(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 113164491 A
(43)申请公布日 2021.07.23

(21)申请号 201980071376.2
(22)申请日 2019.08.28
(30)优先权数据
62/723592 2018.08.28 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.04.28
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/048579 2019.08.28
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/047103 EN 2020.03.05
(71)申请人 科医公司
地址 美国新泽西州
(72)发明人 B·雷登伯格 R·狄卢西奥
(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 罗文锋 初明明
(51)Int.Cl.
A61K 31/54(2006.01)
A61K 31/541(2006.01)
A61K 31/549(2006.01)

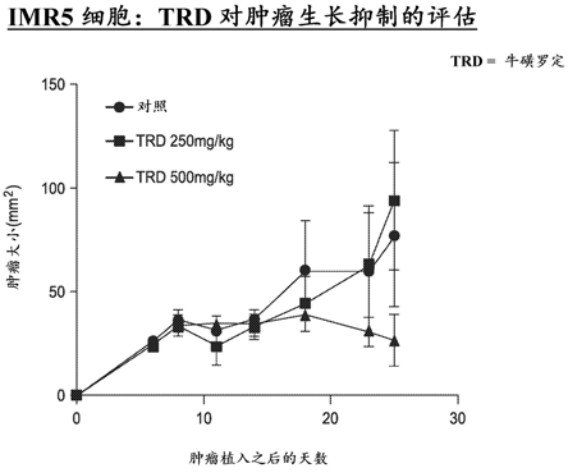
权利要求书1页 说明书5页 附图8页

(54)发明名称

用于治疗幼年哺乳动物体内神经母细胞瘤的方法和组合物

(57)摘要

神经母细胞瘤为主要影响儿童的肿瘤。除在可手术切除病灶的极少数情况下之外，当前的护理标准是无法治愈的，尽管已对低风险神经母细胞瘤和中风险神经母细胞瘤记录了非常高的存活率。牛磺罗定被开发为抗感染药，但已发现其在细胞培养物中和现在于啮齿动物癌症模型中具有令人惊讶的溶瘤活性。本发明涉及牛磺罗定用于在幼年哺乳动物中治疗神经母细胞瘤的用途。



CN 113164491 A

1.一种用于在幼年哺乳动物中治疗神经母细胞瘤的方法,所述方法包括给予所述幼年哺乳动物牛磺罗定。

2.权利要求1的方法,其中基于个体患者的反应,将所述牛磺罗定以5 mg/kg-280 mg/kg的剂量范围给予达有效的时间段。

3.权利要求2的方法,其中所述剂量范围为5 mg/kg-60 mg/kg。

4.权利要求1的方法,其中每天一次至每周一次给予所述剂量。

5.权利要求1的方法,其中全身性给予所述牛磺罗定。

6.权利要求5的方法,其中静脉内给予所述牛磺罗定。

7.权利要求5的方法,其中肌内给予所述牛磺罗定。

8.权利要求5的方法,其中所述牛磺罗定包含在纳米颗粒中,并且进一步地其中所述纳米颗粒被配置为延迟所述牛磺罗定的水解直至所述纳米颗粒到达肿瘤部位。

9.权利要求8的方法,其中所述纳米颗粒包含牛磺罗定核和外部包衣,其中所述外部包衣被配置为防止所述牛磺罗定在所述纳米颗粒到达所述肿瘤部位之前暴露。

10.权利要求9的方法,其中所述外部包衣包含随着所述纳米颗粒从插入部位到所述肿瘤部位行进而分解的可吸收的聚合物或脂质。

11.权利要求5的方法,其中使用被配置为延迟所述牛磺罗定的水解的聚合物系统递送所述牛磺罗定。

12.权利要求11的方法,其中使用聚乙二醇(PEG)将所述牛磺罗定“聚乙二醇化”以延迟牛磺罗定的过早水解。

13.权利要求1的方法,其中将所述牛磺罗定给予人类。

14.权利要求13的方法,其中将所述牛磺罗定给予来自由婴儿、儿童和青少年组成的组中的至少一种。

15.权利要求1的方法,其中将所述牛磺罗定作为单一药物给予。

16.权利要求1的方法,其中将所述牛磺罗定与至少一种溶瘤剂组合给予。

17.权利要求16的方法,其中所述至少一种溶瘤剂选自铂化合物(顺铂、卡铂)、烷化剂(环磷酰胺、异环磷酰胺、美法仑、拓扑异构酶II抑制剂)、长春花生物碱(长春新碱)和拓扑异构酶I抑制剂(拓扑替康和伊立替康)。

18.权利要求1的方法,其中将所述牛磺罗定与放射疗法组合给予。

用于治疗幼年哺乳动物体内神经母细胞瘤的方法和组合物

[0001] 申请人
CorMedix Inc.
发明者
Bruce Reidenberg
Robert DiLuccio
参考待审在先专利申请
该专利申请：
(i) 为CorMedix Inc.和Robert DiLuccio于2017年1月11日提交的关于用于治疗神经母细胞瘤和其他癌症的治疗性纳米颗粒的待审在先美国专利申请序列号15/403,876(代理人案卷号CORMEDIX-14)的部分继续，该专利申请要求由CorMedix Inc.和Robert DiLuccio于2016年1月11日提交的关于用于治疗神经母细胞瘤的纳米颗粒系统的在先美国临时专利申请序列号62/277,243(代理人案卷号CORMEDIX-14 PROV)的权益；和
(ii) 要求由CorMedix Inc.和Bruce Reidenberg等人于2018年8月28日提交的关于用于治疗幼年哺乳动物体内神经母细胞瘤的方法和组合物的待审在先美国临时专利申请序列号62/723,592(代理人案卷号CORMEDIX-32 PROV)的权益。
[0002] 上述三(3)个专利申请特此通过参考结合至本文中。

发明领域

[0003] 本发明总体而言涉及治疗性方法和组合物，并且更具体地讲涉及用于治疗幼年哺乳动物体内神经母细胞瘤的治疗性方法和组合物。

[0004] 发明背景

神经母细胞瘤(NB)为童年时期最常见的颅外实体癌，也是婴儿期最常见的癌症，在美国发病率为每年约650例，和在英国发病率为每年100例。将近一半的神经母细胞瘤病例发生在小于2岁的儿童中。其为一种神经内分泌肿瘤，由交感神经系统(SNS)的任何神经嵴元件引起。神经母细胞瘤最常源于肾上腺之一，但也可在颈部、胸部、腹部或骨盆的神经组织中形成。注意到，尽管神经母细胞瘤起源于神经组织，但其不是中枢神经系统(CNS)的肿瘤。

[0005] 神经母细胞瘤为已知表现出从未分化状态到完全良性细胞外观的自发消退的少数几种人类恶性肿瘤之一。

[0006] 神经母细胞瘤为一种表现出极大异质性的疾病，并且分为3个风险类别：低风险、中风险和高风险。低风险神经母细胞瘤最常见于婴儿，并且在仅观察或手术的情况下就常见良好的预后，而高风险神经母细胞瘤即使用可获得的最密集的多模式疗法也难以成功治疗。

[0007] 当神经母细胞瘤病灶为局限性的时，其通常是可治愈的。然而，尽管有积极的多模式疗法，例如密集化疗、手术、放射疗法、干细胞移植、分化剂异维A酸(也称为13-顺式-视黄酸)，以及经常使用抗GD2免疫疗法和抗GD2单克隆抗体疗法的免疫疗法，但患有晚期疾病的

大于18个月的儿童的长期存活仍然较差。

[0008] 已经鉴定出生物学和遗传学特征，当将其添加至经典的临床分期中时，其已允许将患者分配到风险组中以规划治疗强度。这些标准包括患者的年龄、疾病扩散的程度、显微镜下外观以及包括DNA倍性和N-myc癌基因扩增(N-myc调节微小RNA)在内的遗传特征。这些标准用于将神经母细胞瘤分为低风险、中风险和高风险疾病。最近的一项生物学研究(COG ANBL00B1)分析了2,687名神经母细胞瘤患者，并确定了风险分配谱：37%的神经母细胞瘤病例为低风险，18%的神经母细胞瘤病例为中风险，和45%的神经母细胞瘤病例为高风险。注意到，有一些证据表明神经母细胞瘤的高风险和低风险类型为由不同机制引起的，而不仅仅是同一机制的两种不同程度的表达。

[0009] 用于这些不同风险类别的疗法非常不同。

[0010] 可以频繁地观察低风险神经母细胞瘤而根本不需要任何治疗，或者可仅用手术治愈低风险神经母细胞瘤。

[0011] 中风险神经母细胞瘤通常用手术和化学疗法进行治疗。

[0012] 高风险神经母细胞瘤通常用密集化疗、手术、放射疗法、骨髓/造血干细胞移植、通过13-顺式-视黄酸(异维A酸或异维甲酸)的基于生物制品的疗法和抗体疗法(通常与细胞因子GM-CSF和IL-2细胞因子一起给予)进行治疗。

[0013] 使用当前的治疗，患有低风险神经母细胞瘤和中风险神经母细胞瘤的患者预后极佳，低风险神经母细胞瘤的治愈率高于90%，和中风险神经母细胞瘤的治愈率为70-90%。相反，在过去的二十年中，用于高风险神经母细胞瘤的疗法仅导致当时治愈约30%。抗体疗法的加入显著提高了高风险神经母细胞瘤的存活率。2009年3月，具有226名高风险神经母细胞瘤患者的儿童肿瘤学组(Children's Oncology Group) (COG)研究的早期分析表明，干细胞移植之后两年，随机接受ch14.18抗体与GM-CSF和IL-2的组中有66%存活且无病，相比之下未接受抗体的组中仅有46%。停止随机，因此所有参加试验的患者均可接受抗体疗法。

[0014] 已发现组合使用的化学治疗剂对神经母细胞瘤有效。通常用于诱导和用于干细胞移植调理的药物为铂化合物(顺铂、卡铂)、烷化剂(环磷酰胺、异环磷酰胺、美法仑、拓扑异构酶II抑制剂)和长春花生物碱(长春新碱)。一些较新的方案包括诱导中的拓扑异构酶I抑制剂(拓扑替康和伊立替康)，发现其对复发性疾病有效。

[0015] 然而，需要一种对幼年哺乳动物体内的神经母细胞瘤有效的新方法和组合物。

[0016] 发明概述

根据本发明，牛磺罗定被用于治疗幼年哺乳动物体内的神经母细胞瘤。

[0017] 牛磺罗定以5 mg/kg-280 mg/kg的剂量范围，并且优选地以5 mg/kg-60 mg/kg之间的剂量范围给予。

[0018] 基于个体患者的反应，将该剂量每天一次至每周一次给予达有效的时间段。

[0019] 牛磺罗定被全身性递送，优选地静脉内(更优选)或肌内递送。

[0020] 在本发明的一种优选形式中，牛磺罗定以“保护形式”全身性地递送，使得牛磺罗定的水解被延迟直至牛磺罗定到达神经母细胞瘤的部位，然后牛磺罗定发生水解。

[0021] 牛磺罗定可作为单一药物或与一种或多种溶瘤剂和/或放射疗法组合递送。

[0022] 在本发明的一种形式中，提供一种用于在幼年哺乳动物中治疗神经母细胞瘤的方法，方法包括给予幼年哺乳动物牛磺罗定。

[0023] 在本发明的一种形式中，基于个体患者的反应，牛磺罗定以5 mg/kg-280 mg/kg的剂量范围给予达有效的时间段。

[0024] 在本发明的一种形式中，牛磺罗定以5 mg/kg-60 mg/kg的剂量范围给予。

[0025] 在本发明的一种形式中，每天一次至每周一次给予该剂量。

[0026] 在本发明的一种形式中，全身性给予牛磺罗定。

[0027] 在本发明的一种形式中，静脉内给予牛磺罗定。

[0028] 在本发明的一种形式中，肌内给予牛磺罗定。

[0029] 在本发明的一种形式中，牛磺罗定包含在纳米颗粒中，并且纳米颗粒被配置为延迟牛磺罗定的水解直至纳米颗粒到达肿瘤部位。

[0030] 在本发明的一种形式中，牛磺罗定包含在纳米颗粒中，纳米颗粒包含牛磺罗定核和外部包衣，并且外部包衣被配置为防止牛磺罗定在纳米颗粒到达肿瘤部位之前暴露。

[0031] 在本发明的一种形式中，牛磺罗定包含在纳米颗粒中，纳米颗粒包含牛磺罗定核和外部包衣，并且外部包衣包含随着纳米颗粒从插入部位到肿瘤部位行进而分解的可吸收的聚合物或脂质。

[0032] 在本发明的一种形式中，使用被配置为延迟牛磺罗定的水解的聚合物系统递送牛磺罗定。

[0033] 在本发明的一种形式中，使用聚合物系统递送牛磺罗定，其中使用聚乙二醇(PEG)将牛磺罗定“聚乙二醇化”以延迟牛磺罗定的过早水解。

[0034] 在本发明的一种形式中，将牛磺罗定给予人类。

[0035] 在本发明的一种形式中，将牛磺罗定给予来自由婴儿、儿童和青少年组成的组中的至少一种。

[0036] 在本发明的一种形式中，将牛磺罗定作为单一药物给予。

[0037] 在本发明的一种形式中，将牛磺罗定与至少一种溶瘤剂组合给予。

[0038] 在本发明的一种形式中，将牛磺罗定与至少一种溶瘤剂组合给予，并且至少一种溶瘤剂选自铂化合物(顺铂、卡铂)、烷化剂(环磷酰胺、异环磷酰胺、美法仑、拓扑异构酶II抑制剂)、长春花生物碱(长春新碱)和拓扑异构酶I抑制剂(拓扑替康和伊立替康)。

[0039] 在本发明的一种形式中，牛磺罗定与放射疗法组合给予。

[0040] 附图简述

通过以下对本发明优选实施方案的详述，将更充分地公开本发明的这些和其他目的和特征，或者使其变得显而易见，所述详述应与附图一起考虑，其中相同的数字表示相同的部分，并且进一步地其中：

图1为显示在体外(非体内)与健康的淋巴细胞相比较，白血病细胞系似乎对牛磺罗定的作用更敏感的图表；

图2为显示在体外(非体内)当与健康的成纤维细胞(图表上的BJ)相比较时，神经母细胞瘤细胞系对由于牛磺罗定引起的生存力下降更敏感的图表；

图3-6为图表或照片，显示对具有来自在CB57 SCID小鼠中皮下植入的神经母细胞瘤细胞系的可测量肿瘤的CB57 SCID小鼠给予牛磺罗定在体内(非体外)在IMR5肿瘤上具有功效，并且在SK-N-AS肿瘤上具有可测量的功效；和

图7和8为图表，显示当给予牛磺罗定以治疗具有也源自神经母细胞瘤的不同细胞

系(SK-N-AS)的小鼠时,实现了肿瘤大小的统计学显著减小,但是总生存期与对照没有显著差异。

[0041] 发明详述

牛磺罗定为众所周知的抗微生物剂,具有已发表的作用机制和抗微生物谱。牛磺罗定在循环中不稳定,因此尚未成功开发用于全身性感染。当作为封管溶液(catheter-lock solution)输注时,牛磺罗定已在局部应用中证明对腹膜炎和预防感染有效。

[0042] 最近已经研究了牛磺罗定的溶瘤活性,并且发现其与标准化学疗法组合或单独使用对培养中的细胞系具有抑制作用。尽管声称可在临床上达到体外抑制浓度,但唯一发表的人类药代动力学研究表明,当5克牛磺罗定通过20分钟输注静脉内给予时,在健康志愿者中没有可测量的牛磺罗定浓度。据信这是由于当在哺乳动物体内全身性给予时牛磺罗定的快速水解引起的。

[0043] 已经发现,在体外(非体内)与健康的淋巴细胞相比较,白血病细胞系似乎对牛磺罗定的作用更敏感。参见图1。

[0044] 还已经发现,在体外(非体内)当与健康的成纤维细胞相比较时,神经母细胞瘤细胞系对由于牛磺罗定引起的生存力下降更敏感。参见图2。

[0045] 此外,对具有来自在CB57 SCID小鼠中皮下植入的神经母细胞瘤细胞系的可测量肿瘤的CB57 SCID小鼠给予牛磺罗定显示出在体内(非体外)在IMR5肿瘤上具有功效,并且在SK-N-AS肿瘤上具有可测量的功效。参见图3-6。

[0046] 当给予牛磺罗定以治疗具有也源自神经母细胞瘤的不同细胞系(SK-N-AS)的小鼠时,实现了肿瘤大小的统计学显著减小,尽管植入肿瘤的小鼠的总生存期与对照没有统计学差异。参见图7和8。

[0047] 现已发现牛磺罗定可用于治疗幼年哺乳动物体内的神经母细胞瘤。

[0048] 牛磺罗定以5 mg/kg-280 mg/kg的剂量范围,和优选地以5 mg/kg-60 mg/kg之间的剂量范围给予。有效剂量通过使用以下公式从有效小鼠剂量计算人类等效剂量来计算:

人类等效剂量=小鼠mg/kg剂量x 1成年人类/12小鼠x 25儿童BSA比率/37成人BSA比率=以mg/kg表示的儿童剂量

(https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidances/ucm078932.pdf)。

[0049] 基于个体患者的反应,将该剂量每天一次至每周一次给予达有效的时间段。

[0050] 牛磺罗定被全身性递送,优选地静脉内(更优选)或肌内递送。在本发明的一种优选形式中,牛磺罗定以“保护形式”全身性地递送,使得牛磺罗定的水解被延迟直至牛磺罗定到达神经母细胞瘤的部位,然后牛磺罗定发生水解。

[0051] 更特别地,在本发明的一种优选形式中,牛磺罗定以纳米颗粒的形式递送,其中纳米颗粒包含牛磺罗定核和外部包衣,所述外部包衣被配置为防止牛磺罗定在纳米颗粒到达肿瘤部位之前过早暴露。外部包衣随着纳米颗粒从插入部位到肿瘤部位行进而分解,以便释放出牛磺罗定以在肿瘤部位处水解。在本发明的一种优选形式中,包衣包含随着纳米颗粒从插入部位到肿瘤部位行进而分解的可吸收的聚合物或脂质。举例来说但非限制性地,包衣可由衍生自由l-丙交酯、乙交酯、ε-己内酯、对二氧环己酮和三亚甲基碳酸酯构成的聚合物的共聚物和多聚体的组合产生。包衣也可与二醇类比如聚乙二醇(PEG)结合,所述二醇类可为线性或多臂结构。

[0052] 如果需要的话，纳米颗粒可包含赋形剂(例如缓冲剂，用于提供在纳米颗粒内牛磺罗定增强的水解稳定性)。

[0053] 另外，如果需要的话，纳米颗粒可进一步包含包衣，其中包衣被配置为使纳米颗粒靶向神经母细胞瘤的部位，从而提高牛磺罗定用于治疗神经母细胞瘤的功效。在本发明的一种优选形式中，包衣包含结合分子，其被配置为使纳米颗粒向特定组织靶向递送。举例来说但非限制性地，用于纳米颗粒的包衣包含针对N型钙通道的单克隆抗体(例如抗N型钙通道面外Fab片段)，用于使纳米颗粒结合于神经组织(神经母细胞瘤肿瘤)。

[0054] 在本发明的另一种形式中，牛磺罗定可使用被配置为延迟牛磺罗定的水解和/或优化牛磺罗定的释放性能的聚合物系统来递送。举例来说但非限制性地，可使用聚乙二醇(PEG)将牛磺罗定“聚乙二醇化”以延迟牛磺罗定的过早水解和/或优化牛磺罗定的释放性能。

[0055] 牛磺罗定可作为单一药物或与一种或多种溶瘤剂和/或放射疗法组合递送。可与牛磺罗定组合以递送至幼年哺乳动物中用于治疗神经母细胞瘤的溶瘤剂的实例为铂化合物(顺铂、卡铂)、烷化剂(环磷酰胺、异环磷酰胺、美法仑、拓扑异构酶II抑制剂)、长春花生物碱(长春新碱)和拓扑异构酶I抑制剂(拓扑替康和伊立替康)。

[0056] 修改

尽管已经根据某些示例性优选的实施方案描述了本发明，但是本领域技术人员将易于理解和意识到其不限于此，并且可对上述优选实施方案进行许多增加、删除和修改而仍然处于本发明的范围内。

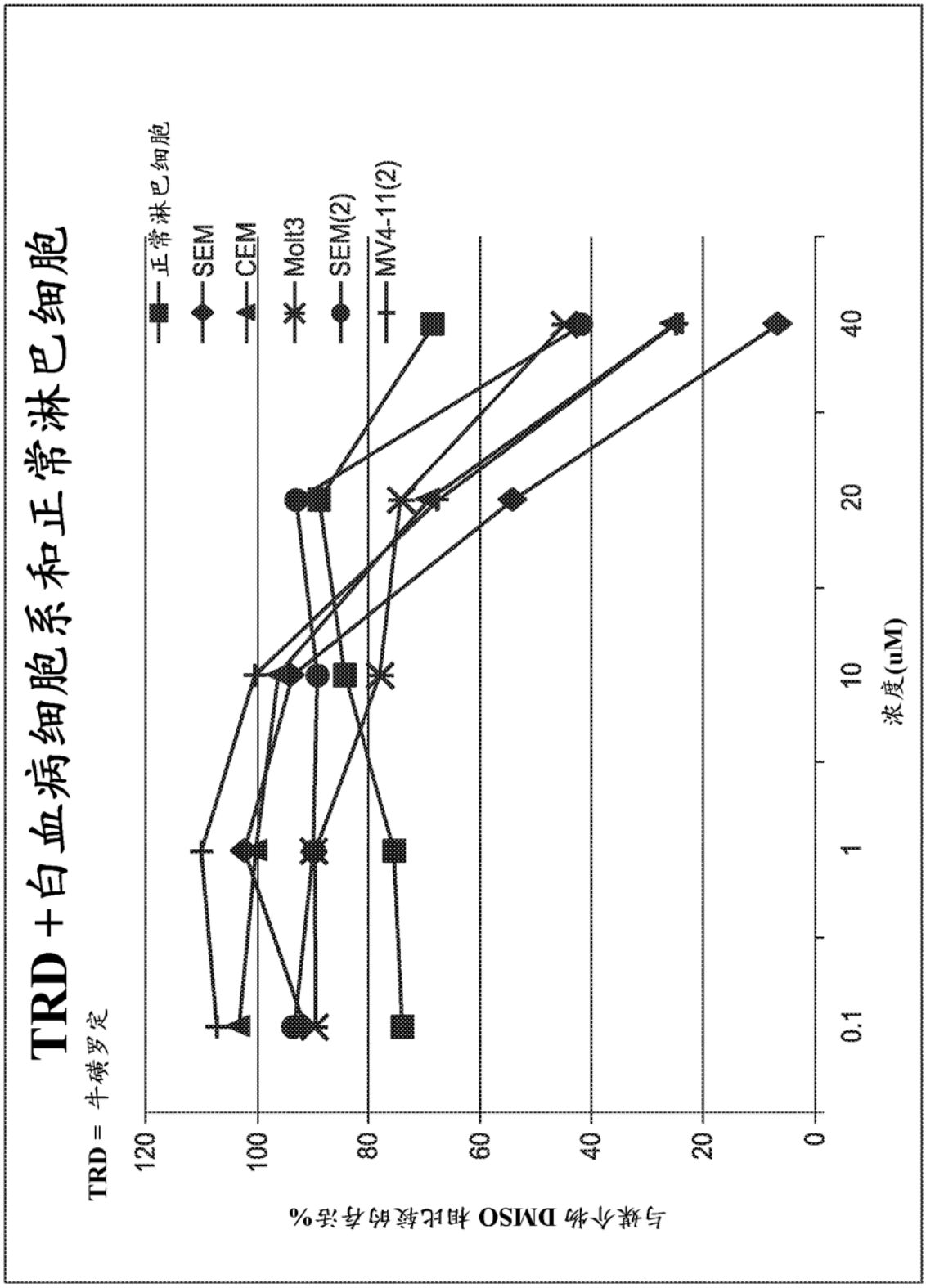
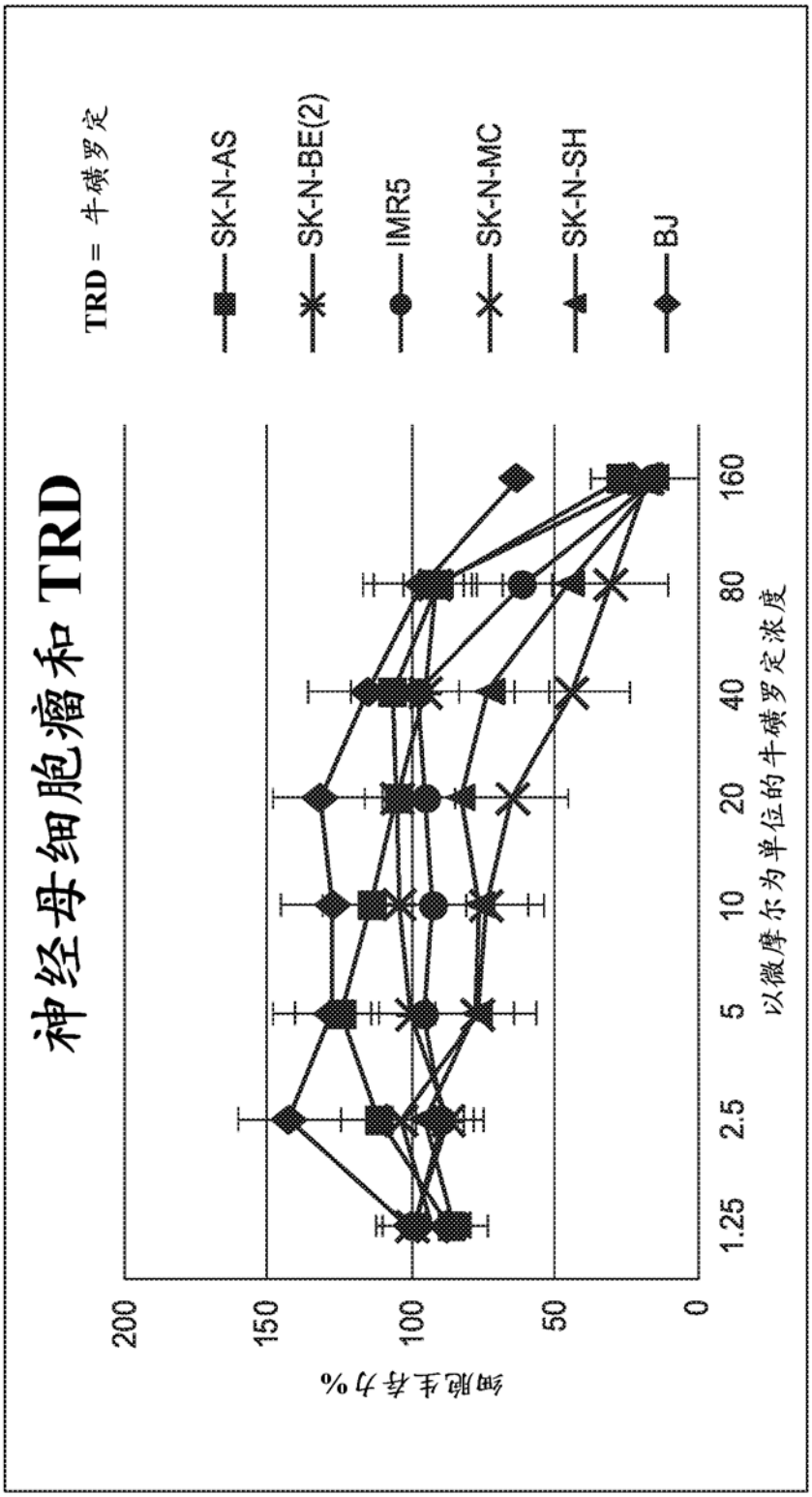

TRD + 白血病细胞系和正常淋巴细胞
TRD = 牛磺罗定
正常淋巴细胞
SEM
CEM
Molt3
SEM(2)
MV4-11(2)
与媒介物 DMSO 相比较的存活%
120
100
80
60
40
20
0
0.1
1
10
20
40
浓度(uM)

图 1



细胞系	类型	TRD IC50 (μM)
SK-N-AS	神经母细胞瘤	140
SK-N-BE(2)	神经母细胞瘤	140
IMR5	神经母细胞瘤	100
SK-N-MC	神经上皮瘤	30
SK-N-SH	神经母细胞瘤	80
BJ	正常成纤维细胞	200

图 2

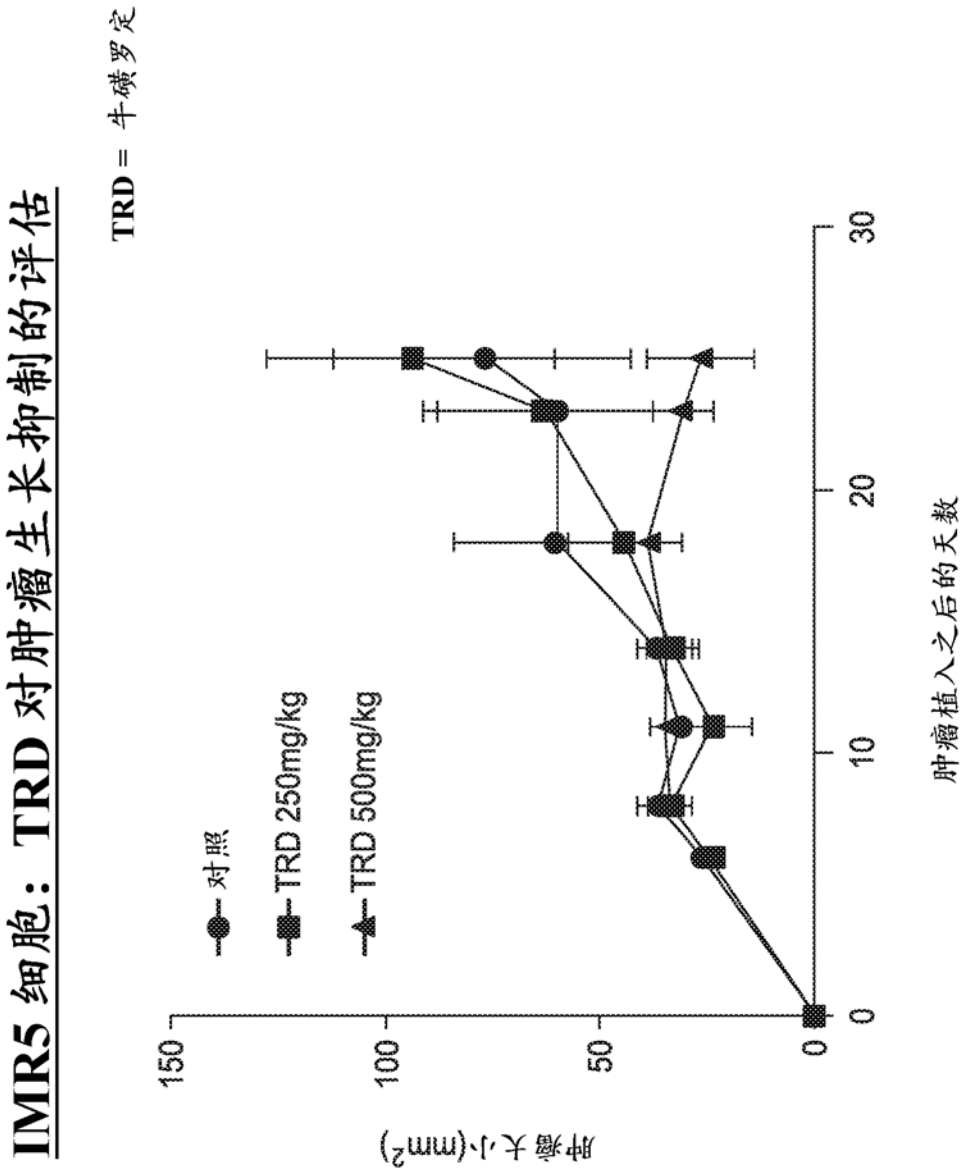

IMR5 细胞：TRD 对肿瘤生长抑制的评估
TRD = 牛磺罗定
对照
TRD 250mg/kg
TRD 500mg/kg
肿瘤大小(mm²)
150
100
50
0
0
10
20
30
肿瘤植入之后的天数

图 3

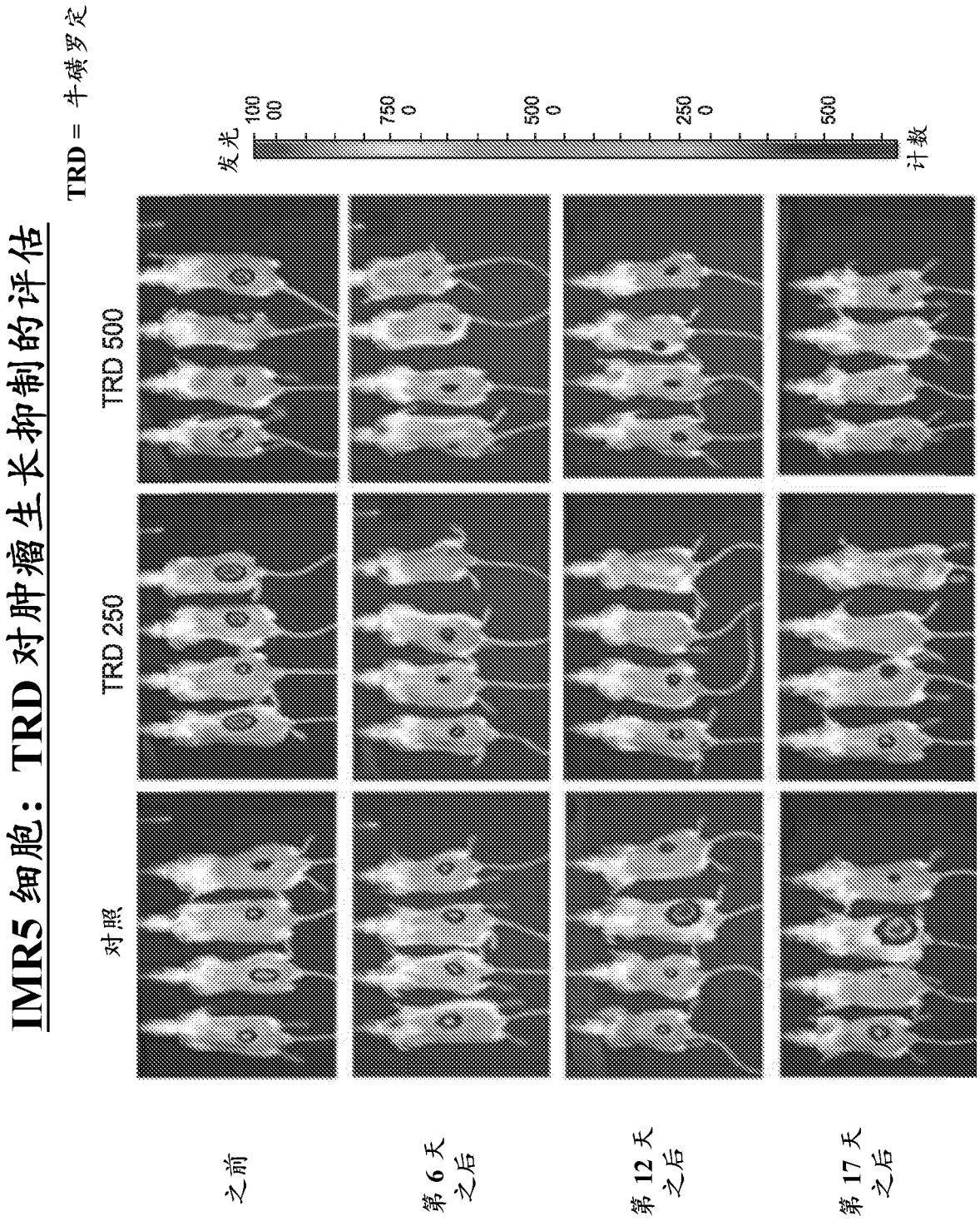

IMR5 细胞：TRD 对肿瘤生长抑制的评估
TRD = 牛磺罗定
对照
TRD 250
TRD 500
发光
计数
之前
第 6 天之后
第 12 天之后
第 17 天之后

图 4

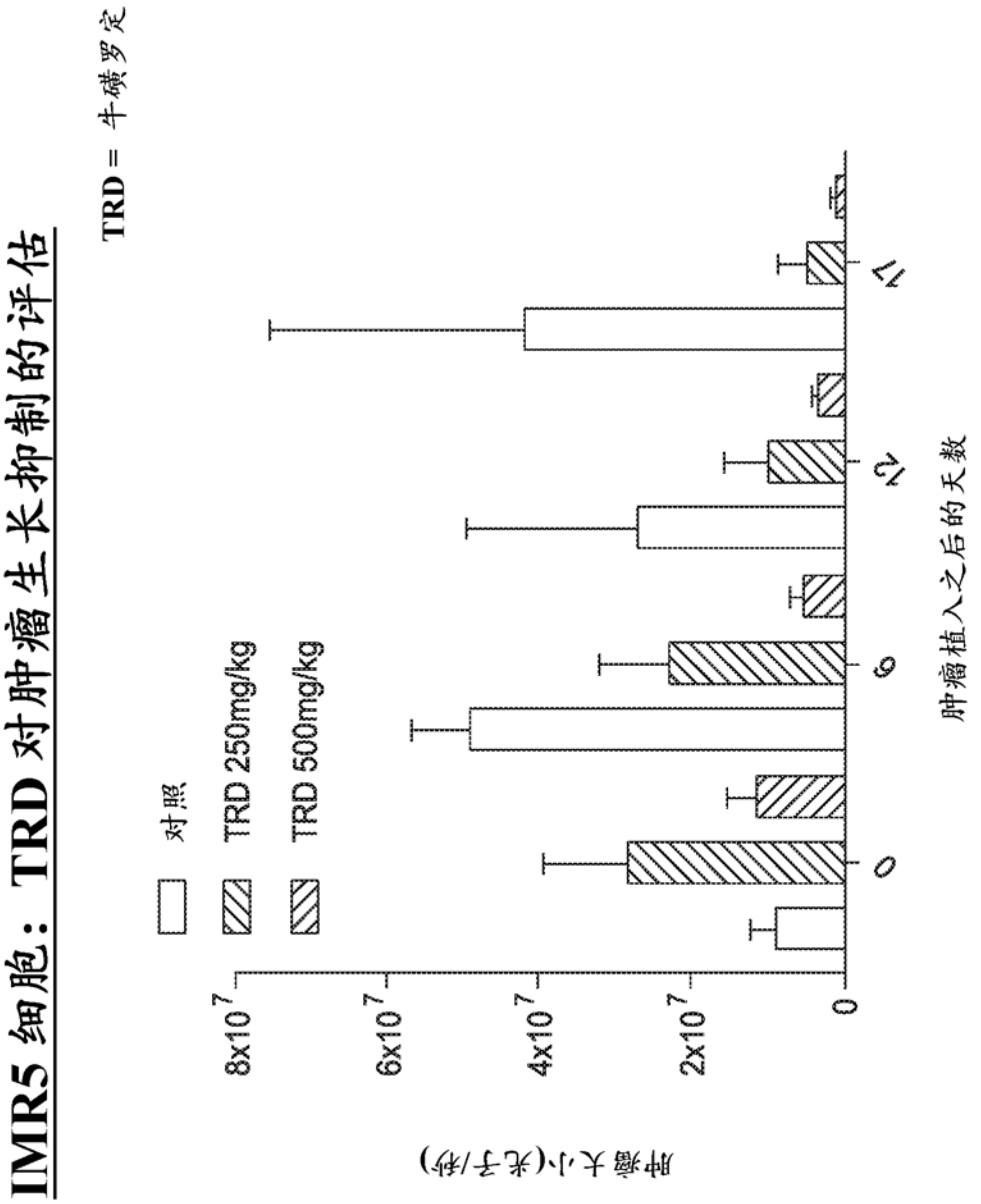

IMR5 细胞：TRD 对肿瘤生长抑制的评估
TRD = 牛磺罗定
对照
TRD 250mg/kg
TRD 500mg/kg
肿瘤大小(光子/秒)
8x10^7
6x10^7
4x10^7
2x10^7
0
0
3
6
9
12
肿瘤植入之后的天数

图 5

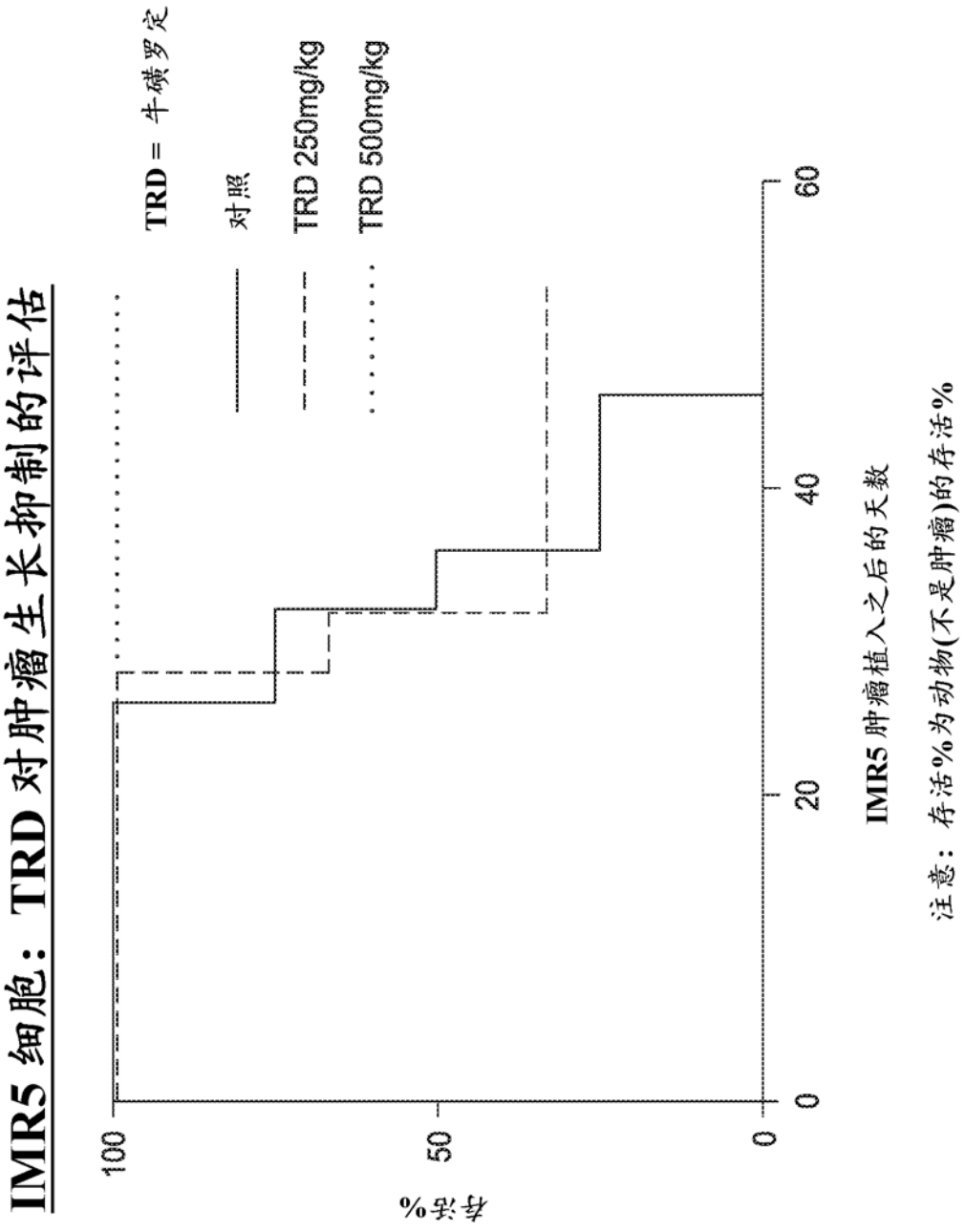
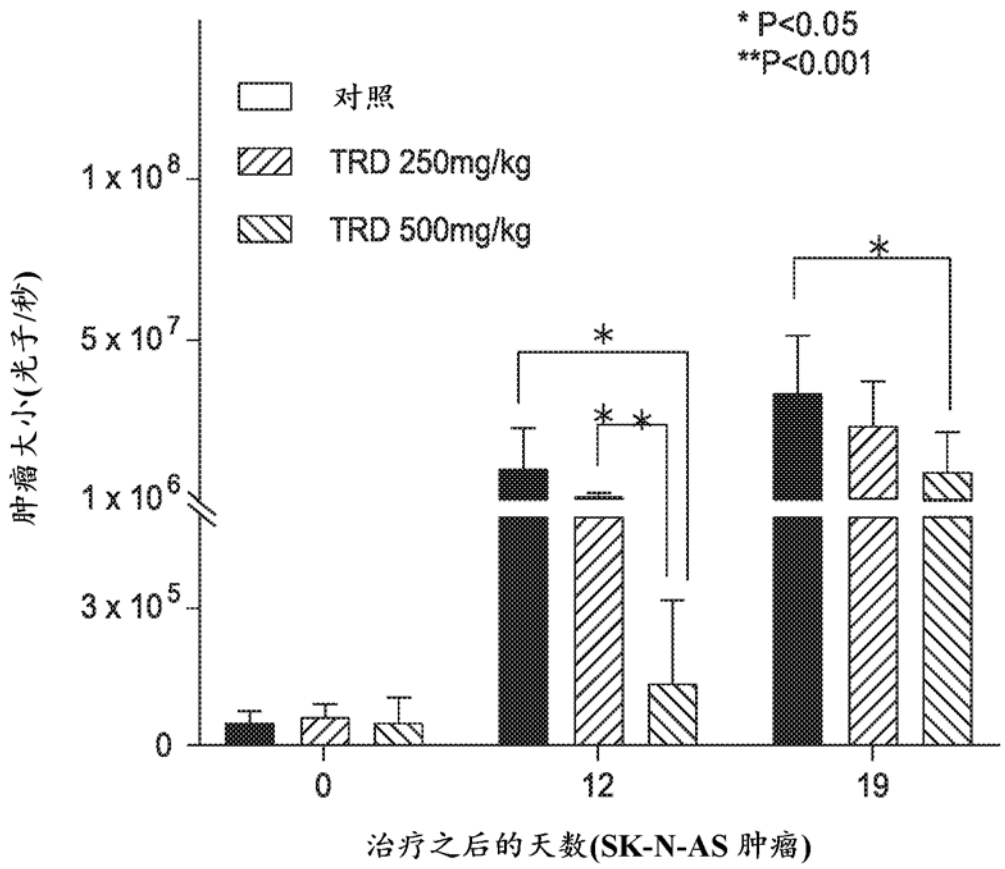

IMR5 细胞：TRD 对肿瘤生长抑制的评估
TRD = 牛磺罗定
对照
TRD 250mg/kg
TRD 500mg/kg
存活%
100
50
0
0
20
40
60
IMR5 肿瘤植入之后的天数
注意：存活%为动物(不是肿瘤)的存活%

图 6


* P<0.05
**P<0.001
对照
TRD 250mg/kg
TRD 500mg/kg
肿瘤大小(光子/秒)
1 x 10^8
5 x 10^7
1 x 10^6
3 x 10^5
0
0
12
19
治疗之后的天数(SK-N-AS 肿瘤)

TRD = 牛磺罗定

图 7

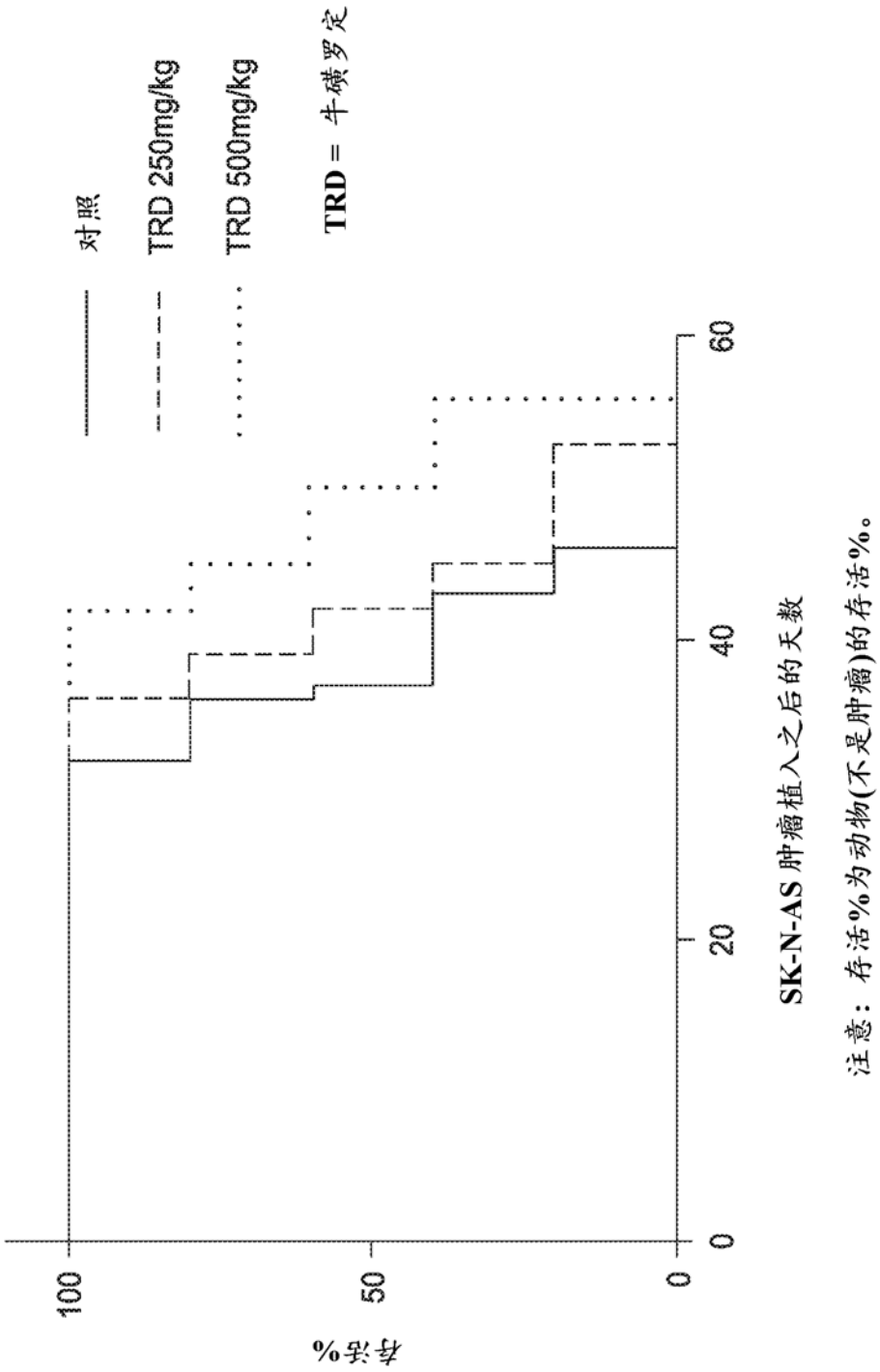

对照
TRD 250mg/kg
TRD 500mg/kg
TRD = 牛磺罗定
存活%
100
50
0
0
20
40
60
SK-N-AS 肿瘤植入之后的天数
注意：存活%为动物(不是肿瘤)的存活%。

图 8