或重组酶如replagal或creon;等。

[0051] 寡核苷酸例如为反义寡核苷酸,适体,例如米泊美生钠或番泻苷,等。

[0052] 合成或人造的肽例如醋酸格拉替雷或醋酸亮丙瑞林。

[0053] 小分子靶向治疗剂通常抑制恶性细胞内的突变、过表达或另外的关键蛋白(癌症治疗情况下的潜在靶点)上的酶结构域。一些治疗试剂包括靶向细胞分裂的试剂(例如极光激酶抑制剂或周期蛋白依赖性激酶抑制剂),以及其它生物机制如蛋白质周转和染色质修饰(例如组蛋白去乙酰化酶抑制剂)。小分子靶向治疗剂例如是伊马替尼、雷帕霉素、吉非替尼、埃罗替尼、索拉非尼、舒尼替尼、尼罗替尼、达沙替尼、拉帕替尼、硼替佐米、阿托伐他汀等。

[0054] 细胞毒化合物例如是DNA修饰试剂如蒽环霉素(例如阿霉素、道诺霉素等),烷化试剂(例如美法仑或替莫唑胺),以及非常精确地干扰确定的生理机制如微管聚合(例如紫杉酚)或代谢物合成(例如甲氨蝶呤)的药物。可活化的细胞毒性化合物通常在光动力疗法的情况下使用(例如光敏素),且被外源如激光源活化以制造其治疗效果。其它典型的细胞毒化合物通常选自如本文中描述的或如由精湛的肿瘤学家所知的化学治疗试剂。

[0055] 前药(例如卡培他滨或伊立替康)在体内以其活性形式代谢从而制造其期望的治疗效果。

[0056] 可用作目标化合物的无机化合物的实例可选自过渡金属配位络合物,辐射药物化合物,纳米粒子等。

[0057] 过渡金属配位络合物相比于更常见的基于有机物的药物提供潜在的优点,包括宽范围的配位数和几何结构,可达到的氧化还原状态,配体取代的热力学和动力学的“可调能力”,以及宽的结构多样性。基于金属的物质与细胞分子靶点相互作用,影响生物化学功能从而导致恶性细胞的破坏。过渡金属配位络合物通常是作用于DNA结构的细胞毒性试剂(例如,铂配合络合物:顺铂,卡铂,奥沙利铂,或钨或金配位络合物)。

[0058] 辐射药物化合物发射辐射用于诊断目的或以选择性毁灭恶性细胞。典型的辐射药物可含有例如铟-89、铊201、镓-99、钷-83等。

[0059] 纳米粒子可通常选自金属氧化物纳米粒子(参见例如WO 2009/147214和WO 2007/118884),金属纳米粒子(例如金、铂或银纳米粒子),金属硫化物纳米粒子(例如Bi₂S₃),和其任何混合物(例如用氧化钪材料覆盖的金纳米粒子)。纳米粒子例如是可通过外源如电磁辐射源、超声源或磁源等活化的纳米粒子。

[0060] 与上文中描述的生物相容纳米粒子组合施用(通常如本文中所述按序施用)的目标化合物可根据技术人员所知的手段被包裹在载体中或接枝(或结合)到这种载体。典型的载体例如是脂质体(例如DOXIL或使用热敏脂质的ThermoDox),胶团,聚合(或“聚合物”)载体,水凝胶,凝胶,共聚物载体,蛋白载体,无机载体。

[0061] 本发明的药物组合物(由目标化合物和纳米粒子的组合所限定)可用于许多领域,特别是用于人类或兽类医学。该组合物通常用于动物,优选用于哺乳动物(例如在兽类医学的情况下),甚至更优选用于人类,不论其年龄或性别如何。

[0062] 本发明的药物组合物可用于心血管疾病,中枢神经系统(CNS)疾病,胃肠疾病,遗传疾病,血液疾病,荷尔蒙失调,免疫学,传染病,代谢疾病,肌肉骨骼疾患,肿瘤学,呼吸疾病,毒理学等。在一个优选的实施方式中,药物组合物被用于心血管疾病,CNS疾病,肿瘤学,传染病,代谢疾病。

[0063] 在本发明的情况下,将纳米粒子和化合物(“目标化合物”)彼此相隔大于5分钟至约72小时,通常大于5分钟至约24小时,优选大于5分钟或30分钟至约12小时有利地施用于需要所述化合物的受试者中,以便优化化合物的药物疗效。

[0064] 在本发明中,当将纳米粒子和化合物(“目标化合物”)彼此相隔大于5分钟至约72小时有利地施用于需要所述化合物的受试者中时,生物相容纳米粒子的绝对表面电荷值为至少10mV(|10mV|)。

[0065] 在本发明的一个特定实施方式中,当将纳米粒子和化合物(“目标化合物”)彼此相隔大于5分钟至约24小时有利地施用于需要所述化合物的受试者中时,生物相容纳米粒子的绝对表面电荷值有利地为至少15mV(|15mV|)。

[0066] 在本发明的另一个特定实施方式中,当将纳米粒子和化合物(“目标化合物”)彼此相隔大于5分钟至约12小时有利地施用于需要所述化合物的受试者中时,生物相容纳米粒子的绝对表面电荷值有利地为至少20mV(|20mV|)。

[0067] 本文中描述了用于治疗遭受疾病如本文中提及的疾病的受试者的方法,其中所

述方法包含向所述受试者施用本发明的药物组合物,通常施用如本文中描述的生物相容纳米粒子和至少一种目标化合物。纳米粒子或至少一种目标化合物中的任一者可被首先施用至受试者,只要将生物相容纳米粒子和化合物彼此相隔大于5分钟至约72小时施用即可。所述纳米粒子或至少一种目标化合物中任一者的施用可以是各自的单次施用,各自的重复使用,例如各自的几次连续施用。生物相容纳米粒子可以施用一次,所述至少一种目标化合物可以施用大于一次,并且反之亦然。

[0068] 在一个特定实施方式中,至少在包含目标化合物的几次施用的方案开始,即至少在所述目标化合物的首次施用以及在其施用之前或之后,施用生物相容纳米粒子。

[0069] 在另一个特定实施方案中,生物相容纳米粒子不在包含目标化合物的几次施用的方案开始时施用,和不在所述目标化合物的第二次或第三次施用之前、以及在其施用之前或之后施用。

[0070] 在最后这两个实施方式的情况下,生物相容纳米粒子可与目标化合物在所述目标化合物的部分或全部的连续施用期间一起施用(如前面阐释的之前或之后)。

[0071] 在一个特定实施方式中,本发明的纳米粒子在向所述受试者施用所述至少一种目标化合物之前,通常在施用所述至少一种目标化合物之前大于5分钟和约72小时之间,施用到所述受试者。

[0072] 在该情况下,术语“纳米粒子”可更具体地指产品,特别是合成产品,所述产品的尺寸为约4nm与约100nm之间,例如约10nm、15nm或20nm与约100nm之间。要与这种纳米粒子使用的目标化合物的实例是有机化合物,通常为生物化合物。其有利地选自抗体、寡核苷酸、合成肽、小分子靶向治疗剂、和细胞毒化合物,并且优选为抗体、小分子靶向治疗剂和/或细胞毒化合物。术语“纳米粒子”另外可指产品,特别是合成产品,所述产品的尺寸为约100nm和约500nm之间,通常为约100nm和约300nm之间。要与这种纳米粒子使用的目标化合物的实例是无机化合物,通常选自金属纳米粒子、金属氧化物纳米粒子、金属硫化物纳米粒子以及其任何混合物或任何的被包裹在载体中或接枝到这种载体的目标化合物。

[0073] 本发明药物组合物的生物相容纳米粒子可以通过诸如静脉内(IV)、动脉内和/或腹膜内的途径施用。优选的施用途径是静脉内途径。

[0074] 本发明药物组合物的目标化合物可通过诸如皮下、静脉内(IV)、皮内、动脉内、呼吸道(吸入)、腹膜内、肌内和/或经口途径(口服)的不同途径施用。

[0075] 以下实施例说明本发明而不限制其范围。

附图说明

[0076] 图1:取决于化合物尺寸(最长尺寸)的治疗化合物从血液循环去除的可能途径的示意图。

[0077] 图2:包含(i)实施例3的生物相容纳米粒子和(ii) Dox-NP®的药物组合物在MDA-MB-231-lucD3H2LN移植瘤中的治疗方案的示意图。

[0078] 图3:包含实施例3的生物相容纳米粒子和Dox-NP®的药物组合物在MDA-MB-231-lucD3H2LN移植瘤中的肿瘤再生长延迟(平均RTV±SD)。

实施例

[0079] 实施例1:作为生物相容纳米粒子的脂质体的合成^{n°1}

[0080] 使用脂质膜复水法制备脂质体:

[0081] a) 将脂质溶解在氯仿中。氯仿最终在氮气流下蒸发。在50℃下用pH 7.4的HEPES 20mM和NaCl 140mM进行脂质膜的复水,使得脂质浓度为5mM。

[0082] 将以下脂质组合物用于制备带电的脂质体: DPPC(二棕榈酰磷脂酰胆碱):86%摩尔;MPPC(单棕榈酰磷脂酰胆碱):10%摩尔;DSPE-PEG(二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-[甲氧基(聚乙二醇)-2000]):4%摩尔。

[0083] b) 然后通过连续地将样品放入液氮和放入调节在50℃下的水浴中,进行6次解冻循环。

[0084] c) 在控制的温度和压力下,使用热筒挤出机(LIPEX™挤出机,Northern Lipids)校准脂质体的尺寸。在所有情况下,在50℃下,在10巴的压力下进行挤出。

[0085] 通过动态光散射(DLS),使用Zetasizer NanoZS(Malvern instrument)以633nm的HeNe激光在90°的角度下测定所制备的脂质体的粒度分布。脂质体悬浮液在pH 7.4的HEPES 20mM和NaCl 140mM中稀释100倍。脂质体尺寸(即水力学直径)等于约170nm,多分散指数(PDI)等于约0.1。

[0086] 如由技术人员可理解的,由于选择的脂质组合物而获得了所需的表面电荷,而且使用Zetasizer NanoZS(Malvern instrument)通过ζ电势测量确认了其值。

[0087] 脂质体在水中稀释100倍,且所得悬浮液的pH被调节至pH 7.4。脂质体表面电荷在pH 7.4等于约-14mV。

[0088] 实施例2:允许要在受试者中施用的治疗化合物在所述受试者中疗效相等的情况下剂量降低至少10%的方法。

[0089] 将根据权利要求1所述的药物组合物以以下方式在荷移植瘤的裸鼠中施用,所述药物组合物包含生物相容纳米粒子和在暴露于电离辐射如X射线时能生成电子和/或高能光子的可活化的抗癌疗法用氧化物纳米粒子(用作“所述化合物”或“药物化合物”):

[0090] a) 向每个裸鼠(通过静脉内注射)施用生物相容纳米粒子;

[0091] b) 在步骤a)后在大于5分钟和72小时之间,在步骤a)的每个小鼠中以比当前使用的剂量低(10%)的剂量施用(通过静脉内注射)治疗化合物;

[0092] c) 测量每个小鼠的血液或血浆样品中的治疗化合物浓度以获得治疗化合物的药代动力学参数,在治疗化合物施用后1分钟和24小时之间对所述浓度测量一次或优选几次;

[0093] d) 在施用药物组合物之后评价毒性的任何临床体征;以及

[0094] e) 在治疗化合物静脉内(IV)施用后24小时测定其肿瘤累积。

[0095] 实施例3:作为生物相容纳米粒子的脂质体的合成^{n°2}

[0096] 使用脂质膜复水法制备脂质体:

[0097] a) 将脂质溶解在氯仿中。氯仿最终在氮气流下蒸发。在60℃下用pH 7.4的HEPES 20mM和NaCl 140mM进行脂质膜的复水,使得脂质浓度为25mM。

[0098] 将以下脂质组合物用于制备带电的脂质体: DPPC(二棕榈酰磷脂酰胆碱)62%摩尔;HSPC(氢化的黄豆磷脂酰胆碱)20%摩尔;CHOL(胆固醇)16%摩尔;POPS(1-棕榈酰-2-油酰磷脂酰丝氨酸)1%摩尔;DSPE-PEG(二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-[甲氧基(聚乙二醇)-2000])

1%摩尔。

[0099] b) 然后通过连续地将样品放入液氮和放入调节在60℃下的水浴中,进行6次解冻循环。

[0100] c) 在控制的温度和压力下,使用热筒挤出机(LIPEX™挤出机,Northern Lipids)校准脂质体的尺寸。在所有情况下,在60℃下,在5巴的压力下,利用0.1μm孔径的聚偏二氟乙烯(PVDF)膜进行挤出。

[0101] 通过动态光散射(DLS),使用Zetasizer NanoZS(Malvern instrument)以633nm的HeNe激光在90°的角度下测定所制备的脂质体的粒度分布。脂质体悬浮液在pH 7.4的HEPES 20mM和NaCl 140mM中稀释100倍。脂质体尺寸(即水力学直径)等于约145nm,多分散指数(PDI)等于约0.1。

[0102] 如由技术人员可理解的,由于选择的脂质组合物而获得了所需的表面电荷,而且使用Zetasizer NanoZS(Malvern instrument)通过ζ电势测量确认了其值。

[0103] 脂质体在1mM的氯化钠溶液中稀释100倍,且所得悬浮液的pH被调节至pH 7.4。脂质体表面电荷在pH 7.4、NaCl 1mM等于约-25mV。

[0104] **实施例4:**包含实施例3的生物相容纳米粒子悬浮液和Dox-NP®的药物组合物在MDA-MB-231-lucD3H2LN移植瘤中的肿瘤再生长延迟(图2和3)

[0105] 进行了这一研究来研究包含(i)来自实施例3的生物相容纳米粒子和(ii)作为目标治疗化合物的Dox-NP®(脂质体包裹的阿霉素)的药物组合物在移植到NMRI裸鼠上的MDA-MB-231-luc-D3H2LN肿瘤模型中的疗效。

[0106] 在Caliper Life Science(维勒班特,法国)购买人乳腺癌MDA-MB-231-luc-D3H2LN细胞系。利用补充有10%的胎牛血清、1%的非必需氨基酸、1%的L-谷氨酰胺和1%的丙酮酸钠(Gibco)的含厄尔平衡盐溶液MEM/EBSS培养基,在最少的必需培养基中培养细胞。

[0107] 从Janvier Labs(法国)订购6-7周龄(20-25g)的NMRI裸鼠。在接种移植瘤的癌细胞之前,利用铯-137辐射装置使小鼠经受3Gy的全身辐射一天。

[0108] 通过在小鼠的右下侧皮下注射50μL中的 4×10^6 个细胞获得MDA-MB-231-luc-D3H2LN肿瘤。肿瘤生长直到达到约100mm³的体积。使用数显卡尺测量肿瘤直径且使用公式计算以mm³计的肿瘤体积:

$$[0109] \quad \text{肿瘤体积(mm}^3\text{)} = \frac{\text{长度(mm)} \times (\text{宽度})^2 \text{ (mm}^2\text{)}}{2}$$

[0110] 将小鼠随机分到单独的笼子中并通过编号(典当纹身)识别。如图2中所示对4个组进行治疗。

[0111] -组1:5%无菌葡萄糖(对照(媒介物)组)

[0112] 在第1天、第7天和第14天对四(4)个小鼠静脉(IV)注射5%的无菌葡萄糖溶液。每次(天)进行5%的葡萄糖的注射两次。5%的葡萄糖的第一次注射在第二次注射之前4小时进行。

[0113] -组2:来自实施例3的生物相容纳米粒子(对照组)

[0114] 在第1天、第7天和第14天对四(4)个小鼠静脉(IV)注射5%的无菌葡萄糖溶液和来自实施例3的生物相容纳米粒子(10ml/kg)。每次(天),在注射5%的葡萄糖溶液之前4小时

进行来自实施例3的生物相容纳米粒子的注射。

[0115] -组3: **Dox-NP®** (3mg/kg阿霉素) (治疗组)

[0116] 在第1天、第7天和第14天对五 (5) 个小鼠静脉 (IV) 注射5%的无菌葡萄糖溶液和 **Dox-NP®** (3mg/kg阿霉素)。每次 (天), 在注射 **Dox-NP®** (3mg/kg阿霉素) 之前4小时进行5%的无菌葡萄糖溶液的注射。

[0117] -组4: 药物组合物即 (i) 来自实施例3的生物相容纳米粒子和 (ii) **Dox-NP®** (3mg/kg阿霉素) 的组合 (治疗组)

[0118] 在第1天、第7天和第14天对五 (5) 个小鼠静脉 (IV) 注射来自实施例3的生物相容纳米粒子 (10ml/kg) 和 **Dox-NP®** (3mg/kg阿霉素)。每次 (天), 在注射 **Dox-NP®** (3mg/kg阿霉素) 之前4小时进行来自实施例3的生物相容纳米粒子的注射。

[0119] **Dox-NP®** (Avanti Polar lipids-2mg/ml的pH 6.5-6.8的盐酸阿霉素的脂质体制剂, 在10mM组氨酸缓冲液中, 具有10%w/v的蔗糖) 在没有另外稀释的情况下以获得3mg/kg的注射的阿霉素所需的体积进行注射。

[0120] 来自实施例3的生物相容悬浮液在没有任何另外稀释的情况下使用。

[0121] 利用100U (0.3ml) 胰岛素注射器 (TERUMO, 法国), 通过经尾静脉静脉内注射 (IV) 施用 **Dox-NP®** 和来自实施例3的生物相容纳米粒子。

[0122] 对小鼠的临床体征、体重和肿瘤尺寸进行跟进。

[0123] 使用以下公式, 利用数显卡尺, 由二维肿瘤体积测量估计肿瘤体积:

$$[0124] \quad \text{肿瘤体积}(\text{mm}^3) = \frac{\text{长度}(\text{mm}) \times (\text{宽度})^2 (\text{mm}^2)}{2}$$

[0125] 在每个组中, 相对肿瘤体积 (RTV) 被表示为 V_t/V_0 比 (V_t 是治疗期间在给定天数的肿瘤体积, V_0 是在治疗开始时的肿瘤体积)。

[0126] 使用两个翻倍时间内的比生长延迟 (SGD) (一个翻倍时间是肿瘤体积翻倍所花的时间量) 和最佳百分比 T/C 值 (%T/C) 测定疗效。

[0127] 在两个翻倍时间内 SGD 如下计算:

$$[0128] \quad \text{SGD} = \frac{\text{T4d治疗} - \text{T4d对照}}{\text{T4d对照}} \quad \text{T4d是肿瘤体积翻倍两次 (从 } 100\text{mm}^3 \text{ 高达至 } 400\text{mm}^3 \text{ 的平}$$

均RTV) 所需的时间

[0129] 通过在第1、3、7、10、13、15、18、21和24天用治疗组 (组2、3、4) 的相对肿瘤体积的中值除以对照组 (组1), 并通过将所述除法的结果乘以100, 来计算百分比 T/C 值 (“%T/C”) (参见表2)。在治疗注射 (有或没有如本发明的情况下使用的生物相容纳米粒子) 后的2周内获得的最低 %T/C 值对应于最佳 %T/C 值。

[0130] 图3显示了在如下情况下 (在前述条件下) 获得的所有组的平均相对肿瘤体积 (平均RTV):

[0131] -在第1、7和14天IV注射媒介物 (5%的无菌葡萄糖) (组1);

[0132] -在第1、7和14天在每次注射媒介物 (5%的无菌葡萄糖) 之前4小时IV注射来自实施例3的生物相容纳米粒子 (组2);

[0133] -在第1、7和14天IV注射 **Dox-NP®** (3mg/kg阿霉素) (组3); 或

[0134] -在第1、7和14天在注射Dox-NP® (3mg/kg阿霉素)之前4小时IV注射来自实施例3的生物相容纳米粒子(组4)。

[0135] 如图3中所示,当与单独的Dox-NP® (3mg/kg阿霉素)相比,在首次注射包含(i)来自实施例3的生物相容纳米粒子和(ii)Dox-NP® (3mg/kg阿霉素)的组的药物组合物后,观察到显著的肿瘤生长抑制。

[0136] 对各肿瘤体积翻倍两次所需的时间(T4d)(按天表示)进行计算(作为治疗效果持续时间的测量)。相比于单独的Dox-NP®为14天,药物组合物的T4d估计为约31天(表1)。此外,由两个翻倍时间(从平均RTV100mm³开始,高达至400mm³)内的肿瘤生长估计的比生长延迟(SGD),对于药物组合物来讲,相比于单独的Dox-NP®为0,等于约2(表1)。

[0137] 表1:

组	在 100~400mm ³ (平均RTV)的 T4d (按天计)	SGD
组 1: 媒介物(对照组)	11	-
组 2: 来自实施例 3 的生物相容纳米粒子	11	0
组 3: 单独的 Dox-NP® (3mg/Kg)	14	0
组 4: 包含(i)来自实施例 3 的生物相容纳米粒子和(ii)Dox-NP® (3mg/Kg)的药物组合物	31	2

[0139] 表1:由两个翻倍时间内的肿瘤生长估计的肿瘤体积翻倍两次的时间(T4d)和比生长延迟(SGD)。T4d表示达到两次翻倍时间(从100mm³高达至400mm³的平均RTV)的天数。对照组是单独的媒介物(5%的葡萄糖)(-)。

[0140] 此外,药物组合物的百分比T/C(%T/C)(进行计算直到组1死亡的天数)比单独的Dox-NP®更快地降低。这证明了药物组合物的显著影响。对于药物组合物即(i)来自实施例3的生物相容纳米粒子和(ii)Dox-NP® (3mg/Kg阿霉素)的组合,的确获得了在第24天观察到的25的最佳%T/C,而对于单独的Dox-NP®组,获得了在第21天观察到的38的最佳%T/C(表2)。

[0141] 表2

[0142]

天	组 2: 单独的生物相容 纳米粒子	组 3: 单独的 Dox-NP® (3mg/kg)	组 4: 包含(i)生物相容纳米粒子和 (ii)Dox-NP® (3mg/Kg)的药物组 合物
1	100	100	100
3	104	126	121
7	90	106	80
10	87	76	60
13	103	80	55
15	98	74	45
18	98	56	43
21	87	38	33
24	98	40	25

[0143] 表2:通过在第1、3、7、10、13、15、18、21和24天用治疗组(组2、3、4)的相对肿瘤体积的中值除以对照组(组1),并通过将所述除法的结果乘以100,来计算百分比T/C(%T/C)。对照组是组1(单独的5%的媒介物无菌葡萄糖)。计算%T/C直到对应于组1(对照组)死亡天数的第24天。对于每个组以灰框指示最佳%T/C。

[0144] 总之,这些结果显示,当使用本发明的药物组合物[对应于(i)来自实施例3的生物相容纳米粒子和(ii)Dox-NP®(3mg/Kg阿霉素)的组合]时有有利的肿瘤生长延迟,这在单独使用Dox-NP®(3mg/Kg阿霉素)(即不存在本发明的情况下使用的生物相容纳米粒子)时并未观察到。当来自实施例3的生物相容纳米粒子和目标化合物(Dox-NP®)按序施用、生物相容纳米粒子先于Dox-NP®4小时被施用至受试者时观察到这一肿瘤生长延迟。

[0145] 发明人在重做该实验以确认,只要将目标化合物和生物相容纳米粒子彼此相隔大于5分钟至约72小时施用于受试者,则观察到相同的结果。

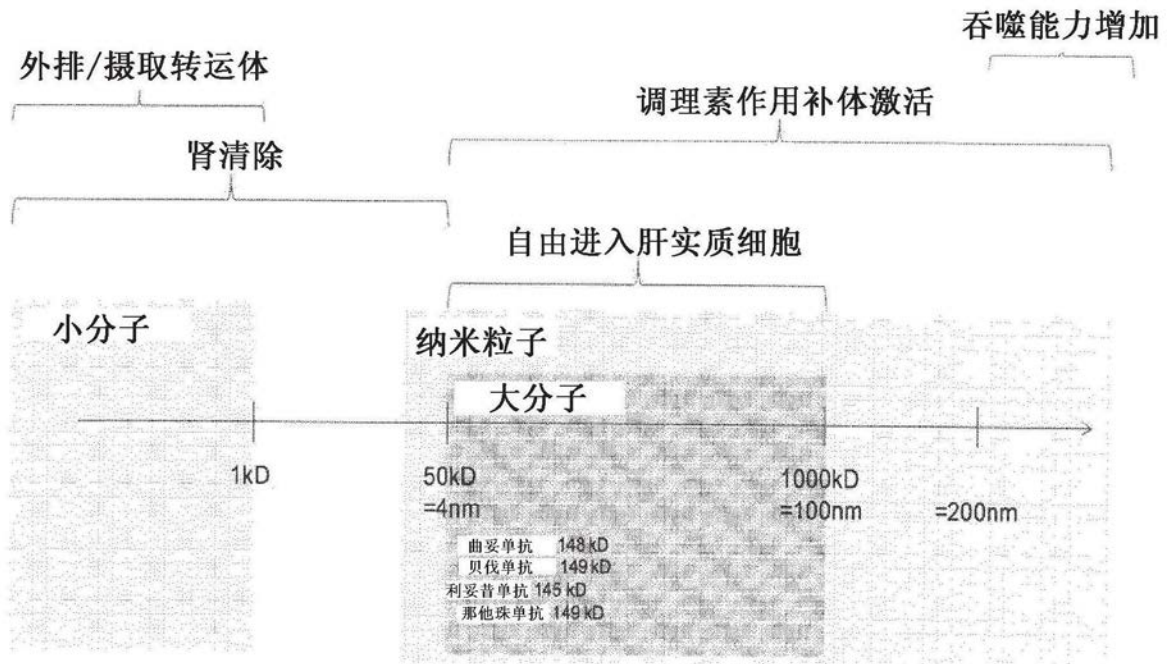


图1

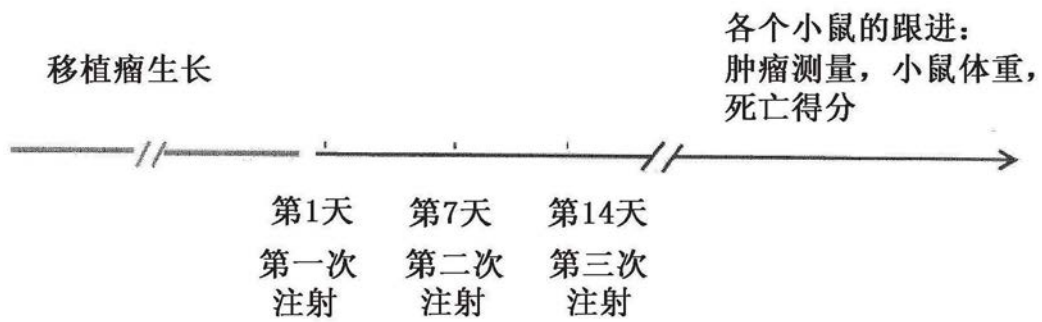


图2

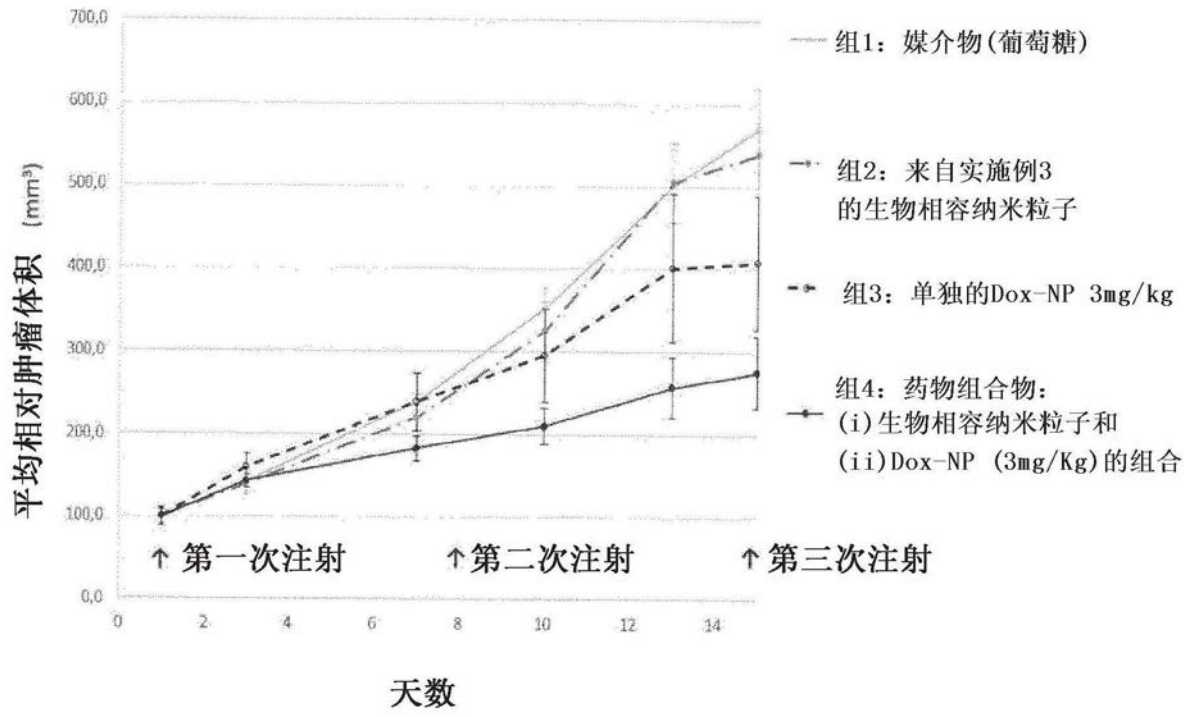


图3