(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 111954531 A
(43)申请公布日 2020.11.17

(21)申请号 201980024908.7

(22)申请日 2019.02.07

(30)优先权数据
62/627,703 2018.02.07 US
62/627,741 2018.02.07 US
62/630,629 2018.02.14 US
62/662,374 2018.04.25 US
62/702,561 2018.07.24 US
62/702,732 2018.07.24 US
62/764,943 2018.08.17 US
62/764,955 2018.08.17 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2020.10.09

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/016989 2019.02.07

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2019/157138 EN 2019.08.15

(71)申请人 L.E.A.F.控股集团公司
地址 美国宾夕法尼亚州

(72)发明人 C·尼基萨 V·M·莫约

(74)专利代理机构 北京市铸成律师事务所 11313
代理人 王丹丹 王珺

(51)Int.Cl.
A61K 31/519(2006.01)
C07D 475/04(2006.01)
C07K 16/28(2006.01)

权利要求书7页 说明书128页
序列表12页 附图19页

(54)发明名称

α聚谷氨酸化培美曲塞及其用途

(57)摘要

本公开总体上涉及α聚谷氨酸化培美曲塞、含有填充有α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体的制剂、制备含有所述α聚谷氨酸化培美曲塞和脂质体的制剂的方法，以及使用含有α聚谷氨酸化培美曲塞和脂质体的制剂来治疗过度增生性病症(例如，癌症)和免疫系统病症(例如，自身免疫性疾病，如类风湿性关节炎)的方法。

CN 111954531 A

1.一种组合物,所述组合物包含α聚谷氨酸化培美曲塞,其中至少一个谷氨酰基具有α羧基键联。

2.如权利要求1所述的组合物,其中所述α聚谷氨酸化培美曲塞包含1-10个具有α羧基键联的谷氨酰基。

3.如权利要求1或2所述的组合物,其中所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。

4.根据权利要求1至3中任一项所述的组合物,所述组合物包含α四谷氨酸化培美曲塞。

5.根据权利要求1至3中任一项所述的组合物,所述组合物包含α五谷氨酸化培美曲塞。

6.根据权利要求1至3中任一项所述的组合物,所述组合物包含α六谷氨酸化培美曲塞。

7.根据权利要求1至6中任一项所述的组合物,其中

(a)两个或更多个谷氨酰基具有α羧基键联,

(b)除培美曲塞的谷氨酰基外的每个谷氨酰基均具有α羧基键联;或

(c)两个或更多个谷氨酰基具有γ羧基键联。

8.根据权利要求1至6中任一项所述的组合物,其中

(a)除一个或多个C-末端谷氨酰基和培美曲塞的谷氨酰基外的每个谷氨酰基均具有α羧基键联;或

(b)除所述一个或多个C-末端谷氨酰基外的每个谷氨酰基均具有α羧基键联。

9.根据权利要求1至8中任一项所述的组合物,其中至少一个谷氨酰基具有α羧基键联和γ羧基键联两者。

10.根据权利要求1至9中任一项所述的组合物,其中

(a)所述α聚谷氨酸化培美曲塞的至少2个谷氨酰基呈L形式,

(b)所述α聚谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式,

(c)所述α聚谷氨酸化培美曲塞的至少1个谷氨酰基呈D形式,

(d)除培美曲塞的谷氨酰基外,所述α聚谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式,或

(e)所述α聚谷氨酸化培美曲塞的至少2个谷氨酰基呈L形式,并且至少1个谷氨酰基呈D形式。

11.根据权利要求1至10中任一项所述的组合物,其中所述聚谷氨酸盐是线性的。

12.根据权利要求1至10中任一项所述的组合物,其中所述聚谷氨酸盐是支化的。

13.一种脂质体组合物,所述脂质体组合物包含根据权利要求1至12中任一项所述的α聚谷氨酸化培美曲塞(Lp-αPPMX)。

14.根据权利要求13所述的LαPP组合物,其中所述α聚谷氨酸化培美曲塞包含具有α羧基键联的呈L形式的谷氨酰基。

15.根据权利要求13或14所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述α聚谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。

16.如权利要求13或14所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述α聚谷氨酸化培美曲塞的至少一个谷氨酰基呈D形式。

17.根据权利要求13-16中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体包含α聚谷氨酸化培美曲塞,所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷

氨酰基。

18.根据权利要求13-17中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述α聚谷氨酸化培美曲塞的至少一个谷氨酰基具有γ羧基键联。

19.根据权利要求13-18中任一项所述的组合物,其中至少一个谷氨酰基具有α羧基键联和γ羧基键联两者。

20.根据权利要求13-19中任一项所述的组合物,所述组合物含有2个、3个、4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个具有α羧基键联和γ羧基键联两者的谷氨酰基。

21.根据权利要求13-20中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体包含α聚谷氨酸化培美曲塞,所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有α四谷氨酸化培美曲塞、α五谷氨酸化培美曲塞或α六谷氨酸化培美曲塞。

22.根据权利要求13-21中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述聚谷氨酸盐是线性的或支化的。

23.根据权利要求13-22中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体是聚乙二醇化的(PαLp-αPPMX)。

24.根据权利要求13-23中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体包含至少1%重量/重量(w/w)的所述α聚谷氨酸化培美曲塞,或其中在制备所述Lp-αPPMX的过程期间,至少1%的α聚谷氨酸化PMX的起始材料被包封(包埋)在所述Lp-αPPMX中。

25.根据权利要求13-24中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体的直径在20nm至500nm或20nm至200nm的范围内。

26.根据权利要求13-25中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体的直径在80nm至120nm的范围内。

27.根据权利要求13-26中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体由脂质体组分形成。

28.根据27所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体组分包含阴离子脂质和中性脂质中的至少一种。

29.根据27或28所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体组分包含选自由以下组成的组的至少一种:DSPE;DSPE-PEG;DSPE-PEG-马来酰亚胺;HSPC;HSPC-PEG;胆固醇;胆固醇-PEG;以及胆固醇-马来酰亚胺。

30.根据权利要求27-29中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体组分包含选自由以下组成的组的至少一种:DSPE;DSPE-PEG;DSPE-PEG-FITC;DSPE-PEG-马来酰亚胺;胆固醇;以及HSPC。

31.根据权利要求27-30中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中一种或多种脂质体组分还包含空间稳定剂。

32.根据31所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述空间稳定剂是选自由以下组成的组的至少一种:聚乙二醇(PEG);聚L-赖氨酸(PLL);单唾液酸神经节苷脂(GM1);聚(乙烯基吡咯烷酮)(PVP);聚(丙烯酰胺)(PAA);聚(2-甲基-2-噁唑啉);聚(2-乙基-2-噁唑啉);磷脂酰聚甘油;聚[N-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺];两亲性聚-N-乙烯基吡咯烷酮;基于L-氨基酸的聚合物;低聚甘油;含聚乙二醇和聚环氧丙烷的共聚物;泊洛沙姆188;以及聚乙烯醇。

33.根据32所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述空间稳定剂是PEG,并且所述PEG具有200

至5000道尔顿的数均分子量(Mn)。

34.根据权利要求13-33中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体是阴离子性或中性的。

35.根据权利要求13-33中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体具有小于或等于零的ζ电位。

36.根据权利要求13-33中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体具有介于0至-150mV之间的ζ电位。

37.根据权利要求13-33中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体具有介于-30至-50mV之间的ζ电位。

38.根据权利要求13-33中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体是阳离子性的。

39.根据权利要求13-38中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体具有内部空间,所述内部空间包含所述α聚谷氨酸化培美曲塞和药学上可接受的水性载体。

40.如39所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述药学上可接受的载体包含浓度大于1%的张度剂,如右旋糖、甘露糖醇、甘油、氯化钾、氯化钠。

41.如39所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述药学上可接受的水性载体是海藻糖。

42.如41所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述药学上可接受的载体包含1%至50%的海藻糖。

43.根据权利要求39-42中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述药学上可接受的载体包含1%至50%的右旋糖溶液。

44.根据权利要求39-43中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体的所述内部空间包含悬浮在HEPES缓冲溶液中的5%右旋糖。

45.根据权利要求39-44中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述药学上可接受的载体包含浓度介于1至200mM之间并且pH值介于2至8之间的缓冲液,如HEPES缓冲盐水(HBS)或类似物。

46.根据权利要求39-45中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述药学上可接受的载体包含总浓度介于50mM至500mM之间的乙酸钠和乙酸钙。

47.根据权利要求13-46中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体的所述内部空间具有5-8的pH值或6-7的pH值,或其间的任何范围。

48.根据权利要求13-47中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体包含少于500,000个或少于200,000个所述α聚谷氨酸化培美曲塞分子。

49.根据权利要求13-48中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体包含介于10个至100,000个之间的所述α聚谷氨酸化培美曲塞分子,或其间的任何范围。

50.根据权利要求13-49中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,所述Lp-αPPMX组合物还包含靶向部分,并且其中所述靶向部分对目标靶细胞上的表面抗原具有特异性亲和力。

51.根据权利要求50所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述靶向部分连接至PEG和所述脂质体的外部中的一者或两者,任选地其中靶向部分通过共价键连接至所述PEG和所述脂质体的外部中的一者或两者。

52.根据权利要求50或51所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述靶向部分是多肽。

53.根据权利要求50-52中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述靶向部分是抗体或抗体的抗原结合片段。

54.根据权利要求50-53中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中如使用BIACORE®分析所测定，所述靶向部分以在$0.5x10^{-10}$至$10x10^{-6}$范围内的平衡解离常数(Kd)结合所述表面抗原。

55.根据权利要求50-55中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述靶向部分特异性地结合一种或多种选自由以下组成的组的叶酸受体：叶酸受体α(FR-α)、叶酸受体β(FR-β)和叶酸受体δ(FR-δ)。

56.根据权利要求50-56中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述靶向部分包含选自由以下组成的组的一者或多者：抗体、人源化抗体、抗体的抗原结合片段、单链抗体、单结构域抗体、双特异性抗体、合成抗体、聚乙二醇化抗体和多聚体抗体。

57.根据权利要求50-56中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中每个聚乙二醇化脂质体包含1至1000个或30至200个靶向部分。

58.根据权利要求39-57中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，所述Lp-αPPMX组合物还包含免疫刺激剂、可检测标记物和马来酰亚胺中的一者或多者，其中所述免疫刺激剂、所述可检测标记物或所述马来酰亚胺连接至所述PEG或所述脂质体的外部。

59.根据权利要求58中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中免疫刺激剂是选自由以下组成的组的至少一者：蛋白质免疫刺激剂；核酸免疫刺激剂；化学免疫刺激剂；半抗原；以及佐剂。

60.如权利要求58或59所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述免疫刺激剂是选自由以下组成的组的至少一者：荧光素；异硫氰酸荧光素(FITC)；DNP；β葡聚糖；β-1,3-葡聚糖；β-1,6-葡聚糖；消退素(例如，消退素D如D_{n-6DPA}或D_{n-3DPA}，消退素E，或T系列消退素)；以及Toll样受体(TLR)调节剂，如氧化型低密度脂蛋白(例如，OXPAC、PGPC)和eritoran脂质(例如，E5564)。

61.根据权利要求58-60中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述免疫刺激剂和所述可检测标记物是相同的。

62.根据权利要求58-61中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，所述Lp-αPPMX组合物还包含半抗原。

63.如权利要求62所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述半抗原包含荧光素或β1,6-葡聚糖中的一者或多者。

64.根据权利要求13-63中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，所述Lp-αPPMX组合物在内部空间、外部空间或所述内部空间和所述外部空间两者中还包含至少一种选自由以下组成的组的冷冻保护剂：甘露糖醇；海藻糖；山梨糖醇；以及蔗糖。

65.一种靶向组合物，所述靶向组合物包含根据权利要求1-64中任一项所述的组合物。

66.一种非靶向组合物，所述非靶向组合物包含根据权利要求1-49中任一项所述的组合物。

67.根据权利要求13-66中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，所述Lp-αPPMX组合物还包含卡铂和/或派姆单抗。

68.一种药物组合物，所述药物组合物包含根据权利要求13-67中任一项所述的脂质体

α聚谷氨酸化培美曲塞组合物。

69.一种药物组合物，所述药物组合物包含根据权利要求1-8中任一项所述的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物。

70.如权利要求1-69中任一项所述的组合物，所述组合物用于治疗疾病。

71.如权利要求1-70中任一项所述的组合物在制造用于治疗疾病的药物中的用途。

72.一种用于治疗或预防需要这种治疗或预防的受试者的疾病的方法，所述方法包括向所述受试者施用如权利要求1-70中任一项所述的组合物。

73.一种用于治疗或预防需要这种治疗或预防的受试者的疾病的方法，所述方法包括向所述受试者施用如权利要求13-69中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物。

74.一种杀死过度增殖性细胞的方法，所述方法包括使过度增殖性细胞与如权利要求1-69中任一项所述的组合物接触。

75.一种杀死过度增殖性细胞的方法，所述方法包括使过度增殖性细胞与如权利要求13-69中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物接触。

76.如权利要求74或75所述的方法，其中所述过度增殖性细胞是癌细胞、哺乳动物细胞和/或人类细胞。

77.一种用于治疗癌症的方法，所述方法包括向患有癌症或有患癌症风险的受试者施用有效量的如权利要求1-69中任一项所述的组合物。

78.一种用于治疗癌症的方法，所述方法包括向患有癌症或有患癌症风险的受试者施用有效量的如权利要求13-68中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物。

79.如权利要求77或78所述的方法，其中所述癌症选自由以下组成的组：非血液系统恶性疾病，包括例如肺癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠直肠癌、食道癌、宫颈癌、肝癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌、膀胱癌、肉瘤(例如，骨肉瘤)、脑癌、中枢神经系统癌症和黑素瘤；和血液系统恶性疾病，例如白血病、淋巴瘤和其他B细胞恶性疾病、骨髓瘤和其他浆细胞恶液质。

80.如权利要求77或78所述的方法，其中所述癌症是选自由以下组成的组的成员：肺癌、乳腺癌、结肠癌、胰腺癌、胃癌、膀胱癌、头颈癌、卵巢癌和宫颈癌。

81.如权利要求77或78所述的方法，其中所述癌症是间皮瘤或非小细胞肺癌(NSCLC)。

82.如权利要求77或78所述的方法，其中所述癌症是肉瘤，如骨肉瘤。

83.一种用于治疗癌症的方法，所述方法包括向具有癌细胞或有具有癌细胞风险的受试者施用有效量的如权利要求50-66中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，所述癌细胞在其表面上表达由靶向部分结合的叶酸受体。

84.一种维持疗法，所述维持疗法包括向正在进行癌症疗法或已经进行了癌症疗法的受试者施用有效量的如权利要求1-69中任一项所述的组合物。

85.一种维持疗法，所述维持疗法包括向正在进行癌症疗法或已经进行了癌症疗法的受试者施用有效量的如权利要求13-69中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物。

86.一种用于治疗免疫系统病症的方法，所述方法包括向患有免疫系统病症或有患免疫系统病症风险的受试者施用有效量的如权利要求1-69中任一项所述的组合物。

87.一种用于治疗免疫系统病症的方法，所述方法包括向患有免疫系统病症或有患免

疫系统病症风险的受试者施用有效量的如权利要求9-69中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物。

88.一种用于治疗感染性疾病的方法,所述方法包括向患有感染性疾病或有患感染性疾病风险的受试者施用有效量的如权利要求1-69中任一项所述的组合物。

89.一种用于治疗感染性疾病的方法,所述方法包括向患有感染性疾病或有患感染性疾病风险的受试者施用有效量的如权利要求13-69中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物。

90.一种将α聚谷氨酸化培美曲塞递送至在表面上表达叶酸受体的肿瘤的方法,所述方法包括:向患有所述肿瘤的受试者施用一定量的如权利要求1-69中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,以将治疗有效剂量的所述α聚谷氨酸化培美曲塞递送至所述肿瘤。

91.一种制备α聚谷氨酸化培美曲塞组合物的方法,所述α聚谷氨酸化培美曲塞组合物包含如权利要求13-69中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物,所述方法包括:形成在溶液中包含脂质体组分和α聚谷氨酸化培美曲塞的混合物;使所述混合物均质化以在所述溶液中形成脂质体;以及加工所述混合物以形成含有α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体。

92.一种制备α聚谷氨酸化培美曲塞组合物的方法,所述α聚谷氨酸化培美曲塞组合物包含如权利要求13-69中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物,所述方法包括:形成在溶液中包含脂质体组分和α聚谷氨酸化培美曲塞的混合物;以及加工所述混合物以形成含有α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体。

93.如权利要求92所述的方法,其中加工所述混合物包括使所述混合物均质化以在所述溶液中形成脂质体。

94.一种制备如权利要求50-69中任一项所述的组合物的方法,所述方法包括以下步骤:形成在溶液中包含脂质体组分和α聚谷氨酸化培美曲塞的混合物;使所述混合物均质化以在所述溶液中形成脂质体;加工所述混合物以形成包埋和/或包封α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体;以及在所述脂质体的表面上提供靶向部分,所述靶向部分对叶酸受体α(FR-α)、叶酸受体β(FR-β)和叶酸受体δ(FR-δ)中的至少一者具有特异性亲和力。

95.一种制备如权利要求50-69中任一项所述的组合物的方法,所述方法包括以下步骤:形成在溶液中包含脂质体组分和α聚谷氨酸化培美曲塞的混合物;加工所述混合物以形成包埋和/或包封α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体;以及在所述脂质体的表面上提供靶向部分,所述靶向部分对叶酸受体α(FR-α)、叶酸受体β(FR-β)和叶酸受体δ(FR-δ)中的至少一者具有特异性亲和力。

96.如权利要求95所述的方法,其中所述加工步骤包括使所述混合物均质化以在所述溶液中形成脂质体。

97.根据权利要求94至96中任一项所述的方法,其中所述加工步骤包括以下中的一个或多个步骤:薄膜水合、挤出、在线混合、乙醇注入技术、冻融技术、反相蒸发、动态高压微射流、微射流混合、复乳法、冷冻干燥复乳法、3D打印、膜接触器方法和搅拌。

98.根据权利要求94至97中任一项所述的方法,其中所述加工步骤包括通过挤出、高压微射流和/或超声处理步骤中的一个或多个来改变所述脂质体的大小的一个或多个步骤。

99.如权利要求91至98中任一项所述的方法,其中将至少1%的α聚谷氨酸化PMX的起始

材料包封或包埋在所述Lp-αPPMX中。

α聚谷氨酸化培美曲塞及其用途

背景技术

[0001] 本公开总体上涉及α聚谷氨酸化培美曲塞组合物，包括递送媒介物，如含有所述α聚谷氨酸化培美曲塞组合物的脂质体；以及制备所述组合物的方法和使用所述组合物来治疗疾病的方法，所述疾病包括过度增生性疾病(如癌症)、免疫系统病症(如类风湿性关节炎)以及感染性疾病(如HIV和疟疾)。

[0002] 培美曲塞二钠是以商品名ALIMTA®(Eli Lilly and Company)销售的抗肿瘤产品中的活性成分，并且还以化学名称L-谷氨酸，N-[4-[2-(2-氨基-4,7-二氢-4-氧代基-1H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基)乙基]苯甲酰基]-二钠盐七水合物(分子式$C_{20}H_{19}N_5Na_2O_6 \cdot 7H_2O$)而已知，被批准作为用于治疗局部晚期或转移性非小细胞肺癌的单一剂，并与顺铂组合用于治疗患有恶性胸膜间皮瘤的患者。培美曲塞已在多种肿瘤类型(包括肺癌、乳腺癌、结肠癌、间皮瘤、胰腺癌、胃癌、膀胱癌、头颈癌和宫颈癌)的临床试验中显示出活性。

[0003] 叶酸是介导参与核苷酸生物合成和DNA修复的一碳单元的转移、高半胱氨酸(Hcy)的再甲基化以及DNA、蛋白质和脂质的甲基化的必不可少的辅因子。血液中叶酸的唯一循环形式是单谷氨酸盐，并且叶酸单谷氨酸盐是穿过细胞膜转运的唯一形式的叶酸-同样，可聚谷氨酸化抗叶酸剂的单谷氨酸盐形式(如培美曲塞)穿过细胞膜转运。一旦被摄取到细胞中，细胞内叶酸就通过酶叶酰聚-γ-谷氨酸合成酶(FPGS)转化为聚谷氨酸盐。

[0004] 培美曲塞是通过破坏细胞稳态和复制所必需的叶酸依赖性代谢过程而发挥作用的多靶点抗叶酸剂。培美曲塞抑制嘌呤和嘧啶生物合成中所需的三种酶-胸苷酸合酶(TS)、二氢叶酸还原酶(DHFR)和甘氨酰胺核糖核苷酸甲酰基转移酶(GARFT酶)。对这些酶的抑制遏制从头核苷酸生物合成，并导致细胞稳态的破坏以及嘌呤和嘧啶前体的失衡，从而使细胞不能进行准确的DNA复制，并最终导致细胞死亡。

[0005] 培美曲塞通过还原性叶酸载体(RFC)系统和叶酸受体(FR)α和β以及质子偶联叶酸转运蛋白(PCFT)转运到细胞中，所述质子偶联叶酸转运蛋白通常在较低pH值环境中活性最高。RFC是在生理pH下培美曲塞的主要转运蛋白，并且在正常细胞和患病细胞中均普遍表达。因此，培美曲塞治疗常常遭受剂量限制性毒性，这是癌症化学疗法的主要障碍。一旦进入细胞内，培美曲塞就通过FPGS聚谷氨酸化，这可在培美曲塞的L-γ羧基键联中添加至多6个L谷氨酰基。FPGS对培美曲塞的L-γ聚谷氨酸化至少有两个主要治疗目的：(1)它大大增强培美曲塞对若干叶酸依赖性酶(包括胸苷算合酶和GARFT酶)的亲和力和抑制活性；和(2)它促进聚谷氨酸化培美曲塞的累积，与培美曲塞(单谷氨酸盐)不同，聚谷氨酸化培美曲塞不易被细胞外排泵转运出细胞。

[0006] 培美曲塞在DNA和RNA合成过程中起作用，并且因此对快速分裂的细胞(如恶性细胞和髓样细胞)具有更大的毒性作用。骨髓抑制通常是培美曲塞疗法的剂量限制性毒性，并且限制了培美曲塞的临床应用。使用叶酸和维生素B的预治疗现在用于改善与培美曲塞疗法相关的最常见的副作用，包括骨髓抑制、疲劳和皮疹。

[0007] 对培美曲塞疗法的耐药性通常与以下中的一项或多项相关：(a)细胞外排泵活性增加，(b)胸苷酸合成酶活性增加，(c)叶酰聚-γ-谷氨酸合成酶(FPGS)活性降低，以及(d)

γ-谷氨酰水解酶(GGH)活性增加,所述γ-谷氨酰水解酶裂解连接至叶酸和抗叶酸剂的γ聚谷氨酸链。

[0008] 长期(>30年)观察结果(即各种抗叶酸剂的较高水平聚谷氨酸盐与较低水平的谷氨酸盐相比具有更大的效力)所面临的挑战一直是,科学界依赖于细胞内FPGS介导的机制来将较低水平的谷氨酸盐转化为它们的更高水平的形式。本发明提供了将较高水平的聚谷氨酸盐形式的抗叶酸剂直接递送至细胞中的手段,而不必依赖于细胞的机制来实现这一目的。

[0009] 所提供的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物提供了用于克服与培美曲塞疗法相关的剂量限制毒性和治疗耐药性的相关的药理学挑战的策略。所提供的方法向癌细胞递送新颖的α聚谷氨酸化形式的培美曲塞,同时(1)使对正常组织细胞的暴露最小化/减少,(2)优化/改善基于培美曲塞的剂对癌细胞的细胞毒性作用,和(3)使外排泵以及其他限制培美曲塞的治疗功效的耐药机制的影响最小化/减少。

发明内容

[0010] 本公开总体上涉及新颖的α聚谷氨酸化培美曲塞(PMX)组合物以及制备所述组合物的方法和使用所述组合物来治疗疾病的方法,所述疾病包括过度增生性疾病(如癌症)、免疫系统病症(如类风湿性关节炎)和感染性疾病(如HIV和疟疾)。

[0011] 在一些实施方案中,本公开提供:

[0012] [1]一种组合物,所述组合物包含α聚谷氨酸化培美曲塞,其中至少一个谷氨酰基具有α羧基键联;

[0013] [2]如[1]所述的组合物,其中所述α聚谷氨酸化培美曲塞包含1-10个具有α羧基键联的谷氨酰基;

[0014] [3]如[1]或[2]所述的组合物,其中所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基;

[0015] [4]根据[1]-[3]中任一项所述的组合物,所述组合物包含α四谷氨酸化培美曲塞;

[0016] [5]根据[1]-[3]中任一项所述的组合物,所述组合物包含α五谷氨酸化培美曲塞;

[0017] [6]根据[1]-[3]中任一项所述的组合物,所述组合物包含α六谷氨酸化培美曲塞;

[0018] [7]根据[1]至[6]中任一项所述的组合物,其中

[0019] (a)两个或更多个谷氨酰基具有α羧基键联,

[0020] (b)除培美曲塞的谷氨酰基外的每个谷氨酰基均具有α羧基键联;或

[0021] (c)两个或更多个谷氨酰基具有γ羧基键联,

[0022] [8]根据[1]至[6]中任一项所述的组合物,其中

[0023] (a)除一个或多个C-末端谷氨酰基和培美曲塞的谷氨酰基外的每个谷氨酰基均具有α羧基键联;或

[0024] (b)除所述一个或多个C-末端谷氨酰基外的每个谷氨酰基均具有α羧基键联;

[0025] [9]根据[1]-[8]中任一项所述的组合物,其中至少一个谷氨酰基具有α羧基键联和γ羧基键联两者;

[0026] [10]根据[1]-[9]中任一项所述的组合物,其中:

[0027] (a)所述α聚谷氨酸化培美曲塞的至少2个谷氨酰基呈L形式,

[0028] (b)所述α聚谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式，

[0029] (c)所述α聚谷氨酸化培美曲塞的至少1个谷氨酰基呈D形式，

[0030] (d)除培美曲塞的谷氨酰基外，所述α聚谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式，或

[0031] (e)所述α聚谷氨酸化培美曲塞的至少2个谷氨酰基呈L形式，并且至少1个谷氨酰基呈D形式；

[0032] [11]根据[1]-[10]中任一项所述的组合物，其中所述聚谷氨酸盐是线性的；

[0033] [12]根据[1]-[10]中任一项所述的组合物，其中所述聚谷氨酸盐是支化的；

[0034] [13]一种脂质体组合物，所述脂质体组合物包含根据[1]-[12]中任一项所述的α聚谷氨酸化培美曲塞(Lp-αPPMX)；

[0035] [14]根据[13]所述的LαPP组合物，其中所述α聚谷氨酸化培美曲塞包含具有α羧基键联的呈L形式的谷氨酰基；

[0036] [15]根据[13]或[14]所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述α聚谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式；

[0037] [16]如[13]或[14]所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述α聚谷氨酸化培美曲塞的至少一个谷氨酰基呈D形式；

[0038] [17]根据[13]-[16]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体包含α聚谷氨酸化培美曲塞，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基；

[0039] [18]根据[13]-[17]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述α聚谷氨酸化培美曲塞的至少一个谷氨酰基具有γ羧基键联；

[0040] [19]根据[13]-[18]中任一项所述的组合物，其中至少一个谷氨酰基具有α羧基键联和γ羧基键联两者；

[0041] [20]根据[13]-[18]中任一项所述的组合物，所述组合物含有2个、3个、4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个具有α羧基键联和γ羧基键联两者的谷氨酰基；

[0042] [21]根据[13]-[19]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体包含α聚谷氨酸化培美曲塞，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有α四谷氨酸化培美曲塞、α五谷氨酸化培美曲塞或α六谷氨酸化培美曲塞；

[0043] [22]根据[13]-[21]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述聚谷氨酸盐是线性的或支化的；

[0044] [23]根据[13]-[22]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体是聚乙二醇化的(PαLp-αPPMX)；

[0045] [24]根据[13]-[23]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体包含至少1％重量/重量(w/w)的所述α聚谷氨酸化培美曲塞，或其中在制备所述Lp-αPPMX的过程期间，至少1％的α聚谷氨酸化PMX的起始材料被包封(包埋)在所述Lp-αPPMX中；

[0046] [25]根据[13]-[24]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体的直径在20nm至500nm或20nm至200nm的范围内；

[0047] [26]根据[13]-[25]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体的直径在80nm至120nm的范围内；

[0048] [27]根据[13]-[26]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体由脂质体组分形成；

[0049] [28]根据[27]所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体组分包含阴离子脂质和中性脂质中的至少一种；

[0050] [29]根据[27]或[28]所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体组分包含选自由以下组成的组的至少一种：DSPE；DSPE-PEG；DSPE-PEG-马来酰亚胺；HSPC；HSPC-PEG；胆固醇；胆固醇-PEG；以及胆固醇-马来酰亚胺；

[0051] [30]根据[27]-[29]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体组分包含选自由以下组成的组的至少一种：DSPE；DSPE-PEG；DSPE-PEG-FITC；DSPE-PEG-马来酰亚胺；胆固醇；以及HSPC；

[0052] [31]根据[27]-[30]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中一种或多种脂质体组分还包含空间稳定剂；

[0053] [32]根据[31]所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述空间稳定剂是选自由以下组成的组的至少一种：聚乙二醇(PEG)；聚L-赖氨酸(PLL)；单唾液酸神经节苷脂(GM1)；聚(乙烯基吡咯烷酮)(PVP)；聚(丙烯酰胺)(PAA)；聚(2-甲基-2-噁唑啉)；聚(2-乙基-2-噁唑啉)；磷脂酰聚甘油；聚[N-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺]；两亲性聚-N-乙烯基吡咯烷酮；基于L-氨基酸的聚合物；低聚甘油；含聚乙二醇和聚环氧丙烷的共聚物；泊洛沙姆188；以及聚乙烯醇；

[0054] [33]根据[32]所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述空间稳定剂是PEG，并且所述PEG具有200至5000道尔顿的数均分子量(Mn)；

[0055] [34]根据[13]-[33]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体是阴离子性或中性的；

[0056] [35]根据[13]-[33]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体具有小于或等于零的ζ电位；

[0057] [36]根据[13]-[33]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体具有介于0至-150mV之间的ζ电位；

[0058] [37]根据[13]-[33]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体具有介于-30至-50mV之间的ζ电位；

[0059] [38]根据[13]-[33]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体是阳离子性的；

[0060] [39]根据[13]-[38]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体具有内部空间，所述内部空间包含所述α聚谷氨酸化培美曲塞和药学上可接受的水性载体；

[0061] [40]如[39]所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述药学上可接受的载体包含浓度大于1％的张度剂，如右旋糖、甘露糖醇、甘油、氯化钾、氯化钠；

[0062] [41]如[39]所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述药学上可接受的水性载体是海藻糖；

[0063] [42]如[41]所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述药学上可接受的载体包含5重量％至20重量％的海藻糖；

[0064] [43]根据[39]-[42]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述药学上可接受的载体包含1重量％至15重量％的右旋糖；

[0065] [44]根据[39]-[43]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体的内部空间包含悬浮在HEPES缓冲溶液中的5％右旋糖；

[0066] [45]根据[39]-[44]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述药学上可接受的载体包含浓度介于1至200mM之间并且pH值介于2至8之间的缓冲液，如HEPES缓冲盐水(HBS)或类似物；

[0067] [46]根据[39]-[45]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述药学上可接受的载体包含总浓度介于50mM至500mM之间的乙酸钠和乙酸钙；

[0068] [47]根据[13]-[46]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体的内部空间具有5-8的pH值或6-7的pH值，或其间的任何范围；

[0069] [48]根据[13]-[47]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体包含少于500,000个或少于200,000个所述α聚谷氨酸化培美曲塞分子；

[0070] [49]根据[13]-[48]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体包含介于10个至100,000个之间的所述α聚谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围；

[0071] [50]根据[13]-[49]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，所述Lp-αPPMX组合物还包含靶向部分，并且其中所述靶向部分对目标靶细胞上的表面抗原具有特异性亲和力；

[0072] [51]根据[50]所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述靶向部分连接至PEG和所述脂质体的外部中的一者或两者，任选地其中靶向部分通过共价键连接至所述PEG和所述脂质体的外部中的一者或两者；

[0073] [52]如[50]或[51]所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述靶向部分是多肽；

[0074] [53]根据[50]-[52]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述靶向部分是抗体或抗体的抗原结合片段；

[0075] [54]根据[50]-[53]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中如使用BIACORE®分析所测定，所述靶向部分以在0.5x 10^{-10}至10x 10^{-6}范围内的平衡解离常数(Kd)结合所述表面抗原；

[0076] [55]根据[50]-[55]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述靶向部分特异性地结合一种或多种选自由以下组成的组的叶酸受体：叶酸受体α(FR-α)、叶酸受体β(FR-β)和叶酸受体δ(FR-δ)；

[0077] [56]根据[50]-[56]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述靶向部分包含选自由以下组成的组的一者或多者：抗体、人源化抗体、抗体的抗原结合片段、单链抗体、单结构域抗体、双特异性抗体、合成抗体、聚乙二醇化抗体和多聚体抗体；

[0078] [57]根据[50]-[56]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中每个聚乙二醇化脂质体包含1至1000个或30至200个靶向部分；

[0079] [58]根据[57]所述的Lp-αPPMX组合物，所述Lp-αPPMX组合物还包含免疫刺激剂、可检测标记物和马来酰亚胺中的一者或多者，其中所述免疫刺激剂、所述可检测标记物或所述马来酰亚胺连接至所述PEG或所述脂质体的外部；

[0080] [59]根据[39]-[58]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述免疫刺激剂是选自由以下组成的组的至少一者：蛋白质免疫刺激剂；核酸免疫刺激剂；化学免疫刺激剂；半抗原；以及佐剂；

[0081] [60]如[58]或[59]所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述免疫刺激剂是选自由以下组

成的组的至少一者:荧光素;异硫氰酸荧光素(FITC);DNP;β葡聚糖;β-1,3-葡聚糖;β-1,6-葡聚糖;消退素(例如,消退素D如D_{n-6DPA}或D_{n-3DPA},消退素E,或T系列消退素);以及Toll样受体(TLR)调节剂,如氧化型低密度脂蛋白(例如,OXPAC、PGPC)和eritoran脂质(例如,E5564);

[0082] [61]根据[58]-[60]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述免疫刺激剂和所述可检测标记物是相同的;

[0083] [62]根据[58]-[61]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,所述Lp-αPPMX组合物还包含半抗原;

[0084] [63]如[62]所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述半抗原包含荧光素或β1,6-葡聚糖中的一者或多者;

[0085] [64]根据[13]-[63]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,所述Lp-αPPMX组合物在内部空间、外部空间或所述内部空间和所述外部空间两者中还包含至少一种选自由以下组成的组的冷冻保护剂:甘露糖醇;海藻糖;山梨糖醇;以及蔗糖;

[0086] [65]一种靶向组合物,所述靶向组合物包含根据[1]-[64]中任一项所述的组合物;

[0087] [66]一种非靶向组合物,所述非靶向组合物包含根据[1]-[49]中任一项所述的组合物;

[0088] [67]根据[13]-[66]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,所述Lp-αPPMX组合物还包含卡铂和/或派姆单抗;

[0089] [68]一种药物组合物,所述药物组合物包含根据[13]-[67]中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物;

[0090] [69]一种药物组合物,所述药物组合物包含根据[1]-[7]中任一项所述的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物;

[0091] [70]如[1]-[69]中任一项所述的组合物,所述组合物用于治疗疾病;

[0092] [71]如[1]-[70]中任一项所述的组合物在制造用于治疗疾病的药物中的用途;

[0093] [72]一种用于治疗或预防需要这种治疗或预防的受试者的疾病的方法,所述方法包括向所述受试者施用如[1]-[70]中任一项所述的组合物;

[0094] [73]一种用于治疗或预防需要这种治疗或预防的受试者的疾病的方法,所述方法包括向所述受试者施用如[13]-[69]中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物;

[0095] [74]一种杀死过度增殖性细胞的方法,所述方法包括使过度增殖性细胞与如[1]-[69]中任一项所述的组合物接触;

[0096] [75]一种杀死过度增殖性细胞的方法,所述方法包括使过度增殖性细胞与如[13]-[69]中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物接触;

[0097] [76]如[74]或[75]所述的方法,其中所述过度增殖性细胞是癌细胞、哺乳动物细胞和/或人类细胞;

[0098] [77]一种用于治疗癌症的方法,所述方法包括向患有癌症或有患癌症风险的受试者施用有效量的如[1]-[69]中任一项所述的组合物;

[0099] [78]一种用于治疗癌症的方法,所述方法包括向患有癌症或有患癌症风险的受试者施用有效量的如[13]-[68]中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物;

[0100] [79]如[77]或[78]所述的方法，其中所述癌症选自由以下组成的组：非血液系统恶性疾病，包括例如肺癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠直肠癌、食道癌、宫颈癌、肝癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌、膀胱癌、肉瘤(例如，骨肉瘤)、脑癌、中枢神经系统癌症和黑素瘤；和血液系统恶性疾病，例如白血病、淋巴瘤和其他B细胞恶性疾病、骨髓瘤和其他浆细胞恶液质；

[0101] [80]如[77]或[78]所述的方法，其中所述癌症是选自由以下组成的组的成员：肺癌、乳腺癌、结肠癌、胰腺癌、胃癌、膀胱癌、头颈癌、卵巢癌和宫颈癌；

[0102] [81]如[77]或[78]所述的方法，其中所述癌症是间皮瘤或非小细胞肺癌(NSCLC)；

[0103] [82]如[77]或[78]所述的方法，其中所述癌症是肉瘤，如骨肉瘤；

[0104] [83]一种用于治疗癌症的方法，所述方法包括向具有癌细胞或有具有癌细胞风险的受试者施用有效量的如[50]-[66]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，所述癌细胞在表面上表达由靶向部分结合的叶酸受体；

[0105] [84]一种维持疗法，所述维持疗法包括向正在进行癌症疗法或已经进行了癌症疗法的受试者施用有效量的如[1]-[69]中任一项所述的组合物；

[0106] [85]一种维持疗法，所述维持疗法包括向正在进行癌症疗法或已经进行了癌症疗法的受试者施用有效量的如[13]-[69]中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物；

[0107] [86]一种用于治疗免疫系统病症的方法，所述方法包括向患有免疫系统病症或有患免疫系统病症风险的受试者施用有效量的如[1]-[69]中任一项所述的组合物；

[0108] [87]一种用于治疗免疫系统病症的方法，所述方法包括向患有免疫系统病症或有患免疫系统病症风险的受试者施用有效量的如[9]-[69]中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物；

[0109] [88]一种用于治疗感染性疾病的方法，所述方法包括向患有感染性疾病或有患感染性疾病风险的受试者施用有效量的如[1]-[69]中任一项所述的组合物；

[0110] [89]一种用于治疗感染性疾病的方法，所述方法包括向患有感染性疾病或有患感染性疾病风险的受试者施用有效量的如[13]-[69]中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物；

[0111] [90]一种将α聚谷氨酸化培美曲塞递送至在表面上表达叶酸受体的肿瘤的方法，所述方法包括：向患有所述肿瘤的受试者施用一定量的如[1]-[69]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，以将治疗有效剂量的α聚谷氨酸化培美曲塞递送至所述肿瘤；

[0112] [91]一种制备α聚谷氨酸化培美曲塞组合物的方法，所述α聚谷氨酸化培美曲塞组合物包含如[13]-[69]中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物，所述方法包括：形成在溶液中包含脂质体组分和α聚谷氨酸化培美曲塞的混合物；使所述混合物均质化以在所述溶液中形成脂质体；以及加工所述混合物以形成含有α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体；

[0113] [92]一种制备α聚谷氨酸化培美曲塞组合物的方法，所述α聚谷氨酸化培美曲塞组合物包含如[13]-[69]中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物，所述方法包括：形成在溶液中包含脂质体组分和α聚谷氨酸化培美曲塞的混合物；以及加工所述混合物以形成含有α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体；

[0114] [93]如[92]所述的方法,其中加工所述混合物包括使所述混合物均质化以在所述溶液中形成脂质体;

[0115] [94]一种制备如[13]-[69]中任一项所述的组合物的方法,所述方法包括以下步骤:形成在溶液中包含脂质体组分和α聚谷氨酸化培美曲塞的混合物;使所述混合物均质化以在所述溶液中形成脂质体;加工所述混合物以形成包埋和/或包封α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体;以及在所述脂质体的表面上提供靶向部分,所述靶向部分对叶酸受体α(FR-α)、叶酸受体β(FR-β)和叶酸受体δ(FR-δ)中的至少一者具有特异性亲和力;

[0116] [95]一种制备如[50]-[69]中任一项所述的组合物的方法,所述方法包括以下步骤:形成在溶液中包含脂质体组分和α聚谷氨酸化培美曲塞的混合物;加工所述混合物以形成包埋和/或包封α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体;以及在所述脂质体的表面上提供靶向部分,所述靶向部分对叶酸受体α(FR-α)、叶酸受体β(FR-β)和叶酸受体δ(FR-δ)中的至少一者具有特异性亲和力;

[0117] [96]如[95]所述的方法,其中所述加工步骤包括使所述混合物均质化以在所述溶液中形成脂质体;

[0118] [97]根据[94]至[96]中任一项所述的方法,其中所述加工步骤包括以下中的一个或多个步骤:薄膜水合、挤出、在线混合、乙醇注入技术、冻融技术、反相蒸发、动态高压微射流、微射流混合、复乳法、冷冻干燥复乳法、3D打印、膜接触器方法和搅拌;

[0119] [98]根据[94]至[97]中任一项所述的方法,其中所述加工步骤包括通过挤出、高压微射流和/或超声处理步骤中的一个或多个来改变所述脂质体的大小的一个或多个步骤;和/或

[0120] [99]如[91]至[98]中任一项所述的方法,其中将至少1%的α聚谷氨酸化PMX的起始材料包封或包埋在所述Lp-αPPMX中。

[0121] 在一些实施方案中,本公开提供了一种α聚谷氨酸化培美曲塞(αPPMX)组合物,其中所述α聚谷氨酸化培美曲塞的至少一个谷氨酰基残基通过其α羧基连接。在一些实施方案中,所述αPPMX含有2-20个、2-15个、2-10个、2-5个或超过5个谷氨酰基(包括培美曲塞中的谷氨酰基)。在一些实施方案中,所述αPPMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,所述αPPMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,所述αPPMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在另外的实施方案中,所述αPPMX包含两个或更多个具有γ键联的谷氨酰基。在一些实施方案中,至少一个谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。

[0122] 在一个实施方案中,所述αPPMX组合物含有连接至培美曲塞的谷氨酰基的3个谷氨酰基的链(即,四谷氨酸化培美曲塞)。在一些实施方案中,所述四谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,所述四谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,所述四谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在另外的实施方案中,所述四谷氨酸化PMX包含两个或更多个具有γ键联的谷氨酰基。

[0123] 在一个实施方案中,所述αPPMX组合物含有连接至培美曲塞的谷氨酰基的4个谷氨酰基的链(即,五谷氨酸化培美曲塞)。在一些实施方案中,所述五谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,所述五谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰

基。在其他实施方案中,所述五谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在另外的实施方案中,所述五谷氨酸化PMX包含两个或更多个具有γ键联的谷氨酰基。

[0124] 在一个实施方案中,所述αPPMX组合物含有连接至培美曲塞的谷氨酰基的5个谷氨酰基的链(即,六谷氨酸化培美曲塞)。在一些实施方案中,所述六谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,所述六谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,所述六谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在另外的实施方案中,所述六谷氨酸化PMX包含两个或更多个具有γ键联的谷氨酰基。

[0125] 在另外的实施方案中,本公开提供了含有递送媒介物的组合物,所述递送媒介物如填充有(即,包封)α聚谷氨酸化培美曲塞和/或以其他方式与α聚谷氨酸化培美曲塞缔合的脂质体;以及制备所述αPPMX填充/缔合的递送媒介物组合物的方法和使用所述αPPMX填充/缔合的递送媒介物组合物以将α聚谷氨酸化培美曲塞递送至患病(例如,癌性)细胞和/或靶向细胞的方法。这些组合物具有包括但不限于治疗疾病的用途,所述疾病包括例如过度增生性疾病(如癌症)、免疫系统病症(如类风湿性关节炎)以及感染性疾病(如HIV和疟疾)。与以其单谷氨酸盐状态施用的培美曲塞(PMX)的细胞毒性相比,αPPMX填充/缔合的递送媒介物组合物通过提供更多细胞毒性有效负载(例如,聚谷氨酸化培美曲塞)而提供了将培美曲塞递送至癌细胞的功效和安全性的改善。

[0126] 在另外的实施方案中,本公开提供了一种组合物,所述组合物包含包封(填充有)α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体(Lp-αPPMX)。在一些实施方案中,所述Lp-αPPMX中的α聚谷氨酸化培美曲塞含有2-20个、2-15个、2-10个、2-5个或超过20个谷氨酰基(包括培美曲塞中的谷氨酰基)。在一些实施方案中,所述Lp-αPPMX中的α聚谷氨酸化培美曲塞包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,所述Lp-αPPMX中的α聚谷氨酸化培美曲塞包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,所述Lp-αPPMX中的α聚谷氨酸化培美曲塞包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在另外的实施方案中,所述Lp-αPPMX中的α聚谷氨酸化培美曲塞包含两个或更多个具有γ键联的谷氨酰基。在另外的实施方案中,所述Lp-αPPMX中的α聚谷氨酸化培美曲塞包含一个或多个具有α键联和γ键联两者的谷氨酰基。在一些实施方案中,所述Lp-αPPMX中的α聚谷氨酸化培美曲塞包含2-10个具有α键联和γ键联两者的谷氨酰基或其间的任何范围。在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞的聚谷氨酸盐链是线性的。在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞的聚谷氨酸盐链是支化的。

[0127] 在一个实施方案中,所述Lp-αPPMX组合物包含α聚谷氨酸化PMX,所述α聚谷氨酸化PMX含有连接至培美曲塞的谷氨酰基的3个谷氨酰基的链(即,四谷氨酸化培美曲塞)。在一些实施方案中,所述四谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,所述四谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,所述四谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在另外的实施方案中,所述四谷氨酸化PMX包含两个或更多个具有γ键联的谷氨酰基。在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞的聚谷氨酸盐链是线性的。在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞的聚谷氨酸盐链是支化的。

[0128] 在一个实施方案中，所述Lp-αPPMX组合物包含α聚谷氨酸化PMX，所述α聚谷氨酸化PMX含有连接至培美曲塞的谷氨酰基的4个谷氨酰基的链(即，五谷氨酸化培美曲塞)。在一些实施方案中，所述五谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述五谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述五谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在另外的实施方案中，所述五谷氨酸化PMX包含两个或更多个具有γ键联的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞的聚谷氨酸盐链是线性的。在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞的聚谷氨酸盐链是支化的。

[0129] 在一个实施方案中，所述Lp-αPPMX组合物包含α聚谷氨酸化PMX，所述α聚谷氨酸化PMX含有连接至培美曲塞的谷氨酰基的5个谷氨酰基的链(即，六谷氨酸化培美曲塞)。在一些实施方案中，所述六谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述六谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述六谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在另外的实施方案中，所述六谷氨酸化PMX包含两个或更多个具有γ键联的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞的聚谷氨酸盐链是线性的。在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞的聚谷氨酸盐链是支化的。

[0130] 在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX组合物是阳离子性的。在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX脂质体是阳离子性的，并且具有在20nm至500nm、20nm至200nm、30nm至175nm或50nm至150nm范围内或其间的任何范围内的直径。在其他实施方案中，所述Lp-αPPMX脂质体是阳离子性的，并且所述组合物具有在80nm至120nm范围内或其间的任何范围内的直径。在一些实施方案中，所述阳离子性Lp-αPPMX组合物包含至少1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或超过75％(w/w)的α聚谷氨酸化PMX。在一些实施方案中，在制备Lp-αPPMX的过程期间，将至少1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或超过75％的α聚谷氨酸化PMX的起始材料包封(包埋)在所述阳离子性Lp-αPPMX中。在另外的实施方案中，由脂质体包封的α聚谷氨酸化培美曲塞位于所述脂质体内的HEPES缓冲溶液中。

[0131] 在其他实施方案中，Lp-αPPMX组合物是阴离子性或中性的。在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX组合物是阳离子性的。在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX脂质体是阴离子性或中性的，并且具有在20nm至500nm、20nm至200nm、30nm至175nm或50nm至150nm范围内或其间的任何范围内的直径。在其他实施方案中，所述Lp-αPPMX脂质体是阴离子性或中性的，并且所述组合物具有在80nm至120nm范围内或其间的任何范围内的直径。在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX脂质体是阴离子性的，并且具有在20nm至500nm、20nm至200nm、30nm至175nm或50nm至150nm范围内或其间的任何范围内的直径。在其他实施方案中，所述Lp-αPPMX脂质体是阴离子性的，并且所述组合物具有在80nm至120nm范围内或其间的任何范围内的直径。在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX脂质体是中性的，并且具有在20nm至500nm、20nm至200nm、30nm至175nm或50nm至150nm范围内或其间的任何范围内的直径。在其他实施方案中，所述Lp-αPPMX脂质体是中性的，并且所述组合物具有在80nm至120nm范围内或其间的任何范围内的直径。在一些实施方案中，所述阴离子性或中性Lp-αPPMX组合物包含至少1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或超过

75％(w/w)的α聚谷氨酸化PMX。在一些实施方案中，在制备Lp-αPPMX的过程期间，将至少1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或超过75％的α聚谷氨酸化PMX的起始材料包封(包埋)在所述阴离子性或中性Lp-αPPMX中。在一些实施方案中，所述阴离子性或中性Lp-αPPMX组合物包含至少1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或超过75％(w/w)的α四谷氨酸化PMX。在一些实施方案中，所述阴离子性或中性Lp-αPPMX组合物包含至少1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或超过75％(w/w)的α五谷氨酸化PMX。在一些实施方案中，所述阴离子性或中性Lp-αPPMX组合物包含至少1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或超过75％(w/w)的α六谷氨酸化PMX。在另外的实施方案中，由脂质体包封的α聚谷氨酸化培美曲塞位于所述脂质体内的HEPES缓冲溶液中。

[0132] 在另外的实施方案中，所述脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物是聚乙二醇化的(PLp-αPPMX)。

[0133] 在一些实施方案中，所述脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物是非靶向的(NTLp-αPPMX)。即，所述NTLp-αPPMX组合物对在目标靶细胞表面上表达的表位(例如，表面抗原上的表位)不具有特异性亲和力。在其他实施方案中，非靶向脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物是聚乙二醇化的(NTPLp-αPPMX)。

[0134] 在其他实施方案中，所述脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物是靶向的(TLp-αPPMX)。即，所述TLp-αPPMX组合物含有对目标靶细胞上的表位(表面抗原)具有特异性亲和力的靶向部分。在一些实施方案中，所述TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX的靶向部分未通过共价键连接至所述脂质体。在其他实施方案中，所述TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX的靶向部分连接至PEG和所述脂质体外部中的一者或两者。靶向脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物(TLp-αPPMX和TPLp-αPPMX)通过将α聚谷氨酸化(例如，四谷氨酸化、五谷氨酸化和六谷氨酸化)培美曲塞特异性地递送至靶细胞如癌细胞而提供了对培美曲塞的功效和安全性特征的进一步改善。在其他实施方案中，所述靶向脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物是聚乙二醇化的(TPLp-αPPMX)。所述TLp-αPPMX和/或TPLp-αPPMX组合物的靶向部分的功能包括但不限于，在体内或体外使脂质体靶向目标靶细胞；或与靶向部分对其具有特异性亲和力的表面抗原相互作用，并将脂质体有效负载(αPPMX)递送至细胞中。

[0135] 合适的靶向部分是本领域已知的，并且包括但不限于抗体、抗原结合抗体片段、支架蛋白、多肽和肽。在一些实施方案中，所述靶向部分是多肽。在其他实施方案中，所述靶向部分是包含至少3个、5个、10个、15个、20个、30个、40个、50个或100个氨基酸残基的多肽。在一些实施方案中，所述靶向部分是抗体或抗原结合抗体片段。在其他实施方案中，所述靶向部分包含抗体、人源化抗体、抗体的抗原结合片段、单链抗体、单结构域抗体、双特异性抗体、合成抗体、聚乙二醇化抗体和多聚体抗体中的一者或多者。在一些实施方案中，与正常或非肿瘤细胞相比，所述靶向部分对优先在靶细胞如肿瘤细胞上表达的表位具有特异性亲和力。在一些实施方案中，所述靶向部分对肿瘤细胞表面抗原上的表位具有特异性亲和力，所述表位存在于肿瘤细胞上但在非肿瘤细胞上不存在或不可接近。在一些实施方案中，如使用BIACORE®分析所测定，所述靶向部分以在$0.5x\ 10^{-10}$至$10x\ 10^{-6}$范围内的平衡解离常数(Kd)结合目标表位。

[0136] 在特定实施方案中，所述靶向部分包含特异性地结合叶酸受体的多肽。在一些实施方案中，所述靶向部分是抗体或抗原结合抗体片段。在一些实施方案中，由所述靶向部分结合的叶酸受体是选自由以下组成的组的一种或多种叶酸受体：叶酸受体α(FR-α，FOLR1)、叶酸受体β(FR-β，FOLR2)和叶酸受体δ(FR-δ，FOLR4)。在一些实施方案中，由所述靶向部分结合的叶酸受体是叶酸受体α(FR-α)。在一些实施方案中，由所述靶向部分结合的叶酸受体是叶酸受体β(FR-β)。在一些实施方案中，所述靶向部分特异性地结合FR-α和FR-β。

[0137] 在另外的实施方案中，所述脂质体αPPMX组合物包含设置在所述PEG和所述脂质体的外部中的至少一者上的免疫刺激剂、可检测标记物和马来酰亚胺中的一者或多者。在一些实施方案中，所述脂质体αPPMX组合物(例如，Lp-αPPMX、PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)是阳离子性的。在其他实施方案中，所述脂质体αPPMX组合物(例如，Lp-αPPMX、PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)是阴离子性的或中性的。在另外的实施方案中，所述脂质体αPPMX组合物(例如，Lp-αPPMX、PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)的脂质体具有在20nm至500nm范围内或其间的任何范围内的直径。在其他实施方案中，所述脂质体αPPMX组合物的脂质体具有在80nm至120nm范围内或其间的任何范围内的直径。在一些实施方案中，所述脂质体αPPMX组合物是聚乙二醇化的(例如，PLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所述脂质体αPPMX组合物是靶向的(例如，TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在其他实施方案中，所述脂质体αPPMX组合物是聚乙二醇化的和靶向的(例如，TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所述脂质体αPPMX组合物包含α聚谷氨酸化培美曲塞，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有4个、5个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中，所述脂质体αPPMX组合物包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述脂质体αPPMX组合物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所述脂质体αPPMX组合物包含α六谷氨酸化培美曲塞。

[0138] 在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含α聚谷氨酸化培美曲塞，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基和至少1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或超过75％(w/w)的α聚谷氨酸化PMX。在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX组合物包含α聚谷氨酸化培美曲塞，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基和1％-98.5％w/w的α聚谷氨酸化PMX。在一些实施方案中，所述脂质体包含α聚谷氨酸化培美曲塞，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基，并且其中在制备所述Lp-αPPMX的过程期间，将至少1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或超过75％的α聚谷氨酸化PMX的起始材料包封(包埋)在所述Lp-αPPMX中。

[0139] 在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含α四谷氨酸化培美曲塞和至少1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或超过75％(w/w)的α四谷氨酸化PMX。在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX组合物包含α四谷氨酸化培美曲塞和1％至98.5％w/w的α四谷氨酸化PMX。在一些实施方案中，所述脂质体包含α四谷氨酸化培美曲塞，并且其中在制备所述Lp-αPPMX的过程期间，将至少1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或超过75％的α四谷氨酸化PMX的起始材料包封(包埋)在所述Lp-αPPMX中。

[0140] 在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含α五谷氨酸化培美曲塞和至少1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或超过75％(w/w)的α五谷氨酸化PMX。在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX组合物包含α五谷氨酸化培美曲塞和1％至98.5％w/w的α五谷氨酸化PMX。在一些实施方案中，所述脂质体包含α五谷氨酸化培美曲塞，并且其中在制备所述Lp-αPPMX的过程期间，将至少1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或超过75％的α五谷氨酸化PMX的起始材料包封(包埋)在所述Lp-αPPMX中。在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含α六谷氨酸化培美曲塞和至少1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或超过75％(w/w)的α六谷氨酸化PMX。在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX组合物包含α六谷氨酸化培美曲塞和1％至98.5％w/w的α六谷氨酸化PMX。在一些实施方案中，所述脂质体包含α六谷氨酸化培美曲塞，并且其中在制备所述Lp-αPPMX的过程期间，将至少1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或超过75％的α五谷氨酸化PMX的起始材料包封(包埋)在所述Lp-αPPMX中。

[0141] 还提供了包含包封αPPMX的脂质体的脂质体组合物。在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含聚乙二醇化的αPPMX组合物。在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含αPPMX组合物，所述αPPMX组合物与靶向部分连接或以其他方式与靶向部分缔合。在其他实施方案中，所述脂质体组合物包含αPPMX组合物，所述αPPMX组合物聚乙二醇化并与靶向部分连接或以其他方式与靶向部分缔合。在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含αPPMX，所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所述脂质体组合物包含α六谷氨酸化培美曲塞。

[0142] 在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含脂质体αPPMX(例如，Lp-αPPMX、PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX和TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所述脂质体αPPMX是聚乙二醇化的(例如，NTPLp-αPPMX和TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所述脂质体αPPMX包含对在目标靶细胞如癌细胞表面上的抗原的表位具有特异性亲和力的靶向部分(例如，TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX))。在其他实施方案中，所述脂质体组合物包含聚乙二醇化的脂质体αPPMX，并且还包含对目标靶细胞如癌细胞表面上的抗原的表位具有特异性亲和力的靶向部分(例如，TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含阳离子性的脂质体αPPMX。在其他实施方案中，所述脂质体组合物包含阴离子性或中性的脂质体αPPMX。在另外的实施方案中，所述脂质体组合物包含脂质体αPPMX，所述脂质体αPPMX具有在20nm至500nm、20nm至200nm范围内或其间的任何范围内的直径。在其他实施方案中，所述脂质体αPPMX具有在80nm至120nm范围内或其间的任何范围内的直径。

[0143] 还提供了包含α聚谷氨酸化培美曲塞(αPPMX)的药物组合物，所述药物组合物包含递送媒介物，如脂质体αPPMX。在一些实施方案中，所述药物组合物包含聚乙二醇化的αPPMX组合物。在一些实施方案中，所述药物组合物包含αPPMX组合物，所述αPPMX组合物与靶向部分连接或以其他方式与靶向部分缔合。在其他实施方案中，所述药物组合物包含αPPMX组合物，所述αPPMX组合物聚乙二醇化并与靶向部分连接或以其他方式与靶向部分缔合。在一些实施方案中，所述药物组合物包含αPPMX，所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超

过5个谷氨酰基。在一些实施方案中，所述药物组合物包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述药物组合物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所述药物组合物包含α六谷氨酸化培美曲塞。

[0144] 在一些实施方案中，所述药物组合物包含脂质体αPPMX(例如，Lp-αPPMX、PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX和TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所述脂质体αPPMX组合物是聚乙二醇化的(例如，NTPLp-αPPMX和TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所述脂质体αPPMX包含对在目标靶细胞如癌细胞表面上的抗原的表位具有特异性亲和力的靶向部分(例如，TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX))。在其他实施方案中，所述药物组合物包含聚乙二醇化的脂质体αPPMX组合物，并且还包含对目标靶细胞如癌细胞表面上的抗原的表位具有特异性亲和力的靶向部分(例如，TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所述药物组合物包含阳离子性的脂质体αPPMX。在其他实施方案中，所述药物组合物包含阴离子性或中性的脂质体αPPMX。在另外的实施方案中，所述药物组合物包含脂质体αPPMX，所述脂质体αPPMX具有在20nm至500nm或20nm至500nm范围内或其间的任何范围内的直径。在其他实施方案中，所述脂质体αPPMX组合物具有在80nm至120nm范围内或其间的任何范围内的直径。

[0145] 在另外的实施方案中，本公开提供了一种杀死细胞的方法，所述方法包括使所述细胞与包含α聚谷氨酸化培美曲塞(αPPMX)组合物的组合物接触。在一些实施方案中，所接触的细胞是哺乳动物细胞。在其他实施方案中，所接触的细胞是人类细胞。在一些实施方案中，所接触的细胞是过度增殖性细胞。在其他实施方案中，所述过度增殖性细胞是癌细胞。在其他实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自选自由以下组成的组的癌症的细胞系的细胞：非血液系统恶性疾病，包括例如肺癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠直肠癌、食道癌、宫颈癌、肝癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌、膀胱癌、肉瘤(例如，骨肉瘤)、脑癌、中枢神经系统癌症和黑素瘤；和血液系统恶性疾病，例如白血病、淋巴瘤和其他B细胞恶性疾病、骨髓瘤和其他浆细胞发育异常或恶液质。在一些实施方案中，所述方法在体内进行。在其他实施方案中，所述方法在体外进行。在一些实施方案中，所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中，所述αPPMX组合物包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述αPPMX组合物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所述αPPMX组合物包含α六谷氨酸化培美曲塞。

[0146] 在另外的实施方案中，本公开提供了一种杀死细胞的方法，所述方法包括使所述细胞与含有α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体(即，Lp-αPPMX，如PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)接触。在一些实施方案中，所接触的细胞是哺乳动物细胞。在其他实施方案中，所接触的细胞是人类细胞。在一些实施方案中，所接触的细胞是过度增殖性细胞。在其他实施方案中，所接触的过度增殖性细胞是癌细胞。在其他实施方案中，所述癌细胞是原代细胞或来自获自/获自/源自选自由以下组成的组的癌症的细胞系的细胞：非血液系统恶性疾病，包括例如肺癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠直肠癌、食道癌、宫颈癌、肝癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌、膀胱癌、肉瘤(例如，骨肉瘤)、脑癌、中枢神经系统癌症和黑素瘤；和血液系统恶性疾病，例如白血病、淋巴瘤和其他B细胞恶性疾病、骨髓瘤和其他浆细胞发育异常或恶液质。在一些实施方案中，所述方法在体内进行。在其他实施方案中，所述方法在体外进行。在一些实施方案中，所述脂质体含有αPPMX，所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施

方案中，所述脂质体含有α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述脂质体含有α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所述脂质体含有α六谷氨酸化培美曲塞。

[0147] 在另外的实施方案中，本公开提供了一种用于治疗癌症的方法，所述方法包括向患有癌症或有患癌症风险的受试者施用有效量的包含α聚谷氨酸化培美曲塞的递送媒介物(例如，免疫缀合物或脂质体)。在一些实施方案中，所述递送媒介物是含抗体的免疫缀合物(包括例如，全长IgG抗体、双特异性抗体或scFv)。在一些实施方案中，所述递送媒介物是脂质体(例如，Lp-αPPMX，如PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物是聚乙二醇化的。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物是非聚乙二醇化的。在另外的实施方案中，所施用的递送媒介物包含对癌细胞表面上的抗原的表位具有特异性亲和力的靶向部分。在另外的实施方案中，所述递送媒介物包含靶向部分，所述靶向部分特异性地结合选自由以下组成的组的细胞表面抗原：GONMB、TACSTD2(TROP2)、CEACAM5、EPCAM、叶酸受体(例如，叶酸受体-α、叶酸受体-β或叶酸受体-δ)、粘蛋白1(MUC-1)、MUC-6、STEAP1、间皮素、结合素4、ENPP3、鸟苷酸环化酶C(GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70(TNFSF7)、CA9(碳酸酐酶)、5T4(TPBG)、SLTRK6、SC-16、组织因子、LIV-1(ZIP6)、CGEN-15027、P钙粘蛋白、纤连蛋白外结构域B(ED-B)、VEGFR2(CD309)、肌腱蛋白、胶原蛋白IV、骨膜蛋白、内皮素受体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1、EphA受体、EphB受体、EphA1、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、整联蛋白(例如，整联蛋白αvβ3、αvβ5或αvβ6)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、内皮糖蛋白、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFRα、PDGFRβ、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR和MuSK。在一些实施方案中，所述递送媒介物包含靶向部分，所述靶向部分特异性地结合源自或被确定为在特定受试者的癌症(肿瘤)上表达的一种或多种细胞表面抗原(如新抗原)。在一些实施方案中，所述靶向部分特异性地结合源自或被确定为在特定受试者的肿瘤上表达的一种或多种细胞表面抗原(如新抗原)。在一些实施方案中，所述靶向部分是抗体或抗原结合抗体片段。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含αPPMX，所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所施用的递送媒介物包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含Lα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所施用的递送媒介物包含L和Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述癌症选自由以下组成的组：非血液系统恶性疾病，包括例如肺癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠直肠癌、食道癌、宫颈癌、肝癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌、膀胱癌、肉瘤(例如，骨肉瘤)、脑癌、中枢神经系统癌症和黑素瘤；和血液系统恶性疾病，例如白血病、淋巴瘤和其他B细胞恶性疾病、骨髓瘤和其他浆细胞发育异常或恶液质。在一些实施方案中，所述癌症是肺癌(例如，NSCLC或间皮瘤)。在一些实施方案中，所述癌症是乳腺癌

(例如,HER2++或三阴性乳腺癌)。在一些实施方案中,所述癌症是结肠直肠癌。在一些实施方案中,所述癌症是卵巢癌。在一些实施方案中,所述癌症是子宫内膜癌。在一些实施方案中,所述癌症是胰腺癌。在一些实施方案中,所述癌症是肝癌。在一些实施方案中,所述癌症是头颈癌。在一些实施方案中,所述癌症是骨肉瘤。

[0148] 在另外的实施方案中,本公开提供了一种用于治疗癌症的方法,所述方法包括向患有癌症或有患癌症风险的受试者施用有效量的包含α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体(例如,Lp-αPPMX,如PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中,所述脂质体是聚乙二醇化的。在一些实施方案中,所述脂质体是非聚乙二醇化的。在另外的实施方案中,所述脂质体包含对癌细胞表面上的抗原的表位具有特异性亲和力的靶向部分。在另外的实施方案中,所述脂质体包含靶向部分,所述靶向部分特异性地结合选自由以下组成的组的细胞表面抗原:GONMB、TACSTD2(TROP2)、CEACAM5、EPCAM、叶酸受体(例如,叶酸受体-α、叶酸受体-β或叶酸受体-δ)、粘蛋白1(MUC-1)、MUC-6、STEAP1、间皮素、结合素4、ENPP3、鸟苷酸环化酶C(GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70(TNFSF7)、CA9(碳酸酐酶)、5T4(TPBG)、SLTRK6、SC-16、组织因子、LIV-1(ZIP6)、CGEN-15027、P钙粘蛋白、纤连蛋白外结构域B(ED-B)、VEGFR2(CD309)、肌腱蛋白、胶原蛋白IV、骨膜蛋白、内皮素受体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1、EphA受体、EphB受体、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphA1、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、整联蛋白(例如,整联蛋白αvβ3、αvβ5或αvβ6)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、内皮糖蛋白、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFRα、PDGFRβ、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR和MuSK。还包括癌症干细胞靶向部分,如靶向CD34、CD133和CD44、CD138以及CD15的那些癌症干细胞靶向部分的用途。在一些实施方案中,所述脂质体包含靶向部分,所述靶向部分特异性地结合源自或被确定为在特定受试者的肿瘤上表达的一种或多种细胞表面抗原(如新抗原)。在一些实施方案中,所述靶向部分是抗体或抗原结合抗体片段。在一些实施方案中,所述脂质体包含αPPMX,所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中,所述脂质体包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所述脂质体包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中,所述脂质体包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所述脂质体包含Lα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,脂质体包含Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所述脂质体包含L和Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所述癌症选自由以下组成的组:肺癌(例如,非小细胞肺癌)、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠直肠癌、食道癌、宫颈癌、肝癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌、膀胱癌、肉瘤(例如,骨肉瘤)、脑癌、中枢神经系统癌症、黑素瘤和血液系统恶性疾病(例如,白血病或淋巴瘤)。在一些实施方案中,所述癌症是肺癌(例如,NSCLC或间皮瘤)。在一些实施方案中,所述癌症是乳腺癌(例如,HER2++或三阴性乳腺癌)。在一些实施方案中,所述癌症是结肠直肠癌。在一些实施方案中,所述癌症是卵巢癌。在一些实施方案中,所述癌症是子宫内膜癌。在一些实施方案中,所述癌症是胰腺癌。在一些实施方案中,所述

癌症是肝癌。在一些实施方案中，所述癌症是头颈癌。在一些实施方案中，所述癌症是骨肉瘤。

[0149] 在另外的实施方案中，本公开提供了一种用于治疗癌症的方法，所述方法包括向患有癌症或有患癌症风险的受试者施用有效量的脂质体组合物，所述脂质体组合物包含脂质体，所述脂质体包含α聚谷氨酸化培美曲塞和靶向部分，所述靶向部分对癌症表面上的抗原的表位具有特异性亲和力。在一些实施方案中，所述脂质体包含靶向部分，所述靶向部分特异性地结合选自由以下组成的组的细胞表面抗原：GONMB、TACSTD2(TROP2)、CEACAM5、EPCAM、叶酸受体(例如，叶酸受体-α、叶酸受体-β或叶酸受体-δ)、粘蛋白1(MUC-1)、MUC-6、STEAP1、间皮素、结合素4、ENPP3、鸟苷酸环化酶C(GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70(TNFSF7)、CA9(碳酸酐酶)、5T4(TPBG)、SLTRK6、SC-16、组织因子、LIV-1(ZIP6)、CGEN-15027、P钙粘蛋白、纤连蛋白外结构域B(ED-B)、VEGFR2(CD309)、肌腱蛋白、胶原蛋白IV、骨膜蛋白、内皮素受体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1、EphA受体、EphB受体、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphA1、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、整联蛋白(例如，整联蛋白αvβ3、αvβ5或αvβ6)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、内皮糖蛋白、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFRα、PDGFRβ、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR和MuSK。在一些实施方案中，所施用的脂质体包含靶向部分，所述靶向部分特异性地结合源自或被确定为在特定受试者的肿瘤上表达的一种或多种细胞表面抗原(如新抗原)。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物包含聚乙二醇化脂质体(例如，TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物包含非聚乙二醇化的脂质体。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含αPPMX，所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗选自由以下组成的组的癌症：肺癌(例如，非小细胞肺癌)、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠直肠癌、食道癌、宫颈癌、肝癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌、膀胱癌、肉瘤(例如，骨肉瘤)、脑癌、中枢神经系统癌症、黑素瘤、白血病、淋巴瘤和其他B细胞恶性疾病、骨髓瘤和其他浆细胞发育异常或恶液质。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗肺癌(例如，NSCLC或间皮瘤)。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗乳腺癌(例如，HER2++或三阴性乳腺癌)。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗结肠直肠癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗卵巢癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗子宫内膜癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗胰腺癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗肝癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗头颈癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗骨肉瘤。

[0150] 在另外的实施方案中，本公开提供了一种用于治疗癌症的方法，所述方法包括向

患有在其细胞表面上表达叶酸受体的癌症或有患所述癌症风险的受试者施用有效量的脂质体组合物，其中所述脂质体组合物包含脂质体，所述脂质体包含(a)α聚谷氨酸化培美曲塞(αPPMX)和(b)对叶酸受体具有特异性结合亲和力的靶向部分。在一些实施方案中，所述靶向部分对叶酸受体α(FR-α)、叶酸受体β(FR-β)和/或叶酸受体δ(FR-δ)具有特异性结合亲和力。在一些实施方案中，所述靶向部分对叶酸受体α(FR-α)和叶酸受体β(FR-β)具有特异性结合亲和力。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物包含聚乙二醇化脂质体(例如，TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物包含非聚乙二醇化的脂质体。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含αPPMX，所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗选自由以下组成的组的癌症：非血液系统恶性疾病，包括例如肺癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠直肠癌、食道癌、宫颈癌、肝癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌、膀胱癌、肉瘤(例如，骨肉瘤)、脑癌、中枢神经系统癌症和黑素瘤；和血液系统恶性疾病，例如白血病、淋巴瘤和其他B细胞恶性疾病、骨髓瘤和其他浆细胞发育异常或恶液质。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗肺癌(例如，NSCLC或间皮瘤)。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗乳腺癌(例如，HER2++或三阴性乳腺癌)。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗结肠直肠癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗卵巢癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗子宫内膜癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗胰腺癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗肝癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗头颈癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗骨肉瘤。

[0151] 在另外的实施方案中，本公开提供了一种用于癌症维持疗法的方法，所述方法包括向正在进行癌症疗法或已经进行了癌症疗法的受试者施用有效量的脂质体组合物，所述脂质体组合物包含脂质体，所述脂质体含有α聚谷氨酸化培美曲塞(Lp-αPPMX)。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物是PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物包含聚乙二醇化脂质体(例如，PLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物包含靶向脂质体(例如，TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物包含聚乙二醇化的且靶向的脂质体(例如，TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含α聚谷氨酸化培美曲塞，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含α六谷氨酸化培美曲塞。

[0152] 在另外的实施方案中，本公开提供了一种用于治疗免疫系统病症的方法，所述方法包括向患有免疫系统病症或有患免疫系统病症风险的受试者施用有效量的脂质体组合物，所述脂质体组合物包含含有α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体(例如，Lp-αPPMX、PLp-α

PPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗自身免疫性疾病。在另一实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗类风湿性关节炎。在一些实施方案中,所施用的脂质体组合物包含聚乙二醇化脂质体(例如,PLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中,所施用的脂质体组合物包含靶向脂质体(例如,TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX),所述脂质体含有对目标靶细胞(例如,免疫细胞)上的表面抗原具有特异性亲和力的靶向部分。在其他实施方案中,所施用的脂质体组合物包含聚乙二醇化的且靶向的脂质体(例如,TPLp-αPPMX))。在一些实施方案中,所施用的脂质体组合物的脂质体包含α五谷氨酸化培美曲塞,所述α五谷氨酸化培美曲塞含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中,所施用的脂质体组合物的脂质体包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所施用的脂质体组合物的脂质体包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中,所施用的脂质体组合物的脂质体包含α六谷氨酸化培美曲塞。

[0153] 本公开还提供了一种将α聚谷氨酸化培美曲塞递送至肿瘤癌细胞的方法,所述方法包括:向患有所述肿瘤的受试者施用包含α聚谷氨酸化培美曲塞(L-αPPMX)和靶向部分的组合物,所述靶向部分对肿瘤细胞或癌细胞上的表面抗原上的表位具有特异性结合亲和力。在一些实施方案中,所施用的靶向部分与递送媒介物缔合。在一些实施方案中,所述递送媒介物是抗体或抗体的抗原结合片段。在其他实施方案中,所述递送媒介物是脂质体。在其他实施方案中,所述抗体、抗原结合抗体片段或脂质体是聚乙二醇化脂质体(例如,TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中,所施用的组合物包含α聚谷氨酸化培美曲塞,所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中,所施用的组合物包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所施用的组合物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中,所施用的组合物包含α六谷氨酸化培美曲塞。

[0154] 在另外的实施方案中,本公开提供了一种制备脂质体组合物的方法,所述脂质体组合物包含脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞(αPPMX)组合物,所述方法包括:形成在溶液中包含脂质体组分和α聚谷氨酸化培美曲塞的混合物;使所述混合物均质化以在所述溶液中形成脂质体;以及加工所述混合物以形成含有聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体。在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中,所述聚谷氨酸化培美曲塞组合物包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所述聚谷氨酸化培美曲塞组合物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中,所述聚谷氨酸化培美曲塞组合物包含α六谷氨酸化培美曲塞。

[0155] 在一个实施方案中,本公开提供了一种药盒,所述药盒包括α聚谷氨酸化培美曲塞组合物和/或αPPMX递送媒介物,如含有本文所述的αPPMX和αPPMX免疫缀合物(例如,ADC)的脂质体。

附图说明

[0156] 图1A-1L示出培美曲塞(图1A)、示例性α培美曲塞α聚谷氨酸盐、培美曲塞二谷氨酸盐(图1B)、培美曲塞三谷氨酸盐(图1C和1D)、培美曲塞四谷氨酸盐(图1E和1F)、培美曲塞五谷氨酸盐(图1G和1H)、培美曲塞六谷氨酸盐(图1I和1J)、培美曲塞七谷氨酸盐(图1K和1L)、培美曲塞八谷氨酸盐(图1M和1N)、示例性α培美曲塞聚谷氨酸盐(图10)和示例性培美曲塞

类似物(图1P和1Q)的化学式。图1R-1U图1R-1U示出示例性支化培美曲塞聚谷氨酸盐结构，包括具有γ谷氨酰基主链和α谷氨酰基分支的支化聚谷氨酸盐(图1S)和具有α谷氨酰基主链和γ谷氨酰基分支的支化聚谷氨酸盐(图1T)的描绘。

[0157] 图2示出在暴露于癌细胞系SW620(CRC)、HT-29(结肠癌)、H1806(三阴性乳腺癌)、OAW28(卵巢癌)、H292(NSCLC，腺癌亚型)和H2342(NSCLC，腺癌亚型)后，在48小时内脂质体培美曲塞α-L六谷氨酸盐(脂质体aG6)及其镜像脂质体α-D六谷氨酸盐(脂质体aDG6)相对于培美曲塞的相对效力。

[0158] 图3示出游离培美曲塞L-γ六谷氨酸盐(gG6)、脂质体培美曲塞L-γ六谷氨酸盐(脂质体gG6)、培美曲塞和叶酸受体α靶向抗体(FR1Ab)脂质体培美曲塞L-γ六谷氨酸盐(脂质体gG6-FR1Ab)在NCI H2342非小细胞肺癌(NSCLC)、腺癌亚型中的示例性剂量反应关系，描绘为治疗48小时后存活细胞的百分比。含α聚谷氨酸化培美曲塞的叶酸受体α靶向脂质体预期也成功靶向NCI H2342非小细胞肺癌细胞并降低NCI H2342非小细胞肺癌细胞的活力。

[0159] 图4示出在48小时游离培美曲塞L-γ六谷氨酸盐(gG6)、脂质体培美曲塞L-γ六谷氨酸盐(脂质体gG6)、培美曲塞和叶酸受体α靶向抗体(FR1Ab)脂质体培美曲塞L-γ六谷氨酸盐(脂质体gG6-FR1Ab)在HT-29(结肠癌)中的示例性剂量反应关系。含α聚谷氨酸化培美曲塞的叶酸受体α靶向脂质体预期也成功靶向HT-29(结肠癌)细胞并降低HT-29(结肠癌)细胞的活力。

[0160] 图5示出在暴露于脂质体培美曲塞α-L六谷氨酸盐(Lps Hexa aG6)、脂质体培美曲塞α-D六谷氨酸盐(Lps Hexa aDG6)和培美曲塞后，在48小时内对HCC1806三阴性乳腺癌细胞的治疗效果。

[0161] 图6示出在暴露于脂质体培美曲塞α-L六谷氨酸盐(Lps Hexa aG6)、脂质体培美曲塞α-D六谷氨酸盐(Lps Hexa aDG6)和培美曲塞后，在48小时内对OAW28卵巢癌细胞的治疗效果。

[0162] 图7示出与培美曲塞相比，在暴露于脂质体培美曲塞α-L六谷氨酸盐(Lps Hexa aG6)、脂质体培美曲塞α-D六谷氨酸盐(Lps Hexa aDG6)后，在48小时内对H292非小细胞肺癌细胞的治疗效果。

[0163] 图8示出在暴露于16至128nM范围内的各种剂量水平的脂质体培美曲塞α-L六谷氨酸盐(脂质体aG6)、脂质体培美曲塞α-D六谷氨酸盐(脂质体aDG6)和培美曲塞后，在48小时内对H292非小细胞肺癌细胞的治疗效果。在每个所测试的剂量范围下，脂质体培美曲塞aG6制剂在抑制H292非小细胞肺癌细胞方面优于培美曲塞。

[0164] 图9示出在暴露于16至128nM范围内的各种剂量水平的脂质体培美曲塞α-L六谷氨酸盐(脂质体aG6)、脂质体培美曲塞α-D六谷氨酸盐(脂质体aDG6)和培美曲塞后，在48小时内对HCC1806三阴性乳腺癌细胞的治疗效果。在每个所测试的剂量下，脂质体培美曲塞aG6制剂在抑制HCC1806三阴性乳腺癌细胞方面优于培美曲塞。

[0165] 图10示出在暴露于一系列浓度后，在暴露后48小时内脂质体培美曲塞α-L六谷氨酸盐(脂质体aG6)、脂质体α-D六谷氨酸盐(脂质体aDG6)和培美曲塞对OAW28卵巢癌细胞的治疗效果。在128nM的剂量下，培美曲塞似乎比脂质体培美曲塞aG6脂质体制剂更有效，而剂量为32nM和64nM的脂质体制剂比培美曲塞具有更好的治疗效果；在16nM下，脂质体培美曲塞aG6治疗效果与培美曲塞类似。

[0166] 图11示出在64nM、128nM和264nM下，脂质体培美曲塞α-L六谷氨酸盐(脂质体aG6)、脂质体培美曲塞α-D六谷氨酸盐(脂质体aDG6)和培美曲塞对分化人嗜中性粒细胞的毒性。所述图表明，与培美曲塞相比，脂质体培美曲塞aG6对分化人嗜中性粒细胞的毒性显著更低。

[0167] 图12示出在暴露于16至128nM范围内的各种剂量水平的相应剂后，在48小时内脂质体培美曲塞α-L六谷氨酸盐(脂质体aG6)、脂质体α-D六谷氨酸盐(脂质体aDG6)和培美曲塞对嗜中性粒细胞(从CD34+细胞分化)的效果。

[0168] 图13示出在16nM、32nM和64nM以及128nM的相应剂暴露后，在48小时内脂质体培美曲塞α-L六谷氨酸盐(脂质体aG6)、脂质体培美曲塞α-D六谷氨酸盐(脂质体aDG6)和培美曲塞对AML12肝细胞的效果。引人注目的是，在所测试的剂量水平下，在任何脂质体剂下，用脂质体培美曲塞aG6处理后对AML12肝细胞似乎没有任何毒性。相比之下，培美曲塞处理导致在所研究的所有剂量下AML12肝细胞计数减少大约40％。

[0169] 图14示出在16nM、32nM和64nM以及128nM的相应剂暴露后，在48小时内脂质体培美曲塞α-L六谷氨酸盐(脂质体aG6)、脂质体培美曲塞α-D六谷氨酸盐(脂质体aDG6)和培美曲塞对CCD841结肠上皮细胞的效果。在所测试的所有浓度下，培美曲塞导致CCD841结肠上皮细胞数量减少大约≥50％，对比用所测试的每种脂质体制剂处理后细胞数量减少大约20％或更少。

[0170] 图15描绘聚谷氨酸盐抗叶酸剂、顺铂(CDDP)和两种潜在aG6-顺铂复合物的结构。在遇到溶酶体的酸性pH(pH 4-5)和细胞内部存在氯离子时，聚谷氨酸化抗叶酸剂和顺铂的羧基之间的链间和/或链内配位的pH依赖性形成可能分解成单个aG6和顺铂分子。

[0171] 图16示出用每周给予一次持续4周的40mg/kg和80mg/kg脂质体aG6处理小鼠对血液学参数：白细胞(WBC)计数、嗜中性粒细胞计数和血小板计数的影响。未观察到平均嗜中性粒细胞、平均白细胞或平均血小板计数的明显下降。

[0172] 图17示出用每周给予一次持续4周的40mg/kg和80mg/kg脂质体aG6处理小鼠对血红蛋白和网织红细胞指数的影响。在较高剂量水平下，平均血红蛋白浓度降低最小。并行地，平均网织红细胞增多指数略有增加。

[0173] 图18示出用每周给予一次持续4周的40mg/kg和80mg/kg脂质体aG6处理小鼠对肝标志物，包括血清天冬氨酸转氨酶(AST)和血清丙氨酸转氨酶(ALT)以及血清白蛋白的影响。肝转氨酶平均AST或平均ALT水平没有明显增加，并且平均白蛋白水平也没有观察到的变化。

[0174] 图19示出用NCI-H292(非小细胞肺癌)细胞接种并且每三周一次以167mg/kg静脉内施用对照、培美曲塞和脂质体aG6的免疫缺陷型雌性Nu/J小鼠(6-8周龄)的相对肿瘤体积。如可从这些初步数据看出，与培美曲塞相比，脂质体aG6提供降低的肿瘤控制。

[0175] 图20示出在NSCLC(H292)异种移植物模型中，脂质体培美曲塞α-L六谷氨酸盐(脂质体aG6)治疗存活研究的结果。用实心圆圈描绘每周一次持续四周静脉内给予90mg/kg脂质体aG6(90mg/kg subQ每周一次持续6周)的小鼠(10)的存活曲线。用实心三角形描绘给予培美曲塞(每三周一次静脉内167mg/kg持续6周)的小鼠(10)的存活曲线。在小鼠中培美曲塞的167mg/kg剂量相当于人中500mg/m^2的剂量。用空心菱形描绘对照小鼠(10)的存活曲线。

[0176] 图21A-21F示出在48小时内脂质体培美曲塞α-L三谷氨酸盐(脂质体aG3)、脂质体培美曲塞α-L五谷氨酸盐(脂质体aG5)、脂质体培美曲塞α-L八谷氨酸盐(脂质体aG7)以及脂质体培美曲塞α-L六谷氨酸盐(aG6)与α-L十二谷氨酸盐(aG12)的组合(脂质体aG6和aG12)对H2342(NSCLC,腺癌亚型)(图21A)、H292(NSCLC,腺癌亚型)(图21B)、HT-29(结肠癌)(图21C)、HCC1806(三阴性乳腺癌)(图21D)、MCF7(ER+乳腺癌)(图21E)和OAW28(卵巢癌)(图21F)的剂量反应关系。基本上如实施例1所述,通过CellTiter-Glo®(CTG)发光细胞活力测定来测定细胞活力。如所有细胞系中所示,每种聚谷氨酸化培美曲塞脂质体组合物的效力都大大超过脂质体媒介物和空脂质体对照的效力。

具体实施方式

[0177] 本公开总体上涉及新颖的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物。所述组合物提供相对于过度增生性疾病如癌症的先前治疗的进展。还提供了制备、递送和使用所述α聚谷氨酸化培美曲塞组合物的方法。所述α聚谷氨酸化组合物具有包括但不限于治疗或预防过度增生性疾病(如癌症)、免疫系统病症(如类风湿性关节炎)以及感染性疾病(如HIV和疟疾)的用途。

[0178] I.定义

[0179] 除非另外定义,否则本文使用的所有技术术语和科学术语都具有与本公开所属领域的普通技术人员通常所理解相同的含义。

[0180] 应当理解,当在本文用语言“包含”来描述实施方案时,还提供了就“含有”、“由……组成”和/或“主要由……组成”而言所描述的其他类似实施方案。然而,当在权利要求书中用作过渡性短语时,应分别且在适当的法律和事实背景下对每个短语进行解释(例如,在权利要求书中,过渡性短语“包含”更多被视为开放性短语,而“由……组成”更排他性,并且“基本上由……组成”取得中间立场)。

[0181] 如本文中所用,除非明确指出或从上下文中清楚地得知这并非意图,否则单数形式“一个/种(a/an)”和“所述”包括复数个指示物。

[0182] 如本文中诸如“A和/或B”的短语中所用的术语“和/或”意图包括A和B;A或B;A(单独)和B(单独)。同样,如在诸如“A、B和/或C”的短语中所用的术语“和/或”意图涵盖以下实施方案中的每一个:A、B和C;A、B或C;A或C;A或B;B或C;A和C;A和B;B和C;A(单独);B(单独);以及C(单独)。

[0183] 标题和副标题仅出于方便和/或形式上的合规性使用,不限制主题技术,并且不与主题技术的描述的解释结合提及。在各种实施方案中,可将在本公开的一个标题或一个副标题下描述的特征与在其他标题或副标题下描述的特征组合。此外,在实施方案中不一定必须一起使用单个标题或单个副标题下的所有特征。

[0184] 除非另外指明,否则术语“培美曲塞”和“PMX”可互换使用来包括培美曲塞的盐、酸和/或游离碱形式(例如培美曲塞二钠)。含有PMX盐的组合物还可含有多种阳离子中的任一种,如Na^+、Mg^{2+}、K^+、NH_4^+和/或Ca^{2+}。在特定实施方案中,所述盐是药学上可接受的盐。在另外的特定实施方案中,PMX盐含有Na^+。培美曲塞还可被称为ALIMTA®、LY231514、MTA,化学名称N-[4-2-(2-氨基-4,7-二氢-4-氧代基-1H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基)乙基]苯甲酰基]-1-谷氨酸,或L-谷氨酸N-[4-[2-(2-氨基-4,7-二氢-4-氧代基-1H-吡咯并[2,3-c]嘧啶-5-基)乙基]苯甲酰基]-二钠盐七水合物。培美曲塞含有一个L-γ谷氨酰基,并且因此出于本公开

的目的被认为是单谷氨酸化的。

[0185] 术语“聚谷氨酸盐”、“聚谷氨酸化”或它们的变化形式是指包含2个或更多个连接的谷氨酰基的至少一个链的组合物。聚谷氨酸盐链可以是线性的或支化的。线性聚谷氨酸盐链可包含例如含有α羧基或γ羧基键联的谷氨酰基。支化聚谷氨酸盐链可包含例如一个或多个含有与其他谷氨酰基的α羧基和γ羧基键联的谷氨酰基，从而提供聚谷氨酸盐的分支点。示例性的支化聚谷氨酸盐在图1R-1U中示出。聚谷氨酸盐链包含N-末端谷氨酰基和一个或多个C-末端谷氨酰基。聚谷氨酸盐链的N-末端谷氨酰基不是经由其胺基团连接至另一个谷氨酰基，而是经由其羧酸基团连接至一个或多个谷氨酰基。在一些实施方案中，聚谷氨酸化培美曲塞的N-末端谷氨酰基是培美曲塞的谷氨酰基。聚谷氨酸盐链的一个或多个C-末端谷氨酰基经由其胺基团连接至另一个谷氨酰基，但不经由其羧酸基团连接至另一个谷氨酰基。

[0186] 术语“聚谷氨酸化培美曲塞”、“聚谷氨酸化PMX”、“PMX-PG”、“PPMX”及其迭代形式在本文中可互换使用来指除培美曲塞的谷氨酰基外还包含至少一个谷氨酰基的培美曲塞组合物(即，$PMX\text{-}PG_n$，其中$n\geq 1$)。在本文中提及αPPMX(PMX-PG)中的谷氨酰基的数目时将培美曲塞的谷氨酰基考虑在内。例如，除PMX的谷氨酰基外还含有5个谷氨酰基残基的PMX-PG组合物在本文中被称为六谷氨酸化培美曲塞或培美曲塞六谷氨酸盐。

[0187] 术语“α谷氨酰基”、“α谷氨酸盐”和“α键联”在它们涉及谷氨酰基的键联时是指含有α羧基键联的谷氨酰基。在一些实施方案中，α键联是一个谷氨酰基的α羧基与第二谷氨酰基之间的酰胺键。α键联可位于谷氨酰基与培美曲塞的谷氨酰基之间，或位于所述谷氨酰基与培美曲塞中不存在的第二谷氨酰基(如与培美曲塞连接的聚谷氨酸盐链中的谷氨酰基)之间。

[0188] 术语“γ谷氨酰基”、“γ谷氨酸盐”和“γ键联”在它们涉及谷氨酰基的键联时是指含有γ羧基键联的谷氨酰基。如本文所述，一旦培美曲塞进入细胞，它就被酶叶酰聚-γ-谷氨酸合成酶(FPGS)聚谷氨酸化，所述酶将L谷氨酰基连续地添加至培美曲塞内的谷氨酸盐的γ羧基。因此，在培美曲塞治疗期间，在细胞内不形成α聚谷氨酸化培美曲塞组合物。在一些实施方案中，γ键联是一个谷氨酰基的γ羧基与第二谷氨酰基之间的酰胺键。γ键联可位于谷氨酰基与培美曲塞的谷氨酰基之间，或位于所述谷氨酰基与培美曲塞中不存在的第二谷氨酰基(如与培美曲塞连接的聚谷氨酸盐链中的谷氨酰基)之间。在一些实施方案中，γ键联是指培美曲塞中的谷氨酰基的酰胺键。除非明确指出或从上下文中清楚地得知这并非意图，否则提及γ键联包括培美曲塞中的谷氨酰基的γ键联。

[0189] 除非另有说明，否则术语“α聚谷氨酸化培美曲塞”、“αPPMX”、“α-PMX-PG”及其迭代形式在本文中可互换使用来指包含至少一个含α键联的谷氨酰基的聚谷氨酸化培美曲塞组合物。例如，出于本公开的目的，其中第2个谷氨酰基具有α键联、但是每个其他谷氨酰基具有γ键联的五谷氨酸化-PMX组合物被认为是α-PMX-PG。在一些实施方案中，除PMX的谷氨酰基外，PMX-PG的每个谷氨酰基均具有α键联(例如，$PMX\text{-}PG_n$，其中$n=5$，并且其中G_1、G_2、G_3、G_4和G_5中的每一者均具有α键联)。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基和PMX的谷氨酰基外，PMX-PG的每个谷氨酰基均具有α键联(例如，$PMX\text{-}PG_n$，其中$n=5$，并且其中G_1、G_2、G_3和G_4中的每一者均具有α键联)。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，PMX-PG的每个谷氨酰基均具有α键联(例如，$PMX\text{-}PG_n$，其中$n=5$，并且其中PMX的谷氨酰基以

及G_1、G_2、G_3和G_4中的每一者均具有α键联)。

[0190] 如本文所用,术语“分离的”是指呈自然界中未发现的形式的组合物。分离的α聚谷氨酸化组合物包括已经被纯化至不再呈它们在自然界被发现的形式的程度的那些。在一些实施方案中,分离的α聚谷氨酸化培美曲塞是基本上纯的。分离的组合物将不含或基本上不含与它们天然相关的材料,如可能在自然界或其制备环境(例如,细胞培养物)中与其一起存在的其他细胞组分,如蛋白质和核酸。所述α聚谷氨酸化组合物可与稀释剂或佐剂一起配制,并且仍出于实际目的而分离-例如,当用于诊断或治疗时,所述α聚谷氨酸化组合物通常将与药学上可接受的载体或稀释剂混合。在一些实施方案中,分离的α聚谷氨酸化组合物(例如,α聚谷氨酸盐和递送媒介物,如含有α聚谷氨酸盐的脂质体含有少于1%或少于0.1%的不希望的DNA或蛋白质含量。在一些实施方案中,α聚谷氨酸盐组合物(例如,α聚谷氨酸盐和递送媒介物,如含有α聚谷氨酸盐的脂质体)是“分离的”。

[0191] 本文使用术语“靶向部分”来指对选定靶标(例如,细胞、细胞类型、组织、器官、身体的区域或区室,例如细胞、组织或器官区室)提供增强的亲和力的分子。靶向部分可包含各种各样的实体。靶向部分可包括天然存在的分子,或重组或合成分子。在一些实施方案中,靶向部分是抗体、抗原结合抗体片段、双特异性抗体或其他基于抗体的分子或化合物。在一些实施方案中,靶向部分是适体、高亲和性多聚体(avimer)、受体结合配体、核酸、生物素-抗生物素蛋白结合对、肽、蛋白质、碳水化合物、脂质、维生素、毒素、微生物的组分、激素、受体配体或它们的任何衍生物。其他靶向部分是本领域已知的并且由本公开所涵盖。

[0192] 术语“特异性亲和力”或“特异性地结合”是指与替代物质(包括与目标表位不相关的蛋白质)相比,靶向部分(如抗体或抗原结合抗体片段)与表位、蛋白质或靶分子的反应或缔合更频繁、更快速、持续时间更长、亲和力更大或以上情况的一些组合。由于不同物种中同源蛋白质之间的序列同一性,在一些实施方案中,特异性亲和力可包括识别多于一种物种中的蛋白质或靶标的结合剂。同样,由于不同蛋白质的多肽序列的某些区域内的同源性,术语“特异性亲和力”或“特异性结合”可包括识别多于一种蛋白质或靶标的结合剂。应了解,在某些实施方案中,特异性地结合第一靶标的靶向部分可以或可以不特异性地结合第二靶标。因此,“特异性亲和力”并不一定需要(虽然可包括)唯一结合,例如结合至单一靶标。因此,在某些实施方案中,靶向部分可特异性地结合多于一个靶标。在某些实施方案中,多个靶标可由同一靶向部分结合。

[0193] 术语“表位”是指能够由靶向部分(即,结合部分)如抗体识别并特异性地结合的抗原的那一部分。当抗原是多肽时,表位可由连续氨基酸和通过蛋白质的三级折叠而并置的非连续氨基酸形成。由连续氨基酸形成的表位通常在蛋白质变性时保留,而通过三级折叠形成的表位通常在蛋白质变性时丧失。表位通常包含至少3个、并且更通常至少5个或8-10个呈独特空间构象的氨基酸。

[0194] 诸如“对靶标的结合亲和力”、“结合至靶标”的表述和本领域已知的类似表述是指可通过测定亲和常数,例如在给定抗原浓度下缔合和解离的靶向部分的量而直接测量的靶向部分的性质。可使用不同的方法来表征分子相互作用,如但不限于竞争分析、平衡分析和微量量热分析以及基于表面等离子体共振相互作用的实时相互作用分析(例如,使用BIACORE®仪器)。这些方法是本领域技术人员众所周知的,并且描述于例如Neri等人,Tibtech 14:465-470(1996)和Jansson等人,J.Biol.Chem.272:8189-8197(1997)中。

[0195] 术语“递送媒介物”通常是指用于辅助、促进或帮助α聚谷氨酸化培美曲塞进入细胞的任何组合物。此类递送媒介物是本领域中已知的，并且包括但不限于脂质体、脂质球、聚合物(例如，聚合物-缀合物)、肽、蛋白质如抗体(例如，免疫缀合物，如抗体药物缀合物(ADC))和抗原结合抗体片段以及它们的衍生物)、细胞组分、环状寡糖(例如，环糊精)、胶束、微颗粒(例如，微球)、纳米颗粒(例如，脂质纳米颗粒、生物可降解的纳米颗粒和核-壳纳米颗粒)、水凝胶、脂蛋白颗粒、病毒序列、病毒材料或脂质或脂质体制剂以及它们的组合。递送媒介物可直接或间接连接至靶向部分。在一些实例中，靶向部分选自大分子、蛋白质、肽、单克隆抗体或脂肪酸脂质。

[0196] “受试者”是指人或脊椎动物哺乳动物，包括但不限于狗、猫、马、山羊和灵长类动物，例如猴。因此，本发明还可用于治疗非人受试者的疾病或疾患。例如，癌症是伴侣动物(即，猫和狗)死亡的主要原因之一。在本发明的一些实施方案中，受试者是人。在本公开中，术语“受试者”和“患者”可互换使用并且具有相同的含义。通常优选的是使用最大剂量，即根据合理医学判断的最高安全剂量。

[0197] 如本文所用，“有效量”是指足以提供医学上期望的结果的剂的剂量。有效量将随所需结果、所治疗或预防的特定疾患、所治疗受试者的年龄和身体状况、疾患的严重程度、治疗的持续时间、同步或组合疗法(如果有)的性质、具体施用途径以及健康执业医师的知识和专业技能内的类似因素。关于所阐述的目的，有效量可根据经验并且以常规方式来确定。在癌症的情况下，剂的有效量可减少癌细胞的数量；减小肿瘤的大小；抑制(即，在某种程度上减慢并优选阻止)癌细胞浸润至周围器官中；抑制(即，在某种程度上减慢并在优选阻止)肿瘤转移；在某种程度上抑制肿瘤生长；和/或在某种程度上减轻与病症相关的一种或多种症状。在药物可防止生长和/或杀死现有癌细胞的程度上，它可为细胞抑制的和/或细胞毒性的。对于癌症疗法，可例如通过评估存活的持续时间、无进展存活的持续时间(PFS)、应答率(例如，RR)、应答持续时间和/或生活质量来测量体内功效。

[0198] 术语“过度增生性病症”、“增生性疾病”和“增生性病症”在本文中可互换使用，涉及过度或异常细胞的不想要的或不受控制的细胞增殖，所述细胞增殖不是所期望的，如肿瘤或增生性生长(无论是在体外还是体内)。在一些实施方案中，增生性疾病是癌症或肿瘤疾病(包括良性或癌性)和/或任何转移，无论所述癌症、肿瘤和/或转移位于何处。在一些实施方案中，增生性疾病是良性或恶性肿瘤。在一些实施方案中，增生性疾病是非癌性疾病。在一些实施方案中，增生性疾病是过度增生性疾患，如增生、纤维化(尤其是肺纤维化，但也包括其他类型的纤维化，如肾纤维化)、血管生成、银屑病、动脉粥样硬化和血管中的平滑肌增生，如狭窄或血管成形术后再狭窄。

[0199] “癌症”、“肿瘤”或“恶性疾病”被用作同义词，并且是指以细胞的不受控制的异常增殖、受影响细胞在局部或通过血流和淋巴系统扩散至身体其他部位(转移)的能力以及许多特征性结构和/或分子特征中的任一个为特征的多种疾病中的任一种。如本文所用的“肿瘤”是指所有赘生性细胞生长和增殖(无论恶性还是良性)以及所有癌前和癌性细胞和组织。“癌性肿瘤”或“恶性细胞”应理解为具有特定结构性质、缺乏分化并且能够侵袭和转移的细胞。可使用本文提供的αPPMX组合物治疗的癌症包括但不限于非血液系统恶性疾病，包括例如肺癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠直肠癌、食道癌、宫颈癌、肝癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌、膀胱癌、肉瘤(例如，骨肉瘤)、脑癌、中枢神经系统

癌症和黑素瘤;和血液系统恶性疾病,例如白血病、淋巴瘤和其他B细胞恶性疾病、骨髓瘤和其他浆细胞发育异常或恶液质。可使用αPPMX组合物治疗的其他类型的癌症和肿瘤在本文中进行了描述或是本领域中另外已知的。术语“癌症”、“癌性”、“细胞增殖性病症”、“增生性病症”和“肿瘤”在本文中提及时并不互相排斥。

[0200] 诸如“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”或“治疗(to treat)”的术语是指(a)治愈、减缓所诊断的病理性疾患或病症、减轻其症状和/或停止其进展的治疗措施和(b)预防和/或减缓目标疾病或疾患的发展的防治性或预防性措施。因此,需要治疗的受试者包括已经患有癌症、病症或疾病的受试者;有患癌症或疾患的风险的那些受试者;以及要预防感染或疾患的那些受试者。使用众所周知的医学和诊断技术,将受试者鉴定为“患有”本文提及的癌症、感染性疾病、免疫系统病症、过度增生性疾病或另一种疾病或病症或有患本文提及的癌症、感染性疾病、免疫系统病症、过度增生性疾病或另一种疾病或病症的风险。在某些实施方案中,如果受试者显示例如与疾病或疾患(例如,癌症、类风湿性关节炎)相关的症状的全部、部分或短暂改善或消除,则根据本文提供的方法成功地“治疗”所述受试者。在具体实施方案中,术语“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”或“治疗(to treat)”是指改善增生性病症的至少一种可测量的物理参数,如肿瘤的生长,这不一定是患者可辨别的。在其他实施方案中,术语“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”或“治疗(to treat)”是指在身体上通过例如稳定可辨别的症状或在生理上通过例如稳定物理参数或通过两者来抑制增生性病症的进展。在其他实施方案中,术语“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”或“治疗(to treat)”是指肿瘤大小、肿瘤细胞增殖或存活或癌细胞计数的减少或稳定。可单独或与另外的治疗剂组合使用α-PPMX组合物进行治疗。

[0201] “受试者”和“患者”以及“动物”可互换使用,并且是指哺乳动物如人患者和非人灵长类动物以及实验动物,如兔、大鼠和小鼠以及其他动物。动物包括所有脊椎动物,例如哺乳动物和非哺乳动物,如鸡、两栖动物和爬行动物。如本文所用的“哺乳动物”是指哺乳纲的任何成员,包括但不限于人和非人灵长类动物,如黑猩猩以及其他猿和猴物种;家畜,如牛、绵羊、猪、山羊和马;家养哺乳动物,如狗和猫;实验室动物,包括啮齿动物,如小鼠、大鼠和豚鼠,以及本领域已知的哺乳纲的其他成员。在特定实施方案中,患者是人。

[0202] “增生性病症的治疗”在本文中用来包括维持或减小肿瘤大小、诱导肿瘤消退(部分或完全)、抑制肿瘤生长和/或增加患有增生性病症的受试者的寿命。在一个实施方案中,所述增生性病症是实体瘤。此类肿瘤包括例如肺癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠直肠癌、食道癌、宫颈癌、肝癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌、膀胱癌、肉瘤(例如,骨肉瘤)、脑癌、中枢神经系统癌症和黑素瘤。在一个实施方案中,所述增生性病症是血液系统恶性疾病。此类血液系统恶性疾病包括例如白血病、淋巴瘤和其他B细胞恶性疾病、骨髓瘤和其他浆细胞发育异常或恶液质。

[0203] 如本文所用的术语“自身免疫性疾病”被定义为由自身免疫应答引起的病症。自身免疫性疾病是对自身抗原的不适当和过度应答的结果。自身免疫性疾病的实例包括但不限于,艾迪生氏病、斑秃、强直性脊柱炎、自身免疫性肝炎、自身免疫性腮腺炎、克罗恩氏病、糖尿病(I型)、营养不良性大疱型表皮松解症、附睾炎、肾小球性肾炎、格雷夫斯氏病、格林-巴利综合征、桥本氏病、溶血性贫血、系统性红斑狼疮、多发性硬化症、重症肌无力、寻常型天疱疮、银屑病、风湿热、类风湿性关节炎、结节病、硬皮病、斯耶格伦综合征、脊柱关节病、甲

状腺炎、血管炎、白癜风、粘液性水肿、恶性贫血、溃疡性结肠炎等。

[0204] 术语“治疗剂”在本文用来指可与过度增殖性细胞如癌细胞或免疫细胞相互作用、从而减轻所述细胞的增殖状态和/或杀死所述细胞的剂或其衍生物。治疗剂的实例包括但不限于化学治疗剂、细胞毒性剂、基于铂的剂(例如,顺铂、卡铂、奥沙利铂)、紫杉烷类(例如,TAXOL®)、依托泊苷、烷化剂(例如,环磷酰胺、异环磷酰胺)、代谢拮抗剂(例如,氨甲蝶呤(MTX)、5-氟尿嘧啶、吉西他滨或其衍生物)、抗肿瘤抗生素(例如,丝裂霉素、阿霉素)、植物来源的抗肿瘤剂(例如,长春新碱、长春地辛、TAXOL®)。此类剂还可包括但不限于抗癌剂三甲曲沙、替莫唑胺、雷替曲塞、S-(4-硝基苄基)-6-硫代肌苷(NBMPR)、6-苄基胍(6-BG)、双-氯亚硝基脲(BCNU)和喜树碱或它们中的任一者的治疗性衍生物。可适合根据所公开的方法使用的治疗剂的另外实例包括但不限于抗再狭窄剂、促增殖或抗增殖剂、抗炎剂、抗肿瘤剂、抗有丝分裂剂、抗血小板剂、抗凝血剂、抗血纤蛋白剂、抗凝血酶剂、细胞抑制剂、抗生素和其他抗感染剂、抗酶剂、抗代谢剂、血管生剂、细胞保护剂、血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂、血管紧张素II受体拮抗剂和/或心脏保护剂。“治疗剂”还指上述剂的盐、酸和游离碱形式。

[0205] 如本文所用,术语“化学治疗剂”当关于癌症疗法使用时,是指导致癌细胞死亡或抑制癌细胞的生长或扩散的任何剂。此类化学治疗剂的实例包括烷化剂、抗生素、抗代谢剂、植物来源的剂和激素。在一些实施方案中,所述化学治疗剂是顺铂。在一些实施方案中,所述化学治疗剂是卡铂。在一些实施方案中,所述化学治疗剂是奥沙利铂。在其他实施方案中,所述化学治疗剂是吉西他滨。在其他实施方案中,所述化学治疗剂是阿霉素。

[0206] 术语“抗代谢药”在本文中用来指抑制代谢物的利用的治疗剂或其前药。抗代谢药的实例包括氨甲蝶呤、培美曲塞、培美曲塞、5-氟尿嘧啶、5-氟尿嘧啶前药如卡培他滨、5-氟脱氧尿苷一磷酸、阿糖胞苷、阿糖胞苷前药如奈拉滨、5-氮杂胞苷、吉西他滨、巯基嘌呤、硫鸟嘌呤、硫唑嘌呤、腺苷、喷司他丁、赤羟基壬基腺嘌呤(erythrohydroxynonyladenine)和克拉屈滨。可用于实践本公开方法的抗代谢药包括核苷类似物,包括嘌呤或嘧啶类似物。在一些实施方案中,α聚谷氨酸化培美曲塞组合物与选自由以下组成的组的抗代谢药组合使用:氟嘧啶5-氟尿嘧啶、5-氟-2'-脱氧胞苷、阿糖胞苷、吉西他滨、曲沙他滨、地西他滨、氮杂胞苷、假异胞苷、泽布拉林、安西他滨、法扎拉滨、6-氮杂胞苷、卡培他滨、N^4-十八烷基-阿糖胞苷、反油酸阿糖胞苷、氟达拉滨、克拉屈滨、氯法拉滨、奈拉滨、呋咯地辛(forodesine)和喷司他丁或它们的衍生物。在一个实例中,核苷类似物是核苷脱氨酶的底物,所述核苷脱氨酶是腺苷脱氨酶或胞苷脱氨酶。在一些实例中,核苷类似物选自氟达拉滨、阿糖胞苷、吉西他滨、地西他滨和氮杂胞苷或它们的衍生物。在某些实施方案中,抗代谢药是5-氟尿嘧啶。

[0207] 如本文所用,“紫杉烷”是干扰或破坏微管稳定性、形成和/或功能的抗癌剂。紫杉烷剂包括紫杉醇和多西他赛以及它们的衍生物,其中所述衍生物通过与衍生它们的紫杉烷相同的作用方式对微管起作用。在某些实施方案中,紫杉烷是紫杉醇或多西他赛,或紫杉醇或多西他赛的药学上可接受的盐、酸或衍生物。在某些实施方案中,紫杉烷是紫杉醇(TAXOL®)、多西他赛(TAXOTERE®)、白蛋白结合型紫杉醇(纳米白蛋白结合型紫杉醇;ABRAXANE®)、DHA-紫杉醇或PG-紫杉醇。

[0208] 术语“药学上可接受的载体”和“药学上可接受的载体”是指药物制剂中除活性成分以外的对受试者无毒的成分。药学上可接受的载体包括但不限于缓冲液、载体、赋形剂、

稳定剂、稀释剂或防腐剂。药学上可接受的载体可包括例如适于向人或其他受试者施用的一种或多种相容的固体或液体填充剂、稀释剂或包封物质。

[0209] 本公开总体上涉及新颖的α聚谷氨酸化培美曲塞(PMX)组合物以及制备所述组合物的方法和使用所述组合物来治疗疾病的方法，所述疾病包括过度增生性疾病(如癌症)、免疫系统病症(如类风湿性关节炎)和感染性疾病(如HIV和疟疾)。

[0210] 在一些实施方案中，本公开提供：

[0211] [1]一种组合物，所述组合物包含α聚谷氨酸化培美曲塞，其中至少一个谷氨酰基具有α羧基键联；

[0212] [2]如[1]所述的组合物，其中所述α聚谷氨酸化培美曲塞包含1-10个具有α羧基键联的谷氨酰基；

[0213] [3]根据[1]-[2]中任一项所述的组合物，其中所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基；

[0214] [4]根据[1]-[3]中任一项所述的组合物，所述组合物包含α四谷氨酸化培美曲塞；

[0215] [5]根据[1]-[3]中任一项所述的组合物，所述组合物包含α五谷氨酸化培美曲塞；

[0216] [6]根据[1]-[3]中任一项所述的组合物，所述组合物包含α六谷氨酸化培美曲塞；

[0217] [7]根据[1]至[6]中任一项所述的组合物，其中

[0218] (a)两个或更多个谷氨酰基具有α羧基键联，

[0219] (b)除培美曲塞的谷氨酰基外的每个谷氨酰基均具有α羧基键联；或

[0220] (c)两个或更多个谷氨酰基具有γ羧基键联；

[0221] [8]根据[1]至[6]中任一项所述的组合物，其中

[0222] (a)除一个或多个C-末端谷氨酰基和培美曲塞的谷氨酰基外的每个谷氨酰基均具有α羧基键联；或

[0223] (b)除所述一个或多个C-末端谷氨酰基外的每个谷氨酰基均具有α羧基键联；

[0224] [9]根据[1]-[8]中任一项所述的组合物，其中至少一个谷氨酰基具有α羧基键联和γ羧基键联两者；

[0225] [10]根据[1]-[9]中任一项所述的组合物，其中：

[0226] (a)所述α聚谷氨酸化培美曲塞的至少2个谷氨酰基呈L形式，

[0227] (b)所述α聚谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式，

[0228] (c)所述α聚谷氨酸化培美曲塞的至少1个谷氨酰基呈D形式，

[0229] (d)除培美曲塞的谷氨酰基外，所述α聚谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式，或

[0230] (e)所述α聚谷氨酸化培美曲塞的至少2个谷氨酰基呈L形式，并且至少1个谷氨酰基呈D形式；

[0231] [11]根据[1]-[10]中任一项所述的组合物，其中所述聚谷氨酸盐是线性的；

[0232] [12]根据[1]-[10]中任一项所述的组合物，其中所述聚谷氨酸盐是支化的；

[0233] [13]一种脂质体组合物，所述脂质体组合物包含根据[1]-[12]中任一项所述的α聚谷氨酸化培美曲塞(Lp-αPPMX)；

[0234] [14]根据[13]所述的LαPP组合物，其中所述α聚谷氨酸化培美曲塞包含具有α羧基键联的呈L形式的谷氨酰基；

[0235] [15]根据[13]或[14]所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述α聚谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式;

[0236] [16]如[13]或[14]所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述α聚谷氨酸化培美曲塞的至少一个谷氨酰基呈D形式;

[0237] [17]根据[13]-[16]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体包含α聚谷氨酸化培美曲塞,所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基;

[0238] [18]根据[13]-[17]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述α聚谷氨酸化培美曲塞的至少一个谷氨酰基具有γ羧基键联;

[0239] [19]根据[13]-[18]中任一项所述的组合物,其中至少一个谷氨酰基具有α羧基键联和γ羧基键联两者;

[0240] [20]根据[13]-[18]中任一项所述的组合物,所述组合物含有2个、3个、4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个具有α羧基键联和γ羧基键联两者的谷氨酰基;

[0241] [21]根据[13]-[20]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体包含α聚谷氨酸化培美曲塞,所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有α四谷氨酸化培美曲塞、α五谷氨酸化培美曲塞或α六谷氨酸化培美曲塞;

[0242] [22]根据[13]-[21]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述聚谷氨酸盐是线性的或支化的;

[0243] [23]根据[13]-[22]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体是聚乙二醇化的(PαLp-αPPMX);

[0244] [24]根据[13]-[23]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体包含至少1%重量/重量(w/w)的所述α聚谷氨酸化培美曲塞,或其中在制备所述Lp-αPPMX的过程期间,至少1%的α聚谷氨酸化PMX的起始材料被包封(包埋)在所述Lp-αPPMX中;

[0245] [25]根据[13]-[24]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体的直径在20nm至500nm或20nm至200nm的范围内;

[0246] [26]根据[13]-[25]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体的直径在80nm至120nm的范围内;

[0247] [27]根据[13]-[26]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体由脂质体组分形成;

[0248] [28]根据[27]所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体组分包含阴离子脂质和中性脂质中的至少一种;

[0249] [29]根据[27]或[28]所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体组分包含选自由以下组成的组的至少一种:DSPE;DSPE-PEG;DSPE-PEG-马来酰亚胺;HSPC;HSPC-PEG;胆固醇;胆固醇-PEG;以及胆固醇-马来酰亚胺;

[0250] [30]根据[27]-[29]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述脂质体组分包含选自由以下组成的组的至少一种:DSPE;DSPE-PEG;DSPE-PEG-FITC;DSPE-PEG-马来酰亚胺;胆固醇;以及HSPC;

[0251] [31]根据[27]-[30]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中一种或多种脂质体组分还包含空间稳定剂;

[0252] [32]根据[31]所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述空间稳定剂是选自由以下组成的组的至少一种：聚乙二醇(PEG)；聚L-赖氨酸(PLL)；单唾液酸神经节苷脂(GM1)；聚(乙烯基吡咯烷酮)(PVP)；聚(丙烯酰胺)(PAA)；聚(2-甲基-2-噁唑啉)；聚(2-乙基-2-噁唑啉)；磷脂酰聚甘油；聚[N-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺]；两亲性聚-N-乙烯基吡咯烷酮；基于L-氨基酸的聚合物；低聚甘油；含聚乙二醇和聚环氧丙烷的共聚物；泊洛沙姆188；以及聚乙烯醇；

[0253] [33]根据[32]所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述空间稳定剂是PEG，并且所述PEG具有200至5000道尔顿的数均分子量(Mn)；

[0254] [34]根据[13]-[33]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体是阴离子性或中性的；

[0255] [35]根据[13]-[33]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体具有小于或等于零的ζ电位；

[0256] [36]根据[13]-[33]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体具有介于0至-150mV之间的ζ电位；

[0257] [37]根据[13]-[33]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体具有介于-30至-50mV之间的ζ电位；

[0258] [38]根据[13]-[33]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体是阳离子性的；

[0259] [39]根据[13]-[38]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体具有内部空间，所述内部空间包含所述α聚谷氨酸化培美曲塞和药学上可接受的水性载体；

[0260] [40]如[39]所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述药学上可接受的载体包含浓度大于1％的张度剂，如右旋糖、甘露糖醇、甘油、氯化钾、氯化钠；

[0261] [41]如[39]所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述药学上可接受的水性载体是海藻糖；

[0262] [42]如[41]所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述药学上可接受的载体包含5重量％至20重量％的海藻糖；

[0263] [43]根据[39]-[42]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述药学上可接受的载体包含1重量％至15重量％的右旋糖；

[0264] [44]根据[39]-[43]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体的内部空间包含悬浮在HEPES缓冲溶液中的5％右旋糖；

[0265] [45]根据[39]-[44]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述药学上可接受的载体包含浓度介于1至200mM之间并且pH值介于2至8之间的缓冲液，如HEPES缓冲盐水(HBS)或类似物；

[0266] [46]根据[39]-[45]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述药学上可接受的载体包含总浓度介于50mM至500mM之间的乙酸钠和乙酸钙；

[0267] [47]根据[13]-[46]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体的内部空间具有5-8的pH值或6-7的pH值，或其间的任何范围；

[0268] [48]根据[13]-[47]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体包含少于500,000个或少于200,000个所述α聚谷氨酸化培美曲塞分子；

[0269] [49]根据[13]-[48]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物，其中所述脂质体包含介于

10个至100,000个之间的所述α聚谷氨酸化培美曲塞分子,或其间的任何范围;

[0270] [50]根据[13]-[49]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,所述Lp-αPPMX组合物还包含靶向部分,并且其中所述靶向部分对目标靶细胞上的表面抗原具有特异性亲和力;

[0271] [51]根据[50]所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述靶向部分连接至PEG和所述脂质体的外部中的一者或两者,任选地其中靶向部分通过共价键连接至所述PEG和所述脂质体的外部中的一者或两者;

[0272] [52]如[50]或[51]所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述靶向部分是多肽;

[0273] [53]根据[50]-[52]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述靶向部分是抗体或抗体的抗原结合片段;

[0274] [54]根据[50]-[53]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中如使用BIACORE®分析所测定,所述靶向部分以在0.5x 10^{-10}至10x 10^{-6}范围内的平衡解离常数(Kd)结合所述表面抗原;

[0275] [55]根据[50]-[55]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述靶向部分特异性地结合一种或多种选自由以下组成的组的叶酸受体:叶酸受体α(FR-α)、叶酸受体β(FR-β)和叶酸受体δ(FR-δ);

[0276] [56]根据[50]-[56]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述靶向部分包含选自由以下组成的组的一者或多者:抗体、人源化抗体、抗体的抗原结合片段、单链抗体、单结构域抗体、双特异性抗体、合成抗体、聚乙二醇化抗体和多聚体抗体;

[0277] [57]根据[50]-[56]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中每个聚乙二醇化脂质体包含1至1000个或30至200个靶向部分;

[0278] [58]根据[58]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,所述Lp-αPPMX组合物还包含免疫刺激剂、可检测标记物和马来酰亚胺中的一者或多者,其中所述免疫刺激剂、所述可检测标记物或所述马来酰亚胺连接至所述PEG或所述脂质体的外部;

[0279] [59]根据[39]-[58]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述免疫刺激剂是选自由以下组成的组的至少一者:蛋白质免疫刺激剂;核酸免疫刺激剂;化学免疫刺激剂;半抗原;以及佐剂;

[0280] [60]如[58]或[59]所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述免疫刺激剂是选自由以下组成的组的至少一者:荧光素;异硫氰酸荧光素(FITC);DNP;β葡聚糖;β-1,3-葡聚糖;β-1,6-葡聚糖;消退素(例如,消退素D如D_{n-6DPA}或D_{n-3DPA},消退素E,或T系列消退素);以及Toll样受体(TLR)调节剂,如氧化型低密度脂蛋白(例如,OXPAC、PGPC)和eritoran脂质(例如,E5564);

[0281] [61]根据[58]-[60]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述免疫刺激剂和所述可检测标记物是相同的;

[0282] [62]根据[58]-[61]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,所述Lp-αPPMX组合物还包含半抗原;

[0283] [63]如[62]所述的Lp-αPPMX组合物,其中所述半抗原包含荧光素或β1,6-葡聚糖中的一者或多者;

[0284] [64]根据[13]-[63]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,所述Lp-αPPMX组合物在内部空间、外部空间或所述内部空间和所述外部空间两者中还包含至少一种选自由以下组成

的组的冷冻保护剂:甘露糖醇;海藻糖;山梨糖醇;以及蔗糖;

[0285] [65]一种靶向组合物,所述靶向组合物包含根据[1]-[64]中任一项所述的组合物;

[0286] [66]一种非靶向组合物,所述非靶向组合物包含根据[1]-[49]中任一项所述的组合物;

[0287] [67]根据[13]-[66]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,所述Lp-αPPMX组合物还包含卡铂和/或派姆单抗;

[0288] [68]一种药物组合物,所述药物组合物包含根据[13]-[67]中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物;

[0289] [69]一种药物组合物,所述药物组合物包含根据[1]-[8]中任一项所述的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物;

[0290] [70]如[1]-[69]中任一项所述的组合物,所述组合物用于治疗疾病;

[0291] [71]如[1]-[70]中任一项所述的组合物在制造用于治疗疾病的药物中的用途;

[0292] [72]一种用于治疗或预防需要这种治疗或预防的受试者的疾病的方法,所述方法包括向所述受试者施用如[1]-[70]中任一项所述的组合物;

[0293] [73]一种用于治疗或预防需要这种治疗或预防的受试者的疾病的方法,所述方法包括向所述受试者施用如[13]-[69]中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物;

[0294] [74]一种杀死过度增殖性细胞的方法,所述方法包括使过度增殖性细胞与如[1]-[69]中任一项所述的组合物接触;

[0295] [75]一种杀死过度增殖性细胞的方法,所述方法包括使过度增殖性细胞与如[13]-[69]中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物接触;

[0296] [76]如[74]或[75]所述的方法,其中所述过度增殖性细胞是癌细胞、哺乳动物细胞和/或人类细胞;

[0297] [77]一种用于治疗癌症的方法,所述方法包括向患有癌症或有患癌症风险的受试者施用有效量的如[1]-[69]中任一项所述的组合物;

[0298] [78]一种用于治疗癌症的方法,所述方法包括向患有癌症或有患癌症风险的受试者施用有效量的如[13]-[68]中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物;

[0299] [79]如[77]或[78]所述的方法,其中所述癌症选自由以下组成的组:非血液系统恶性疾病,包括例如肺癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠直肠癌、食道癌、宫颈癌、肝癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌、膀胱癌、肉瘤(例如,骨肉瘤)、脑癌、中枢神经系统癌症和黑素瘤;和血液系统恶性疾病,例如白血病、淋巴瘤和其他B细胞恶性疾病、骨髓瘤和其他浆细胞恶液质;

[0300] [80]如[77]或[78]所述的方法,其中所述癌症是选自由以下组成的组的成员:肺癌、乳腺癌、结肠癌、胰腺癌、胃癌、膀胱癌、头颈癌、卵巢癌和宫颈癌;

[0301] [81]如[77]或[78]所述的方法,其中所述癌症是间皮瘤或非小细胞肺癌(NSCLC);

[0302] [82]如[77]或[78]所述的方法,其中所述癌症是肉瘤,如骨肉瘤;

[0303] [83]一种用于治疗癌症的方法,所述方法包括向具有癌细胞或有具有癌细胞风险的受试者施用有效量的如[50]-[66]中任一项所述的Lp-αPPMX组合物,所述癌细胞在表面上表达由靶向部分结合的叶酸受体;

[0304] [84]一种维持疗法,所述维持疗法包括向正在进行癌症疗法或已经进行了癌症疗法的受试者施用有效量的如[1]-[69]中任一项所述的组合物;

[0305] [85]一种维持疗法,所述维持疗法包括向正在进行癌症疗法或已经进行了癌症疗法的受试者施用有效量的如[13]-[69]中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物;

[0306] [86]一种用于治疗免疫系统病症的方法,所述方法包括向患有免疫系统病症或有患免疫系统病症风险的受试者施用有效量的如[1]-[69]中任一项所述的组合物;

[0307] [87]一种用于治疗免疫系统病症的方法,所述方法包括向患有免疫系统病症或有患免疫系统病症风险的受试者施用有效量的如[9]-[69]中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物;

[0308] [88]一种用于治疗感染性疾病的方法,所述方法包括向患有感染性疾病或有患感染性疾病风险的受试者施用有效量的如[1]-[69]中任一项所述的组合物;

[0309] [89]一种用于治疗感染性疾病的方法,所述方法包括向患有感染性疾病或有患感染性疾病风险的受试者施用有效量的如[13]-[69]中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物;

[0310] [90]一种将α聚谷氨酸化培美曲塞递送至在表面上表达叶酸受体的肿瘤的方法,所述方法包括:向患有所述肿瘤的受试者施用一定量的如[1]-[69]中任一项所述的Lp-α PPMX组合物,以将治疗有效剂量的α聚谷氨酸化培美曲塞递送至所述肿瘤;

[0311] [91]一种制备α聚谷氨酸化培美曲塞组合物的方法,所述α聚谷氨酸化培美曲塞组合物包含如[13]-[69]中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物,所述方法包括:形成在溶液中包含脂质体组分和α聚谷氨酸化培美曲塞的混合物;使所述混合物均质化以在所述溶液中形成脂质体;以及加工所述混合物以形成含有α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体;

[0312] [92]一种制备α聚谷氨酸化培美曲塞组合物的方法,所述α聚谷氨酸化培美曲塞组合物包含如[13]-[69]中任一项所述的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物,所述方法包括:形成在溶液中包含脂质体组分和α聚谷氨酸化培美曲塞的混合物;以及加工所述混合物以形成含有α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体;

[0313] [93]如[92]所述的方法,其中加工所述混合物包括使所述混合物均质化以在所述溶液中形成脂质体;

[0314] [94]一种制备如[13]-[69]中任一项所述的组合物的方法,所述方法包括以下步骤:形成在溶液中包含脂质体组分和α聚谷氨酸化培美曲塞的混合物;使所述混合物均质化以在所述溶液中形成脂质体;加工所述混合物以形成包埋和/或包封α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体;以及在所述脂质体的表面上提供靶向部分,所述靶向部分对叶酸受体α(FR-α)、叶酸受体β(FR-β)和叶酸受体δ(FR-δ)中的至少一者具有特异性亲和力;

[0315] [95]一种制备如[50]-[69]中任一项所述的组合物的方法,所述方法包括以下步骤:形成在溶液中包含脂质体组分和α聚谷氨酸化培美曲塞的混合物;加工所述混合物以形成包埋和/或包封α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体;以及在所述脂质体的表面上提供靶向部分,所述靶向部分对叶酸受体α(FR-α)、叶酸受体β(FR-β)和叶酸受体δ(FR-δ)中的至少一者具有特异性亲和力;

[0316] [96]如[95]所述的方法,其中所述加工步骤包括使所述混合物均质化以在所述溶液中形成脂质体;

[0317] [97]根据[94]至[96]中任一项所述的方法,其中所述加工步骤包括以下中的一个或多个步骤:薄膜水合、挤出、在线混合、乙醇注入技术、冻融技术、反相蒸发、动态高压微射流、微射流混合、复乳法、冷冻干燥复乳法、3D打印、膜接触器方法和搅拌;

[0318] [98]根据[94]至[97]中任一项所述的方法,其中所述加工步骤包括通过挤出、高压微射流和/或超声处理步骤中的一个或多个来改变所述脂质体的大小的一个或多个步骤;和/或

[0319] [99]如[91]至[98]中任一项所述的方法,其中将至少1%的α聚谷氨酸化PMX的起始材料包封或包埋在所述Lp-αPPMX中。

[0320] II.α聚谷氨酸化培美曲塞(αPPMX)

[0321] 本公开总体上涉及α聚谷氨酸化培美曲塞(αPPMX)组合物。所述αPPMX组合物包含至少一个具有α键联的谷氨酰基。这些组合物在结构上不同于培美曲塞的L-γ聚谷氨酸化形式(LαPPMX),所述培美曲塞的L-γ聚谷氨酸化形式是在培美曲塞治疗过程中由细胞中的酶叶酰聚-γ-谷氨酸合成酶(FPGS)产生的。

[0322] 在一些实施方案中,所述αPPMX组合物含有2-20个、2-15个、2-10个、2-5个或超过5个谷氨酰基(包括培美曲塞中的谷氨酰基)。在一些实施方案中,除培美曲塞的谷氨酰基外,所述αPPMX中的每个谷氨酰基均具有α键联。在一些实施方案中,除一个或多个C-末端谷氨酰基和培美曲塞的谷氨酰基外,所述αPPMX中的每个谷氨酰基均具有α键联。在一些实施方案中,除一个或多个C-末端谷氨酰基外,所述αPPMX中的每个谷氨酰基均具有α键联。在一些实施方案中,所述αPPMX中的2个或更多个谷氨酰基具有γ键联。在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞的至少一个谷氨酰基具有α羧基键联和γ羧基键联两者。在一些实施方案中,所述αPPMX中的每个谷氨酰基均呈L形式。在一些实施方案中,除培美曲塞的谷氨酰基外,所述αPPMX中的每个谷氨酰基均呈D形式。在一些实施方案中,所述αPPMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基和一个或多个呈D形式的谷氨酰基。在一些实施方案中,所述αPPMX的聚谷氨酸盐链是线性的(非支化的)。在一些实施方案中,所述αPPMX的聚谷氨酸盐链是支化的。

[0323] 在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞是二谷氨酸化的。即,除培美曲塞的谷氨酰基外,所述α聚谷氨酸化培美曲塞还含有1个另外的谷氨酰基($\alpha PMX\text{-}PG_1$),并且所述另外的谷氨酰基通过α键联连接至所述培美曲塞中的谷氨酰基。在一些实施方案中,α二谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中,所述α二谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。

[0324] 在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞是三谷氨酸化的。即,除培美曲塞的谷氨酰基外,所述α聚谷氨酸化培美曲塞还含有2个另外的谷氨酰基($\alpha PMX\text{-}PG_2$)。在一些实施方案中,所述2个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在其他实施方案中,所述2个另外的谷氨酰基中的一个具有α键联,并且另一个谷氨酰基具有γ键联。在一些实施方案中,所述2个另外的谷氨酰基中的一个具有α键联。在一些实施方案中,所述2个另外的谷氨酰基中的一个具有γ键联。在一些实施方案中,三个谷氨酰基中的两个具有α键联。在其他实施方案中,三个谷氨酰基中的一个具有α键联,并且另一个谷氨酰基具有γ键联。在一些

实施方案中，一个谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，α三谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中，所述α三谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，除培美曲塞的谷氨酰基外，所述α三谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式。在另外的实施方案中，所述三谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0325] 在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是四谷氨酸化的，并且因此除培美曲塞中的谷氨酰基外还含有3个另外的谷氨酰基(αPMX-PG_3)。在一些实施方案中，所述3个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在其他实施方案中，所述3个另外的谷氨酰基中的1个或2个具有α键联，并且剩余的2个或1个谷氨酰基分别具有γ键联。在一些实施方案中，所述3个另外的谷氨酰基中的2个具有α键联。在其他实施方案中，所述3个另外的谷氨酰基中的一个具有α键联，并且另一个另外的谷氨酰基具有γ键联。在其他实施方案中，所述3个另外的谷氨酰基中的一个具有α键联和γ键联。在其他实施方案中，四个谷氨酰基中的三个具有α键联。在一些实施方案中，至少一个谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，所述α四谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述α四谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中，所述α四谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，除培美曲塞的谷氨酰基外，所述α四谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式。在另外的实施方案中，所述四谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0326] 在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是五谷氨酸化的(αPMX-PG_4)，并且含有与培美曲塞的谷氨酰基连接的4个另外的谷氨酰基的链。在一些实施方案中，所述链中的4个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，所述链中的4个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在其他实施方案中，所述4个另外的谷氨酰基中的1个、2个或3个具有α键联，并且剩余的3个、2个或1个谷氨酰基分别通过γ键联连接至分子的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述4个另外的谷氨酰基中的1个或2个具有α键联，并且剩余的非C-末端谷氨酰基通过γ键联连接至分子的谷氨酰基。在一些实施方案中，至少一个另外的谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，5个谷氨酰基中的至少一个具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，所述链中的5个谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述α五谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述α五谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中，所述α五谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，除培美曲塞的谷氨酰基外，所述α五谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式。在另外的实施方案中，所述五谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0327] 在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是六谷氨酸化的(αPMX-PG_5)，并且含有与培美曲塞的谷氨酰基连接的5个另外的谷氨酰基的链。在一些实施方案中，所述链中的5个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端

谷氨酰基外，所述链中的5个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述链中的5个另外的谷氨酰基中的4个具有α键联。在其他实施方案中，所述5个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个或4个通过α键联连接至分子的谷氨酰基，并且剩余的4个、3个、2个或1个谷氨酰基分别通过γ键联连接至分子的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述5个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个或4个具有α键联，并且剩余的非C-末端谷氨酰基通过γ键联连接至分子的谷氨酰基。在一些实施方案中，至少一个另外的谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，6个谷氨酰基中的至少一个具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，所述6个谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述6个谷氨酰基中的5个具有α键联。在一些实施方案中，所述α六谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述α六谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中，所述α六谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，除培美曲塞的谷氨酰基外，所述α六谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式。在另外的实施方案中，所述六谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0328] 在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是七谷氨酸化的(αPMX-PG_6)，并且因此含有与培美曲塞的谷氨酰基连接的6个另外的谷氨酰基的链。在一些实施方案中，所述6个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，所述链中的6个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述链中的6个另外的谷氨酰基中的5个具有α键联。在其他实施方案中，所述6个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个或5个具有α键联，并且剩余的5个、4个、3个、2个或1个谷氨酰基分别具有γ键联。在其他实施方案中，所述6个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个或5个具有α键联，并且剩余的非C-末端谷氨酰基通过γ键联连接至分子的谷氨酰基。在一些实施方案中，至少一个另外的谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，7个谷氨酰基中的至少一个具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，所述7个谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述7个谷氨酰基中的6个具有α键联。在一些实施方案中，所述α七谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述α七谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中，所述α七谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，除培美曲塞的谷氨酰基外，所述α七谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式。在另外的实施方案中，所述七谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0329] 在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是八谷氨酸化的(αPMX-PG_7)，并且因此含有与培美曲塞的谷氨酰基连接的7个另外的谷氨酰基的链。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，所述链中的7个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述链中的7个另外的谷氨酰基中的6个具有α键联。在一些实施方案中，所述7个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在其他实施方案中，所述7个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个或6个具有α键联，并且剩余的6个、5个、4个、3个、2个或1个

谷氨酰基分别具有γ键联。在其他实施方案中，所述7个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个或6个具有α键联，并且剩余的非C-末端谷氨酰基通过γ键联连接至分子的谷氨酰基。在一些实施方案中，至少一个另外的谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，8个谷氨酰基中的至少一个具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，所述8个谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述8个谷氨酰基中的7个具有α键联。在一些实施方案中，所述α八谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述α八谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中，所述α八谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，除培美曲塞的谷氨酰基外，所述α八谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式。在另外的实施方案中，所述八谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0330] 在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是九谷氨酸化的(αPMX-PG_8)，并且含有与培美曲塞的谷氨酰基连接的8个另外的谷氨酰基的链。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，所述链中的8个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述链中的8个另外的谷氨酰基中的7个具有α键联。在一些实施方案中，所述8个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在其他实施方案中，所述8个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个或7个具有α键联，并且剩余的7个、6个、5个、4个、3个、2个或1个谷氨酰基分别具有γ键联。在其他实施方案中，所述8个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个或7个具有α键联，并且剩余的非C-末端谷氨酰基通过γ键联连接至分子的谷氨酰基。在一些实施方案中，至少一个另外的谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，9个谷氨酰基中的至少一个具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，所述9个谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述9个谷氨酰基中的8个具有α键联。在一些实施方案中，所述α九谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述α九谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中，所述α九谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，除培美曲塞的谷氨酰基外，所述α九谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式。在另外的实施方案中，所述九谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0331] 在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是十谷氨酸化的(αPMX-PG_9)(即，含有与培美曲塞的谷氨酰基连接的9个另外的谷氨酰基的链)。在一些实施方案中，所述9个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，所述链中的9个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述链中的9个另外的谷氨酰基中的8个具有α键联。在其他实施方案中，所述9个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个或8个具有α键联，并且剩余的8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个或1个谷氨酰基分别具有γ键联。在其他实施方案中，所述9个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个或8个具有α键联，并且剩余的非C-末端谷氨酰基通过γ键联连接至分子的谷氨酰基。在一些实施方案中，至少一个另外的谷氨酰基具有α键联和γ键联

两者。在一些实施方案中,10个谷氨酰基中的至少一个具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中,除一个或多个C-末端谷氨酰基外,所述10个谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中,所述10个谷氨酰基中的9个具有α键联。在一些实施方案中,所述α十谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,所述α十谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中,所述α十谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,除培美曲塞的谷氨酰基外,所述α十谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式。在另外的实施方案中,所述十谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在一些实施方案中,所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中,所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0332] 在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞是十一谷氨酸化的(αPMX-PG_{10})。在一些实施方案中,所述10个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中,除一个或多个C-末端谷氨酰基外,所述链中的10个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中,所述链中的10个另外的谷氨酰基中的9个具有α键联。在其他实施方案中,所述10个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个或9个具有α键联,并且剩余的9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个或1个谷氨酰基分别具有γ键联。在其他实施方案中,所述10个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个或9个具有α键联,并且剩余的非C-末端谷氨酰基通过γ键联连接至分子的谷氨酰基。在一些实施方案中,至少一个另外的谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中,11个谷氨酰基中的至少一个具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中,除一个或多个C-末端谷氨酰基外,所述11个谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中,所述11个谷氨酰基中的10个具有α键联。在一些实施方案中,所述α十一谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,所述α十一谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中,所述α十一谷氨酸化PMX包含D谷氨酰基。在其他实施方案中,除培美曲塞的谷氨酰基外,所述α十一谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式。在另外的实施方案中,所述十一谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在一些实施方案中,所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中,所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0333] 在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞是十二谷氨酸化的(αPMX-PG_{11})。在一些实施方案中,所述11个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中,除一个或多个C-末端谷氨酰基外,所述链中的11个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中,所述链中的11个另外的谷氨酰基中的10个具有α键联。在其他实施方案中,所述11个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个具有α键联,并且剩余的10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个或1个谷氨酰基分别具有γ键联。在其他实施方案中,所述11个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个具有α键联,并且剩余的非C-末端谷氨酰基通过γ键联连接至分子的谷氨酰基。在一些实施方案中,至少一个另外的谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中,12个谷氨酰基中的至少一个具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中,除一个或多个C-末端谷氨酰基外,所述12个谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中,所述12个谷氨酰基中的11个具有α键联。在一些实施方案中,所述α十二谷氨酸化PMX包含两

个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,所述α十二谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中,所述α十二谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,除培美曲塞的谷氨酰基外,所述α十二谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式。在另外的实施方案中,所述十二谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在一些实施方案中,所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中,所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0334] 在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞是十三谷氨酸化的(αPMX-PG_{12})。在一些实施方案中,所述12个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中,除一个或多个C-末端谷氨酰基外,所述链中的12个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中,所述链中的12个另外的谷氨酰基中的11个具有α键联。在其他实施方案中,所述12个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个或11个具有α键联,并且剩余的11个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个或1个谷氨酰基分别具有γ键联。在其他实施方案中,所述12个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个或11个具有α键联,并且剩余的非C-末端谷氨酰基通过γ键联连接至分子的谷氨酰基。在一些实施方案中,至少一个另外的谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中,13个谷氨酰基中的至少一个具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中,除一个或多个C-末端谷氨酰基外,所述13个谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中,所述13个谷氨酰基中的12个具有α键联。在一些实施方案中,所述α十三谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,所述α十三谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中,所述α十三谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,除培美曲塞的谷氨酰基外,所述α十三谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式。在另外的实施方案中,所述十三谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在一些实施方案中,所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中,所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0335] 在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞是十四谷氨酸化的(αPMX-PG_{13})。在一些实施方案中,所述13个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中,除一个或多个C-末端谷氨酰基外,所述链中的13个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中,所述链中的13个另外的谷氨酰基中的12个具有α键联。在其他实施方案中,所述13个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个或12个具有α键联,并且剩余的12个、11个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个或1个谷氨酰基分别具有γ键联。在其他实施方案中,所述13个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个或12个具有α键联,并且剩余的非C-末端谷氨酰基通过γ键联连接至分子的谷氨酰基。在一些实施方案中,至少一个另外的谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中,14个谷氨酰基中的至少一个具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中,除一个或多个C-末端谷氨酰基外,所述14个谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中,所述14个谷氨酰基中的13个具有α键联。在一些实施方案中,所述α十四谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,所述α十四谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中,所述α十四谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,除培美曲塞的谷氨酰基外,所述α十

四谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式。在另外的实施方案中，所述十四谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0336] 在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是十五谷氨酸化的(αPMX-PG_{14})。在一些实施方案中，所述14个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，所述链中的14个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述链中的14个另外的谷氨酰基中的13个具有α键联。在其他实施方案中，所述14个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个或13个具有α键联，并且剩余的13个、12个、11个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个或1个谷氨酰基分别具有γ键联。在其他实施方案中，所述14个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个或13个具有α键联，并且剩余的非C-末端谷氨酰基通过γ键联连接至分子的谷氨酰基。在一些实施方案中，至少一个另外的谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，15个谷氨酰基中的至少一个具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，所述15个谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述15个谷氨酰基中的14个具有α键联。在一些实施方案中，所述α十五谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述α十五谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中，所述α十五谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，除培美曲塞的谷氨酰基外，所述α十五谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式。在另外的实施方案中，所述十五谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0337] 在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是十六谷氨酸化的(αPMX-PG_{15})。在一些实施方案中，所述15个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，所述链中的15个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述链中的15个另外的谷氨酰基中的14个具有α键联。在其他实施方案中，所述15个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个或14个具有α键联，并且剩余的14个、13个、12个、11个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个或1个谷氨酰基分别具有γ键联。在其他实施方案中，所述15个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个或14个具有α键联，并且剩余的非C-末端谷氨酰基通过γ键联连接至分子的谷氨酰基。在一些实施方案中，至少一个另外的谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，16个谷氨酰基中的至少一个具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，所述16个谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述16个谷氨酰基中的15个具有α键联。在一些实施方案中，所述α十六谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述α十六谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中，所述α十六谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，除培美曲塞的谷氨酰基外，所述α十六谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式。在另外的实施方案中，所述十六谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式

的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0338] 在其他实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是十七谷氨酸化的(αPMX-PG_{16})。在一些实施方案中，所述16个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，所述链中的16个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述链中的16个另外的谷氨酰基中的15个具有α键联。在其他实施方案中，所述16个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个或15个具有α键联，并且剩余的15个、14个、13个、12个、11个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个或1个谷氨酰基分别具有γ键联。在其他实施方案中，所述16个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个或15个具有α键联，并且剩余的非C-末端谷氨酰基通过γ键联连接至分子的谷氨酰基。在一些实施方案中，至少一个另外的谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，17个谷氨酰基中的至少一个具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，所述17个谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述17个谷氨酰基中的16个具有α键联。在一些实施方案中，所述α十七谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述α十七谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中，所述α十七谷氨酸化PMX包含D谷氨酰基。在其他实施方案中，除培美曲塞的谷氨酰基外，所述α十七谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式。在另外的实施方案中，所述十七谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0339] 在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是十八谷氨酸化的(αPMX-PG_{17})。在一些实施方案中，所述17个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，所述链中的17个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述链中的17个另外的谷氨酰基中的16个具有α键联。在其他实施方案中，所述17个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个或16个具有α键联，并且剩余的16个、15个、14个、13个、12个、11个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个或1个谷氨酰基分别具有γ键联。在其他实施方案中，所述17个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个或16个具有α键联，并且剩余的非C-末端谷氨酰基通过γ键联连接至分子的谷氨酰基。在一些实施方案中，至少一个另外的谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，18个谷氨酰基中的至少一个具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，所述18个谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述18个谷氨酰基中的17个具有α键联。在一些实施方案中，所述α十八谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述α十八谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中，所述α十八谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，除培美曲塞的谷氨酰基外，所述α十八谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式。在另外的实施方案中，所述十八谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是

线性的。在其他实施方案中,所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0340] 在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞是十九谷氨酸化的(enneadecaglutamated)(αPMX-PG_{18})。在一些实施方案中,所述18个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中,除一个或多个C-末端谷氨酰基外,所述链中的18个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中,所述链中的18个另外的谷氨酰基中的17个具有α键联。在其他实施方案中,所述18个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个或17个具有α键联,并且剩余的17个、16个、15个、14个、13个、12个、11个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个或1个谷氨酰基分别具有γ键联。在其他实施方案中,所述18个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个或17个具有α键联,并且剩余的非C-末端谷氨酰基通过γ键联连接至分子的谷氨酰基。在一些实施方案中,至少一个另外的谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中,19个谷氨酰基中的至少一个具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中,除一个或多个C-末端谷氨酰基外,所述19个谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中,所述19个谷氨酰基中的18个具有α键联。在一些实施方案中,所述α十九谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,所述α十九谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中,所述α十九谷氨酸化PMX包含D谷氨酰基。在其他实施方案中,除培美曲塞的谷氨酰基外,所述α十九谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式。在另外的实施方案中,所述十九谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在一些实施方案中,所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中,所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0341] 在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞是二十谷氨酸化的(icosiglutamated)(αPMX-PG_{19})。在一些实施方案中,所述19个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中,除一个或多个C-末端谷氨酰基外,所述链中的19个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中,所述链中的19个另外的谷氨酰基中的18个具有α键联。在其他实施方案中,所述19个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个或18个具有α键联,并且剩余的18个、17个、16个、15个、14个、13个、12个、11个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个或1个谷氨酰基分别具有γ键联。在其他实施方案中,所述19个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个或18个具有α键联,并且剩余的非C-末端谷氨酰基通过γ键联连接至分子的谷氨酰基。在一些实施方案中,至少一个另外的谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中,20个谷氨酰基中的至少一个具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中,除一个或多个C-末端谷氨酰基外,所述20个谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中,所述20个谷氨酰基中的19个具有α键联。在一些实施方案中,所述α二十谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,所述α二十谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中,所述α二十谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,除培美曲塞的谷氨酰基外,所述α二十谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式。在另外的实施方案中,所述二十谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多

个呈L形式的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0342] 在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是二十一谷氨酸化的(icosikaihenaglutamated)(αPMX-PG_{20})。在一些实施方案中，所述20个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，所述链中的20个另外的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述链中的20个另外的谷氨酰基中的19个具有α键联。在其他实施方案中，所述20个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个或19个具有α键联，并且剩余的19个、18个、17个、16个、15个、14个、13个、12个、11个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个或1个谷氨酰基分别具有γ键联。在其他实施方案中，所述20个另外的谷氨酰基中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个或19个具有α键联，并且剩余的非C-末端谷氨酰基通过γ键联连接至分子的谷氨酰基。在一些实施方案中，至少一个另外的谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，21个谷氨酰基中的至少一个具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，所述21个谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述21个谷氨酰基中的20个具有α键联。在一些实施方案中，所述α二十一谷氨酸化PMX包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述α二十一谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中，所述α二十一谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，除培美曲塞的谷氨酰基外，所述α二十一谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式。在另外的实施方案中，所述二十一谷氨酸化PMX包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0343] 在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有与培美曲塞连接的4-7个谷氨酰基的链(即，αPMX-PGn，其中n＝4-7)，并且4-7个连接的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有连接至培美曲塞的4-7个谷氨酰基的链(即，αPMX-PGn，其中n＝4-7)，并且除一个或多个C-末端谷氨酰基以外的4-7个连接的谷氨酰基中的每一个均具有α键联。在一些实施方案中，所述4-7个连接的谷氨酰基中的每一个均呈L形式。在其他实施方案中，所述4-7个连接的谷氨酰基中的每一个均呈D形式。在其他实施方案中，所述4-7个连接的谷氨酰基呈L形式和D形式。在一些实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0344] 在一个实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是四谷氨酸化的，并且与培美曲塞连接的聚谷氨酸盐链中的3个谷氨酰基中的每一个均含有α键联。在一个实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是四谷氨酸化的，并且除一个或多个C-末端谷氨酰基外，与培美曲塞连接的聚谷氨酸盐链中的3个谷氨酰基中的每一个均含有α键联。在一些实施方案中，所述4个谷氨酰基中的每一个均呈L形式。在一些实施方案中，除培美曲塞的谷氨酰基外，所述α四谷氨酸化培美曲塞中的每个谷氨酰基均呈D形式。在其他实施方案中，所述α四谷氨酸化培美曲塞中的至少两个谷氨酰基呈L形式，并且至少一个谷氨酰基呈D形式。在一些实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0345] 在一个实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是五谷氨酸化的，并且与培美曲塞

连接的聚谷氨酸盐链中的4个谷氨酰基中的每一个均含有α键联。在一个实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是五谷氨酸化的，并且除一个或多个C-末端谷氨酰基外，与培美曲塞连接的聚谷氨酸盐链中的4个谷氨酰基中的每一个均含有α键联。在一些实施方案中，所述4个谷氨酰基中的每一个均呈L形式。在一些实施方案中，除培美曲塞的谷氨酰基外，所述α五谷氨酸化培美曲塞中的每个谷氨酰基均呈D形式。在其他实施方案中，所述α五谷氨酸化培美曲塞中的至少两个谷氨酰基呈L形式，并且至少一个谷氨酰基呈D形式。在一些实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0346] 在一个实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是六谷氨酸化的，并且与培美曲塞连接的聚谷氨酸盐链中的5个谷氨酰基中的每一个均含有α键联。在一个实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是六谷氨酸化的，并且除一个或多个C-末端谷氨酰基外，与培美曲塞连接的聚谷氨酸盐链中的5个谷氨酰基中的每一个均含有α键联。在一些实施方案中，所述5个谷氨酰基中的每一个均呈L形式。在一些实施方案中，除培美曲塞的谷氨酰基外，所述α六谷氨酸化培美曲塞中的每个谷氨酰基均呈D形式。在其他实施方案中，所述α六谷氨酸化培美曲塞中的至少两个谷氨酰基呈L形式，并且至少一个谷氨酰基呈D形式。在一些实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0347] 在另一个实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是七谷氨酸化的，并且与培美曲塞连接的聚谷氨酸盐链中的6个谷氨酰基中的每一个均含有α键联。在另一个实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是七谷氨酸化的，并且除一个或多个C-末端谷氨酰基外，与培美曲塞连接的聚谷氨酸盐链中的6个谷氨酰基中的每一个均含有α键联。在一些实施方案中，所述6个谷氨酰基中的每一个均呈L形式。在一些实施方案中，除培美曲塞的谷氨酰基外，所述α七谷氨酸化培美曲塞中的每个谷氨酰基均呈D形式。在其他实施方案中，所述α七谷氨酸化培美曲塞中的至少两个谷氨酰基呈L形式，并且至少一个谷氨酰基呈D形式。在一些实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中，所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0348] 在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞(αPPMX)含有总计1-15个、1-10个、2-15个、2-10个、3-15个、3-10个、3-6个、3-5个、4-10个、4-7个或4-6个谷氨酰基，包括培美曲塞中的谷氨酰基，或其间的任何范围。在一些实施方案中，除培美曲塞的谷氨酰基外，所述αPPMX中的每个谷氨酰基均具有α键联。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基和培美曲塞的谷氨酰基外，所述αPPMX中的每个谷氨酰基均具有α键联。在一些实施方案中，除一个或多个C-末端谷氨酰基外，所述αPPMX中的每个谷氨酰基均具有α键联。在一些实施方案中，所述αPPMX中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个或14个谷氨酰基具有α键联。在一些实施方案中，所述αPPMX包含呈L形式和D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述αPPMX中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个或14个谷氨酰基具有α键联，并且13个、12个、11个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个、1个谷氨酰基分别具有γ键联或没有一个谷氨酰基具有γ键联。在一些实施方案中，所述聚谷氨酸化培美曲塞的聚谷氨酸盐结构中的每个谷氨酰基均呈L形式。在一些实施方案中，除培美曲塞的谷氨酰基外，所述αPPMX中的每个谷氨酰基均呈D形式。在一个实施方案中，所述αPPMX中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个或15个谷氨酰基呈L形式。在另一个实施方案中，所述αPPMX中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个或14个谷氨酰基呈D形式。在一些实施方案

中,所述聚谷氨酸盐链是线性的。在其他实施方案中,所述聚谷氨酸盐链是支化的。

[0349] 在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞(αPPMX)含有总计2-20个、2-15个、2-10个、2-5个谷氨酰基,包括培美曲塞中的谷氨酰基,或其间的任何范围。在一些实施方案中,除培美曲塞的谷氨酰基外,所述αPPMX中的每个谷氨酰基均具有α键联。在一些实施方案中,除一个或多个C-末端谷氨酰基和培美曲塞的谷氨酰基外,所述αPPMX中的每个谷氨酰基均具有α键联。在一些实施方案中,除一个或多个C-末端谷氨酰基外,所述αPPMX中的每个谷氨酰基均具有α键联。在其他实施方案中,1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个或19个谷氨酰基具有α键联。在一些实施方案中,所述αPPMX含有两个或更多个具有γ键联的谷氨酰基。在其他实施方案中,除培美曲塞的谷氨酰基外,所述αPPMX中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个或19个谷氨酰基具有α键联,并且19个、18个、17个、16个、15个、14个、13个、12个、11个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个、1个谷氨酰基分别具有γ键联或没有一个谷氨酰基具有γ键联。在一些实施方案中,所述αPPMX中的每个谷氨酰基均呈L形式。在一些实施方案中,除培美曲塞的谷氨酰基外,所述αPPMX中的每个谷氨酰基均呈D形式。在一个实施方案中,所述αPPMX中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个或20个谷氨酰基呈L形式。在另一个实施方案中,所述αPPMX中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个或19个谷氨酰基呈D形式。

[0350] 在一些实施方案中,除培美曲塞中的谷氨酰基外,所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有总计1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个或15个谷氨酰基)。在其他实施方案中,1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个或15个另外的谷氨酰基具有α键联。在另外的实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞中的14个、13个、12个、11个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个或1个谷氨酰基具有γ键联。在一些实施方案中,至少一个谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中,培美曲塞中的谷氨酰基具有α键联。在一些实施方案中,培美曲塞中的谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。

[0351] 在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞中总计1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个或15个谷氨酰基呈L形式、D形式或呈L形式和D形式。在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中,除培美曲塞的谷氨酰基外,所述α聚谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式。在替代实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞中的至少两个谷氨酰基呈L形式,并且所述α聚谷氨酸化培美曲塞中的至少一个谷氨酰基呈D形式。在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个或16个谷氨酰基呈L形式。在其他实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个或14个谷氨酰基呈D形式。

[0352] 在另外的实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有20-100个、20-75个、20-50个、20-40个、20-30个、20-25个或超过100个α谷氨酰基,或其间的任何范围。在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈L形式。在其他实施方案中,除培美曲塞的谷氨酰基外,所述α聚谷氨酸化培美曲塞的每个谷氨酰基均呈D形式。在替代实施方案

中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞中的至少两个谷氨酰基呈L形式，并且所述α聚谷氨酸化培美曲塞中的至少一个谷氨酰基呈D形式。

[0353] 在另外的实施方案中，所提供的组合物包含α聚谷氨酸化培美曲塞，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、1-10个或1-20个具有α键联的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、1-10个或1-20个呈L形式的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有0个、1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、1-10个或1-20个呈D形式的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、1-10个或1-20个呈L形式的谷氨酰基和0个、1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或1-10个或1-20个呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有至少1个具有α键联和γ键联两者的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、1-10个或超过10个具有α键联和γ键联两者的谷氨酰基。

[0354] 在一些实施方案中，所述α-聚谷氨酸化培美曲塞含有至少1个具有α键联的谷氨酰基，并且含有2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、1-10个、1-20个或更多个具有γ键联的谷氨酰基。例如，在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或1-10个L-α谷氨酰基键联，并且还含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或1-10个L-γ谷氨酰基键联。在一些其他实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或1-10个L-α谷氨酰基键联，并且还含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或1-10个D-γ谷氨酰基键联。在另外的其他实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或1-10个D-α谷氨酰基键联，并且还含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或1-10个D-γ谷氨酰基键联。在其他实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或1-10个D-γ谷氨酰基键联，并且还含有1个、2个、3个、4个、5个、6个或1-10个L-γ谷氨酰基键联。在其他实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有至少1个具有α键联和γ键联两者的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、1-10个或超过10个具有α键联和γ键联两者的谷氨酰基。

[0355] 在一些实施方案中，本文提供的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物能够接受一个或多个另外的谷氨酰基，即所述组合物能够充当FPGS(叶酰聚谷氨酸合成酶)的底物。用于确定α聚谷氨酸化培美曲塞组合物充当FPGS(例如，人FPGS或大鼠肝FPGS)的底物的能力的试剂以及测定和试剂可容易获得并且可常规地进行。

[0356] 在一些实施方案中，与在生理条件下培美曲塞的摄取率相比，肝细胞对本文公开的裸αPPMX组合物(例如，不与递送媒介物缔合的αPPMX)的摄取率显著降低。在一些实施方案中，与培美曲塞的率相比，裸αPPMX组合物的肝细胞摄取率小于30％、20％、15％或10％。在其他实施方案中，与培美曲塞的率相比，本文公开的αPPMX组合物从肝细胞的外排(转运出)率以与培美曲塞相比显著降低的率(例如，小于30％、20％、15％或10％)发生。

[0357] 在一些实施方案中，与培美曲塞相比，本文提供的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物对过度增殖性细胞的细胞毒性更高。在一些实施方案中，所述过度增殖性细胞是癌细胞。在一些实施方案中，所述过度增殖性细胞是结肠直肠癌细胞、结肠癌细胞、乳腺癌细胞或卵巢癌

细胞。在一些实施方案中，所述癌细胞是间皮瘤细胞或非小细胞肺癌细胞。在一些实施方案中，在体外测定中测量细胞毒性。在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是六谷氨酸化培美曲塞。

[0358] 在一些实施方案中，与培美曲塞相比，本文提供的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物具有更低的毒性副作用。在一些实施方案中，与培美曲塞相比，本文提供的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物对非过度增殖性细胞的毒性更低。在一些实施方案中，与培美曲塞相比，本文提供的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物对嗜中性粒细胞、肝细胞或结肠上皮细胞的毒性更低。在一些实施方案中，嗜中性粒细胞是人嗜中性粒细胞、分化人嗜中性粒细胞或从CD34+细胞分化的嗜中性粒细胞。在一些实施方案中，肝细胞是AML12肝细胞。在一些实施方案中，结肠上皮细胞是CCD841结肠上皮细胞。在一些实施方案中，在体外测定中测量毒性。在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是六谷氨酸化培美曲塞。

[0359] 在一些实施方案中，与培美曲塞相比，本文提供的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物具有更低的毒性副作用。在一些实施方案中，与培美曲塞相比，本文提供的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物在体内测定中引起更少或不太严重的副作用。在一些实施方案中，体内测定是体内鼠模型。在一些实施方案中，与培美曲塞相比，本文提供的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物引起更少或不太严重的血液学或肝毒性副作用。在一些实施方案中，通过测量平均嗜中性粒细胞、平均白细胞或平均血小板计数来评估血液学副作用。在一些实施方案中，通过测量血清天冬氨酸转氨酶(AST)、血清丙氨酸转氨酶(ALT)和/或血清白蛋白水平来评估肝毒性副作用。在一些实施方案中，体内测定包括每周一次施用40mg/kg或80mg/kg的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物持续4周。在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是六谷氨酸化培美曲塞。

[0360] 在一些实施方案中，用本文提供的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物治疗在体内鼠模型中不诱导显著血液学或肝毒性副作用。在一些实施方案中，通过测量平均嗜中性粒细胞、平均白细胞或平均血小板计数来评估血液学副作用。在一些实施方案中，通过测量血清天冬氨酸转氨酶(AST)、血清丙氨酸转氨酶(ALT)和/或血清白蛋白水平来评估肝毒性副作用。在一些实施方案中，本文提供的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物不会显著降低平均嗜中性粒细胞、平均白细胞或平均血小板计数。在一些实施方案中，本文提供的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物不会显著增加血清天冬氨酸转氨酶(AST)和血清丙氨酸转氨酶(ALT)水平。在一些实施方案中，本文提供的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物不会显著降低血清白蛋白水平。在一些实施方案中，体内测定包括每周一次施用40mg/kg或80mg/kg的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物持续4周。在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞是六谷氨酸化培美曲塞。

[0361] 在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞组合物不含氟原子。在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞组合物不含4-氟谷氨酰基。

[0362] α聚谷氨酸化培美曲塞(αPPMX)组合物及其用途在美国申请号62/374,458、15/675,695、15/675,701和62/583,432以及国际申请号PCT/US2017/046666和PCT/US2017/046667中的每一个中进一步公开，所述申请各自的内容以引用的方式整体并入本文。

[0363] A.聚谷氨酸化培美曲塞类似物和衍生物

[0364] 本公开还涵盖α聚谷氨酸化培美曲塞衍生物和类似物。设想本文公开的组合物和方法适用于聚谷氨酸化培美曲塞的任何和每种已知的衍生物或类似物。在一些实施方案

中,根据公开的组合物和方法制备和使用的聚谷氨酸化培美曲塞类似物或衍生物组合物描绘于图1I-1J中。在一些实施方案中,所述类似物对应于培美曲塞的经修饰的形式,其中培美曲塞的谷氨酰基不通过γ肽键联连接至培美曲塞分子的其余部分。在一些实施方案中,所述类似物是培美曲塞的变体形式,其中培美曲塞的谷氨酰基呈D形式。在一些实施方案中,培美曲塞的聚谷氨酸化形式或聚谷氨酸化培美曲塞类似物或衍生物未氟化。

[0365] 在另外的实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞衍生物或类似物具有变体聚谷氨酸盐链。在一些实施方案中,所述聚谷氨酸盐链含有除谷氨酸盐以外的一个或多个天然或合成残基。在一些实施方案中,所述聚谷氨酸盐链含有一个或多个不包含酰胺键联的谷氨酰基。在其他实施方案中,所述聚谷氨酸盐链的一个或多个谷氨酰基被衍生化。

[0366] B.PMX-PG合成

[0367] 本文提供的培美曲塞聚谷氨酸盐组合物可通过本领域已知的以下合成程序获得。用于合成培美曲塞(包括不同的药学上可接受的盐或酸(例如培美曲塞二钠)以及结晶形式和非晶形形式)的程序以及用于合成培美曲塞的中间体包括但不限于美国专利号8,507,508、8,362,245、7,138,521、6,262,262、6,066,732、5,416,211、5,344,932;美国申请公布号US2013/0165654A1;欧洲专利号EP 0905128、EP 2882753B1、EP 0905128和EP 2409978B1;国际申请公布号WO 2014/024164A1、WO 2012/056285A1、WO 2008/021410A1和WO2001/14379A2以及Barnett等人,Org.Proc Res&Develop.3:184-188(1999);Taylor等人,J.Org.Chem.68:9938-9947(2003);Taylor等人,Tetrahedron Lett.40:4023(1999);Barnett等人,Org.Proc.Res.&Develop.3:184-188(1999)和Kjell等人,Org.Proc.Res.Dev.9:738(2005)中描述的那些。

[0368] 可使用本领域已知的合成程序将谷氨酰基残基添加至培美曲塞的谷氨酰基残基。在一些实施方案中,将谷氨酰基残基连续添加至培美曲塞的谷氨酰基残基。在另外的实施方案中,使用“点击化学”方法或本领域技术人员已知的其他生物缀合物化学将聚谷氨酸盐添加至培美曲塞的谷氨酰基残基。或者,可产生所需长度的谷氨酰基残基的肽,并将其添加至不具有谷氨酰基残基的培美曲塞的前体中。可使用本领域中已知的合成方法来产生肽。在一些实施方案中,将初始谷氨酰基残基键合至王氏树脂,并且使用F-moc化学经由固相肽合成连续添加另外的谷氨酰基残基。添加最终的谷氨酰基残基后,将培美曲塞前体与肽偶联,并且从所述树脂上裂解分子。

[0369] C.培美曲塞-PG复合物

[0370] 本发明人出人意料地发现,聚谷氨酸化培美曲塞(αPPMX)能够与包括治疗剂的其他组合物形成复合物,所述治疗剂包括细胞毒性化合物,如基于铂的化合物。因此,在一些实施方案中,本公开提供了一种αPPMX(例如,本文公开的αPPMX)与治疗剂或其盐或酸的复合物。

[0371] 在一些实施方案中,所述αPPMX/复合物包含αPPMX和治疗剂。在一些实施方案中,所述治疗剂是细胞毒性化合物,如化学治疗剂。在其他实施方案中,所述αPPMX/复合物含有基于铂的药物,如基于铂的化学治疗剂(例如,顺铂、卡铂和奥沙利铂)。在其他实施方案中,所述αPPMX/复合物含有基于紫杉烷的化学治疗剂(例如,紫杉醇和多西他赛)。在其他实施方案中,所述αPPMX/复合物含有环糊精。在其他实施方案中,所述αPPMX/复合物被包封在脂质体中。

[0372] 在一些实施方案中，本公开提供了一种组合物，所述组合物包含αPPMX与治疗剂或其盐或酸的复合物。在其他实施方案中，所述αPPMX/治疗剂复合物包含一种或多种含2-150个、2-100个、2-75个、2-50个、2-24个、2-30个、2-20个、2-19个、2-15个、2-10个或2-5个谷氨酰基的αPPMX。在一些实施方案中，所述αPPMX/治疗剂复合物包含一种或多种含3-10个、3-9个、3-8个或3-7个谷氨酰基或其间的任何范围的αPPMX。在其他实施方案中，所述αPPMX/治疗剂复合物包含一种或多种含4-10个、4-9个、4-8个、4-7个、4-6个或4-5个谷氨酰基或其间的任何范围的αPPMX。在一个特定的实施方案中，所述复合物包含一种或多种含3-10个谷氨酰基的αPPMX。在其他实施方案中，所述αPPMX/治疗剂复合物包含一种或多种含3-7个谷氨酰基的αPPMX。在另一个实施方案中，所述αPPMX/治疗剂复合物包含一种或多种含5个谷氨酰基的αPPMX。在另一个实施方案中，所述αPPMX/治疗剂复合物包含一种或多种含6个谷氨酰基的αPPMX。在一些实施方案中，治疗剂是细胞毒性化合物或其盐或酸。在另一实施方案中，治疗剂是化学治疗剂或其盐或酸。在另一个实施方案中，治疗剂是基于铂的药物。在另一个实施方案中，治疗剂是基于紫杉烷的药物。在另外的实施方案中，所述复合物中αPPMX/治疗剂的摩尔比在1-10:1的范围内。在一些实施方案中，所述复合物中αPPMX/治疗剂的摩尔比是1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在一些实施方案中，所述复合物中αPPMX/治疗剂的摩尔比是：1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在一些实施方案中，所述αPPMX/治疗剂复合物被包封在脂质体中(例如，如本文所述或本领域另外已知的)。

[0373] 在替代实施方案中，所述αPPMX复合物包含αPPMX和环糊精。在一些实施方案中，所述复合物中αPPMX(例如，αPPMX盐)/环糊精的摩尔比在1-20:1的范围内，或其间的任何范围。在一些实施方案中，所述复合物中αPPMX/环糊精的摩尔比在1-10:1的范围内，或其间的任何范围。在其他实施方案中，所述复合物中αPPMX/环糊精的摩尔比在2-8:1的范围内，或其间的任何范围。在一些实施方案中，所述复合物中αPPMX/环糊精的摩尔比是：1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在其他实施方案中，所述复合物中αPPMX/环糊精的摩尔比在1:1-20、1:1-10或1:2-8的范围内，或其间的任何范围。在一些实施方案中，所述复合物中αPPMX/环糊精的摩尔比是：1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在一些实施方案中，所述αPPMX/环糊精复合物被包封在脂质体中(例如，如本文所述或本领域另外已知的)。

[0374] 在一些实施方案中，本公开提供了一种组合物，所述组合物包含αPPMX/基于铂的化学治疗剂复合物。在一些实施方案中，基于铂的化学治疗剂选自由以下组成的组：顺铂、卡铂和奥沙利铂，或其盐或酸。在其他实施方案中，所述αPPMX/基于铂的化学治疗剂复合物包含顺铂、卡铂、奥沙利铂的类似物，或其盐或酸。在一些实施方案中，所述复合物中αPPMX/基于铂的剂的摩尔比在1-20:1的范围内，或其间的任何范围。在一些实施方案中，所述复合物中αPPMX/基于铂的剂的摩尔比在1-10:1的范围内，或其间的任何范围。在其他实施方案中，所述复合物中αPPMX/基于铂的剂的摩尔比在2-8:1的范围内，或其间的任何范围。在一些实施方案中，所述复合物中αPPMX/基于铂的剂的摩尔比是1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>

50:1。在其他实施方案中,所述复合物中αPPMX/基于铂的化学治疗剂的摩尔比在1:1-20、1:1-10或1:2-8的范围内,或其间的任何范围。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/基于铂的剂的摩尔比是:1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在另外的实施方案中,所述αPPMX//基于铂的剂复合物被包封在脂质体中(例如,如本文所述或本领域另外已知的)。

[0375] 在另外的实施方案中,所述αPPMX/基于铂的化学治疗剂复合物包含顺铂、卡铂、奥沙利铂的类似物,或其盐或酸。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/基于铂的类似物的摩尔比在1-20:1的范围内,或其间的任何范围。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/基于铂的类似物的摩尔比在1-10:1的范围内,或其间的任何范围。在其他实施方案中,所述复合物中αPPMX/基于铂的剂的摩尔比在2-8:1的范围内,或其间的任何范围。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/基于铂的类似物的摩尔比是11:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/基于铂的剂的摩尔比是:1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在另外的实施方案中,所述αPPMX//基于铂的类似物复合物被包封在脂质体中(例如,如本文所述或本领域另外已知的)。

[0376] 在其他实施方案中,本公开提供了一种复合物,所述复合物含有αPPMX和顺铂或其盐或酸。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/顺铂(或顺铂盐或酸)的摩尔比在1-20:1的范围内,或其间的任何范围。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/顺铂(或顺铂盐或酸)的摩尔比在1-10:1的范围内,或其间的任何范围。在其他实施方案中,所述复合物中αPPMX/顺铂(或顺铂盐或酸)的摩尔比在2-8:1的范围内,或其间的任何范围。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/顺铂(或顺铂盐或酸)的摩尔比是1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/顺铂(或顺铂盐或酸)的摩尔比是:1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在另外的实施方案中,所述αPPMX//顺铂(或顺铂盐或酸)复合物被包封在脂质体中(例如,如本文所述或本领域另外已知的)。

[0377] 在另一个实施方案中,本公开提供了一种复合物,所述复合物含有αPPMX和卡铂或其盐或酸。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/卡铂(或卡铂盐或酸)的摩尔比在1-20:1的范围内,或其间的任何范围。在其他实施方案中,所述复合物中αPPMX/卡铂(或卡铂盐或酸)的摩尔比在1-10:1的范围内,或其间的任何范围。在其他实施方案中,所述复合物中αPPMX/卡铂(或卡铂盐或酸)的摩尔比在2-8:1的范围内,或其间的任何范围。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/卡铂(或卡铂盐或酸)的摩尔比是1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/环糊精的摩尔比是:1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在另外的实施方案中,所述αPPMX/卡铂(或卡铂盐或酸)复合物被包封在脂质体中(例如,如本文所述或本领域另外已知的)。

[0378] 在另一个实施方案中,本公开提供了一种复合物,所述复合物含有αPPMX和奥沙利

铂或其盐或酸。在一些实施方案中，所述复合物中αPPMX/奥沙利铂(或奥沙利铂盐或酸)的摩尔比在1-20:1的范围内，或其间的任何范围。在其他实施方案中，所述复合物中αPPMX/奥沙利铂(或奥沙利铂盐或酸)的摩尔比在1-10:1的范围内，或其间的任何范围。在其他实施方案中，所述复合物中αPPMX/奥沙利铂(或奥沙利铂盐或酸)的摩尔比在2-8:1的范围内，或其间的任何范围。在一些实施方案中，所述复合物中αPPMX/奥沙利铂(或奥沙利铂盐或酸)的摩尔比是1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在一些实施方案中，所述复合物中αPPMX/奥沙利铂(或奥沙利铂盐或酸)的摩尔比是：1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在另外的实施方案中，所述αPPMX/奥沙利铂(或奥沙利铂盐或酸)复合物被包封在脂质体中(例如，如本文所述或本领域另外已知的)。

[0379] 在另外的实施方案中，本公开提供了一种复合物，所述复合物包含αPPMX和选自由以下组成的组的基于铂的化学治疗剂(“铂”)：奈达铂、庚铂、洛铂、赛特铂(stratoplatin)、卡铂(paraplatin)、顺铂(platinol)、环铂、右奥马铂、螺铂、吡铂、三铂、四铂、异丙铂、奥马铂、折尼铂、铂-三胺、traplatin、恩洛铂、JM216、NK121、CI973、DWA 2114R、NDDP和dedaplatin，或其盐或酸。在其他实施方案中，所述αPPMX/基于铂的化学治疗剂复合物包含奈达铂、庚铂、洛铂、赛特铂、卡铂、顺铂、环铂、右奥马铂、螺铂、吡铂、三铂、四铂、异丙铂、奥马铂、折尼铂、铂-三胺、traplatin、恩洛铂、JM216、NK121、CI973、DWA 2114R、NDDP或dedaplatin的类似物，或其盐或酸。在一些实施方案中，所述复合物中αPPMX/铂(或铂盐或酸)的摩尔比在1-20:1的范围内，或其间的任何范围。在其他实施方案中，所述复合物中αPPMX/铂(或铂盐或酸)的摩尔比在1-10:1的范围内，或其间的任何范围。在其他实施方案中，所述复合物中αPPMX/铂(或铂盐或酸)的摩尔比在2-8:1的范围内，或其间的任何范围。在一些实施方案中，所述复合物中αPPMX/铂(或铂盐或酸)的摩尔比是1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在一些实施方案中，所述复合物中αPPMX/铂(或铂盐或酸)的摩尔比是：1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在另外的实施方案中，所述αPPMX/铂(或其盐或酸或类似物)复合物被包封在脂质体中(例如，如本文所述或本领域另外已知的)。

[0380] 在一些实施方案中，本公开提供了一种组合物，所述组合物包含αPPMX/基于紫杉烷的化学治疗剂(紫杉烷)复合物。在一些实施方案中，所述基于紫杉烷的化学治疗剂选自由以下组成的组：紫杉醇(PTX)、多西他赛(DTX)、拉洛他赛(LTX)和卡巴他赛(CTX)，或其盐或酸。在一些实施方案中，所述复合物中αPPMX/基于紫杉烷的剂的摩尔比在1-20:1的范围内，或其间的任何范围。在其他实施方案中，所述复合物中αPPMX/紫杉烷(或紫杉烷盐或酸)的摩尔比在1-10:1的范围内，或其间的任何范围。在其他实施方案中，所述复合物中αPPMX/紫杉烷(或紫杉烷盐或酸)的摩尔比在2-8:1的范围内，或其间的任何范围。在一些实施方案中，所述复合物中αPPMX/紫杉烷(或紫杉烷盐或酸)的摩尔比是1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在一些实施方案中，所述复合物中αPPMX/紫杉烷(或紫杉烷盐或酸)的摩尔比是：1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、

1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在另外的实施方案中,所述αPPMX/基于紫杉烷的剂复合物被包封在脂质体中(例如,如本文所述或本领域另外已知的)。

[0381] 在另外的实施方案中,本公开提供了一种复合物,所述复合物包含αPPMX和紫杉醇(PTX)或其盐或酸。在其他实施方案中,所述αPPMX/基于紫杉烷的化学治疗剂复合物包含紫杉醇(PTX)的类似物或其盐或酸。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/紫杉醇(或紫杉醇盐或酸)的摩尔比在1-20:1的范围内,或其间的任何范围。在其他实施方案中,所述复合物中αPPMX/紫杉醇(或紫杉醇盐或酸)的摩尔比在1-10:1的范围内,或其间的任何范围。在其他实施方案中,所述复合物中αPPMX/紫杉醇(或紫杉醇盐或酸)的摩尔比在2-8:1的范围内,或其间的任何范围。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/紫杉醇(或紫杉醇盐或酸)的摩尔比是1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/紫杉醇(或紫杉醇盐或酸)的摩尔比是:1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在另外的实施方案中,所述αPPMX/紫杉醇(或紫杉醇盐或酸)复合物被包封在脂质体中(例如,如本文所述或本领域另外已知的)。

[0382] 在另外的实施方案中,本公开提供了一种复合物,所述复合物包含αPPMX和多西他赛(DTX)或其盐或酸。在其他实施方案中,所述αPPMX/基于紫杉烷的化学治疗剂复合物包含多西他赛(DTX)的类似物或其盐或酸。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/多西他赛(或多西他赛盐或酸)的摩尔比在1-20:1的范围内,或其间的任何范围。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/多西他赛(或多西他赛盐或酸)的摩尔比在1-10:1的范围内,或其间的任何范围。在其他实施方案中,所述复合物中αPPMX/多西他赛(或多西他赛盐或酸)的摩尔比在2-8:1的范围内,或其间的任何范围。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/多西他赛(或多西他赛盐或酸)的摩尔比是1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/多西他赛(或多西他赛盐或酸)的摩尔比是:1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在另外的实施方案中,所述αPPMX/多西他赛(或多西他赛盐或酸)复合物被包封在脂质体中(例如,如本文所述或本领域另外已知的)。

[0383] 在另外的实施方案中,本公开提供了一种复合物,所述复合物包含αPPMX和拉洛他赛(LTX)或其盐或酸。在其他实施方案中,所述αPPMX/基于紫杉烷的化学治疗剂复合物包含拉洛他赛(LTX)的类似物或其盐或酸。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/拉洛他赛(或拉洛他赛盐或酸)的摩尔比在1-20:1的范围内,或其间的任何范围。在其他实施方案中,所述复合物中αPPMX/拉洛他赛(或拉洛他赛盐或酸)的摩尔比在1-10:1的范围内,或其间的任何范围。在其他实施方案中,所述复合物中αPPMX/拉洛他赛(或拉洛他赛盐或酸)的摩尔比在2-8:1的范围内,或其间的任何范围。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/拉洛他赛(或拉洛他赛盐或酸)的摩尔比是1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/拉洛他赛(或拉洛他赛盐或酸)的摩尔比是:1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-

50)或1:>50。在另外的实施方案中,所述αPPMX/拉洛他赛(或拉洛他赛盐或酸)复合物被包封在脂质体中(例如,如本文所述或本领域另外已知的)。

[0384] 在另外的实施方案中,本公开提供了一种复合物,所述复合物包含αPPMX和卡巴他赛(CTX)或其盐或酸。在其他实施方案中,所述αPPMX/基于紫杉烷的化学治疗剂复合物包含卡巴他赛(CTX)的类似物或其盐或酸。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/卡巴他赛(或卡巴他赛盐或酸)的摩尔比在1-20:1的范围内,或其间的任何范围。在其他实施方案中,所述复合物中αPPMX/卡巴他赛(或卡巴他赛盐或酸)的摩尔比在1-10:1的范围内,或其间的任何范围。在其他实施方案中,所述复合物中αPPMX/卡巴他赛(或卡巴他赛盐或酸)的摩尔比在2-8:1的范围内,或其间的任何范围。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/卡巴他赛(或卡巴他赛盐或酸)的摩尔比是1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/卡巴他赛(或卡巴他赛盐或酸)的摩尔比是:1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在另外的实施方案中,所述αPPMX/卡巴他赛(或卡巴他赛盐或酸)复合物被包封在脂质体中(例如,如本文所述或本领域另外已知的)。

[0385] 在另外的实施方案中,本公开提供了一种复合物,所述复合物包含αPPMX和另一种抗代谢药或其盐或酸。抗代谢药为一种化学物质,其结构类似于正常生物化学反应所需的代谢物,但与代谢物的不同之处足以干扰细胞的一种或多种正常功能(诸如细胞分裂)。在一些实施方案中,本公开提供了一种复合物,所述复合物包含αPPMX和培美曲塞(PMX)或其盐或酸。在一些实施方案中,本公开提供了一种复合物,所述复合物包含αPPMX和选自由以下组成的组的抗代谢药:吉西他滨、氟尿嘧啶、卡培他滨、抗叶酸剂(例如,氨甲蝶呤、雷替曲塞)、替加氟、阿糖胞苷、硫鸟嘌呤、5-氮杂胞苷、6-巯基嘌呤、硫唑嘌呤、6-硫鸟嘌呤、喷司他丁、磷酸氟达拉滨和克拉屈滨,以及这些中的任一者的药学上可接受的盐或酸、酸或衍生物。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/抗代谢药(或抗代谢药盐或酸)的摩尔比在1-20:1的范围内,或其间的任何范围。在其他实施方案中,所述复合物中αPPMX/抗代谢药(或抗代谢药盐或酸)的摩尔比在1-10:1的范围内,或其间的任何范围。在其他实施方案中,所述复合物中αPPMX/抗代谢药(或抗代谢药盐或酸)的摩尔比在2-8:1的范围内,或其间的任何范围。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/抗代谢药(或抗代谢药盐或酸)的摩尔比是1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/抗代谢药(或抗代谢药盐或酸)的摩尔比是1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在另外的实施方案中,所述αPPMX/抗代谢药(或抗代谢药盐或酸)复合物被包封在脂质体中(例如,如本文所述或本领域另外已知的)。

[0386] 在另外的实施方案中,本公开提供了αPPMX(例如,本文公开的αPPMX)和环糊精的复合物。环糊精(CD)是已显示通过形成复合物来改善许多药物的物理化学性质的多组环状寡糖。CD是由若干通过α-(1,4)键连接的D-葡萄糖单元组成的环状寡糖。这种环状构型提供了疏水性内部空腔,并且使CD呈截头圆锥形。许多羟基位于环的边缘,这使得CD亲脂性且可溶于水。结果,CD能够与各种各样的疏水剂形成复合物,并且因此改变这些络合剂的物理-

化学性质。

[0387] 除非本文另有说明，否则术语“环糊精”或“CD”通常是指含有可变数目的(α-1,4)-连接的D-吡喃葡萄糖苷单元的母体或衍生的环状寡糖，其能够与培美曲塞-PG形成复合物。每个环糊精吡喃葡萄糖苷亚基在2位和3位具有仲羟基，并且在6位具有伯羟基。术语“母体”、“未衍生化”或“惰性”环糊精是指含有具有基本式$C_6H_{12}O_6$的D-吡喃葡萄糖苷单元和葡萄糖结构而没有任何另外的化学取代的环糊精(例如，由6个D-吡喃葡萄糖苷单元组成的α-环糊精，由7个D-吡喃葡萄糖苷单元组成的β-环糊精，和由8个D-吡喃葡萄糖苷单元组成的γ-环糊精)。母体环糊精的物理和化学性质可通过将羟基与其他官能团衍生化来进行修饰。位于环糊精内相内的任何物质都被称为与环糊精“复合”，或者与环糊精形成了复合物(包合复合物)。

[0388] 如本文所用，对αPPMX/环糊精复合物的环糊精组分没有特别限制，只要环糊精可与αPPMX形成复合物即可。在特定实施方案中，环糊精已经被衍生化以携带可电离的(例如，弱碱性和/或弱酸性)官能团，以促进与αPPMX的复合物形成和/或脂质体包封。

[0389] 已知用可电离的化学基团修饰环糊精的羟基(如背对环糊精内相的那些羟基)可促进环糊精和与环糊精复合的治疗剂的负载。在一些实施方案中，所述αPPMX/环糊精复合物的环糊精具有至少2个、3个、4个、5个、6个、6个、7个、8个、9个或10个被可电离的化学基团取代的羟基。术语“带电荷的环糊精”是指其一个或多个羟基被带电荷的部分取代的环糊精。这样的部分本身可以是带电荷的基团，或者它可包含被一个或多个带电荷的部分取代的有机部分(例如，C_1-C_6烷基或C_1-C_6烷基醚部分)。

[0390] 在一些实施方案中，CD衍生物的“可电离的”或“带电荷的”部分是弱可电离的。弱可电离部分是弱碱性或弱酸性的那些部分。根据CH3-W，弱碱性官能团(W)的pKa介于约6.0-9.0、6.5-8.5、7.0-8.0、7.5-8.0之间，以及其间的任何范围及其间的任何范围(包括端点)。同样，根据CH3-X，弱酸性官能团(X)的对数解离常数(pKa)介于约3.0-7.0、4.0-6.5、4.5-6.5、5.0-6.0、5.0-5.5之间，以及其间的任何范围及其间的任何范围(包括端点)。代表性的阴离子部分包括但不限于羧酸根、羧甲基、琥珀酰基、磺酰基、磷酸根、磺烷基醚、硫酸根碳酸根、硫代碳酸根、二硫代碳酸根、磷酸根、膦酸根、磺酸根、硝酸根和硼酸根基团。代表性的阳离子部分包括但不限于氨基、胍和季铵基团。

[0391] 在另一个实施方案中，衍生化的环糊精是“聚阴离子”或“聚阳离子”。聚阴离子是具有多于一个带负电基团、从而导致多于两个单元的净负离子电荷的衍生化的环糊精。聚阳离子是具有多于一个带正电的基团、从而导致多于两个单元的净正离子电荷的衍生化的环糊精。

[0392] 在另一个实施方案中，衍生化的环糊精是“可带电荷的两亲物”。“可带电荷的”是指两亲物的pK在pH 4至pH 8或8.5的范围内。因此，可带电荷的两亲物可以是弱酸或弱碱。本文中的“两性”是指具有阴离子和阳离子特性的可电离基团的衍生化的环糊精，其中：(a)阳离子和阴离子两亲物中的至少一者且任选地两者是可带电荷的，具有至少一个pK介于4与8至8.5之间的带电基团；(b)阳离子电荷在pH 4时占主导，并且(c)阴离子电荷在pH 8至8.5时占主导。

[0393] 在一些实施方案中，无论是聚离子、两亲性还是其他形式，整体上“可电离的”或“带电的”衍生化的环糊精都是弱可电离的(即，pKai介于约4.0-8.5、4.5-8.0、5.0-7.5，

5.5-7.0、6.0-6.5以及其间的任何范围及其间的任何范围(包括端点))。

[0394] 环糊精的任一个、一些或所有α-D-吡喃葡萄糖苷单元中的任一个、一些或全部羟基可被修饰成如本文所述的可电离的化学基团。由于每个环糊精羟基的化学反应性不同，因此与修饰部分的反应可产生位置异构体和光学异构体的无定形混合物。或者，某些化学方法可使预先修饰的α-D-吡喃葡萄糖苷单元反应形成均匀的产物。

[0395] 混合物中环糊精衍生物发生的聚集取代用称为取代度的术语来描述。例如，取代度为七的6-亚乙基二氨基-β-环糊精将由6-亚乙基二氨基-β-环糊精的异构体分布组成，其中每个6-亚乙基二氨基-β-环糊精分子的亚乙基二氨基的平均数量是七。环糊精衍生物混合物的取代度可使用质谱法或核磁共振光谱法常规地确定。

[0396] 在一个实施方案中，背离环糊精内部的至少一个羟基部分被可电离的化学基团取代。例如，至少一个α-D-吡喃葡萄糖苷单元的C2、C3、C6、C2和C3、C2和C6、C3和C6以及全部三个C2-C3-C6羟基被可电离的化学基团取代。羟基的任何这种组合可类似地与经修饰的环糊精中的至少两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、多达全部的α-D-吡喃葡萄糖苷单元中组合，以及与本文所述的任何取代度组合。一种这样的衍生物是磺烷基醚环糊精(SAE-CD)。与母体环糊精相比，β环糊精的磺丁基醚衍生物(SBE-β-CD)已证明具有显著改善的水溶性。

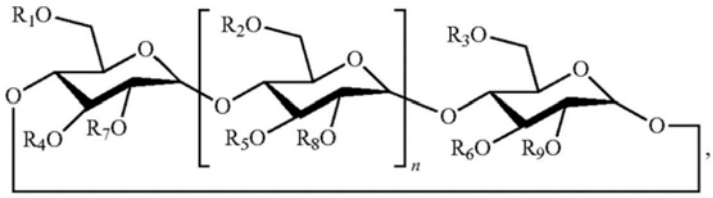
[0397] 在所公开的脂质体组合物中可与治疗剂复合的另外环糊精衍生物包括舒更葡糖(sugammadex)或Org-25969，其中γ-CD上的6-羟基已被羧基硫代乙酸酯醚键联和羟基丁烯基-β-CD取代。环糊精的替代形式包括:2,6-二-O-甲基-β-CD(DIMEB)、2-羟丙基-3-环糊精(HP-β-CD)、无规甲基化-β-环-糊精(RAMEB)、磺丁基醚β-环糊精(SBE-β-CD)和磺丁基醚-γ-环糊精(SBEγCD)、磺丁基化β-环糊精钠盐、(2-羟丙基)-α-环糊精、(2-羟丙基)-β-环糊精、(2-羟丙基)-γ-环糊精、2,6-二-O-甲基)-β-环糊精(DIMEB-50七)、2,3,6-三-O-甲基)-β-环糊精(TRIMEB七)、甲基-β-环糊精、八(6-脱氧-6-碘)-γ-环糊精和八(6-脱氧-6-溴)-γ-环糊精。

[0398] 在一些实施方案中，所述一种或多种环糊精在水中具有高溶解度，以便将更大数量的环糊精截留在脂质体内相中。在一些实施方案中，环糊精的水溶性是至少10mg/mL、20mg/mL、30mg/mL、40mg/mL、50mg/mL、60mg/mL、70mg/mL、80mg/mL、90mg/mL、100mg/mL或更高。在一些实施方案中，所述一种或多种环糊精的水溶性在10-150mg/mL、20-100mg/mL、20-75mg/mL的范围内，并且以及其间的任何范围及其间的任何范围(包括端点)。

[0399] 在一些实施方案中，环糊精与αPPMX和/或与环糊精复合的其他治疗剂之间的大缔合常数是优选的，并且可通过基于治疗剂的大小选择环糊精中的葡萄糖单元的数目来获得(参见例如，Albers等人，Crit.Rev.Therap.Drug Carrier Syst.12:311-337(1995)；Stella等人，Toxicol.Pathol.36:30-42(2008)。当缔合常数取决于pH时，可选择环糊精，以使得在脂质体内相的pH下缔合常数变大。结果，可进一步提高在环糊精存在下治疗剂的溶解度(标称溶解度)。在一些实施方案中，环糊精与治疗剂的缔合常数是100、200、300、400、500、600、700、800、900、1,000或更高。在一些实施方案中，环糊精与治疗剂的缔合常数在100-1、200、200-1,000、300-750的范围内，以及其间的任何范围及其间的任何范围。

[0400] 在一些实施方案中，αPPMX/环糊精复合物和/或环糊精/治疗剂复合物的环糊精未衍生化。

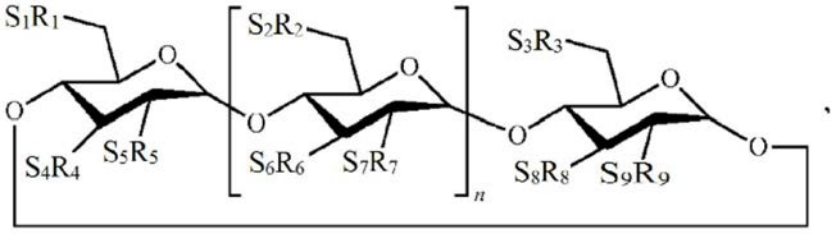
[0401] 在一些实施方案中，αPPMX/环糊精复合物和/或环糊精/治疗剂复合物的环糊精被衍生化。在其他实施方案中，所述复合物的环糊精衍生物具有式I的结构：

[0402] 

[0403] 其中：n是4、5或6；

[0404] 其中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、R_7、R_8和R_9各自独立地是-H、直链或支链C_1-C_8-亚烷基或任选取代的直链或支链C_1-C_6基团，其中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、R_7、R_8和R_9中的至少一者是直链或支链C_1-C_8-亚烷基(例如，C_1-C_8-(亚烷基)-SO_3^-基团)；

[0405] 在一些实施方案中，αPPMX/环糊精复合物和/或环糊精/治疗剂复合物的环糊精衍生物具有式II的结构：

[0406] 

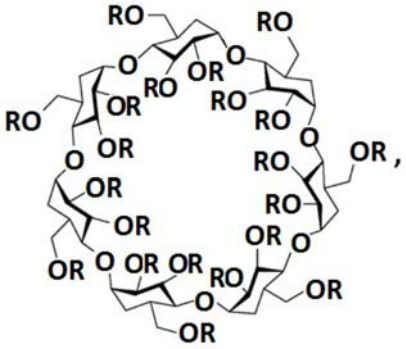
[0407] 其中：n是4、5或6；

[0408] 其中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、R_7、R_8和R_9各自独立地是-O-或-O-(C_2-C_6亚烷基)-SO_3-基团；其中R_1和R_2中的至少一者独立地是-O-(C_2-C_6亚烷基)-SO_3^-基团；并且S_1、S_2、S_3、S_4、S_5、S_6、S_7、S_8和S_9各自独立地是药学上可接受的阳离子。在其他实施方案中，药学上可接受的阳离子选自：碱金属，如Li^+、Na^+或K^+；碱土金属，如Ca^{+2}或Mg^{+2}，以及铵离子和胺阳离子，如(C1-C6)-烷基胺、哌啶、吡嗪、(C1-C6)-烷醇胺和(C4-C8)-环烷醇胺的阳离子。在一些实施方案中，R1和R2中的至少一者独立地是-O-(C2-C6亚烷基)-SO3-基团，其为-O-$(CH_2)_m$SO3-基团，其中m是2至6，优选2至4(例如，-O-CH2CH2CH2SO3-或-O-CH2CH2CH2CH2SO3-)；并且S_1、S_2、S_3、S_4、S_5、S_6、S_7、S_8和S_9各自独立地是H或药学上的阳离子，所述阳离子包括例如，碱金属(例如，Li^+、Na^+、K^+)、碱土金属(例如，Ca^{+2}、Mg^{+2})、铵离子和胺阳离子，如(C1-C6)-烷基胺、哌啶、吡嗪、(C_1-C_6)-烷醇-胺和(C_4-C_8)-环烷醇胺的阳离子：

[0409] 在一些实施方案中，αPPMX/环糊精复合物和/或环糊精/治疗剂复合物的环糊精衍生物是美国专利号6,133,248、5,874,418、6,046,177、5,376,645、5,134,127、7,034,013、6,869,939；和国际申请公布号WO 02005/117911中公开的环糊精，所述专利各自的内容以引用的方式以其优先权并入本文。

[0410] 在一些实施方案中，αPPMX/环糊精复合物和/或环糊精/治疗剂复合物的环糊精衍生物是磺烷基醚环糊精。在一些实施方案中，复合物的环糊精衍生物是磺丁基醚-3-环糊精，如CAPTISOL®(CyDex Pharma.Inc.,Lenexa,Kansas。用于制备磺丁基醚-3-环糊精和其他磺烷基醚环糊精的方法是本领域已知的。

[0411] 在一些实施方案中，αPPMX/环糊精复合物和/或环糊精/治疗剂复合物中的环糊精衍生物是式III的化合物：

[0412] 

[0413] 其中R等于：

[0414] (a) $(H)_{21-X}$或$(-(CH_2)_4-SO_3Na)_x$，并且x＝1.0-10.0、1.0-5.0、6.0-7.0或8.0-10.0；

[0415] (b) $(H)_{21-X}$或$(-(CH_2CH(OH)CH_3)_x$，并且x＝1.0-10.0、1.0-5.0、6.0-7.0或8.0-10.0；

[0416] (c) $(H)_{21-X}$或(磺烷基醚)x，并且x＝1.0-10.0、1.0-5.0、6.0-7.0或8.0-10.0；或

[0417] (d) $(H)_{21-X}$或$(-(CH_2)_4-SO_3Na)_x$，并且x＝1.0-10.0、1.0-5.0、6.0-7.0或8.0-10.0。

[0418] 在另外的实施方案中，所述αPPMX/环糊精复合物和/或环糊精/治疗剂复合物被包封在脂质体中(例如，如本文所述或本领域另外已知的)。

[0419] III.αPPMX递送媒介物

[0420] 在替代实施方案中，本公开提供了αPPMX递送系统及其在体外或体内将αPPMX的有效负载递送至一个或多个细胞的用途。在一些实施方案中，αPPMX与递送媒介物复合或掺入递送媒介物中。此类递送媒介物是本领域中已知的，并且包括但不限于脂质体、脂质球、聚合物、肽、蛋白质，抗体(例如，ADC，如抗体-αPPMX缀合物)、细胞组分、环状寡糖(例如，环糊精)、纳米颗粒(例如，脂质纳米颗粒、生物可降解的纳米颗粒和核-壳纳米颗粒)、脂蛋白颗粒以及它们的组合。在特定实施方案中，递送媒介物是脂质体。在其他特定的实施方案中，递送媒介物是抗体或抗原结合抗体片段。

[0421] A.脂质体

[0422] 在一些实施方案中，本公开提供了脂质体组合物，所述脂质体组合物包含封装(即，填充有)α聚谷氨酸化培美曲塞(例如，本文公开的αPPMX)的脂质体。在一些实施方案中，所述脂质体组合物中的脂质体包含αPPMX，所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基(包括培美曲塞中的谷氨酰基)。在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX中的α聚谷氨酸化培美曲塞包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述Lp-αPPMX中的α聚谷氨酸化培美曲塞包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述Lp-αPPMX中的α聚谷氨酸化培美曲塞包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在另外的实施方案中，所述Lp-αPPMX中的α聚谷氨酸化培美曲塞包含两个或更多个具有γ羧基键联的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX中的α聚谷氨酸化培美曲塞包含至少一个具有α羧基键联和γ羧基键联两者的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含脂质体，所述脂质体包含α五谷氨酸化PMX。在其他实施方案中，所述脂质体包含L-α五谷氨酸化PMX、D-α五谷氨酸化PMX或L-和D-α五谷氨酸化PMX。在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含脂质体，所述脂质体包含α六谷氨酸化PMX(Lp-αPPMX)。在其他实施方案中，所述脂质体包含L-α六谷氨酸化PMX、D-α六谷氨酸化PMX或L-和D-α六谷氨酸化PMX。在一些

实施方案中，所述脂质体组合物包含阴离子性或中性的脂质体。在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含阳离子性的脂质体。在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX组合物是非聚乙二醇化的。在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX组合物是非靶向的(NTLp-αPPMX)。在其他实施方案中，所述Lp-αPPMX组合物是靶向的(TLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含脂质体，所述脂质体具有在20nm至500nm范围内或其间的任何范围内的直径。在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含脂质体，所述脂质体具有在20nm至400nm范围内或其间的任何范围内的直径。在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含脂质体，所述脂质体具有在20nm至300nm范围内或其间的任何范围内的直径。在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含脂质体，所述脂质体具有在20nm至200nm范围内或其间的任何范围内的直径。在其他实施方案中，所述脂质体组合物包含脂质体，所述脂质体具有在20nm至150nm范围内或其间的任何范围内的直径。在其他实施方案中，所述脂质体组合物包含脂质体，所述脂质体具有在80nm至120nm范围内或其间的任何范围内的直径。在另外的实施方案中，将30％-70％、30％-60％或30％-50％w/w或其间的任何范围的α聚谷氨酸化培美曲塞包封(包埋)在Lp-αPPMX中。在一些实施方案中，在制备脂质体的过程中，将至少1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或超过75％的α聚谷氨酸化培美曲塞包封在Lp-αPPMX中。

[0423] 在一些实施方案中，所提供的脂质体还包含置于其外部的免疫刺激剂、可检测标记物或两者。免疫刺激剂或可检测标记物可离子键合或共价键合至脂质体的外部，包括例如，任选地键合至脂质体的空间稳定剂组分。

[0424] 术语“免疫刺激剂(immunostimulatory agent)”，也称为“免疫刺激剂(immunostimulant)”和“免疫刺激剂(immunostimulator)”是指通过诱导免疫系统的任何组分的活化或增加其活性来刺激免疫(包括预先存在的免疫应答)的物质。这些免疫刺激剂可包括半抗原、佐剂、蛋白质免疫刺激剂、核酸免疫刺激剂和化学免疫刺激剂中的一者或多者。许多佐剂含有旨在刺激免疫应答的物质，如脂质A、百日咳博德特氏菌或结核分枝杆菌来源的蛋白质。某些佐剂可商购获得，例如，弗氏不完全佐剂和完全佐剂(Difco Laboratories,Detroit,Mich.)；默克佐剂65(Merck and Company,Inc.,Rahway,N.J.)；AS-2(SmithKline Beecham,Philadelphia,Pa.)；铝盐，如氢氧化铝凝胶(明矾)或磷酸铝；钙、铁或锌的盐；酰化酪氨酸的不溶性悬浮液；酰化糖；阳离子或阴离子衍生的多糖；聚磷腈；生物可降解的微球；单磷酰脂质A和quil A；IFN-γ、IFN-α、FLT3-配体；和免疫刺激性抗体(例如，抗CTLA-4、抗CD28、抗CD3。细胞因子，如GM-CSF、白介素-2、-7、-12和-15以及其他类似的生长因子也可用作佐剂。在一个优选的实施方案中，免疫刺激剂可以是选自由以下组成的组中的至少一者：荧光素、DNP、β葡聚糖、β-1,3-葡聚糖、β-1,6-葡聚糖。在另一个优选的实施方案中，免疫刺激剂是Toll样受体(TLR)调节剂。在其他实施方案中，Toll样受体(TLR)调节剂是以下中的一者或多者：氧化低密度脂蛋白(例如，OXPAC、PGPC)、eritoran脂质(例如，E5564)和消退素。在一些实施方案中，所述脂质体包含异硫氰酸荧光素(FITC)，其基于我们的实验出人意料地充当免疫刺激剂和可检测标记物。

[0425] 在一些实施方案中，所述脂质体包含可检标记物。可检测标记物可例如至少包括可通过本领域已知的任何合适方法(例如磁共振成像(MRI)、光学成像、荧光/发光成像和/或核成像技术)检测的放射性同位素、荧光化合物、生物发光化合物、化学发光化合物、金属

螯合剂、酶、染料、油墨、磁性化合物、生物催化剂和色素。

[0426] 在一些实施方案中，通过将免疫刺激剂和/或可检测标记物与脂质体共孵育而将其连接至外部。例如，免疫刺激剂和/或可检测标记物可通过疏水相互作用或通过离子键如抗生物素蛋白/生物素键或金属螯合键(例如，Ni-NTA)与脂质体膜缔合。或者，免疫刺激剂或可检测标记物可共价键合至脂质体的外部，例如通过共价键合至脂质体组分或作为PEG的空间稳定剂。

[0427] 在一些实施方案中，所述脂质体还包含增加脂质体摄取至包括细胞溶质的目标细胞区室中的剂。

[0428] 在一些实施方案中，所述脂质体包含线粒体靶向剂。在一些实施方案中，所述脂质体包含三苯基鏻(TPP)。用TPP对脂质体进行表面功能化的方法和机制是本领域已知的(例如，经由peg间隔基将TPP连接至脂质锚上并用硬脂基(硬脂基三苯基鏻(STPP)修饰TPP)。在一些实施方案中，所述脂质体包含高密度八-精氨酸酸。在一些实施方案中，所述脂质体包含鞘磷脂和/或鞘磷脂代谢产物。用于配制本发明脂质体的鞘磷脂代谢物可包括例如神经酰胺、鞘氨醇或1-磷酸鞘氨醇。在一些实施方案中，所述脂质体包含若丹明123。在一些实施方案中，所述脂质体包含线粒体穿透肽。在一些实施方案中，所述脂质体包含选自以下的线粒体穿透剂：线粒体融合蛋白肽、线粒体靶向信号肽和触角足螺旋III同源结构域细胞穿透肽(ANT)(例如，包含RQIKIWFQNRRMKWKKRKKRRQRRR(SEQ ID NO:1)，RKKRRXR RRGC其中X是任何天然或非天然的氨基酸(SEQ ID NO:2)、CCGCCAAGAAGCG(SEQ ID NO:3)、GCGTGCACACGCGCGTAGACTTCCCCCGCAAGTCACTCGTTAGCCCGCCAAGAAGCGACCCCTCCGGGGCGAGCTGAGCGGCGTGGCGCGGGGGCGTCAT(SEQ ID NO:4)、ACGTGCATACGCACGTAGACATTCCCCGCTTCCCACTCCAAAGTCCGCCAAGAAGCGTATCCCGCTGAGCGGCGTGGCGCGGGGGCGTCATCCGTCAGCTC(SEQ ID NO:5)或ACTTCCCCCGCAAGTCACTCGTTAGCCCGCCAAGAAGCGACCCCTCCGGGGCGAGCTG(SEQ ID NO:6))，或其线粒体穿透片段。

[0429] 在一些实施方案中，所提供的脂质体组合物中的脂质体包含选自下组的线粒体穿透剂：富含胍的类肽、四胍、三胍、双、单胍、富含胍的聚氨基甲酸酯、β-寡精氨酸、富含脯氨酸的树状聚合物以及鏻盐(例如，甲基三苯基-鏻和/或四苯基鏻)。

[0430] 在一些实施方案中，所提供的脂质体组合物中的脂质体包含鞘磷脂和/或硬脂基-八-精氨酸。在一些实施方案中，所述脂质体包含鞘磷脂和/或硬脂基-八-精氨酸。在一些实施方案中，所述脂质体包含DOPE、鞘磷脂、硬脂基-八-精氨酸鞘磷脂和硬脂基-八-精氨酸。在一些实施方案中，所述脂质体包含摩尔比为9:2:1的DOPE、鞘磷脂、硬脂基-八-精氨酸鞘磷脂和硬脂基-八-精氨酸。在一些实施方案中，所述脂质体包含MITO-porter®系统或其变体。

[0431] 在一些实施方案中，所提供的脂质体组合物中的脂质体包含诸如细胞穿透剂的剂，所述剂促进脂质体跨细胞膜的递送并为脂质体提供绕过内吞途径和溶酶体的恶劣环境的能力。细胞穿透剂是本领域中已知的，并且可常规地用于并且适合于制造和使用所提供的脂质体组合物。在一些实施方案中，细胞穿透/溶酶体旁路剂是氯喹。在一些实施方案中，细胞穿透剂是细胞穿透肽。在一些实施方案中，所提供的脂质体组合物中的脂质体包含选自下组的细胞穿透剂：RKKRRQRRR(SEQ ID NO:7)、GRKKRRQRRRTPQ(SEQ ID NO:8)、YGRKKRRQRRR(SEQ ID NO:9)、AAVAL LPAVLLALLA(SEQ ID NO:10)、MGLGLHLLVLAAALQ(SEQ

ID NO:11)、GALFL GFLGAAGSTM(SEQ ID NO:12)、AGYLLGKINLKALAALAKKIL(SEQ ID NO:13)、RVIRVWFQNKRCKDKK(SEQ ID NO:14)、RQIKIWFQNRRMKWKK(SEQ ID NO:15)、GLFEAIAGFIENGWEGMIDG(SEQ ID NO:16)、GWTLNSAGYLLGKIN(SEQ ID NO:17)、RSQSRSRYYRQRQRS(SEQ ID NO:18)、LAIPEQEY(SEQ ID NO:19)、LGIAEQEY(SEQ ID NO:20)、LGIPAQEY(SEQ ID NO:21)、LGIPEAEY(SEQ ID NO:22)、LGIPEQAY(SEQ ID NO:23)、LGIAEAEY(SEQ ID NO:24)、LGIPEAAY(SEQ ID NO:25)、LGIAEQAY(SEQ ID NO:26)、LGIAEAAY(SEQ ID NO:27)、LLIILRRRIRKQAHAHSK(SEQ ID NO:28)、LKALAALAKKIL(SEQ ID NO:29)、KLALKLALKALKAALKLA(SEQ ID NO:30)、KETWWETWWTEWSQPKKKRKV(SEQ ID NO:31)、DHQLNPAF(SEQ ID NO:32)、DPKGDPKG(SEQ ID NO:33)、VTVTVTVTVTGKGDPKPD(SEQ ID NO:34)、RQIKIWFQNRRMKWKK(SEQ ID NO:35)、GRKKRRQRRRPPQ(SEQ ID NO:36)、GWTLNSAGYLLGKINLKALAAL AKKIL(SEQ ID NO:37)、GRKKRRQRRR(SEQ ID NO:38)、RRRRRRR(SEQ ID NO:39)、RRRRRRRR(SEQ ID NO:40)、RRRRRRRRR(SEQ ID NO:41)、RRRRRRRR RR(SEQ ID NO:42)、RRRRRRRRRRR(SEQ ID NO:43)以及YTIWMPENPRPGT PCDIFTNSRGKRASNGGG G(R)n,其中n＝2-15个呈L-和/或D形式的R(SEQ ID NO:44),或其细胞穿透片段。

[0432] 如上所述,脂质体可包含空间稳定剂,其可延长其循环寿命。对于掺入空间稳定剂的那些实施方案,所述空间稳定剂可以是选自由以下组成的组的至少一个成员:聚乙二醇(PEG);聚L-赖氨酸(PLL);单唾液酸神经节苷脂(GM1);聚(乙烯基吡咯烷酮)(PVP);聚(丙烯酰胺)(PAA);聚(2-甲基-2-噁唑啉);聚(2-乙基-2-噁唑啉);磷脂酰聚甘油;聚[N-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺];两亲性聚-N-乙烯基吡咯烷酮;基于L-氨基酸的聚合物;低聚甘油;含聚乙二醇和聚环氧丙烷的共聚物;泊洛沙姆188;以及聚乙烯醇。在一些实施方案中,空间稳定剂或空间稳定剂的群体是PEG。在一个实施方案中,空间稳定剂是PEG。在另一个实施方案中,PEG具有200至5000道尔顿的数均分子量(Mn)。这些PEG可具有任何结构,如线性、支化、星形或梳状结构,并且可商购获得。

[0433] 在一些实施方案中,所述脂质体组合物包含聚乙二醇化脂质体(PLp-αPPMX)。在一些实施方案中,所述脂质体组合物中的聚乙二醇化脂质体包含αPPMX,所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中,所述Lp-αPPMX中的α聚谷氨酸化培美曲塞包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,所述Lp-αPPMX中的α聚谷氨酸化培美曲塞包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中,所述Lp-αPPMX中的α聚谷氨酸化培美曲塞包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在另外的实施方案中,所述Lp-αPPMX中的α聚谷氨酸化培美曲塞包含两个或更多个具有γ键联的谷氨酰基。在一些实施方案中,至少一个谷氨酰基具有α键联和γ键联两者。在一些实施方案中,所述脂质体组合物包含聚乙二醇化脂质体,所述聚乙二醇化脂质体包含α五谷氨酸化PMX。在其他实施方案中,所述脂质体包含L-α五谷氨酸化PMX、D-α五谷氨酸化PMX或L-和D-α五谷氨酸化PMX。在一些实施方案中,所述脂质体组合物包含聚乙二醇化脂质体,所述聚乙二醇化脂质体包含α六谷氨酸化PMX。在其他实施方案中,所述脂质体包含L-α六谷氨酸化PMX、D-α六谷氨酸化PMX或L-和D-α六谷氨酸化PMX。在一些实施方案中,所述脂质体组合物包含阴离子性或中性的聚乙二醇化脂质体。在一些实施方案中,所述脂质体组合物包含阳离子性的聚乙二醇化脂质体。在一些实施方案中,所述PLp-αPPMX组合物是非靶向的(NTPLp-αPPMX)。在其他实施方案中,所述PLp-αPPMX组合物是靶向的(TPLp-αPPMX)。在另外

的实施方案中，所述脂质体组合物包含聚乙二醇化脂质体，所述聚乙二醇化脂质体包含30％-70％、30％-60％或30％-50％的脂质体包埋的α聚谷氨酸化培美曲塞，或其间的任何范围。在一些实施方案中，将至少1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或超过75％(w/w)的α聚谷氨酸化培美曲塞包封(包埋)在PLp-αPPMX中。在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含直径在20nm至500nm范围内的聚乙二醇化脂质体。在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含直径在20nm至200nm范围内的聚乙二醇化脂质体。在其他实施方案中，所述脂质体组合物包含直径在80nm至120nm范围内的聚乙二醇化脂质体。

[0434] 在一些实施方案中，所述组合物中大于30％、40％、50％、60％、70％、80％或90％的聚谷氨酸化培美曲塞具有4-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中，所提供的脂质体组合物中大于30％、40％、50％、60％、70％、80％或90％的聚谷氨酸化培美曲塞是四谷氨酸化的。在一些实施方案中，所提供的脂质体组合物中大于30％、40％、50％、60％、70％、80％或90％的聚谷氨酸化培美曲塞是五谷氨酸化的。在一些实施方案中，所提供的脂质体组合物中大于30％、40％、50％、60％、70％、80％或90％的聚谷氨酸化培美曲塞是六谷氨酸化的。

[0435] 在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞组合物(例如，聚谷氨酸盐和递送媒介物，如含有聚谷氨酸盐的脂质体)在水溶液中。在一些实施方案中，以每平方米(m^2)体表面积0.005与5000mg之间的αPPMX的剂量或其间的任何范围以脂质体组合物的形式施用所述αPPMX组合物。在其他实施方案中，以每平方米体表面积0.1与1000mg之间的αPPMX的剂量或其间的任何范围以脂质体组合物的形式施用所述αPPMX组合物。

[0436] (1)脂质体组合物

[0437] 所述脂质体组合物中含有的脂质体的脂质和其他组分可以是任何脂质，脂质组合和比例或脂质与其他脂质体组分的组合及其各自的比例是本领域中已知的。然而，本领域技术人员将理解，任何特定药物的脂质体包封，如但不限于本文所论述的α聚谷氨酸化PMX，可涉及大量常规实验，以实现有用和有功能的脂质体制剂。一般而言，所提供的脂质体可具有任何脂质体结构，例如，具有通过一个或多个脂质双层与外部介质隔离的内部空间的结构，或具有半透膜的任何微胶囊，所述半透膜具有亲脂性中心部分，其中所述膜隔离内部。脂质双层可以是以亲水性部分(亲水性部分)和疏水性部分(疏水性部分)为特征的两亲性分子的任何排列。一般来说，双层中的两亲性分子排列成二维片，其中疏水性部分向内定向，而亲水性部分向外定向。形成所提供的脂质体的两亲性分子可以是任何已知的或后来发现的两亲性分子，例如合成或天然来源的脂质或生物相容性脂质。脂质体也可由两亲性聚合物和表面活性剂形成，例如，聚合物体和囊泡。出于本公开的目的，但不限于，这些脂质体形成材料也称为“脂质”。

[0438] 本文提供的脂质体组合物制剂可呈液体或干燥形式，如干粉或干饼。干粉或干饼可在例如冻干条件下进行初级干燥，或者任选地，干饼或干粉可仅经历初级干燥或者初级干燥和二次干燥两者。在干燥形式中，粉末或滤饼可例如具有1％至6％的水分，例如介于2％至5％之间的水分或介于2％至4％之间的水分。干燥的一种示例性方法是冻干(也称为冷冻-干燥(freeze-drying)或冷冻干燥(cryodessication))。本公开的任何组合物和方法可包括脂质体、冻干脂质体或由冻干脂质体重构的脂质体。在一些实施方案中，所公开的组

合物和方法包括一种或多种冻干保护剂或冷冻保护剂。这些保护剂通常是多羟基化合物，例如糖(单糖、二糖和多糖)、多元醇及其衍生物、甘油或聚乙二醇、海藻糖、麦芽糖、蔗糖、葡萄糖、乳糖、葡聚糖、甘油或氨基糖苷。在其他实施方案中，冻干保护剂或冷冻保护剂占脂质体外部、脂质体内部或脂质体外部和内部两者的溶液的至多10％或至多20％。

[0439] 在一些实施方案中，脂质体包括空间稳定剂，所述空间稳定剂延长其在循环中的寿命。一种或多种空间稳定剂如亲水性聚合物(聚乙二醇(PEG))、糖脂(单唾液酸神经节苷脂(GM1))或其他物质占据紧邻脂质体表面的空间，并从此空间中排除其他大分子。因此，阻碍了血浆调理素对脂质体表面的接近和结合，并且因此抑制了巨噬细胞与此类脂质体或任何其他清除机制的相互作用，并且增强了脂质体在循环中的寿命。在一些实施方案中，空间稳定剂或空间稳定剂的群体是PEG或包含PEG的组合。在其他实施方案中，空间稳定剂是PEG或包含数均分子量(Mn)为200至5000道尔顿的PEG的组合。这些PEG可具有任何结构，如线性、支化、星形或梳状结构，并且可商购获得。

[0440] 所公开的脂质体的直径没有特别限制。在一些实施方案中，脂质体具有在例如30-150nm(纳米)范围内的直径。在其他实施方案中，脂质体具有在40-70nm范围内的直径。

[0441] 脂质体的性质受用于制备脂质体的脂质性质的影响。各种各样的脂质已被用于制备脂质体。这些包括阳离子脂质、阴离子脂质和中性脂质。在一些实施方案中，包含α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体是阴离子性的或中性的。在其他实施方案中，所提供的脂质体是阳离子性的。可常规地通过测量脂质体的ζ电位来确定电荷(例如，阴离子性、中性或阳离子性)。脂质体的ζ电位可为正、零或负。在一些实施方案中，脂质体的ζ电位小于或等于零。在一些实施方案中，脂质体的ζ电位在0至-150mV的范围内。在另一个实施方案中，脂质体的ζ电位在-30至-50mV的范围内。

[0442] 在一些实施方案中，阳离子脂质用于制备阳离子脂质体，其通常用作基因转染剂。阳离子脂质体上的正电荷可与细胞表面上的负电荷相互作用。阳离子脂质体与细胞结合后，脂质体通过内吞作用在细胞内转运。

[0443] 在一些优选的实施方案中，使用中性至阴离子脂质体。在优选的实施方案中，使用阴离子脂质体。使用例如诸如HSPC的中性脂质和诸如PEG-DSPE的阴离子脂质的混合物使得形成阴离子脂质体，所述阴离子脂质体不太可能与正常细胞非特异性结合。通过使用肿瘤靶向抗体，例如叶酸受体抗体，包括例如叶酸受体α抗体、叶酸受体β抗体和/或叶酸受体δ抗体，可实现与肿瘤细胞的特异性结合。

[0444] 作为实例，至少一种(或一些)脂质是两亲性脂质，定义为具有亲水性部分和疏水性部分(通常为亲水性头部和疏水性尾部)。疏水性部分通常定向为疏水相(例如，在双层内)，而亲水性部分通常定向于水相(例如，在双层外)。亲水部分可包含极性或带电基团，如碳水化合物、磷酸酯、羧酸、硫酸根、氨基、巯基、硝基、羟基以及其他类似基团。疏水性部分可包含非极性基团，其包括但不限于长链饱和和不饱和脂族烃基以及被一个或多个芳族、脂环族或杂环基团取代的基团。两亲化合物的实例包括但不限于磷脂、氨基脂和鞘脂。

[0445] 通常，例如，脂质是磷脂。磷脂包括但不限于磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰甘油、磷脂酰肌醇、磷脂酰丝氨酸等。应理解，可使用其他脂质膜组分，如胆固醇、鞘磷脂和心磷脂。

[0446] 包含本文提供的脂质体的脂质可以是阴离子性和中性(包括两性离子和极性)脂

质，包括阴离子性和中性磷脂。在选定的pH下，中性脂质以不带电或中性的两性离子形式存在。在生理pH下，此类脂质包括例如二油酰基磷脂酰甘油(DOPG)、二酰基磷脂酰胆碱、二酰基磷脂酰乙醇胺、神经酰胺、鞘磷脂、脑磷脂、胆固醇、脑苷脂以及二酰基甘油。两性离子脂质的实例包括但不限于二油酰基磷脂酰胆碱(DOPC)、二肉豆蔻酰基磷脂酰胆碱(DMPC)和二油酰基磷脂酰丝氨酸(DOPS)。阴离子脂质在生理pH下带负电。这些脂质包括但不限于磷脂酰甘油、心磷脂、二酰基磷脂酰丝氨酸、二酰基磷脂酸、N-十二烷酰基磷脂酰乙醇胺、N-琥珀酰基磷脂酰乙醇胺、N-戊二酰基磷脂酰乙醇胺、赖氨酰基磷脂酰甘油、棕榈酰基油酰基-磷脂酰甘油(POPG)以及与中性脂质连接的其他阴离子修饰基团。

[0447] 共同地，阴离子脂质和中性脂质在本文中称为非阳离子脂质。此类脂质可含有磷，但不限于此。非阳离子脂质的实例包括卵磷脂、溶血卵磷脂、磷脂酰乙醇胺、溶血磷脂酰乙醇胺、二油酰基磷脂酰乙醇胺(DOPE)、二棕榈酰基磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻酰基磷酸乙醇胺(DMPE)、二硬脂酰基-磷脂酰1-乙醇胺(DSPE)、棕榈酰基油酰基-磷脂酰乙醇胺(POPE)、棕榈酰剂-油酰基磷脂酰胆碱(POPC)、卵磷脂酰胆碱(EPC)、二硬脂酰基磷脂酰胆碱(DSPC)、二油酰基-磷脂酰胆碱(DOPC)、二棕榈酰基磷脂酰胆碱(DPPC)、二油酰基磷脂酰甘油(DOPG)、二棕榈酰基磷脂酰甘油(DPPG)、棕榈酰基-油酰基磷脂酰甘油(POPG)、16-O-甲基PE、16-O-二甲基PE、18-1-反式PE、棕榈酰基油酰基-磷脂酰乙醇胺(POPE)、1-硬脂酰基-2-油酰基磷脂酰乙醇胺(SOPE)、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、鞘磷脂、脑磷脂、心磷脂、磷脂酸、脑苷脂、磷酸双十六烷基酯和胆固醇。

[0448] 可使用本领域已知的使用脂质体组分(liposomal component)(也称为脂质体组分(liposome component))的任何脂质体组装方法来组装脂质体。脂质体组分包括，例如，脂质如DSPE、HSPC、胆固醇和这些组分的衍生物。其他合适的脂质例如可从Avanti Polar Lipids,Inc.(Alabaster,Alabama,USA)商购获得。适用于制备阴离子脂质体的可用的带负电荷或中性电荷的脂质的部分列表可以是例如以下中的至少一者：DLPC、DMPC、DPPC、DSPC、DOPC、DMPE、DPPE、DOPE、DMPA·Na、DPPA·Na、DOPA·Na、DMPG·Na、DPPG·Na、DOPG·Na、DMPS·Na、DPPS·Na、DOPS·Na、DOPE-戊二酰·(Na)2、四肉豆蔻酰基心磷脂·(Na)2、DSPE-mPEG-2000·Na、DSPE-mPEG-5000·Na和DSPE-马来酰亚胺PEG-2000·Na。

[0449] 在一些实施方案中，本文提供的αPPMX组合物被配制在包含阳离子脂质的脂质体中。在一个实施方案中，所述阳离子脂质选自但不限于国际申请公布号WO2012/040184、WO2011/153120、WO2011/149733、WO2011/090965、WO2011/043913、WO2011/022460、WO2012/061259、WO2012/054365、WO2012/044638、WO2010/080724、WO2010/21865和WO2008/103276、美国专利号7,893,302、7,404,969和8,283,333以及美国申请公布号US20100036115和US20120202871中描述的阳离子脂质，所述专利各自以引用的方式整体并入本文。在另一个实施方案中，所述阳离子脂质可选自但不限于国际申请公布号WO2012/040184、WO2011/153120、WO2011/1149733、WO2011/090965、WO2011/043913、WO2011/022460、WO2012/061259、WO2012/054365和WO2012/044638中描述的式A，所述申请各自以引用的方式整体并入本文。在另一个实施方案中，阳离子脂质可选自但不限于国际公布号WO2008103276的式CLI-CLXXIX、美国专利号7,893,302的式CLI-CLXXIX、美国专利号7,404,969的式CLI-CLXXXXII以及美国专利公布号US20100036115的式I-VI；所述专利各自以引用的方式整体并入本文。作为一个非限制性实例，阳离子脂质可选自(20Z,23Z)-N,N-二甲基二十九-20,

23-二烯-10-胺、(17Z,20Z)-N,N-二甲基-二十六-17,20-二烯-9-胺、(1Z,19Z)-N5N-二甲基二十五-16,19-二烯-8-胺、(13Z,16Z)-N,N-二甲基二十二-13,16-二烯-5-胺、(12Z,15Z)-N,N-二甲基二十一-12,15-二烯-4-胺、(14Z,17Z)-N,N-二甲基二十三-14,17-二烯-6-胺、(15Z,18Z)-N,N-二甲基二十四-15,18-二烯-7-胺、(18Z,21Z)-N,N-二甲基二十七-18,21-二烯-10-胺、(15Z,18Z)-N,N-二甲基二十四-15,18-二烯-5-胺、(14Z,17Z)-N,N-二甲基-二十三-14,17-二烯-4-胺、(19Z,22Z)-N,N-二甲基二十八-19,22-二烯-9-胺、(18Z,21Z)-N,N-二甲基二十七-18,21-二烯-8-胺、(17Z,20Z)-N,N-二甲基二十六-17,20-二烯-7-胺、(16Z,19Z)-N,N-二甲基二十五-16,19-二烯-6-胺、(22Z,25Z)-N,N-二甲基三十一-22,25-二烯-10-胺、(21Z,24Z)-N,N-二甲基-三十-21,24-二烯-9-胺、(18Z)-N,N-二甲基二十七-18-烯-10-胺、(17Z)-N,N-二甲基二十六-17-烯-9-胺、(19Z,22Z)-N,N-二甲基二十八-19,22-二烯-7-胺、N,N-二甲基二十七-10-胺、(20Z,23Z)-N-乙基-N-甲基二十九-20,23-二烯-10-胺、1-[(11Z,14Z)-1-壬基二十-11,14-二烯-1-基]吡咯烷、(20Z)-N,N-二甲基二十七-20-烯-10-胺、(15Z)-N,N-二甲基二十七-15-烯-10-胺、(14Z)-N,N-二甲基二十九-14-烯-10-胺、(17Z)-N,N-二甲基二十九-17-烯-10-胺、(24Z)-N,N-二甲基三十三-24-烯-10-胺、(20Z)-N,N-二甲基二十九-20-烯-10-胺、(22Z)-N,N-二甲基三十一-22-烯-10-胺、(16Z)-N,N-二甲基二十五-16-烯-8-胺、(12Z,15Z)-N,N-二甲基-2-壬基二十一-12,15-二烯-1-胺、(13Z,16Z)-N,N-二甲基-3-壬基二十二-13,16-二烯-1-胺、N,N-二甲基-1-[(1S,2R)-2-辛基环-丙基]十七-8-胺、1-[(1S,2R)-2-己基环丙基]-N,N-二甲基十九-10-胺、N,N-二甲基-1-[(1S,2R)-2-辛基环丙基]十九-10-胺、N,N-二甲基-21-[R1S,2R)-2-辛基环丙基]二十一-10-胺、N,N-二甲基-1-[(1S,2S)-2-{[(1R,2R)-2-戊基环丙基]甲基}环丙基]十九-10-胺、N,N-二甲基-1-[(1S,2R)-2-辛基环丙基]十六-8-胺、N,N-二甲基-[(1R,2S)-2-十一烷基-环丙基]十四-5-胺、N,N-二甲基-3-{7-[(1S,2R)-2-辛基环丙基]庚基}十二-1-胺、1-[(1R,2S)-2-庚基环丙基]-N,N-二甲基十八-9-胺、1-[(1S,2R)-2-癸基环丙基]-N,N-二甲基十五-6-胺、N,N-二甲基-1-[(1S,2R)-2-辛基环丙基]十五-8-胺、R--N,N-二甲基-1-[(9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基]-3-(辛基氧基)丙-2-胺、S--N,N-二甲基-1-[(9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基]-3-(辛基氧基)丙-2-胺、1-{2-[(9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基]-1-[(辛基氧基)甲基]乙基}吡咯烷、(2S)-N,N-二甲基-1-[(9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基]-3-[(5Z)-辛-5-烯-1-基氧基]丙-2-胺、1-{2-[(9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基]-1-[(辛基氧基)甲基]乙基}氮杂环丁烷、(2S)-1-(己基氧基)-N,N-二甲基-3-[(9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基]丙-2-胺、(2S)-1-(庚基氧基)-N,N-二甲基-3-[(9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基]丙-2-胺、N,N-二甲基-1-(壬基氧基)-3-[(9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基]丙-2-胺、N,N-二甲基-1-[(9Z)-十八-9-烯-1-基氧基]-3-(辛基氧基)丙-2-胺;(2S)-N,N-二甲基-1-[(6Z,9Z,12Z)-十八-6,9,12-三烯-1-基氧基]-3-(辛基氧基)丙-2-胺、(2S)-1-[(11Z,14Z)-二十-11,14-二烯-1-基氧基]-N,N-二甲基-3-(戊基氧基)丙-2-胺、(2S)-1-(己基氧基)-3-[(11Z,14Z)-二十-11,14-二烯-1-基氧基]-N,N-二甲基丙-2-胺、1-[(11Z,14Z)-二十-11,14-二烯-1-基氧基]-N,N-二甲基-3-(辛基氧基)丙-2-胺、1-[(13Z,16Z)-二十二-13,16-二烯-1-基氧基]-N,N-二甲基-3-(辛基氧基)丙-2-胺、(2S)-1-[(13Z,16Z)-二十二-13,16-二烯-1-基氧基]-3-(己基氧基)-N,N-二甲基丙-2-胺、(2S)-1-[(13Z)-二十二-13-烯-1-基氧基]-3-(己基氧基)-N,N-二甲基丙-

2-胺、1-[(13Z)-二十二-13-烯-1-基氧基]-N,N-二甲基-3-(辛基氧基)丙-2-胺、1-[(9Z)-十六-9-烯-1-基氧基]-N,N-二甲基-3-(辛基氧基)丙-2-胺、(2R)-N,N-二甲基-H(1-甲酰基辛基)氧基]-3-[(9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基]丙-2-胺、(2R)-1-[(3,7-二甲基辛基)氧基]-N,N-二甲基-3-R9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基]丙-2-胺、N,N-二甲基-1-(辛基氧基)-3-({8-[(1S,2S)-2-{[(1R,2R)-2-戊基环丙基]甲基}环丙基]辛基}氧基)丙-2-胺、N,N-二甲基-1-{[-(2-辛基环丙基)辛基]氧基}-3-(辛基氧基)丙-2-胺以及(11E,20Z,23Z)-N,N-二甲基二十九-11,20,2-三烯-10-胺或其药学上可接受的盐或或酸立体异构体。

[0450] 在一个实施方案中,脂质可以是可裂解脂质,如在国际公布号WO2012/170889中描述的那些,所述公布以引用的方式整体并入本文。

[0451] 阳离子脂质可常规地使用本领域已知的和/或如国际公布号WO2012/040184、WO2011/153120、WO2011/149733、WO2011/090965、WO201/1043913、WO2011/022460、WO2012/061259、WO2012/054365、WO2012/044638、WO2010/080724和WO2010/21865中描述的方法来合成,所述公布各自以引用的方式整体并入本文。

[0452] 脂质衍生物可至少包括,例如一种或多种空间稳定剂和/或官能团与脂质体组分的键合(优选共价键合),之后应将空间稳定剂和/或官能团视为脂质体组分的一部分。官能团包括可用于将脂质体组分连接至另一部分(如蛋白质)的基团。此类官能团至少包括马来酰亚胺。这些空间稳定剂包括选自由以下组成的组的至少一者:聚乙二醇(PEG);聚-L-赖氨酸(PLL);单唾液酸神经节苷脂(GM1);聚(乙烯基吡咯烷酮)(PVP);聚(丙烯酰胺)(PAA);聚(2-甲基-2-噁唑啉);聚(2-乙基-2-噁唑啉);磷脂酰聚甘油;聚[N-(2-羟基-丙基)甲基丙烯酰胺];两亲性聚N-乙烯基吡咯烷酮;L-氨基酸基聚合物;以及聚乙烯醇。

[0453] 在一些实施方案中,所述αPPMX组合物被配制在脂质-聚阳离子复合物中。脂质-聚阳离子复合物的形成可使用本领域中已知和/或如在美国公布号20120178702中描述的方法来完成,所述公布以引用的方式整体并入本文。作为非限制性实例,聚阳离子可包括阳离子肽或多肽,如但不限于聚赖氨酸、聚鸟氨酸和/或聚精氨酸以及在国际公布号WO2012/013326中描述的阳离子肽;所述公布以引用的方式整体并入本文。在另一个实施方案中,所述αPPMX被配制在脂质-聚阳离子复合物中,所述脂质-聚阳离子复合物还包含中性脂质,如但不限于胆固醇或二油酰基磷脂酰乙醇胺(DOPE)。

[0454] 由于脂质体的组分可包括与其结合的任何分子(即化学/试剂/蛋白质),因此在一些实施方案中,所提供的脂质体的组分至少包括选自下组的成员:DSPE,DSPE-PEG,DSPE-马来酰亚胺,HSPC;HSPC-PEG;HSPC-马来酰亚胺;胆固醇;胆固醇-PEG;以及胆固醇-马来酰亚胺。在一些实施方案中,所提供的脂质体的组分包括DSPE,DSPE-PEG,DSPE-马来酰亚胺,HSPC;HSPC-PEG;HSPC马来酰亚胺;胆固醇;胆固醇-PEG;和胆固醇-马来酰亚胺。在一个优选的实施方案中,组成脂质体的脂质体组分包括DSPE;DSPE-FITC;DSPE-马来酰亚胺;胆固醇;和HSPC。

[0455] 在另外的实施方案中,本文提供的脂质体组合物的脂质体包含氧化磷脂。在一些实施方案中,所述脂质体包含选自由以下组成的组的成员的氧化磷脂:磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰胆碱和1-棕榈酰基-2-花生四烯酰基-sn-甘油-2-磷酸。在一些实施方案中,磷脂具有不饱和键。在一些实施方案中,磷脂是含花生四烯酸的磷脂。在另

外的实施方案中，磷脂是sn-2-含氧的。在另外的实施方案中，磷脂不片段化。

[0456] 在一些实施方案中，所公开的脂质体组合物的脂质体包含氧化的1-棕榈酰基-2-花生四烯酰基-sn-甘油基-3-磷酰胆碱(OxPAPC)。如本文所用，术语“oxPAPC”是指通过1-棕榈酰基-2-花生四烯基-sn-甘油基-3-磷酰胆碱(PAPC)的氧化而产生的脂质，其产生含有片段化或全长含氧sn-2残基的氧化磷脂的混合物。充分表征的氧化片段化种类含有携带ω-醛或ω-羧基的五碳sn-2残基。花生四烯酸残基的氧化也产生含酯化异前列烷的磷脂。除存在于oxPAPC中的其他氧化产物外，oxPAPC还包括HOdiA-PC、KOdiA-PC、HOOA-PC和KOOA-PC种类。在其他实施方案中，oxPAPC是含环氧异前列烷的磷脂。在其他实施方案中，oxPAPC是1-棕榈酰基-2-(5,6-环氧异前列烷E2)-sn-甘油基-3-磷酸胆碱(5,6-PEIPC)、1-棕榈酰基-2-(环氧-环戊烯酮)-sn-甘油基-3-磷酰胆碱(PECPC)和/或1-棕榈酰基-2-(环氧-异前列烷E2)-sn-甘油基-4-磷酸胆碱(PEIPC)。在一些实施方案中，磷脂具有不饱和键。在一些实施方案中，磷脂是含花生四烯酸的磷脂。在另外的实施方案中，磷脂是sn-2-含氧的。在另外的实施方案中，磷脂不片段化。

[0457] 在一些实施方案中，脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物是聚乙二醇化的(即，聚乙二醇化的脂质体α聚谷氨酸化(例如，五谷氨酸化的或六谷氨酸化的)抗叶酸剂(PLp-αPPMX或PLp-αPPMX))。在一些实施方案中，PLp-αPPMX或PLp-αPPMX是水溶性的。即，PLp-αPPMX或PLp-αPPMX呈水溶液形式。

[0458] 在一些实施方案中，所公开的脂质体组合物的脂质体包含选自以下的脂质：1-棕榈酰基-2-戊二酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱(PGPC)；1-棕榈酰基-2-(9’氧代-壬酰基)-sn-甘油基-3-磷酸胆碱；1-棕榈酰基-2-花生四烯酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱；1-棕榈酰基-2-肉豆蔻酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱；1-棕榈酰基-2-十六烷基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱；1-棕榈酰基-2-壬二酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱；和1-棕榈酰基-2-乙酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱。在其他实施方案中，所述脂质体包含PGPC。

[0459] 在一些实施方案中，包含脂质体组合物的溶液的pH值是pH 2至8，或其间的任何范围。在一些实施方案中，包含脂质体组合物的溶液的pH值是pH 5至8，或其间的任何范围。在一些实施方案中，包含脂质体组合物的溶液的pH值是pH 6至7，或其间的任何范围。在一些实施方案中，包含脂质体组合物的溶液的pH值是6至7.5、6.5至7.5、6.7至7.5或6.3至7.0，或其间的任何范围。

[0460] 在一些实施方案中，脂质体脂质双层的至少一种组分是官能化的(或反应性的)。如本文所用，官能化组分是包含可用于将试剂和部分交联至脂质的反应性基团的组分。如果脂质被官能化，则其形成的任何脂质体也被官能化。在一些实施方案中，反应性基团是将与交联剂(或其他部分)反应以形成交联的基团。脂质体脂质双层中的反应性基团位于脂质上允许其接触交联剂并与另一部分(例如，空间稳定剂或靶向部分)交联的任何位置。在一些实施方案中，反应性基团在脂质的头部基团中，包括例如磷脂。在一些实施方案中，反应性基团是马来酰亚胺基团。马来酰亚胺基团可在二硫醇交联剂存在下彼此交联，所述二硫醇交联剂包括但不限于二硫苏糖醇(DTT)。

[0461] 应当理解，进一步考虑了使用除上述那些之外的其他官能化脂质、其他反应性基团和其他交联剂。除马来酰亚胺基团外，所考虑的反应性基团的其他实例包括但不限于其他硫醇反应性基团、氨基如伯胺和仲胺、羧基、羟基、醛基、炔基、叠氮基、羰基、卤代乙酰基

(例如,碘乙酰基)、亚氨酸酯基、N-羟基琥珀酰亚胺酯、巯基和吡啶基二硫化物基团。

[0462] 可从许多商业来源获得官能化和非官能化脂质,包括Avanti Polar Lipids (Alabaster,AL)and Lipoid LLC(Newark,NJ)。

[0463] (2)脂质体内部空间

[0464] 在其他非限制性实施方案中,所提供的脂质体封闭内部空间。在一些实施方案中,内部空间包含但不限于水溶液。在一些实施方案中,内部空间包含如本文提供的α聚谷氨酸化培美曲塞。在另外的实施方案中,脂质体的内部空间包含张度剂。在一些实施方案中。在一些实施方案中,张度剂的浓度(重量百分比)是0.1%-20%、1%-20%、0.5%-15%、1%-15%或1%-50%,或其间的任何范围。在一些实施方案中,脂质体的内部空间包含糖(例如,海藻糖、麦芽糖、蔗糖、乳糖、甘露糖、甘露糖醇、甘油、右旋糖、果糖等)。在其他实施方案中,糖的浓度(重量百分比)是0.1%-20%、1%-20%、0.5%-15%、1%-15%或1%-50%,或其间的任何范围。在一些实施方案中,脂质体内部空间的pH值是pH 2至8,或其间的任何范围。在一些实施方案中,包含脂质体组合物的溶液的pH值是pH 5至8,或其间的任何范围。在一些实施方案中,包含脂质体组合物的溶液的pH值是pH 6至7,或其间的任何范围。在一些实施方案中,包含脂质体组合物的溶液的pH值是6至7.5、6.5至7.5、6.7至7.5或6.3至7.0,或其间的任何范围。在一些实施方案中,内部空间包含缓冲液。在其他实施方案中,缓冲液是选自HEPES、柠檬酸盐或磷酸钠(例如,磷酸二氢钠和/或磷酸氢二钠)的缓冲液。在一些实施方案中,缓冲液是HEPES。在一些实施方案中,缓冲液是柠檬酸盐。在一些实施方案中,缓冲液是磷酸钠(例如,磷酸二氢钠和/或磷酸氢二钠)。在一些实施方案中,缓冲液的浓度是15至200mM,或其间的任何范围。在其他实施方案中,缓冲液的浓度介于5至200mM之间、15至200、介于5至100mM之间、介于15至100mM之间、介于5至50mM之间、介于15至50mM之间、介于5至25mM之间、介于5至20mM之间、介于5至15mM之间或其间的任何范围。在一些实施方案中,缓冲液是浓度为15至200mM或其间的任何范围的HEPES。在一些实施方案中,缓冲液是浓度为15至200mM或其间的任何范围的柠檬酸盐。在一些实施方案中,缓冲液是浓度为15至200mM或其间的任何范围的磷酸钠。在一些实施方案中,脂质体的内部空间包含总浓度介于5mM至500mM、或50mM至500mM之间或其间的任何范围的乙酸钠和乙酸钙。

[0465] 在一些实施方案中,脂质体的内部空间包含海藻糖。在其他实施方案中,海藻糖的浓度重量百分比是0.1%-20%、1%-20%、0.5%-15%、1%-15%、5%-20%或1%-50%,或其间的任何范围。在其他实施方案中,海藻糖的浓度(重量百分比)是1%-15%或其间的任何范围。在另一实施方案中,海藻糖以海藻糖或一种或多种冻干保护剂或冷冻保护剂的任何组合的约5%至20%重量百分比存在,总浓度为5%至20%。在一些实施方案中,包含脂质体组合物的溶液的pH值是6至7.5、6.5至7.5、6.7至7.5或6.3至7.0,或其间的任何范围。在一些实施方案中,内部空间包含缓冲液。在一些实施方案中,缓冲液选自HEPES、柠檬酸盐或磷酸钠(例如,磷酸二氢钠和/或磷酸氢二钠)。在一些实施方案中,缓冲液是HEPES。在一些实施方案中,缓冲液是柠檬酸盐。在一些实施方案中,缓冲液是磷酸钠(例如,磷酸二氢钠和/或磷酸氢二钠)。在一些实施方案中,缓冲液的浓度是15至200mM,或其间的任何范围。在其他实施方案中,HBS柠檬酸盐缓冲液的浓度介于5至200mM之间、15至200、介于5至100mM之间、介于15至100mM之间、介于5至50mM之间、介于15至50mM之间、介于5至25mM之间、介于5至20mM之间、介于5至15mM之间或其间的任何范围。在一些实施方案中,缓冲液是浓度为15至

200mM或其间的任何范围的HEPES。在一些实施方案中，缓冲液是浓度为15至200mM或其间的任何范围的柠檬酸盐。在一些实施方案中，缓冲液是浓度为15至200mM或其间的任何范围的磷酸钠。在另外的实施方案中，脂质体的内部空间包含乙酸钠和/或乙酸钙。在一些实施方案中，脂质体的内部空间包含总浓度介于5mM至500mM、或50mM至500mM之间或其间的任何范围的乙酸钠和乙酸钙。

[0466] 在一些实施方案中，脂质体的内部空间包含右旋糖。在其他实施方案中，右旋糖的浓度重量百分比是0.1％-20％、1％-20％、0.5％-15％、1％-15％、5％-20％或1％-50％，或其间的任何范围。在其他实施方案中，右旋糖的浓度(重量百分比)是1％-15％或其间的任何范围。在另一实施方案中，右旋糖以右旋糖或一种或多种冻干保护剂或冷冻保护剂的任何组合的约5％至20％重量百分比存在，总浓度为5％至20％。在一些实施方案中，包含脂质体组合物的溶液的pH值是6至7.5、6.5至7.5、6.7至7.5或6.3至7.0，或其间的任何范围。在一些实施方案中，内部空间包含缓冲液。在一些实施方案中，缓冲液选自HEPES、柠檬酸盐或磷酸钠(例如，磷酸二氢钠和/或磷酸氢二钠)。在一些实施方案中，缓冲液是HEPES。在一些实施方案中，缓冲液是柠檬酸盐。在一些实施方案中，缓冲液是磷酸钠(例如，磷酸二氢钠和/或磷酸氢二钠)。在一些实施方案中，缓冲液的浓度是15至200mM，或其间的任何范围。在其他实施方案中，缓冲液的浓度介于5至200mM之间、15至200、介于5至100mM之间、介于15至100mM之间、介于5至50mM之间、介于15至50mM之间、介于5至25mM之间、介于5至20mM之间、介于5至15mM之间或其间的任何范围。在一些实施方案中，缓冲液是浓度为15至200mM或其间的任何范围的HEPES。在一些实施方案中，缓冲液是浓度为15至200mM或其间的任何范围的柠檬酸盐。在一些实施方案中，缓冲液是浓度为15至200mM或其间的任何范围的磷酸钠。在另外的实施方案中，脂质体的内部空间包含乙酸钠和/或乙酸钙。在一些实施方案中，脂质体的内部空间包含总浓度介于5mM至500mM、或50mM至500mM之间或其间的任何范围的乙酸钠和乙酸钙。

[0467] 在另外的实施方案中，本公开提供了脂质体组合物，所述脂质体组合物包含封装(即，填充有)α聚谷氨酸化培美曲塞(例如，本文公开的αPPMX)的脂质体。在一些实施方案中，所述脂质体组合物中的脂质体包含αPPMX，所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基(包括培美曲塞中的谷氨酰基)。在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX中的α聚谷氨酸化培美曲塞包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述Lp-αPPMX中的α聚谷氨酸化培美曲塞包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，所述Lp-αPPMX中的α聚谷氨酸化培美曲塞包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在另外的实施方案中，所述Lp-αPPMX中的α聚谷氨酸化培美曲塞包含两个或更多个具有γ羧基键联的谷氨酰基。在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含脂质体，所述脂质体包含α五谷氨酸化PMX。在其他实施方案中，所述脂质体包含L-α五谷氨酸化PMX、D-α五谷氨酸化PMX或L-和D-α五谷氨酸化PMX。在一些实施方案中，所述脂质体组合物包含脂质体，所述脂质体包含α六谷氨酸化PMX(Lp-αPPMX)。在其他实施方案中，所述脂质体包含L-α六谷氨酸化PMX、D-α六谷氨酸化PMX或L-和D-α六谷氨酸化PMX。

[0468] 在一些实施方案中，所述靶向聚乙二醇化脂质体α聚谷氨酸化(例如，五谷氨酸化或六谷氨酸化)培美曲塞包含含有脂质体的介质，所述脂质体包含内部空间；设置在所述内部空间内的α聚谷氨酸化培美曲塞水溶液；和靶向部分，所述靶向部分包含对至少一种叶酸

受体具有特异性亲和力的蛋白质，并且其中所述靶向部分设置在所述脂质体的外部。在一些实施方案中，介质是水溶液。在一些实施方案中，所述内部空间、外部空间(例如，介质)或内部空间和介质两者均含有一种或多种上文列出的冻干保护剂或冷冻保护剂。在一些实施方案中，冷冻保护剂是甘露糖醇、海藻糖、山梨糖醇或蔗糖。

[0469] 在一些实施方案中，包封α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体(例如，Lp-αPPMX，包括PLp-αPPMX、TPLp-αPPMX、TLp-αPPMX和NTLp-αPPMX)具有含有少于500,000或少于200,000个α聚谷氨酸化培美曲塞分子的内部空间。在一些实施方案中，所述脂质体内部空间含有介于10至100,000个之间的α聚谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在一些实施方案中，所述脂质体内部空间含有介于10,000至100,000个之间的α聚谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在一些实施方案中，所述脂质体是非聚乙二醇化的，并且具有含有少于500,000或少于200,000个α聚谷氨酸化培美曲塞分子的内部空间。在一些实施方案中，所述脂质体是非聚乙二醇化的，并且所述脂质体的内部空间含有介于10至100,000个之间的α聚谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在其他实施方案中，所述脂质体是非聚乙二醇化的，并且所述脂质体的内部空间含有介于10,000至100,000个之间的α聚谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在一些实施方案中，所述脂质体是靶向的并且是非聚乙二醇化的(TLp-αPPMX)，并且具有含有少于500,000或少于200,000个α聚谷氨酸化培美曲塞分子的内部空间。在一些实施方案中，所述脂质体是靶向的并且是非聚乙二醇化的，并且所述脂质体的内部空间含有介于10至100,000个之间的α聚谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在其他实施方案中，所述脂质体是靶向的并且是非聚乙二醇化的，并且所述脂质体的内部空间含有介于10,000至100,000个之间的α聚谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在一些实施方案中，所述脂质体是非靶向的并且是非聚乙二醇化的(NTLp-αPPMX)，并且具有含有少于500,000或少于200,000个α聚谷氨酸化培美曲塞分子的内部空间。在一些实施方案中，所述脂质体是非靶向的并且是非聚乙二醇化的，并且所述脂质体的内部空间含有介于10至100,000个之间的α聚谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在其他实施方案中，所述脂质体是非靶向的并且是非聚乙二醇化的，并且所述脂质体的内部空间含有介于10,000至100,000个之间的α聚谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。

[0470] 在一些实施方案中，所述脂质体包封含有2-10个谷氨酰基的α聚谷氨酸化培美曲塞(即，Lp-αPPMX，包括PLp-αPPMX、TPLp-αPPMX、TLp-αPPMX和NTLp-αPPMX)，并且具有含有少于500,000或200,000个含2-10个谷氨酰基的α聚谷氨酸化培美曲塞分子的内部空间。在一些实施方案中，所述脂质体内部空间含有介于10至100,000个之间的含2-10个谷氨酰基的α聚谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在其他实施方案中，所述脂质体内部空间含有介于10,000至100,000个之间的含2-10个谷氨酰基的α聚谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在一些实施方案中，所述脂质体是非聚乙二醇化的，并且具有含有少于500,000或200,000个含2-10个谷氨酰基的α聚谷氨酸化培美曲塞分子的内部空间。在一些实施方案中，所述脂质体是非聚乙二醇化的，并且所述脂质体的内部空间含有介于10至100,000个之间的含2-10个谷氨酰基的α聚谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在其他实施方案中，所述脂质体是非聚乙二醇化的，并且所述脂质体的内部空间含有介于10,000至100,000个之间的含2-10个谷氨酰基的α聚谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在一些实施方案中，所述脂质体是靶向的并且是非聚乙二醇化的(TLp-αPPMX)，并且具有含有

少于500,000或200,000个含2-10个谷氨酰基的α聚谷氨酸化培美曲塞分子的内部空间。在一些实施方案中,所述脂质体是靶向的并且是非聚乙二醇化的,并且所述脂质体的内部空间含有介于10至100,000个之间的含2-10个谷氨酰基的α聚谷氨酸化培美曲塞分子,或其间的任何范围。在其他实施方案中,所述脂质体是靶向的并且是非聚乙二醇化的,并且所述脂质体的内部空间含有介于10,000至100,000个之间的含2-10个谷氨酰基的α聚谷氨酸化培美曲塞分子,或其间的任何范围。在一些实施方案中,所述脂质体是非靶向的并且是非聚乙二醇化的(NTLp-αPPMX),并且具有含有少于500,000或200,000个含2-10个谷氨酰基的α聚谷氨酸化培美曲塞分子的内部空间。在一些实施方案中,所述脂质体是非靶向的并且是非聚乙二醇化的,并且所述脂质体的内部空间含有介于10至100,000个之间的含2-10个谷氨酰基的α聚谷氨酸化培美曲塞分子,或其间的任何范围。在其他实施方案中,所述脂质体是非靶向的并且是非聚乙二醇化的,并且所述脂质体的内部空间含有介于10,000至100,000个之间的含2-10个谷氨酰基的α聚谷氨酸化培美曲塞分子,或其间的任何范围。

[0471] 在一些实施方案中,所述脂质体包封α四谷氨酸化培美曲塞(即,Lp-αPPMX,包括PLp-αPPMX、TPLp-αPPMX、TLp-αPPMX和NTLp-αPPMX),并且具有含有少于500,000或200,000个α四谷氨酸化培美曲塞分子的内部空间。在一些实施方案中,所述脂质体内部空间含有介于10至100,000个之间的α四谷氨酸化培美曲塞分子,或其间的任何范围。在一些实施方案中,所述脂质体内部空间含有介于10,000至100,000个之间的α四谷氨酸化培美曲塞分子,或其间的任何范围。在一些实施方案中,所述脂质体是非聚乙二醇化的,并且具有含有少于500,000或200,000个α四谷氨酸化培美曲塞分子的内部空间。在一些实施方案中,所述脂质体是非聚乙二醇化的,并且所述脂质体的内部空间含有介于10至100,000个之间的α四谷氨酸化培美曲塞分子,或其间的任何范围。在其他实施方案中,所述脂质体是非聚乙二醇化的,并且所述脂质体的内部空间含有介于10,000至100,000个之间的α四谷氨酸化培美曲塞分子,或其间的任何范围。在一些实施方案中,所述脂质体是靶向的并且是非聚乙二醇化的(TLp-αPPMX),并且具有含有少于500,000或200,000个α四谷氨酸化培美曲塞分子的内部空间。在一些实施方案中,所述脂质体是靶向的并且是非聚乙二醇化的,并且所述脂质体的内部空间含有介于10至100,000个之间的α四谷氨酸化培美曲塞分子,或其间的任何范围。在其他实施方案中,所述脂质体是靶向的并且是非聚乙二醇化的,并且所述脂质体的内部空间含有介于10,000至100,000个之间的α四谷氨酸化培美曲塞分子,或其间的任何范围。在一些实施方案中,所述脂质体是非靶向的并且是非聚乙二醇化的(NTLp-αPPMX),并且具有含有少于500,000或200,000个α四谷氨酸化培美曲塞分子的内部空间。在一些实施方案中,所述脂质体是非靶向的并且是非聚乙二醇化的,并且所述脂质体的内部空间含有介于10至100,000个之间的α四谷氨酸化培美曲塞分子,或其间的任何范围。在其他实施方案中,所述脂质体是非靶向的并且是非聚乙二醇化的,并且所述脂质体的内部空间含有介于10,000至100,000个之间的α四谷氨酸化培美曲塞分子,或其间的任何范围。

[0472] 在一些实施方案中,所述脂质体包封α五谷氨酸化培美曲塞(即,Lp-αPPMX,包括PLp-αPPMX、TPLp-αPPMX、TLp-αPPMX和NTLp-αPPMX),并且具有含有少于500,000或200,000个α五谷氨酸化培美曲塞分子的内部空间。在一些实施方案中,所述脂质体内部空间含有介于10至100,000个之间的α五谷氨酸化培美曲塞分子,或其间的任何范围。在一些实施方案中,所述脂质体内部空间含有介于10,000至100,000个之间的α五谷氨酸化培美曲塞分子,

或其间的任何范围。在一些实施方案中，所述脂质体是非聚乙二醇化的，并且具有含有少于500,000或200,000个α五谷氨酸化培美曲塞分子的内部空间。在一些实施方案中，所述脂质体是非聚乙二醇化的，并且所述脂质体的内部空间含有介于10至100,000个之间的α五谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在其他实施方案中，所述脂质体是非聚乙二醇化的，并且所述脂质体的内部空间含有介于10,000至100,000个之间的α五谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在一些实施方案中，所述脂质体是靶向的并且是非聚乙二醇化的(TLp-αPPMX)，并且具有含有少于500,000或200,000个α五谷氨酸化培美曲塞分子的内部空间。在一些实施方案中，所述脂质体是靶向的并且是非聚乙二醇化的，并且所述脂质体的内部空间含有介于10至100,000个之间的α五谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在其他实施方案中，所述脂质体是靶向的并且是非聚乙二醇化的，并且所述脂质体的内部空间含有介于10,000至100,000个之间的α五谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在一些实施方案中，所述脂质体是非靶向的并且是非聚乙二醇化的(NTLp-αPPMX)，并且具有含有少于500,000或200,000个α五谷氨酸化培美曲塞分子的内部空间。在一些实施方案中，所述脂质体是非靶向的并且是非聚乙二醇化的，并且所述脂质体的内部空间含有介于10至100,000个之间的α五谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在其他实施方案中，所述脂质体是非靶向的并且是非聚乙二醇化的，并且所述脂质体的内部空间含有介于10,000至100,000个之间的α五谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。

[0473] 在一些实施方案中，所述脂质体包封α六谷氨酸化培美曲塞(即，Lp-αPPMX，包括PLp-αPPMX、TPLp-αPPMX、TLp-αPPMX和NTLp-αPPMX)，并且具有含有少于500,000或200,000个α六谷氨酸化培美曲塞分子的内部空间。在一些实施方案中，所述脂质体内部空间含有介于10至100,000个之间的α六谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在其他实施方案中，所述脂质体内部空间含有介于10,000至100,000个之间的α六谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在一些实施方案中，所述脂质体是非聚乙二醇化的，并且具有含有少于500,000或200,000个α六谷氨酸化培美曲塞分子的内部空间。在一些实施方案中，所述脂质体是非聚乙二醇化的，并且所述脂质体的内部空间含有介于10至100,000个之间的α六谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在其他实施方案中，所述脂质体是非聚乙二醇化的，并且所述脂质体的内部空间含有介于10,000至100,000个之间的α六谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在一些实施方案中，所述脂质体是靶向的并且是非聚乙二醇化的(TLp-αPPMX)，并且具有含有少于500,000或200,000个α六谷氨酸化培美曲塞分子的内部空间。在一些实施方案中，所述脂质体是靶向的并且是非聚乙二醇化的，并且所述脂质体的内部空间含有介于10至100,000个之间的α六谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在其他实施方案中，所述脂质体是靶向的并且是非聚乙二醇化的，并且所述脂质体的内部空间含有介于10,000至100,000个之间的α六谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在一些实施方案中，所述脂质体是非靶向的并且是非聚乙二醇化的(NTLp-αPPMX)，并且具有含有少于500,000或200,000个α六谷氨酸化培美曲塞分子的内部空间。在一些实施方案中，所述脂质体是非靶向的并且是非聚乙二醇化的，并且所述脂质体的内部空间含有介于10至100,000个之间的α六谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。在其他实施方案中，所述脂质体是非靶向的并且是非聚乙二醇化的，并且所述脂质体的内部空间含有介于10,000至100,000个之间的α六谷氨酸化培美曲塞分子，或其间的任何范围。

[0474] 在一些实施方案中，本公开提供了一种脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物，其中所述脂质体包封α聚谷氨酸化培美曲塞或其盐或酸，以及一种或多种药学上可接受的水性载体。在一些实施方案中，所述脂质体内部空间含有海藻糖。在一些实施方案中，所述脂质体内部空间含有1重量％至50重量％的海藻糖。在一些实施方案中，所述脂质体内部空间含有浓度介于1至200mM之间并且pH值介于2至8之间的HBS。在一些实施方案中，脂质体内部空间具有pH 5-8，或其间的任何范围。在一些实施方案中，脂质体内部空间具有pH 6-7，或其间的任何范围。在一些实施方案中，所述脂质体内部空间具有总浓度介于50mM至500mM之间或其间的任何范围的乙酸钠和乙酸钙，。

[0475] A非聚谷氨酸化的可聚谷氨酸化抗叶酸剂

[0476] 在一些实施方案中，所述脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞(即，Lp-αPPMX，包括PLp-αPPMX、TPLp-αPPMX、TLp-αPPMX和NTLp-αPPMX)组合物包含α聚谷氨酸化培美曲塞(例如，本文中所公开的αPPMX)和一种或多种非聚谷氨酸化的可聚谷氨酸化抗叶酸剂组合物。

[0477] 在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX(例如，PLp-αPPMX、TPLp-αPPMX、TLp-αPPMX和NTLp-αPPMX)包含α聚谷氨酸化培美曲塞(例如，本文公开的αPPMX)和培美曲塞(PMX)。在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX(即，脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞)包含α聚谷氨酸化培美曲塞和选自由以下组成的组的可聚谷氨酸化抗叶酸剂：培美曲塞(PMX)、氨甲蝶呤(MTX)、洛美曲索(LMX)、雷替曲塞(RTX)、普拉曲沙、AG2034、GW1843、氨基蝶呤和LY309887。在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX包含α聚谷氨酸化培美曲塞和洛美曲索。在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX包含α聚谷氨酸化培美曲塞和培美曲塞。在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX包含α聚谷氨酸化培美曲塞和亚叶酸。在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX包含α聚谷氨酸化培美曲塞和三嗪抗叶酸剂衍生物(例如，磺酰氟三嗪，如NSC 127755)。在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX包含α聚谷氨酸化培美曲塞和丝氨酸羟甲基转移酶(SHMT2)抑制剂。在一些实施方案中，所述SHMT2抑制剂是抗叶酸剂(例如，可聚谷氨酸化或不可聚谷氨酸化抗叶酸剂)。在一些实施方案中，所述SHMT2抑制剂是抗叶酸剂。

[0478] B不可聚谷氨酸化抗叶酸剂

[0479] 在一些实施方案中，所述Lp-αPPMX(例如，PLp-αPPMX、TPLp-αPPMX、TLp-αPPMX和NTLp-αPPMX)包含α聚谷氨酸化培美曲塞(例如，本文公开的αPPMX)和所谓的“不可聚谷氨酸化”抗叶酸剂。在一些实施方案中，所述脂质体包含α聚谷氨酸化培美曲塞和抑制叶酸循环代谢途径中的一种或多种酶的不可聚谷氨酸化抗叶酸剂。在其他实施方案中，所述不可聚谷氨酸化抗叶酸剂抑制选自以下的一种或多种酶：胸苷酸合成酶(TS)、二氢叶酸还原酶(DHFR)、甘氨酰胺核糖核苷酸(GAR)转化酶和氨基咪唑羧酰胺核糖核苷酸(AICAR)转化酶。在一些实施方案中，所述脂质体包含α聚谷氨酸化培美曲塞和抑制DHFR的不可聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述脂质体包含α聚谷氨酸化培美曲塞和抑制TS的不可聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述脂质体包含α聚谷氨酸化培美曲塞和抑制GAR或AICAR转化酶的不可聚谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所述不可聚谷氨酸化抗叶酸剂选自由以下组成的组：三甲曲沙(TMQ)、吡曲克辛(BW301U)和talotrexin(PT523)。在其他实施方案中，所述不可聚谷氨酸化抗叶酸剂选自由以下组成的组：诺拉曲塞(AG337)、普来曲塞(ZD9331，BGC9331)和BGC 945(ONX 0801)。

[0480] C铂

[0481] 在一些实施方案中,所述脂质体包含α聚谷氨酸化培美曲塞(Lp-αPPMX,例如PLp-αPPMX、TPLp-αPPMX、TLp-αPPMX和NTLp-αPPMX),包含α聚谷氨酸化培美曲塞(例如,本文公开的αPPMX)和基于铂的化学治疗剂或其盐或酸。在一些实施方案中,脂质体含有α聚谷氨酸化培美曲塞/基于铂的剂复合物(例如,如IIC部分中所述)。

[0482] 在一些实施方案中,所述Lp-αPPMX包含选自由以下组成的组的基于铂的化学治疗剂:顺铂、卡铂和奥沙利铂,或其盐或酸。在其他实施方案中,所述Lp-αPPMX包含选自由以下组成的组的基于铂的化学治疗剂的类似物:顺铂、卡铂或奥沙利铂,或其盐或酸。

[0483] 在一些实施方案中,所述Lp-αPPMX包含α聚谷氨酸化培美曲塞和顺铂或其盐或酸。在一些实施方案中,所述Lp-αPPMX包含α聚谷氨酸化培美曲塞和顺铂类似物或其盐或酸。

[0484] 在一些实施方案中,所述Lp-αPPMX包含α聚谷氨酸化培美曲塞和卡铂或其盐或酸。在一些实施方案中,所述脂质体包含α聚谷氨酸化培美曲塞和卡铂类似物或其盐或酸。

[0485] 在一些实施方案中,所述Lp-αPPMX包含α聚谷氨酸化培美曲塞和奥沙利铂或其盐或酸。在一些实施方案中,所述脂质体包含α聚谷氨酸化培美曲塞和奥沙利铂类似物或其盐或酸。

[0486] 在一些实施方案中,所述脂质体包含α聚谷氨酸化培美曲塞(例如,本文公开的αPPMX)和选自由以下组成的组的基于铂的化学治疗剂:奈达铂、庚铂和洛铂,或其盐或酸。在一些实施方案中,所述Lp-αPPMX包含α聚谷氨酸化培美曲塞和选自由以下组成的组的基于铂的化学治疗剂的类似物:奈达铂、庚铂和洛铂,或其盐或酸。

[0487] 在一些实施方案中,所述Lp-αPPMX包含α聚谷氨酸化培美曲塞和选自由以下组成的组的基于铂的化学治疗剂:赛特铂、卡铂、顺铂、环铂、右奥马铂、螺铂、吡铂、三铂、四铂、异丙铂、奥马铂、折尼铂、铂-三胺、traplatin、恩洛铂、JM216、254-S、NK121、CI-973、DWA 2114R、NDDP和dedaplatin,或其盐或酸。在一些实施方案中,所述Lp-αPPMX包含α聚谷氨酸化培美曲塞和选自由以下组成的组的基于铂的化学治疗剂的类似物:赛特铂、卡铂、顺铂、环铂、右奥马铂、螺铂、吡铂、三铂、四铂、异丙铂、奥马铂、折尼铂、铂-三胺、traplatin、恩洛铂、JM216、254-S、NK121、CI-973、DWA 2114R、NDDP和dedaplatin,或其盐或酸。

[0488] 在一些实施方案中,所述脂质体组合物包含脂质体,所述脂质体还含有设置在所述PEG和所述脂质体的外部中的至少一者上的免疫刺激剂、可检测标记物和马来酰亚胺中的一者或多者。

[0489] D环糊精

[0490] 在另外的实施方案中,所述αPPMX脂质体包含αPPMX(例如,本文公开的αPPMX)和环糊精(例如,本文IIC部分中的环糊精)。

[0491] 在一些实施方案中,所述αPPMX脂质体包含由环糊精和治疗剂形成的复合物。在一些实施方案中,治疗剂是细胞毒性化合物或其盐或酸。在另一实施方案中,治疗剂是化学治疗剂或其盐或酸。在另一个实施方案中,治疗剂是基于铂的药物。在另一个实施方案中,治疗剂是基于紫杉烷的药物。在另外的实施方案中,环糊精/治疗剂复合物的治疗剂是选自由以下组成的组的成员:吉西他滨、基于吉西他滨的治疗剂、阿霉素、抗叶酸剂、基于抗叶酸剂的化学治疗剂或其盐或酸、酸或游离碱形式。在另外的实施方案中,所述复合物中环糊精/治疗剂的摩尔比在1-10:1的范围内。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/治疗剂的摩尔比是1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、

1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/治疗剂的摩尔比是:1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。

[0492] 在一些实施方案中,所述αPPMX脂质体包含αPPMX和环糊精/基于铂的化学治疗剂复合物。在一些实施方案中,基于铂的化学治疗剂选自由以下组成的组:顺铂、卡铂和奥沙利铂,或其盐或酸。在其他实施方案中,环糊精/基于铂的化学治疗剂复合物包含顺铂、卡铂、奥沙利铂的类似物,或其盐或酸。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/基于铂的剂的摩尔比在1-10:1的范围内。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/基于铂的剂的摩尔比是1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/基于铂的剂的摩尔比是:1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。

[0493] 在一些实施方案中,基于铂的化学治疗剂选自由以下组成的组:顺铂、卡铂和奥沙利铂,或其盐或酸。在其他实施方案中,环糊精/基于铂的化学治疗剂复合物包含顺铂、卡铂、奥沙利铂的类似物,或其盐或酸。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/基于铂的剂的摩尔比在1-10:1的范围内。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/基于铂的剂的摩尔比是1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/基于铂的化学治疗剂的摩尔比是:1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。

[0494] 在另外的实施方案中,所述环糊精//基于铂的剂复合物被包封在脂质体中(例如,如本文所述或本领域另外已知的)。

[0495] 在其他实施方案中,本公开提供了一种复合物,所述复合物含有环糊精和顺铂或其盐或酸。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/顺铂(或顺铂盐或酸)的摩尔比在1-10:1的范围内。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/顺铂(或顺铂盐或酸)的摩尔比是1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/顺铂(或顺铂盐或酸)的摩尔比是:1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在另外的实施方案中,所述环糊精//顺铂(或顺铂盐或酸)复合物被包封在脂质体中(例如,如本文所述或本领域另外已知的)。

[0496] 在另一个实施方案中,本公开提供了一种复合物,所述复合物含有环糊精和卡铂或其盐或酸。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/卡铂(或卡铂盐或酸)的摩尔比在1-10:1的范围内。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/卡铂(或卡铂盐或酸)的摩尔比是1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/卡铂(或卡铂盐或酸)的摩尔比是:1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在另外的实施方案中,所述环糊精/卡铂(或卡铂盐或酸)复合物被包封在脂质体中(例如,如本文所述或本领域另外已知

的)。

[0497] 在另一个实施方案中,本公开提供了一种复合物,所述复合物含有环糊精和奥沙利铂或其盐或酸。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/奥沙利铂(或奥沙利铂盐或酸)的摩尔比在1-10:1的范围内。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/奥沙利铂(或奥沙利铂盐或酸)的摩尔比是1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/奥沙利铂(或奥沙利铂盐或酸)的摩尔比是:1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在另外的实施方案中,所述环糊精/奥沙利铂(或奥沙利铂盐或酸)复合物被包封在脂质体中(例如,如本文所述或本领域另外已知的)。

[0498] 在另外的实施方案中,本公开提供了一种复合物,所述复合物包含环糊精和选自由以下组成的组的基于铂的化学治疗剂(:奈达铂、庚铂、洛铂、赛特铂、卡铂、顺铂、环铂、右奥马铂、螺铂、吡铂、三铂、四铂、异丙铂、奥马铂、折尼铂、铂-三胺、traplatin、恩洛铂、JM216、NK121、CI973、DWA 2114R、NDDP和dedaplatin,或其盐或酸。在其他实施方案中,所述环糊精/基于铂的化学治疗剂复合物包含奈达铂、庚铂、洛铂、赛特铂、卡铂、顺铂、环铂、右奥马铂、螺铂、吡铂、三铂、四铂、异丙铂、奥马铂、折尼铂、铂-三胺、traplatin、恩洛铂、JM216、NK121、CI973、DWA 2114R、NDDP或dedaplatin的类似物,或其盐或酸。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/奥沙利铂(或奥沙利铂盐或酸)的摩尔比在1-10:1的范围内。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/基于铂的化学治疗剂(或其盐或酸或类似物)的摩尔比是1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/基于铂的化学治疗剂(或其盐或酸或类似物)的摩尔比是:2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在另外的实施方案中,所述环糊精/基于铂的化学治疗剂(或其盐或酸或类似物)复合物被包封在脂质体中(例如,如本文所述或本领域另外已知的)。

[0499] 在一些实施方案中,本公开提供了一种组合物,所述组合物包含环糊精/基于紫杉烷的化学治疗剂复合物。在一些实施方案中,所述基于紫杉烷的化学治疗剂选自由以下组成的组:紫杉醇(PTX)、多西他赛(DTX)、拉洛他赛(LTX)和卡巴他赛(CTX),或其盐或酸。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/基于紫杉烷的剂的摩尔比在1-10:1的范围内。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/基于紫杉烷的剂的摩尔比是1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/基于紫杉烷的剂的摩尔比是:2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在另外的实施方案中,所述环糊精//基于紫杉烷的剂复合物被包封在脂质体中(例如,如本文所述或本领域另外已知的)。

[0500] 在另外的实施方案中,本公开提供了一种复合物,所述复合物包含环糊精和紫杉醇(PTX)或其盐或酸。在其他实施方案中,所述环糊精/基于紫杉烷的化学治疗剂复合物包含紫杉醇(PTX)的类似物或其盐或酸。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/紫杉醇(或紫杉醇盐或酸)的摩尔比在1-10:1的范围内。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/紫

杉醇(或紫杉醇盐或酸)的摩尔比是1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/紫杉醇(或紫杉醇盐或酸)的摩尔比是:2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在另外的实施方案中,所述环糊精/紫杉醇(或紫杉醇盐或酸)复合物被包封在脂质体中(例如,如本文所述或本领域另外已知的)。

[0501] 在另外的实施方案中,本公开提供了一种复合物,所述复合物包含环糊精和多西他赛(DTX)或其盐或酸。在其他实施方案中,所述环糊精/基于紫杉烷的化学治疗剂复合物包含多西他赛(DTX)的类似物或其盐或酸。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/多西他赛(或多西他赛盐或酸)的摩尔比在1-10:1的范围内。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/多西他赛(或多西他赛盐或酸)的摩尔比是1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/多西他赛(或多西他赛盐或酸)的摩尔比是:2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在另外的实施方案中,所述环糊精/多西他赛(或多西他赛盐或酸)复合物被包封在脂质体中(例如,如本文所述或本领域另外已知的)。

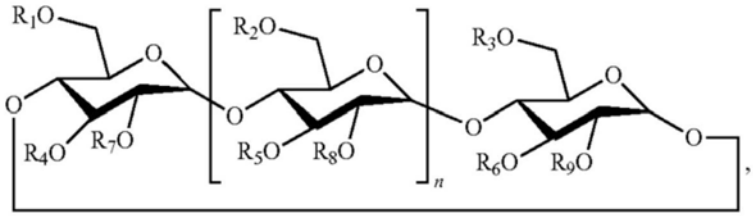
[0502] 在另外的实施方案中,本公开提供了一种复合物,所述复合物包含环糊精和拉洛他赛(LTX)或其盐或酸。在其他实施方案中,所述环糊精/基于紫杉烷的化学治疗剂复合物包含拉洛他赛(LTX)的类似物或其盐或酸。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/拉洛他赛(或拉洛他赛盐或酸)的摩尔比在1-10:1的范围内。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/拉洛他赛(或拉洛他赛盐或酸)的摩尔比是1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/拉洛他赛(或拉洛他赛盐或酸)的摩尔比是:2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在另外的实施方案中,所述环糊精/拉洛他赛(或拉洛他赛盐或酸)复合物被包封在脂质体中(例如,如本文所述或本领域另外已知的)。

[0503] 在另外的实施方案中,本公开提供了一种复合物,所述复合物包含环糊精和卡巴他赛(CTX)或其盐或酸。在其他实施方案中,所述环糊精/基于紫杉烷的化学治疗剂复合物包含卡巴他赛(CTX)的类似物或其盐或酸。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/卡巴他赛(或卡巴他赛盐或酸)的摩尔比在1-10:1的范围内。在一些实施方案中,所述复合物中环糊精/卡巴他赛(或卡巴他赛盐或酸)的摩尔比是1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)或1:>50。在一些实施方案中,所述复合物中αPPMX/卡巴他赛(或卡巴他赛盐或酸)的摩尔比是:2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1或>50:1。在另外的实施方案中,所述环糊精/卡巴他赛(或卡巴他赛盐或酸)复合物被包封在脂质体中(例如,如本文所述或本领域另外已知的)。

[0504] 所述环糊精/治疗剂复合物的环糊精可被衍生化或未衍生化。在一些实施方案中,环糊精被衍生化。在其他实施方案中,环糊精是衍生化的β-环糊精(例如,羟丙基β-环糊精(HP-β-CD)和磺丁基醚β-CD(SBE)-β-环糊精)。在一些实施方案中,所述环糊精/治疗剂复合

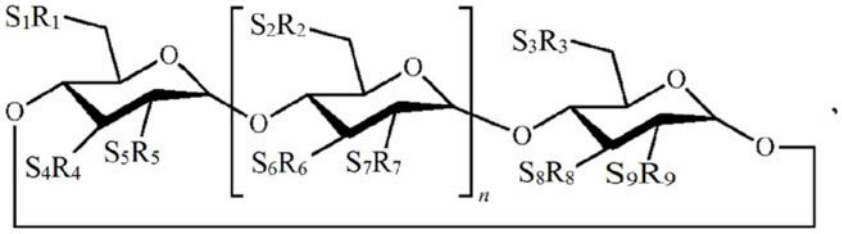
物的环糊精是衍生化的β-环糊精，所述衍生化的β-环糊精包含：羟基的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个2-羟丙基-3-基团取代；或羟基的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个磺烷基醚基团取代。在其他实施方案中，所述环糊精/治疗剂复合物的环糊精是衍生化的β-环糊精，所述衍生化的β-环糊精包含：羟基的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个磺丁基醚基团取代。

[0505] 在一些实施方案中，所述αPPMX脂质体组合物中所含的环糊精/治疗剂复合物的环糊精是式I的衍生化的环糊精：

[0506] 

[0507] 其中：n是4、5或6；并且其中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、R_7、R_8和R_9各自独立地是-H、直链或支链C_1-C_8-亚烷基、2-羟丙基-3-基团；或任选取代的直链或支链C_1-C_6基团，其中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、R_7、R_8和R_9中的至少一者是直链或支链C_1-C_8-亚烷基或2-羟丙基-3-基团。

[0508] 在一些实施方案中，所述αPPMX脂质体组合物中所含的环糊精/治疗剂复合物的环糊精是式II的衍生化的环糊精：

[0509] 

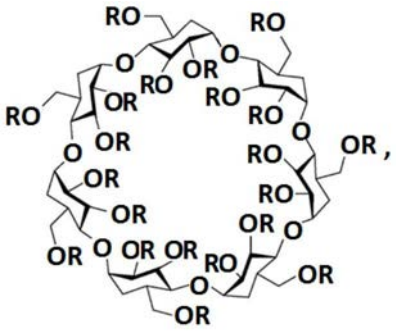
[0510] 其中：n是4、5或6；并且其中R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、R_7、R_8和R_9各自独立地是-O-或-O-(C_2-C_6亚烷基)-SO3$^-$基团；其中R_1和R_2中的至少一者独立地是-O-(C_2-C_6亚烷基)-SO_3^-基团；并且S_1、S_2、S_3、S_4、S_5、S_6、S_7、S_8和S_9各自独立地是-H或H或药学上可接受的阳离子。在其他实施方案中，其中所述药学上可接受的阳离子选自：碱金属，如Li^+、Na^+或K^+；碱土金属，如Ca^{+2}或Mg^{+2}，以及铵离子和胺阳离子，如(C1-C6)-烷基胺、哌啶、吡嗪、(C1-C6)-烷醇胺和(C4-C8)-环烷醇胺的阳离子。

[0511] 在一些实施方案中，所述αPPMX脂质体包含介于100至100,000之间的环糊精/治疗剂复合物。

[0512] 在一些实施方案中，αPPMX/环糊精复合物和/或环糊精/治疗剂复合物的环糊精衍生物是美国专利号6,133,248、5,874,418、6,046,177、5,376,645、5,134,127、7,034,013、6,869,939；和国际申请公布号WO02005/117911中公开的环糊精，所述专利各自的内容以引用的方式以其优先权并入本文。

[0513] 在一些实施方案中，所述环糊精/治疗剂复合物的环糊精衍生物是磺烷基醚环糊精。在一些实施方案中，复合物的环糊精衍生物是磺丁基醚-3-环糊精，如CAPTISOL®(CyDex Pharma.Inc.,Lenexa,Kansas。用于制备磺丁基醚-3-环糊精和其他磺烷基醚环糊精的方法是本领域已知的。

[0514] 在一些实施方案中，所述环糊精/治疗剂复合物的环糊精衍生物是式III的化合物：

[0515] 

[0516] 其中R等于：

[0517] (a) $(H)_{21-X}$或$(-(CH_2)_4-SO_3Na)_x$，并且x＝1.0-10.0、1.0-5.0、6.0-7.0或8.0-10.0；

[0518] (b) $(H)_{21-X}$或$(-(CH_2CH(OH)CH_3)_x$，并且x＝1.0-10.0、1.0-5.0、6.0-7.0或8.0-10.0；

[0519] (c) $(H)_{21-X}$或(磺烷基醚)x，并且x＝1.0-10.0、1.0-5.0、6.0-7.0或8.0-10.0；或

[0520] (d) $(H)_{21-X}$或$(-(CH_2)_4-SO_3Na)_x$，并且x＝1.0-10.0、1.0-5.0、6.0-7.0或8.0-10.0。

[0521] 可包含在α-PPMX脂质体中并根据所公开的方法使用的另外的环糊精和环糊精/基于铂的治疗剂复合物在美国申请号62/583,432中公开，所述申请的内容以引用的方式整体并入本文。

[0522] 在一些实施方案中，所述α-PPMX脂质体包含环糊精和基于铂的化学治疗剂或其盐的复合物。在一些实施方案中，所述基于铂的化学治疗剂是顺铂或顺铂类似物。在一些实施方案中，所述基于铂的化学治疗剂是卡铂。在另外的实施方案中，所述脂质体组合物包含为选自由以下组成的组的成员的基于铂的化学治疗剂：卡铂、顺铂、奥沙利铂、沙铂、吡铂、奈达铂、三铂、四铂、脂铂(lipoplatin)、洛铂、奥马铂、折尼铂、铂-三胺、traplatin、恩洛铂、JM-216、254-S、NK 121、CI-973、DWA 2114R、NDDP和dedaplatin。在一些实施方案中，所述α-PPMX脂质体包含介于100至100,000之间的基于铂的化学治疗剂/CD复合物。在另外的实施方案中，所述脂质体组合物包含脂质体，所述脂质体具有在20nm至500nm或20nm至200nm范围内或其间的任何范围内的直径。在一些实施方案中，所述组合物中的脂质体包含介于100至100,000之间的铂。

[0523] (3)靶向的脂质体

[0524] 在一些实施方案中，本公开提供了一种脂质体α-聚谷氨酸化培美曲塞组合物，其中所述脂质体包含α-聚谷氨酸化培美曲塞和靶向部分，所述靶向部分连接至PEG和所述脂质体的外部中的一者或两者，并且其中所述靶向部分对目标靶细胞上的表面抗原具有特异性亲和力。此类脂质体在本文中通常可称为“靶向脂质体”，例如包括在脂质体的表面上或以其他方式连接至脂质体的一种或多种靶向部分或生物分布调节剂的脂质体。靶向脂质体的靶向部分可以是能够特异性地结合所需靶标(例如，在目标靶细胞表面上表达的抗原靶标)的任何部分或剂。在一个实施方案中，所述靶向脂质体特异性地且优先地结合至目标靶细胞表面上的靶标，所述目标靶细胞使所述靶向脂质体内化，脂质体包封的α-聚谷氨酸化培美曲塞(例如，α-五谷氨酸化PMX或α-六谷氨酸化PMX)在所述目标靶细胞中发挥其细胞毒性作用。在其他实施方案中，所述靶细胞是癌细胞、肿瘤细胞或转移细胞。在一些实施方案中，所述靶向脂质体是聚乙二醇化的。

[0525] 术语“连接(attach)”或“连接(attached)”是指，例如，任何类型的键合，如共价键

合、通过疏水相互作用的离子键合(例如,抗生物素蛋白-生物素)键合以及通过诸如马来酰亚胺的官能团或诸如PEG的接头键合。例如,可检测标记物、空间稳定剂、脂质体、脂质体组分、免疫刺激剂可通过马来酰亚胺官能团或PEG-马来酰亚胺基团直接彼此连接。

[0526] 靶向部分的组成和来源不限于本公开的范围。在一些实施方案中,连接至脂质体的靶向部分是多肽或肽模拟物配体。肽和肽模拟物靶向部分包括具有天然存在的或修饰的肽的那些,例如D或L肽;α、β或γ肽;N-甲基肽;氮杂肽;具有一个或多个酰胺的肽,即,键联被一种或多种脲、硫脲、氨基甲酸酯或磺酰基脲键联置换的肽;或环肽。肽模拟物是能够折叠成与天然肽相似的限定三维结构的分子。在一些实施方案中,肽或肽模拟物靶向部分是2-50个氨基酸长,例如约5、10、15、20、25、30、35、40、45或50个氨基酸长。

[0527] 在一些实施方案中,靶向部分多肽的长度是至少40个氨基酸残基。在其他实施方案中,靶向部分多肽的长度是至少50、60、75、100、125、150、175、200、250或300个氨基酸残基。

[0528] 在另外的实施方案中,靶向部分多肽,如抗体或抗原结合抗体片段以在0.5x 10^{-10}至10x 10^{-6}范围内的平衡解离常数(Kd)结合靶抗原,如使用BIACORE®分析所测定。

[0529] 在一些实施方案中,所述靶向部分是抗体或抗体衍生物。在其他实施方案中,靶向部分多肽的结合结构域不源自抗体的抗原结合结构域。在一些实施方案中,靶向部分是源自结合支架的多肽,所述结合支架选自由以下组成的组:DARPin、affilin和犰狳重复序列、D结构域(参见例如,WO 2016/164308)、Z结构域(亲和体(Affibody))、adnectin、脂质运载蛋白(lipocalin)、affilin、anticalin、打结素(knottin)、fynomer、atrimer、kunitz结构域(参见例如,WO 2004/063337)、CTLA4或avimer(参见例如,美国公布号2004/0175756、2005/0053973、2005/0048512和2006/0008844)。

[0530] 在另外的实施方案中,靶向部分是对靶细胞表面上表达的目标细胞表面抗原上的表位具有特异性亲和力的抗体或抗体的抗原结合结构域的衍生物。在一些实施方案中,靶向部分是全长抗体。在一些实施方案中,靶向部分是抗体的抗原结合部分。在一些实施方案中,靶向部分是scFv。在其他实施方案中,靶向部分是Fab。在一些实施方案中,靶向部分包含源自抗体的抗原结合结构域的结合结构域(例如,scFv、Fab、Fab'、F(ab')2、Fv片段、二硫键连接的Fv(sdFv)、由VH和CH1结构域组成的Fd片段、scFv、微型抗体、BiTE、Tandab、双抗体((VL-VH)$_2$或(VH-VL)$_2$)、单结构域抗体(例如,sdAb,如纳米抗体(VL或VH))和骆驼科动物VHH结构域)。在一些实施方案中,靶向部分包含抗体来源的一个或多个互补决定区(CDR)。用于所公开的靶向脂质体的合适的基于抗体的靶向部分的实例包括全长人抗体、人源化抗体、嵌合抗体、抗体的抗原结合片段、单链抗体、单结构域抗体、双特异性抗体、合成抗体、聚乙二醇化抗体和多聚体抗体。所提供的靶向脂质体的抗体可具有上述特征的组合。例如,人源化抗体可以是抗原结合片段,并且也可聚乙二醇化和多聚化。

[0531] 术语"人源化抗体"是指作为含有最少非人(例如,鼠)序列的特异性免疫球蛋白链、嵌合免疫球蛋白或其片段的非人(例如,鼠)抗体形式。通常,人源化抗体是人免疫球蛋白,其中来自互补决定区(CDR)的残基被来自具有所需特异性、亲和力和能力的非人物种(例如小鼠、大鼠、兔和仓鼠)的CDR的残基取代(Jones等人,Nature 321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature 332:323-327(1988);Verhoeyen等人,Science239:1534-1536(1988))。在一些情况下,人免疫球蛋白的Fv框架区(FR)残基被来自非人物种的抗体中的具

有所需特异性、亲和力和能力的相应残基置换。可通过取代Fv框架区中和/或替代的非人残基内的额外残基来进一步修饰人源化抗体以改善并优化抗体特异性、亲和力和/或能力。一般来说，人源化抗体将基本上包含所有的至少一个并且通常两个或三个可变结构域，所述可变结构域含有所有或基本上所有对应于非人免疫球蛋白的CDR区，而所有或基本上所有FR区是人免疫球蛋白共有序列的那些。人源化抗体还可包含免疫球蛋白恒定区或结构域(Fc)的至少一部分，通常是人免疫球蛋白的至少一部分。用于产生人源化抗体的方法的实例描述于美国专利号5,225,539和5,639,641中。

[0532] 在其他实施方案中，靶向部分对目标靶细胞的表面抗原上的表位具有特异性亲和力。在一些实施方案中，靶细胞是癌细胞。在一些实施方案中，靶细胞是肿瘤细胞。在其他实施方案中，靶细胞是免疫细胞。

[0533] 在一些实施方案中，靶向部分对在肿瘤细胞表面抗原上表达的表位具有特异性亲和力。术语“肿瘤细胞表面抗原”是指特定过度增生性病症如癌症所共有的抗原。在一些实施方案中，靶向部分对作为肿瘤相关抗原(TAA)的肿瘤细胞表面抗原的表位具有特异性亲和力。TAA是在肿瘤和一些正常细胞上均发现的抗原。当免疫系统不成熟且不能应答时，TAA可在胎儿发育过程中在正常细胞上表达，或者通常可在正常细胞上以极低的水平存在，而在肿瘤细胞上则以高得多的水平表达。由于肿瘤的动态性质，在一些情况下，肿瘤细胞可在某些阶段表达独特的抗原，并且在其他阶段还表达在非肿瘤细胞上也表达的抗原。因此，包含某种标志物作为TAA并不排除其被认为是肿瘤特异性抗原。在一些实施方案中，靶向部分对作为肿瘤特异性抗原(TSA)的肿瘤细胞表面抗原的表位具有特异性亲和力。TSA是肿瘤细胞特有的抗原，并且不会在体内其他细胞上出现。在一些实施方案中，靶向部分对在癌症表面上表达的肿瘤细胞表面抗原的表位具有特异性亲和力，所述癌症包括但不限于原发性或转移性黑素瘤、胸腺瘤、淋巴瘤、肉瘤、肺癌(例如，NSCLC或SCLC)、肝癌、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、白血病、多发性骨髓瘤、成胶质细胞瘤、成神经细胞瘤、子宫癌、宫颈癌、肾癌、甲状腺癌、膀胱癌、肾癌、间皮瘤和腺癌如乳腺癌、前列腺癌癌、卵巢癌、胰腺癌、结肠癌和本领域已知的其他癌症。在一些实施方案中，靶向部分对在肿瘤微环境中在细胞表面上表达的细胞表面抗原(例如，和抗原如分别在内皮细胞和巨噬细胞上表达的VEGFR和TIE1或TIE2，或在肿瘤间质细胞如癌症相关成纤维细胞(CAF)、肿瘤浸润性T细胞和其他白细胞以及包括肥大细胞、嗜酸性粒细胞和肿瘤相关巨噬细胞(TAM)的髓样细胞上表达的抗原)的表位具有特异性亲和力。

[0534] 在一些实施方案中，靶向脂质体αPPMX组合物(例如，TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)包含靶向部分，与正常或非肿瘤细胞相比，所述靶向部分对在靶细胞(如癌细胞或肿瘤细胞)上优先/差异表达的癌症或肿瘤细胞表面抗原的表位具有特异性亲和力，所述表位存在于肿瘤细胞中、但在非肿瘤细胞上不存在或不可接近。例如，在一些情况下，肿瘤抗原位于正常细胞和恶性癌细胞的表面上，但肿瘤表位仅暴露于癌细胞中。作为另一个实例，肿瘤细胞表面抗原可经历癌性状态的确认变化，所述变化引起癌细胞特异性表位存在。对本文所述或本领域另外已知的可靶向肿瘤细胞表面抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分是有用的，并且由所公开的组合物和方法所涵盖。在一些实施方案中，具有肿瘤细胞表面抗原的肿瘤细胞是癌细胞。此类肿瘤细胞表面抗原的实例包括但不限于叶酸受体α、叶酸受体β和叶酸受体δ。

[0535] 在其他实施方案中，靶向部分包含多肽靶向部分，如抗体或抗原结合抗体片段，并且所述靶向部分对叶酸受体具有结合特异性。在一些实施方案中，如使用BIACORE®分析所测定，靶向部分以在0.5x 10^{-10}至10x 10^{-6}范围内的平衡解离常数(Kd)结合叶酸受体。在一些实施方案中，由靶向部分结合的叶酸受体是选自由以下组成的组的一种或多种叶酸受体：叶酸受体α(FR-α)、叶酸受体β(FR-β)和叶酸受体δ(FR-δ)。在另一个实施方案中，靶向部分对至少两种选自叶酸受体α，叶酸受体β和叶酸受体δ的抗原具有特异性亲和力。在另一个实施方案中，靶向部分对叶酸受体α；叶酸受体β；和叶酸受体δ具有特异性亲和力。

[0536] 在一些实施方案中，靶向部分对细胞表面抗原的表位具有特异性亲和力，所述细胞表面抗原在结合时使靶向部分内化。在结合时使结合配偶体如抗体内化的许多细胞表面抗原是本领域已知的，并且被认为是本文公开的在靶向脂质体αPPMX组合物(例如，TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)上表达的靶向部分的结合靶标。

[0537] 在一些实施方案中，靶向部分对选自由以下组成的组的细胞表面抗原的表位具有特异性亲和力：GONMB、TACSTD2(TROP2)、CEACAM5、EPCAM、叶酸受体(例如，叶酸受体-α、叶酸受体-β或叶酸受体-δ)、粘蛋白1(MUC-1)、MUC-6、STEAP1、间皮素、结合素4、ENPP3、鸟苷酸环化酶C(GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70(TNFSF7)、CA9(碳酸酐酶)、5T4(TPBG)、SLTRK6、SC-16、组织因子、LIV-1(ZIP6)、CGEN-15027、P钙粘蛋白、纤连蛋白外结构域B(ED-B)、VEGFR2(CD309)、肌腱蛋白、胶原蛋白IV、骨膜蛋白、内皮素受体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1、EphA受体、EphB受体、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphA1、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、整联蛋白(例如，整联蛋白αvβ3、αvβ5或αvβ6)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、内皮糖蛋白、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFRα、PDGFRβ、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR和MuSK。

[0538] 在一些实施方案中，靶向部分对源自或被确定为在特定受试者的癌症(例如，肿瘤)上表达的一种或多种细胞表面抗原(如新抗原)具有特异性亲和力。

[0539] 在一些实施方案中，靶向部分对选自由甘露糖-6-磷酸受体、转铁蛋白受体和细胞粘附分子(CAM)组成的组的细胞表面抗原的表位具有特异性亲和力。在其他实施方案中，靶向部分对CAM的表位具有特异性亲和力，所述CAM选自由以下组成的组：细胞间粘附分子(ICAM)、血小板-内皮细胞粘附分子(PECAM)、活化白细胞粘附分子(ALCAM)、B-淋巴细胞细胞粘附分子(BL-CAM)、血管细胞粘附分子(VCAM)、粘膜血管地址素细胞粘附分子(MAdCAM)、CD44、LFA-2、LFA-3和基础免疫球蛋白。

[0540] 本文讨论的叶酸受体(FR)不同于还原性叶酸载体(RFC)并且利用不同的途径将叶酸和抗叶酸剂带入细胞中。在一些实施方案中，靶向部分特异性地结合叶酸受体。在其他实施方案中，靶向部分特异性地结合选自叶酸受体α、叶酸受体β和叶酸受体δ的叶酸受体。可使用本领域已知的技术常规地产生针对叶酸受体α的抗体。此外，许多抗叶酸受体抗体的序列属于公共域和/或可商购获得并且易于获得。

[0541] 针对叶酸受体的鼠抗体是可用作所公开的靶向脂质体的靶向部分的抗体的实例，

是针对叶酸受体的鼠抗体。这些抗体的序列是已知的，并且描述于例如美国专利号5,646,253;8,388,972;8,871,206;和9,133,275以及国际申请号PCT/US2011/056966和PCT/US2012/046672中。例如，基于已经在公共域中公开的序列，可合成抗体的基因并将其置于瞬时表达载体中，并且在HEK-293瞬时表达系统中产生抗体。抗体可以是完整抗体、Fab或本文讨论或本领域已知的各种抗体变体中的任一种。

[0542] 在一些实施方案中，靶向脂质体(例如，TL-αPPMX或TPL-αPPMX)在其表面上含有1至1,000个或超过1,000个靶向部分。在一些实施方案中，靶向脂质体含有30至1,000个、30至500个、30至250个或30-200个靶向部分或其间的任何范围。在一些实施方案中，靶向脂质体含有少于220个靶向部分、少于200个靶向部分或少于175个靶向部分。在一些实施方案中，靶向部分非共价键合至脂质体的外部(例如，经由离子相互作用或GPI锚)。

[0543] 在一些实施方案中，靶向脂质体(例如，TL-αPPMX或TPL-αPPMX)外部上的分子包括脂质、靶向部分、空间稳定剂(例如，PEG)、马来酰亚胺和胆固醇。在一些实施方案中，靶向部分经由马来酰亚胺官能团共价结合。在一些实施方案中，靶向部分与脂质体组分或空间稳定剂如PEG分子共价结合。在一些实施方案中，脂质体的所有靶向部分都结合至脂质体的一种组分，如PEG。在其他实施方案中，靶向脂质体的靶向部分结合至脂质体的不同组分。例如，一些靶向部分可结合至脂质组分或胆固醇，一些靶向部分可结合至空间稳定剂(例如，PEG)，并且其他靶向部分可结合至可检测标记物或另一个靶向部分。在一些实施方案中，靶向脂质体(例如，TL-αPPMX或TPL-αPPMX)的外部还包含设置在所述PEG和所述脂质体的外部中的至少一者上的免疫刺激剂、可检测标记物和马来酰亚胺中的一者或多者。

[0544] 在一些实施方案中，靶向脂质体(例如，TL-αPPMX或TPL-αPPMX)是阴离子性或中性的。在一些实施方案中，靶向阴离子性或中性脂质体具有在20nm至500nm或20nm至200nm范围内或其间的任何范围内的直径。在其他实施方案中，靶向阴离子性或中性脂质体具有在80nm至120nm范围内或其间的任何范围内的直径。

[0545] 在其他实施方案中，靶向脂质体(例如，TL-αPPMX或TPL-αPPMX)是阳离子性的。在一些实施方案中，靶向阴离子性或中性脂质体具有在20nm至500nm或20nm至200nm范围内或其间的任何范围内的直径。在其他实施方案中，靶向阴离子性或中性脂质体具有在80nm至120nm范围内或其间的任何范围内的直径。

[0546] 在一些实施方案中，靶向脂质体包含至少1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或超过75％(w/w)的α聚谷氨酸化PMX。在一些实施方案中，在制备靶向脂质体的过程期间，将至少1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或超过75％的α聚谷氨酸化PMX的起始材料包封(包埋)在靶向脂质体中。

[0547] 在一些实施方案中，靶向脂质体组合物包含30％-70％、30％-60％或30％-50％(w/w)的α四谷氨酸化PMX，或其间的任何范围。在一些实施方案中，靶向脂质体包含至少1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或超过75％(w/w)的α四谷氨酸化PMX。在一些实施方案中，在制备靶向脂质体的过程期间，将至少1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或超过75％的α四谷氨酸化PMX的起始材料包封(包埋)在靶向脂质体中。

[0548] 在一些实施方案中，靶向脂质体组合物包含30％-70％、30％-60％或30％-50％

(w/w)的α五谷氨酸化PMX,或其间的任何范围。在一些实施方案中,靶向脂质体包含至少1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或超过75%(w/w)的α五谷氨酸化PMX。在一些实施方案中,在制备靶向脂质体的过程期间,将至少1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或超过75%的α五谷氨酸化PMX的起始材料包封(包埋)在靶向脂质体中。

[0549] 在一些实施方案中,靶向脂质体组合物包含30%-70%、30%-60%或30%-50%(w/w)的α六谷氨酸化PMX,或其间的任何范围。在一些实施方案中,靶向脂质体包含至少1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或超过75%(w/w)的α六谷氨酸化PMX。在一些实施方案中,在制备靶向脂质体的过程期间,将至少1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或超过75%的α六谷氨酸化PMX的起始材料包封(包埋)在靶向脂质体中。

[0550] 用于将多肽靶向部分与脂质体表面分子共价缔合的方法和技术是本领域已知的,并且可容易地用于制备TL-αPPMX或TPL-αPPMX脂质体组合物。

[0551] 可采用非蛋白质靶向部分和其他组合物与脂质体表面的化学结合。因此,可使用本领域已知的任何连接或结合方法和/或任何合适的化学接头将非蛋白质部分共价或非共价连接至脂质体、包埋或吸附至脂质体上。此类交联剂和交联方法的确切类型和化学性质优选适合于所用亲和基团的类型和脂质体的性质。用于结合或吸附或连接靶向部分的方法也是本领域众所周知的。例如,在一些实施方案中,靶向部分可经由但不限于极性基团如氨基、SH、羟基、醛、甲酰基、羧基、His-标签或其他多肽连接至界面处的基团。另外,靶向部分可经由但不限于活性基团连接,所述活性基团如琥珀酸琥珀酰亚胺酯、氰尿酰氯、甲苯磺酰基活化基团、咪唑基团、CNBr、NHS、活化的CH、ECH、EAH、环氧基、硫代丙基、活化的硫醇等。此外,靶向部分可经由但不限于可包括或可不包括交联剂的疏水键(范德华力)或静电相互作用(例如,二价阴离子、聚阴离子、聚-阳离子等)连接。

[0552] (4)脂质体的制造

[0553] 在一些实施方案中,本公开提供了一种制备本文公开的脂质体组合物的方法。在一个实施方案中,所述方法包括形成混合物,所述混合物包含:(1)脂质体组分;和(2)在水溶液中的α聚谷氨酸化(例如,五谷氨酸化或六谷氨酸化)培美曲塞。在其他实施方案中,所述混合物包含聚乙二醇化脂质体组分。然后将混合物均质化以在水溶液中形成脂质体。此外,可将混合物通过膜挤出以形成脂质体,所述脂质体将α聚谷氨酸化培美曲塞封闭在水溶液中。应理解,本公开的脂质体组分可包含任何脂质(包括胆固醇),包括官能化脂质和与靶向部分、可检测标记物和空间稳定剂或所有这些的任何子集连接的脂质。还应注意,水溶液中的生物活性α聚谷氨酸化培美曲塞可包含本文讨论的或本领域另外已知的脂质体内部或外部的任何试剂和化学物质,包括例如缓冲剂、盐和冷冻保护剂。

[0554] 在一些实施方案中,本公开提供了一种制备本文公开的靶向聚乙二醇化脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞(靶向PLp-αPPMX)或非靶向PLp-αPPMX的方法。在一个实施方案中,所述方法包括形成混合物,所述混合物包含:(1)脂质体组分;(2)在水溶液中的α聚谷氨酸化(例如,五谷氨酸化或六谷氨酸化)培美曲塞;和(3)靶向部分。然后将混合物均质化以在水溶液中形成脂质体。此外,可将混合物通过膜挤出以形成脂质体,所述脂质体将靶向α聚谷氨酸化培美曲塞封闭在水溶液中。应理解,靶向聚乙二醇化脂质体组分可包含任何脂质(包

括胆固醇),包括官能化脂质和与靶向部分、可检测标记物和空间稳定剂或所有这些的任何子集连接的脂质。还应注意,靶向聚乙二醇化脂质体可包含本文所讨论的或本领域已知的脂质体内部或外部的任何试剂和化学品,包括例如缓冲剂、盐和冷冻保护剂。

[0555] 上述方法任选地还包括在除去步骤(下文论述)后冻干组合物以形成冻干组合物的步骤。如上所述,水溶液中的靶向PTPLA或非靶向PTPLA可包含本文所述或本领域另外已知的冷冻保护剂。如果要冻干组合物,则冷冻保护剂可能是优选的。

[0556] 另外,在冻干步骤后,所述方法任选地还包括通过在冻干步骤后将组合物溶解在溶剂中来重构冻干组合物的步骤。重构方法是本领域已知的。一种优选的溶剂是水。其他优选的溶剂包括盐水溶液和缓冲溶液。

[0557] 尽管本文讨论了某些示例性实施方案,但应理解,脂质体可通过本领域已知的任何方法制备。参见例如,G.Gregoriadis(编辑),Liposome Technology,第1-3卷,第1版,1983;第2版,1993,CRC Press,45Boca Raton,Fla。适用于制备脂质体组合物的方法的实例包括挤出、反相蒸发、超声处理、溶剂(例如,乙醇)注入、微射流、洗涤剂透析、醚注入和脱水/再水合。脂质体的大小通常可通过控制用于低压挤出的膜的孔径或微射流中使用的压力和通过次数或本领域已知的任何其他合适的方法来控制。

[0558] 通常,α聚谷氨酸化培美曲塞包含在脂质体的内部,即内部(内部)空间中。在一个实施方案中,将聚谷氨酸化培美曲塞部分或基本上完全从脂质体周围的外部介质中除去。可通过本领域已知的任何合适的手段(例如,稀释、离子交换色谱法、尺寸排阻色谱法、透析、超滤和沉淀)来完成这种去除。因此,制备上述或本领域另外已知的脂质体组合物的方法可任选地还包括在形成脂质体后例如通过均质化或通过挤出步骤除去脂质体外部的水溶液中的α聚谷氨酸化培美曲塞的步骤。

[0559] 在其他实施方案中,本公开提供了选择性地靶向叶酸受体的靶向聚乙二醇化脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞(PLp-αPPMX),其包含:脂质体,所述脂质体包括内部空间;设置在所述内部空间内的α聚谷氨酸化培美曲塞;与所述脂质体的外部连接的空间稳定剂分子;以及包含对至少一种叶酸受体具有特异性亲和力的蛋白质的靶向部分,所述靶向部分与空间稳定剂和脂质体的外部中的至少一者连接。此实施方案的组分可与针对本公开的其他实施方案所描述的相同。例如,靶向聚乙二醇化脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞和可以是PEG的空间稳定剂如本公开的其他部分中所描述。

[0560] 在一些实施方案中,本公开提供了一种制备靶向组合物的方法,所述靶向组合物包含聚乙二醇化脂质体,所述聚乙二醇化脂质体包含包埋的和/或包封的α聚谷氨酸化培美曲塞;靶向部分是氨基酸链,所述氨基酸链包含多个氨基酸,所述靶向部分对至少一种类型的叶酸受体具有特异性亲和力,所述特异性亲和力被定义为对于至少一种类型的叶酸受体包括在0.5x 10^{-10}至10x 10^{-6}摩尔[0.05nM至10μM]范围内的平衡解离常数(Kd),所述靶向部分连接至PEG和所述脂质体的外部中的一者或两者,所述方法包括:形成在溶液中包含脂质体组分和α聚谷氨酸化培美曲塞的混合物;使所述混合物均质化以在所述溶液中形成脂质体;加工所述混合物以形成包埋和/或包封α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体;以及在包埋和/或包封所述α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体的表面上提供靶向部分,所述靶向部分对叶酸受体α(FR-α)、叶酸受体β(FR-β)和叶酸受体δ(FR-δ)中的至少一者具有特异性亲和力。在一些实施方案中,所述方法包括:形成在溶液中包含脂质体组分和α聚谷氨酸化培美曲塞的混

合物;形成包埋和/或包封α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体,例如通过均质化或以其他方式加工所述混合物以形成脂质体;以及在包埋和/或包封所述α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体的表面上提供靶向部分,所述靶向部分对叶酸受体α(FR-α)、叶酸受体β(FR-β)和叶酸受体δ(FR-δ)中的至少一者具有特异性亲和力。在一些实施方案中,所述加工包括以下中的一者或多者:薄膜水合、挤出、在线混合、乙醇注入技术、冻融技术、反相蒸发、动态高压微射流、微射流混合、复乳法、冷冻干燥复乳法、3D打印、膜接触器方法和搅拌,并且一旦形成了颗粒,就可通过挤出和超声处理中的一者或多者进一步改变颗粒的大小。在一些实施方案中,在制备脂质体的过程期间,将至少1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或超过75%的α聚谷氨酸化PMX的起始材料包封(包埋)在靶向脂质体中。在一些实施方案中,所述脂质体是阴离子性或中性的。在一些实施方案中,所述靶向部分对以下中的一者或多者具有特异性亲和力:叶酸受体α(FR-α)、叶酸受体β(FR-β)和叶酸受体δ(FR-δ)。在其他实施方案中,所述靶向部分对叶酸受体α(FR-α)和叶酸受体β(FR-β)具有特异性亲和力。在另外的实施方案中,所述靶向部分对肿瘤细胞表面抗原上的表位具有特异性亲和力,所述表位存在于肿瘤细胞上但在非肿瘤细胞上不存在或不可接近。

[0561] 还可通过改变磷脂组成或通过将受体或反受体插入脂质体中而将脂质体制备成靶向特定细胞、器官或细胞器。例如,用高含量的非离子型表面活性剂制备的脂质体已经用于靶向肝脏。(参见例如,Hayakawa等人的日本专利04-244,018;Kato等人,Biol.Pharm.Bull.16:960,(1993.))二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)与大豆来源的甾醇糖苷混合物(SG)和胆固醇(Ch)的脂质体制剂也已证明可靶向肝脏。(参见Shimizu等人,Biol.Pharm.Bull.20:881,1997。)

[0562] B.抗体递送媒介物

[0563] 在另外的实施方案中,本公开提供了抗体递送媒介物(例如,ADC)。在一些实施方案中,本公开提供了具有式(A)-(L)-(αPPMX)的免疫缀合物,其中:(A)是抗体或抗体的抗原结合片段;(L)是接头;并且(αPPMX)是本文所述的αPPMX组合物;并且其中所述接头(L)将(A)连接至(αPPMX)。

[0564] 在一些实施方案中,所述抗体或抗原结合抗体片段对目标细胞上细胞表面抗原的表位(例如,本文所述的表位和/或抗原)具有特异性亲和力。在某些实施方案中,所述抗体结合至在癌症/肿瘤的细胞膜中或细胞膜上(例如,细胞表面上)表达的抗原靶标,并且在与(抗原)靶标结合后,抗体被所述细胞内化,之后αPPMX在细胞内释放。在一些实施方案中,所述抗体是全长抗体。

[0565] (A)-(L)-(αPPMX)免疫缀合物的抗体或抗原结合抗体片段可以是IgA、IgD、IgE、IgG或IgM抗体。不同类别的免疫球蛋白具有不同的且众所周知的亚基结构和三维构型。在某些实施方案中,抗体是IgG抗体。在一些实施方案中,抗体是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4抗体。在某些实施方案中,抗体是IgG1抗体。

[0566] 在一些实施方案中,(A)是抗体的抗原结合片段。在一些实施方案中,(A)是抗体的抗原结合片段。

[0567] “接头”是能够将化合物(通常是药物,如αPPMX)以稳定的共价方式连接至抗体或抗体的抗原结合片段的任何化学部分。在化合物或抗体保持活性的条件下,接头可易感于

或基本上抵抗酸诱导的裂解、光诱导的裂解、肽酶诱导的裂解、酯酶诱导的裂解和二硫键裂解。合适的接头是本领域熟知的并且包括，例如，二硫基、硫醚基、酸不稳定性基团、光不稳定性基团、肽酶不稳定性基团以及酯酶不稳定性基团。接头还包括带电荷的接头及其亲水性形式。

[0568] 在一些实施方案中，所述接头选自由以下组成的组：可裂解的接头、不可裂解的接头、亲水性接头以及基于二羧酸的接头。在另一个实施方案中，接头是不可裂解的接头。在另一个实施方案中，接头选自由以下组成的组：4-(2-吡啶基二硫代)戊酸N-琥珀酰亚胺酯(SPP)；4-(2-吡啶基二硫代)丁酸N-琥珀酰亚胺酯(SPDB)或4-(2-吡啶基二硫代)-2-磺基丁酸N-琥珀酰亚胺酯(磺基-SPDB)；4-(马来酰亚胺基甲基)环己烷-甲酸N-琥珀酰亚胺酯(SMCC)；4-(马来酰亚胺基甲基)环己烷甲酸N-磺基琥珀酰亚胺酯(磺基SMCC)；4-(碘代乙酰基)-氨基苯甲酸N-琥珀酰亚胺酯(SIAB)；以及N-琥珀酰亚胺基-[(N-马来酰亚胺基丙酰胺基)-四乙二醇]酯(NHS-PEG4-马来酰亚胺)。在另一实施方案中，接头是N-琥珀酰亚胺基-[(N-马来酰亚胺基-丙酰胺基)-四乙二醇]酯(NHS-PEG4-马来酰亚胺)。

[0569] 在一些实施方案中，使用本领域已知的技术，直接或通过接头将α聚谷氨酸化PMX连接(偶联)至免疫缀合物的抗体或抗原结合抗体片段。一种或多种αPPMX的这种连接可包括许多化学机制，如共价结合、亲和力结合、插入、配位结合和络合。αPPMX与抗体或抗原结合抗体片段的共价结合可通过现有侧链的直接缩合或通过掺入外部桥联分子来实现。许多二价或多价剂可用于使用偶联剂将多肽与其他蛋白质缔合，所述偶联剂如碳二亚胺、二异氰酸酯、戊二醛、重氮苯和六亚甲基二胺。此列表并非意图穷尽本领域中已知的各种偶联剂，而是更常见偶联剂的示例。在一些实施方案中，将抗体或抗原结合抗体片段衍生化，然后连接至α聚谷氨酸化PMX。或者，可使用本领域已知的技术将αPPMX衍生化并连接至抗体或抗原结合抗体片段。

[0570] 在一些实施方案中，免疫缀合物包含抗体或抗体的抗原结合片段和αPPMX，所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基(包括培美曲塞中的谷氨酰基)。在一些实施方案中，免疫缀合物包含α聚谷氨酸化培美曲塞，所述α聚谷氨酸化培美曲塞包含两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，免疫缀合物包含α聚谷氨酸化培美曲塞，所述α聚谷氨酸化培美曲塞包含呈D形式的谷氨酰基。在其他实施方案中，免疫缀合物包含α聚谷氨酸化培美曲塞，所述α聚谷氨酸化培美曲塞包含呈D形式的谷氨酰基和两个或更多个呈L形式的谷氨酰基。在另外的实施方案中，免疫缀合物包含α聚谷氨酸化培美曲塞，所述α聚谷氨酸化培美曲塞包含两个或更多个具有γ羧基键联的谷氨酰基。在一些实施方案中，免疫缀合物包含α五谷氨酸化PMX。在其他实施方案中，免疫缀合物包含L-α五谷氨酸化PMX、D-α五谷氨酸化PMX或L-和D-α五谷氨酸化PMX。在一些实施方案中，免疫缀合物包含α六谷氨酸化PMX(Lp-αPPMX)。在其他实施方案中，免疫缀合物包含L-α六谷氨酸化PMX、D-α六谷氨酸化PMX或L-和D-α六谷氨酸化PMX。

[0571] 在一些实施方案中，抗体递送媒介物组合物包含α聚谷氨酸化培美曲塞和对细胞表面抗原上的表位具有特异性亲和力的抗体或抗原结合抗体片段，所述细胞表面抗原选自由以下组成的组：GONMB、TACSTD2(TROP2)、CEACAM5、EPCAM、叶酸受体(例如，叶酸受体-α、叶酸受体-β或叶酸受体-δ)、粘蛋白1(MUC-1)、MUC-6、STEAP1、间皮素、结合素4、ENPP3、鸟苷酸环化酶C(GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70(TNFSF7)、CA9(碳酸酐酶)、5T4(TPBG)、SLTRK6、SC-

16、组织因子、LIV-1(ZIP6)、CGEN-15027、P钙粘蛋白、纤连蛋白外结构域B(ED-B)、VEGFR2(CD309)、肌腱蛋白、胶原蛋白IV、骨膜蛋白、内皮素受体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1、EphA受体、EphB受体、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphA1、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、整联蛋白(例如,整联蛋白αvβ3、αvβ5或αvβ6)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、内皮糖蛋白、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFRα、PDGFRβ、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR和MuSK。在一些实施方案中,所述递送媒介物包含靶向部分,所述靶向部分对源自或被确定为在特定受试者的癌症(肿瘤)上表达的细胞表面抗原(如新抗原)上的表位具有特异性亲和力。

[0572] 在一些实施方案中,所述抗体递送媒介物组合物包含α聚谷氨酸化培美曲塞和对选自由甘露糖6-磷酸受体、转铁蛋白受体和细胞粘附分子(CAM)组成的组的抗原上的表位具有特异性亲和力的抗体或抗原结合抗体片段。在其他实施方案中,靶向部分对CAM的表位具有特异性亲和力,所述CAM选自由以下组成的组:细胞间粘附分子(ICAM)、血小板-内皮细胞粘附分子(PECAM)、活化白细胞粘附分子(ALCAM)、B-淋巴细胞细胞粘附分子(BL-CAM)、血管细胞粘附分子(VCAM)、粘膜血管地址素细胞粘附分子(MAdCAM)、CD44、LFA-2、LFA-3和基础免疫球蛋白。

[0573] 在一些实施方案中,所述抗体递送媒介物组合物包含1、2、3、4、5、5-10或大于10种α聚谷氨酸化PMX。在一些实施方案中,所述抗体递送媒介物组合物包含1、2、3、4、5、5-10或大于10种α五谷氨酸化PMX。在一些实施方案中,所述抗体递送媒介物组合物包含1、2、3、4、5、5-10或大于10种α六谷氨酸化PMX。

[0574] IV.药物组合物和施用

[0575] 在一些实施方案中,脂质体组合物作为含有脂质体和载体(例如药学上可接受的载体)的药物组合物提供。所提供的药物组合物中所含的药学上可接受的载体的实例包括生理盐水、等渗右旋糖、等渗蔗糖、林格氏溶液和汉克斯溶液。在一些实施方案中,添加缓冲物质以维持药物组合物的储存稳定性的最佳pH值。在一些实施方案中,药物组合物的pH值介于6.0与7.5之间。在一些实施方案中,pH值介于6.3与7.0之间。在其他实施方案中,pH值是6.5。理想地,药物组合物的pH值允许脂质体膜脂质的稳定性和所包埋的实体的保留。通常浓度为2-20mM的组氨酸、羟乙基哌嗪-乙基磺酸盐(HEPES)、吗啉代乙基磺酸盐(MES)、琥珀酸盐、酒石酸盐和柠檬酸盐是示例性缓冲物质。其他合适的载体包括例如水、缓冲水溶液、0.4%NaCl和0.3%氨酸。可添加蛋白质、碳水化合物或聚合物稳定剂和张力调节剂,例如明胶、白蛋白、葡聚糖或聚乙烯吡咯烷酮。可用葡萄糖或更惰性的化合物如乳糖、蔗糖、甘露糖醇或糊精将组合物的张力调节至0.25-0.35mol/kg的生理水平。可使用本领域已知的常规灭菌技术(例如,通过过滤)对这些组合物进行常规灭菌。所得到的水溶液可包装使用或在无菌条件下过滤并冻干,冻干制剂在施用之前与无菌水性介质组合。

[0576] 所提供的药物脂质体组合物还可含有接近生理条件所需的其它药学上可接受的辅助物质,如pH调节剂和缓冲剂,以及张力调节剂,例如乙酸钠、乳酸钠、氯化钠、氯化钾和

氯化钙。另外，脂质体悬浮液可包括在储存时保护脂质免受自由基和脂质过氧化损害的脂质保护剂。亲脂性自由基淬灭剂如α生育酚和水溶性铁特异性螯合剂如铁草胺是适合的。

[0577] 所提供的流体药物制剂中的脂质体浓度可根据需要广泛变化，例如，通常小于约0.05重量％或至少约2重量％-10重量％至多至30重量％至50重量％并且将根据所选择的特定施用方式主要通过流体体积和粘度进行选择。例如，可增加浓度以降低与治疗相关的流体负荷。这可在患有动脉粥样硬化相关的充血性心力衰竭或严重高血压的患者中是特别合乎需要的。或者，可将主要由刺激性脂质组成的脂质体药物组合物稀释至低浓度以减轻施用部位的炎症。

[0578] 一些实施方案涉及一种将α聚谷氨酸化培美曲塞的靶向聚乙二醇化脂质体制剂递送至在表面上表达叶酸受体的肿瘤的方法。示例性方法包括以一定量施用本文提供的脂质体药物组合物以将治疗有效剂量的靶向聚乙二醇化脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞递送至肿瘤的步骤。

[0579] 所施用的脂质体药物组合物的量将取决于脂质体内包埋的特定α聚谷氨酸化培美曲塞、所治疗的疾病状态、所用脂质体的类型以及临床医生的判断。通常，所施用的脂质体药物组合物的量将足以递送治疗有效剂量的特定治疗性实体。

[0580] 递送治疗有效剂量所必需的脂质体药物组合物的量可通过药物测试领域中常见的常规体外和体内方法来确定。参见例如，D.B.Budman,A.H.Calvert,E.K.Rowinsky(编辑).Handbook of Anticancer Drug Development,LWW,2003。各种治疗性组合物的治疗有效剂量是本领域技术人员已知的。在一些实施方案中，治疗性实体经由药物脂质体组合物递送并且提供至少与通过在其常规非脂质体制剂中施用相同量的治疗性实体获得的活性相同或更高的活性。通常，脂质体药物组合物的剂量最通常在每平方米体表面积约0.005与约5000g之间的治疗性实体、每平方米体表面积约0.1与约1000g之间的治疗性实体的范围内。

[0581] 例如，如果受试者患有肿瘤，则有效量可以是减少肿瘤体积或负荷(例如通过对肿瘤成像所确定)的剂(例如，α聚谷氨酸化培美曲塞组合物)的量。还可通过血液或其它体液或组织(例如活组织检查)中癌细胞的存在和/或频率来常规评估有效量。如果肿瘤正在影响组织或器官的正常功能，则可通过测量组织或器官的正常功能来常规评估有效量。在一些情况下，有效量是减轻或消除一种或多种、且优选所有症状所需的量。

[0582] 还提供了包含α聚谷氨酸化培美曲塞组合物(例如，含有五谷氨酸化或六谷氨酸化培美曲塞的脂质体)的药物组合物。药物组合物是无菌组合物，其包含样品脂质体，并且优选地包含α聚谷氨酸化培美曲塞，优选地在药学上可接受的载体中。

[0583] 除非本文另有说明，否则可使用多种施用途径。所选择的特定模式将取决于所选择的特定活性剂、所治疗的特定疾患和治疗功效所需的剂量。所提供的方法可使用医学上可接受的并根据良好医学实践的任何已知施用方式来实践。在一些实施方案中，施用途径是注射。在其他实施方案中，注射是通过胃肠外途径进行的，所述胃肠外途径选自肌肉内、皮下、静脉内、动脉内、腹膜内、关节内、硬膜内、鞘内、静脉内、肌肉内或胸骨内注射。在一些实施方案中，施用途径是输注。在另外的实施方案中，施用途径是口服、经鼻、粘膜、舌下、气管内、眼部、直肠、阴道、眼部、局部、透皮、肺部或吸入。

[0584] 含有αPPMX组合物，如本文所述的脂质体αPPMX组合物的治疗性组合物可常规地静

脉内施用，例如通过注射单位剂量施用。当关于本文提供的治疗性组合物使用时，术语“单位剂量”是指适合作为单一剂量用于受试者的物理上分离的单位，每个单位含有与所需稀释剂(例如，载体或媒介物)缔合的经计算可产生所需治疗效果的预定量的活性物质。在一个具体实施方案中，皮下施用含有衔接子的治疗性组合物。

[0585] 在一些实施方案中，所述αPPMX组合物以与剂量制剂相容的方式并以治疗有效量施用。待施用的量取决于待治疗的受试者、受试者的系统利用活性成分的能力以及所需的治疗效果的程度。施用所需要的活性成分的精确量取决于医师的判断并且是每一个个体所特有的。然而，用于全身施加的合适剂量范围在本文中公开并取决于施用途径。用于施用的合适方案也是可变的，但是通过初始施用、接着通过随后注射或其他施用在一个或多个小时间隔的重复剂量来代表。或者，考虑足以将血液中的浓度维持在体内疗法所规定的范围内的连续静脉内输注。

[0586] αPPMX组合物以符合良好医学实践的方式配制、确定剂量和施用。在此情形下的考虑因素包括所治疗的特定病症、所治疗的特定患者、个体患者的临床疾患、病症的病因、剂的递送部位、施用方法、施用时程以及医学从业者已知的其他因素。施用αPPMX组合物的剂量范围是足够大以产生所需作用的剂量范围，其中由靶分子介导的疾病症状得到改善。所述剂量不应大到导致不良的副作用，如高粘滞综合征、肺水肿、充血性心力衰竭以及本领域已知的其他不良副作用。一般来说，剂量将随患者的年龄、体重、身高、体表面积、健康状况(例如，肾和肝功能)、疾患、性别和疾病程度而变化，并且可常规地由本领域的普通技术人员确定。如果有任何并发症，则所述剂量可由单个医师调节。

[0587] 对于治疗性和预防性用途有效的剂量时间表和量(即“给药方案”)将取决于多种因素，包括疾病或病症的病因、阶段和严重程度，所治疗受试者的健康状况、身体状态、年龄，以及αPPMX组合物的递送部位和方式。αPPMX组合物的治疗功效和毒性可通过细胞培养或实验动物中的标准药学、药理学和毒理学程序来确定。从这些程序获得的数据同样可用于配制一系列人类使用的剂量。此外，可使用已知程序容易地确定治疗指数(即，在50％的群体中治疗有效的剂量除以对50％的群体致死的剂量(ED50/LD50))。剂量优选在包括ED50的浓度范围内，具有很少毒性或没有毒性，并且可根据所采用的剂型、患者的敏感性和施用途径在此范围内变化。

[0588] 剂量方案还考虑了本领域已知的药代动力学参数，如药物吸收率、生物利用度、代谢和清除率(参见例如，Hidalgo-Aragones，J.Steroid Biochem.Mol.Biol.58:611-617(1996)；Groning等人，Pharmazie 51:337-341(1996)；Fotherby，Contraception 54:59-69(1996)；以及Johnson等人，J.Pharm.Sci.84:1144-1146(1995))。对于临床医生来说，确定所治疗的每个受试者的剂量方案完全在现有技术的范围内。此外，可根据受试者所需和耐受的剂量和频率施用αPPMX组合物的单次或多次给药。预防性和治疗性治疗的持续时间将根据所治疗的特定疾病或疾患而变化。一些疾病适合急性治疗，而其他则需要长期、慢性治疗。αPPMX组合物可与另外的治疗剂连续或同时施用。

[0589] 在一些实施方案中，以每平方米体表面积0.005与5000mg之间的αPPMX的剂量或其间的任何范围以脂质体组合物的形式施用所述αPPMX组合物。在其他实施方案中，以每平方米体表面积0.1与1000mg之间的αPPMX的剂量或其间的任何范围以脂质体组合物的形式施用所述αPPMX组合物。

[0590] 在一些实施方案中，以1mg/kg至500mg/kg、1mg/kg至250mg/kg、1mg/kg至200mg/kg、1mg/kg至150mg/kg、1mg/kg至100mg/kg、1mg/kg至50mg/kg、1mg/kg至25mg/kg、1mg/kg至20mg/kg、1mg/kg至15mg/kg、1mg/kg至10mg/kg或1mg/kg至5mg/kg或其间的任何范围的剂量以免疫缀合物组合物的形式施用所述αPPMX组合物。

[0591] 在另一个实施方案中，所述αPPMX组合物与一种或多种另外的治疗剂组合施用。

[0592] 在一些实施方案中，将PLp-αPPMX和/或靶向PLp-αPPMX制备为输注组合物、注射组合物、胃肠外组合物或局部组合物。在其他实施方案中，注射包括以下中的一种或多种：腹膜内注射、直接肿瘤内注射、动脉内注射和静脉内注射、皮下注射、肌内注射、经验经皮和鼻内途径递送。在另一实施方案中，PLp-αPPMX和/或靶向PLp-αPPMX是液体溶液或悬浮液。然而，本文还提供了适于在注射前溶解或悬浮于液体媒介物中的固体形式。在一些实施方案中，根据本领域已知的方法将靶向聚乙二醇化脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物配制成肠溶包衣片剂或凝胶胶囊。

[0593] 在一些实施方案中，将靶向聚乙二醇化脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞制剂施用至中枢神经系统肿瘤，使用脂质体的缓慢、持续的颅内输注直接进入肿瘤(例如，对流增强递送(CED))。参见Saito等人，Cancer Research 64:2572-2579(2004)；Mamot等人，J.Neuro-Oncology 68:1-9(2004)。在其他实施方案中，将制剂直接施加至组织表面。还提供了聚乙二醇化脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞制剂的缓释、pH依赖性释放以及其他特定的化学或环境条件介导的释放给药(例如，贮库型注射剂和易蚀植入物)。此类释放介导的组合物的实例在本文中进一步描述或是本领域中另外已知的。

[0594] 对于通过吸入施用，组合物可在使用合适的推进剂(例如，二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其它合适的气体)的情况下以从加压包装或喷雾器呈现的气雾剂喷雾的形式方便地递送。在加压气雾剂的情况下，剂量单位可通过提供阀以递送计量的量来确定。

[0595] 当需要全身递送化合物时，所述化合物可配制用于通过注射(例如通过快速浓注或连续输注)进行胃肠外施用。用于注射的制剂可以单位剂型提供，例如在安瓿瓶或多剂量容器中。胃肠外药物制剂包括成分的水溶液。水性注射悬浮液可含有增加悬浮液的粘度的物质，如羧甲基纤维素钠、山梨糖醇或葡聚糖。或者，可将脂质体的悬浮液制备成油基悬浮液。适合的亲脂性溶剂或媒介物包括脂肪油(如芝麻油)或合成脂肪酸酯(如油酸乙酯或甘油三酸酯)。

[0596] 或者，非靶向或靶向聚乙二醇化脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞可呈粉末形式或冻干形式，用于在使用前用合适的载体(例如无菌无热原水)重构。

[0597] 所提供的组合物(例如，α聚谷氨酸化培美曲塞和含有α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体)也可配制成直肠或阴道组合物，如(例如)含有常规栓剂基质如可可脂或其他甘油酯的栓剂或保留灌肠剂。

[0598] 使用和治疗的方法

[0599] 在另外的实施方案中，本公开提供了使用α聚谷氨酸化培美曲塞(αPPMX)组合物的方法。在一些实施方案中，所述ααPPMX组合物用于治疗疾病或病症。

[0600] 在一些实施方案中，本公开提供了一种杀死细胞的方法，所述方法包括使所述细胞与包含α聚谷氨酸化培美曲塞(例如，本文公开的αPPMX)的组合物接触。在一些实施方案

中,所接触的细胞是哺乳动物细胞。在其他实施方案中,所接触的细胞是人类细胞。在一些实施方案中,所接触的细胞是过度增殖性细胞。在其他实施方案中,所述过度增殖性细胞是癌细胞。在其他实施方案中,所述癌细胞是原代细胞或来自获自/源自选自由以下组成的组的癌症的细胞系的细胞:非血液系统恶性疾病,包括例如肺癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠直肠癌、食道癌、宫颈癌、肝癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌、膀胱癌、肉瘤(例如,骨肉瘤)、脑癌、中枢神经系统癌症和黑素瘤;和血液系统恶性疾病,例如白血病、淋巴瘤和其他B细胞恶性疾病、骨髓瘤和其他浆细胞发育异常或恶液质。在一些实施方案中,所述癌细胞是原代细胞或来自获自/源自肺癌(例如,NSCLC或间皮瘤)的细胞系的细胞。在一些实施方案中,所述癌细胞是原代细胞或来自获自/源自乳腺癌(例如,HER2++或三阴性乳腺癌)的细胞系的细胞。在一些实施方案中,所述癌细胞是原代细胞或来自获自/源自结肠直肠癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中,所述癌细胞是原代细胞或来自获自/源自卵巢癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中,所述癌细胞是原代细胞或来自获自/源自子宫内膜癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中,所述癌细胞是原代细胞或来自获自/源自胰腺癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中,所述癌细胞是原代细胞或来自获自/源自肝癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中,所述癌细胞是原代细胞或来自获自/源自头颈癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中,所述癌细胞是原代细胞或来自获自/源自骨肉瘤的细胞系的细胞。在一些实施方案中,所述方法在体内进行。在其他实施方案中,所述方法在体外进行。在一些实施方案中,所述αPPMX组合物含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中,所述αPPMX组合物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所述αPPMX组合物包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所述αPPMX组合物包含Lα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所述αPPMX组合物包含Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所述αPPMX组合物包含L和Dα聚谷氨酸化培美曲塞。

[0601] 在另外的实施方案中,本公开提供了一种杀死细胞的方法,所述方法包括使所述细胞与含有α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体(例如,本文公开的Lp-αPPMX,如PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)接触。在一些实施方案中,所述脂质体是聚乙二醇化的(例如,PLp-αPPMX和NTPLp-αPPMX)。在一些实施方案中,所述脂质体在其表面上包含对细胞表面上的抗原的表位具有特异性亲和力的靶向部分(例如,TLp-αPPMX和TPLp-αPPMX)。在其他实施方案中,所述脂质体是聚乙二醇化的并且在其表面上包含特异性地结合细胞表面上的抗原的靶向部分(例如,TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中,所接触的细胞是哺乳动物细胞。在其他实施方案中,所接触的细胞是人类细胞。在另外的实施方案中,所接触的细胞是过度增殖性细胞。在其他实施方案中,所述过度增殖性细胞是癌细胞。在其他实施方案中,所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自选自由以下组成的组的癌症的细胞系的细胞:肺癌(例如,非小细胞肺癌)、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠直肠癌、食道癌、宫颈癌、肝癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌、膀胱癌、肉瘤(例如,骨肉瘤)、脑癌、中枢神经系统癌症、黑素瘤、骨髓瘤、白血病和淋巴瘤。在一些实施方案中,所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自肺癌(例如,NSCLC或间皮瘤)的细胞系的细胞。在一些实施方案中,所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自乳腺癌(例如,HER2++或三阴性乳腺癌)的细胞系的细胞。在一些实施方案中,所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自结肠直肠癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中,所接触的癌细胞是原代细胞

或来自获自/源自卵巢癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自子宫内膜癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自胰腺癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自肝癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自头颈癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自骨肉瘤的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所述方法在体内进行。在其他实施方案中，所述方法在体外进行。在一些实施方案中，所述脂质体含有αPPMX，所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中，所述脂质体包含Lα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述脂质体包含Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述脂质体包含L和Dα聚谷氨酸化培美曲塞。

[0602] 在一些实施方案中，本公开提供了一种杀死过度增殖性细胞的方法，所述方法包括使过度增殖性细胞与包含α聚谷氨酸化培美曲塞(例如，本文公开的αPPMX)的递送媒介物(例如，脂质体或抗体)接触。在一些实施方案中，所述递送媒介物是抗体(例如，全长IgG抗体、双特异性抗体或scFv)。在一些实施方案中，所述递送媒介物是脂质体(例如，Lp-αPPMX，如PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所述递送媒介物是非靶向的。在其他实施方案中，递送媒介物是靶向的并且在其表面上包含靶向部分，所述靶向部分对过度增殖性细胞表面上的抗原上的表位具有特异性亲和力。在其他实施方案中，所述递送媒介物包含靶向部分，所述靶向部分对过度增殖性细胞表面上的选自由以下组成的组的抗原上的表位具有特异性亲和力：GONMB、TACSTD2(TROP2)、CEACAM5、EPCAM、叶酸受体(例如，叶酸受体-α、叶酸受体-β或叶酸受体-δ)、粘蛋白1(MUC-1)、MUC-6、STEAP1、间皮素、结合素4、ENPP3、鸟苷酸环化酶C(GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70(TNFSF7)、CA9(碳酸酐酶)、5T4(TPBG)、SLTRK6、SC-16、组织因子、LIV-1(ZIP6)、CGEN-15027、P钙粘蛋白、纤连蛋白外结构域B(ED-B)、VEGFR2(CD309)、肌腱蛋白、胶原蛋白IV、骨膜蛋白、内皮素受体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1、EphA受体、EphB受体、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphA1、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、整联蛋白(例如，整联蛋白αvβ3、αvβ5或αvβ6)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、内皮糖蛋白、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFRα、PDGFRβ、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR和MuSK。在一些实施方案中，所述递送媒介物包含靶向部分，所述靶向部分特异性地结合源自或被确定为在特定受试者的癌症(肿瘤)上表达的一种或多种细胞表面抗原(如新抗原)。在一些实施方案中，所述方法在体内进行。在一些实施方案中，所述方法在体外进行。在一些实施方案中，所述递送媒介物包含由4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基组成的αPPMX。在一些实施方案中，所述递送媒介物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所述递送媒介物包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述递送媒介物包含Lα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述递送媒介物包含Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述递送媒介物包含L和Dα聚

谷氨酸化培美曲塞。

[0603] 在特定实施方案中，使用脂质体递送媒介物执行杀死过度增殖性细胞的方法，所述脂质体递送媒介物包含α聚谷氨酸化培美曲塞(例如，本文公开的Lp-αPPMX，如PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所述递送媒介物是非靶向脂质体。在一些实施方案中，所述递送媒介物在其表面上包含对过度增殖性细胞表面上的抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分(例如，TLp-αPPMX和TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所述递送媒介物是脂质体，所述脂质体在其表面上包含对过度增殖性细胞表面上的抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分。在其他实施方案中，所述靶向部分对选自由以下组成的组的抗原上的表位具有特异性亲和力：GONMB、TACSTD2(TROP2)、CEACAM5、EPCAM、叶酸受体(例如，叶酸受体-α、叶酸受体-β或叶酸受体-δ)、粘蛋白1(MUC-1)、MUC-6、STEAP1、间皮素、结合素4、ENPP3、鸟苷酸环化酶C(GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70(TNFSF7)、CA9(碳酸酐酶)、5T4(TPBG)、SLTRK6、SC-16、组织因子、LIV-1(ZIP6)、CGEN-15027、P钙粘蛋白、纤连蛋白外结构域B(ED-B)、VEGFR2(CD309)、肌腱蛋白、胶原蛋白IV、骨膜蛋白、内皮素受体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1、EphA受体、EphB受体、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphA1、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、整联蛋白(例如，整联蛋白αvβ3、αvβ5或αvβ6)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、内皮糖蛋白、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFRα、PDGFRβ、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR和MuSK。在一些实施方案中，所述脂质体包含靶向部分，所述靶向部分特异性地结合源自或被确定为在特定受试者的癌症(肿瘤)上表达的一种或多种细胞表面抗原(如新抗原)。在一些实施方案中，所述脂质体是聚乙二醇化的(例如，PLp-αPPMX和NTPLp-αPPMX)。在其他实施方案中，所述脂质体是聚乙二醇化的，并且在其表面上包含对过度增殖性细胞表面上的抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分(例如，TPLp-αPPMX)。在其他实施方案中，所述脂质体是非聚乙二醇化的。在一些实施方案中，所述脂质体是非聚乙二醇化的，并且所述脂质体在其表面上包含对过度增殖性细胞表面上的抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分(例如，TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所述脂质体包含由4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基组成的αPPMX。在一些实施方案中，所述脂质体包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述脂质体包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所述脂质体包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述脂质体包含Lα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述脂质体包含Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述脂质体包含L和Dα聚谷氨酸化培美曲塞。

[0604] 在另外的实施方案中，本公开提供了一种抑制癌细胞的增殖的方法，所述方法包括使所述癌细胞与包含α聚谷氨酸化培美曲塞(例如，本文公开的αPPMX)的递送媒介物(例如，脂质体或抗体)接触。在一些实施方案中，所述递送媒介物是抗体(例如，全长IgG抗体、双特异性抗体或scFv)。在一些实施方案中，所述递送媒介物是脂质体(例如，Lp-αPPMX，如PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所述

递送媒介物是非靶向的。在一些实施方案中，所述递送媒介物是靶向的并且在其表面上包含靶向部分，所述靶向部分对癌细胞表面上的抗原上的表位具有特异性亲和力。在其他实施方案中，所述递送媒介物包含对选自由以下组成的组的细胞表面抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分：GONMB、TACSTD2(TROP2)、CEACAM5、EPCAM、叶酸受体(例如，叶酸受体-α、叶酸受体-β或叶酸受体-δ)、粘蛋白1(MUC-1)、MUC-6、STEAP1、间皮素、结合素4、ENPP3、鸟苷酸环化酶C(GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70(TNFSF7)、CA9(碳酸酐酶)、5T4(TPBG)、SLTRK6、SC-16、组织因子、LIV-1(ZIP6)、CGEN-15027、P钙粘蛋白、纤连蛋白外结构域B(ED-B)、VEGFR2(CD309)、肌腱蛋白、胶原蛋白IV、骨膜蛋白、内皮素受体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1、EphA受体、EphB受体、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphA1、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、整联蛋白(例如，整联蛋白αvβ3、αvβ5或αvβ6)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、内皮糖蛋白、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFRα、PDGFRβ、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR和MuSK。在一些实施方案中，所述递送媒介物是对癌细胞表面上的抗原上的表位具有特异性亲和力的抗体。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是哺乳动物细胞。在其他实施方案中，所接触的癌细胞是人类细胞。在另外的实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自选自由以下组成的组的癌症的细胞系的细胞：肺癌(例如，非小细胞肺癌)、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠直肠癌、食道癌、宫颈癌、肝癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌、膀胱癌、肉瘤(例如，骨肉瘤)、脑癌、中枢神经系统癌症、黑素瘤、骨髓瘤、白血病和淋巴瘤。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自肺癌(例如，NSCLC或间皮瘤)的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自乳腺癌(例如，HER2++或三阴性乳腺癌)的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自结肠直肠癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自卵巢癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自子宫内膜癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自胰腺癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自肝癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自头颈癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自骨肉瘤的细胞系的细胞。

[0605] 在一些实施方案中，所述方法在体内进行。在一些实施方案中，所述方法在体外进行。在一些实施方案中，所述递送媒介物是对以上列出的细胞表面抗原中的一者上的表位具有特异性亲和力的抗体。在其他实施方案中，靶向媒介物是脂质体，所述脂质体包含对癌细胞表面上的表位具有特异性亲和力的靶向部分。在其他实施方案中，所述靶向媒介物是脂质体，所述脂质体包含对以上列出的细胞表面抗原中的一者上的表位具有特异性亲和力的靶向部分。在一些实施方案中，所述递送媒介物是聚乙二醇化的脂质体。在其他实施方案中，所述递送媒介物是非聚乙二醇化的脂质体。在一些实施方案中，所述递送媒介物包含α

PPMX组合物，所述αPPMX组合物含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中，所述递送媒介物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所述递送媒介物包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述递送媒介物包含Lα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述递送媒介物包含Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述递送媒介物包含L和Dα聚谷氨酸化培美曲塞。

[0606] 在其他实施方案中，本公开提供了一种抑制癌细胞的增殖的方法，所述方法包括使所述癌细胞与包含α聚谷氨酸化培美曲塞(例如，本文公开的αPPMX)的脂质体接触。在一些实施方案中，所述脂质体是非靶向的。在一些实施方案中，所述脂质体是靶向的并且在其表面上包含靶向部分，所述靶向部分对癌细胞表面上的抗原上的表位具有特异性亲和力。在其他实施方案中，所述脂质体包含对选自由以下组成的组的细胞表面抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分：GONMB、TACSTD2(TROP2)、CEACAM5、EPCAM、叶酸受体(例如，叶酸受体-α、叶酸受体-β或叶酸受体-δ)、粘蛋白1(MUC-1)、MUC-6、STEAP1、间皮素、结合素4、ENPP3、鸟苷酸环化酶C(GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70(TNFSF7)、CA9(碳酸酐酶)、5T4(TPBG)、SLTRK6、SC-16、组织因子、LIV-1(ZIP6)、CGEN-15027、P钙粘蛋白、纤连蛋白外结构域B(ED-B)、VEGFR2(CD309)、肌腱蛋白、胶原蛋白IV、骨膜蛋白、内皮素受体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1、EphA受体、EphB受体、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphA1、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、整联蛋白(例如，整联蛋白αvβ3、αvβ5或αvβ6)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、内皮糖蛋白、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFRα、PDGFRβ、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR和MuSK。在一些实施方案中，所述递送媒介物包含靶向部分，所述靶向部分特异性地结合源自或被确定为在特定受试者的癌症(肿瘤)上表达的一种或多种细胞表面抗原(如新抗原)。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是哺乳动物细胞。在其他实施方案中，所接触的癌细胞是人类细胞。在另外的实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自选自由以下组成的组的癌症的细胞系的细胞：肺癌(例如，非小细胞肺癌)、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠直肠癌、食道癌、宫颈癌、肝癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌、膀胱癌、肉瘤(例如，骨肉瘤)、脑癌、中枢神经系统癌症、黑素瘤、骨髓瘤、白血病和淋巴瘤。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自肺癌(例如，NSCLC或间皮瘤)的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自乳腺癌(例如，HER2++或三阴性乳腺癌)的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自结肠直肠癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自卵巢癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自子宫内膜癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自胰腺癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自肝癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原代细胞或来自获自/源自头颈癌的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所接触的癌细胞是原

代细胞或来自获自/源自骨肉瘤的细胞系的细胞。在一些实施方案中，所述方法在体内进行。在一些实施方案中，所述方法在体外进行。在其他实施方案中，所述靶向媒介物是脂质体，所述脂质体包含对以上列出的细胞表面抗原中的一者上的表位具有特异性亲和力的靶向部分。在一些实施方案中，所述脂质体是聚乙二醇化的。在其他实施方案中，所述脂质体是非聚乙二醇化的。在一些实施方案中，所述脂质体包含αPPMX组合物，所述αPPMX组合物含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中，所述脂质体包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述脂质体包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所述脂质体包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述脂质体包含Lα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述脂质体包含Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述脂质体包含L和Dα聚谷氨酸化培美曲塞。

[0607] 在另外的实施方案中，本公开提供了一种用于治疗过度增生性病症的方法，所述方法包括向患有过度增生性病症或有患过度增生性病症风险的受试者施用有效量的包含α聚谷氨酸化培美曲塞(例如，本文公开的αPPMX)的递送媒介物(例如，抗体或脂质体)。在一些实施方案中，所述递送媒介物是抗体(例如，全长IgG抗体、双特异性抗体或scFv)。在一些实施方案中，所述递送媒介物是脂质体(例如，Lp-αPPMX，如PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物是聚乙二醇化的。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物是非聚乙二醇化的。在另外的实施方案中，所施用的递送媒介物包含对过度增殖性细胞表面上的抗原的表位具有特异性亲和力的靶向部分。在另外的实施方案中，所述递送媒介物包含对选自由以下组成的组的细胞表面抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分：GONMB、TACSTD2(TROP2)、CEACAM5、EPCAM、叶酸受体(例如，叶酸受体-α、叶酸受体-β或叶酸受体-δ)、粘蛋白1(MUC-1)、MUC-6、STEAP1、间皮素、结合素4、ENPP3、鸟苷酸环化酶C(GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70(TNFSF7)、CA9(碳酸酐酶)、5T4(TPBG)、SLTRK6、SC-16、组织因子、LIV-1(ZIP6)、CGEN-15027、P钙粘蛋白、纤连蛋白外结构域B(ED-B)、VEGFR2(CD309)、肌腱蛋白、胶原蛋白IV、骨膜蛋白、内皮素受体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1、EphA受体、EphB受体、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphA1、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、整联蛋白(例如，整联蛋白αvβ3、αvβ5或αvβ6)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、内皮糖蛋白、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFRα、PDGFRβ、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR和MuSK。在一些实施方案中，所述递送媒介物包含靶向部分，所述靶向部分特异性地结合源自或被确定为在特定受试者的癌症(肿瘤)上表达的一种或多种细胞表面抗原(如新抗原)上的表位(即，对所述表位具有特异性亲和力)。在一些实施方案中，所述靶向部分是抗体或抗原结合抗体片段。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物不含对过度增殖性细胞的细胞表面抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含αPPMX，所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所施用的递

送媒介物包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含Lα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含L和Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，过度增生性病症是癌症。在一些实施方案中，过度增生性病症是自身免疫性疾病(例如，类风湿性关节炎)。在一些实施方案中，过度增生性病症是良性或恶性肿瘤；白血病、血液系统或淋巴系统恶性疾病。在其他实施方案中，过度增生性病症选自由以下组成的组：神经元病症、神经胶质病症、星形细胞病症、下丘脑病症、腺体病症、巨噬细胞病症、上皮病症、间质病症、囊胚腔病症、炎症性病症、血管生成和免疫病症，包括自身免疫性疾病。

[0608] 在另外的实施方案中，本公开提供了一种用于治疗过度增生性病症的方法，所述方法包括向患有过度增生性病症或有患过度增生性病症风险的受试者施用有效量包含α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体(例如，Lp-αPPMX，如PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所述脂质体是聚乙二醇化的。在一些实施方案中，所述脂质体是非聚乙二醇化的。在另外的实施方案中，所述脂质体包含对过度增殖性细胞表面上的抗原的表位具有特异性亲和力的靶向部分。在另外的实施方案中，所述脂质体包含对选自由以下组成的组的细胞表面抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分：GONMB、TACSTD2(TROP2)、CEACAM5、EPCAM、叶酸受体(例如，叶酸受体-α、叶酸受体-β或叶酸受体-δ)、粘蛋白1(MUC-1)、MUC-6、STEAP1、间皮素、结合素4、ENPP3、鸟苷酸环化酶C(GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70(TNFSF7)、CA9(碳酸酐酶)、5T4(TPBG)、SLTRK6、SC-16、组织因子、LIV-1(ZIP6)、CGEN-15027、P钙粘蛋白、纤连蛋白外结构域B(ED-B)、VEGFR2(CD309)、肌腱蛋白、胶原蛋白IV、骨膜蛋白、内皮素受体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1、EphA受体、EphB受体、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphA1、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、整联蛋白(例如，整联蛋白αvβ3、αvβ5或αvβ6)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、内皮糖蛋白、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFRα、PDGFRβ、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR和MuSK。在一些实施方案中，所述脂质体包含靶向部分，所述靶向部分对源自或被确定为在特定受试者的癌症(肿瘤)上表达的一种或多种细胞表面抗原(如新抗原)上的表位具有特异性亲和力。。在一些实施方案中，所述靶向部分是抗体或抗原结合抗体片段。在一些实施方案中，所述脂质体不含对过度增殖性细胞的细胞表面抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分。在一些实施方案中，所述脂质体包含αPPMX，所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中，所述脂质体包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述脂质体包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所述脂质体包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述脂质体包含Lα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，脂质体包含Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述脂质体包含L和Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，过度增生性病症是癌症。在一些实施方案中，过度增生性病症是自身免疫性疾病(例如，类风湿性关节炎)。在一些实施方案中，过度增生性病症是良性或恶性肿瘤；白血病、血

液系统或淋巴系统恶性疾病。在其他实施方案中，过度增生性病症选自由以下组成的组：神经元病症、神经胶质病症、星形细胞病症、下丘脑病症、腺体病症、巨噬细胞病症、上皮病症、间质病症、囊胚腔病症、炎症性病症、血管生成或免疫病症，包括自身免疫性疾病。

[0609] 可根据所公开的方法治疗的示例性过度增生性病症包括但不限于与良性、恶化前和恶性细胞增殖相关的病症，包括但不限于赘生物和肿瘤(例如，组织细胞瘤、神经胶质瘤、星形细胞瘤、骨瘤)、癌症(例如，肺癌、小细胞肺癌、胃肠癌、肠癌、结肠直肠癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、肝癌、肾癌、膀胱癌、胰腺癌、脑癌、肉瘤(例如，骨肉瘤、卡波西肉瘤)和黑素瘤)、白血病、银屑病、骨疾病、纤维增生性病症(例如，结缔组织的纤维增生性病症)和动脉粥样硬化。

[0610] 在另外的实施方案中，本公开提供了一种用于治疗癌症的方法，所述方法包括向患有癌症或有患癌症风险的受试者施用有效量的包含α聚谷氨酸化培美曲塞(例如，本文公开的αPPMX)的递送媒介物(例如，抗体或脂质体)。在一些实施方案中，所述递送媒介物是抗体(例如，全长IgG抗体、双特异性抗体或scFv)。在一些实施方案中，所述递送媒介物是脂质体(例如，Lp-αPPMX，如PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物是聚乙二醇化的。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物是非聚乙二醇化的。在另外的实施方案中，所施用的递送媒介物包含对癌细胞表面上的抗原的表位具有特异性亲和力的靶向部分。在另外的实施方案中，所述递送媒介物包含对选自由以下组成的组的细胞表面抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分：GONMB、TACSTD2(TROP2)、CEACAM5、EPCAM、叶酸受体(例如，叶酸受体-α、叶酸受体-β或叶酸受体-δ)、粘蛋白1(MUC-1)、MUC-6、STEAP1、间皮素、结合素4、ENPP3、鸟苷酸环化酶C(GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70(TNFSF7)、CA9(碳酸酐酶)、5T4(TPBG)、SLTRK6、SC-16、组织因子、LIV-1(ZIP6)、CGEN-15027、P钙粘蛋白、纤连蛋白外结构域B(ED-B)、VEGFR2(CD309)、肌腱蛋白、胶原蛋白IV、骨膜蛋白、内皮素受体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1、EphA受体、EphB受体、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphA1、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、整联蛋白(例如，整联蛋白αvβ3、αvβ5或αvβ6)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、内皮糖蛋白、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFRα、PDGFRβ、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR和MuSK。在一些实施方案中，所述递送媒介物包含靶向部分，所述靶向部分对源自或被确定为在特定受试者的癌症(肿瘤)上表达的一种或多种细胞表面抗原(如新抗原)上的表位具有特异性亲和力。在一些实施方案中，所述靶向部分是抗体或抗原结合抗体片段。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含αPPMX，所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所施用的递送媒介物包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含Lα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含L和Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所述癌症选

自由以下组成的组:肺癌(例如,非小细胞肺癌)、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠癌、食道癌、宫颈癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌和血液系统恶性疾病(例如,白血病或淋巴瘤)。在一些实施方案中,所述癌症是肺癌(例如,NSCLC或间皮瘤)。在一些实施方案中,所述癌症是乳腺癌(例如,HER2++或三阴性乳腺癌)。在一些实施方案中,所述癌症是结肠直肠癌。在一些实施方案中,所述癌症是卵巢癌。在一些实施方案中,所述癌症是子宫内膜癌。在一些实施方案中,所述癌症是胰腺癌。在一些实施方案中,所述癌症是肝癌。在一些实施方案中,所述癌症是头颈癌。在一些实施方案中,所述癌症是骨肉瘤。

[0611] 在另外的实施方案中,本公开提供了一种用于治疗癌症的方法,所述方法包括向患有癌症或有患癌症风险的受试者施用有效量的包含α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体(例如,Lp-αPPMX,如PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中,所述脂质体是聚乙二醇化的。在一些实施方案中,所述脂质体是非聚乙二醇化的。在另外的实施方案中,所述脂质体包含对癌细胞表面上的抗原的表位具有特异性亲和力的靶向部分。在另外的实施方案中,所述脂质体包含对选自由以下组成的组的细胞表面抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分:GONMB、TACSTD2(TROP2)、CEACAM5、EPCAM、叶酸受体(例如,叶酸受体-α、叶酸受体-β或叶酸受体-δ)、粘蛋白1(MUC-1)、MUC-6、STEAP1、间皮素、结合素4、ENPP3、鸟苷酸环化酶C(GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70(TNFSF7)、CA9(碳酸酐酶)、5T4(TPBG)、SLTRK6、SC-16、组织因子、LIV-1(ZIP6)、CGEN-15027、P钙粘蛋白、纤连蛋白外结构域B(ED-B)、VEGFR2(CD309)、肌腱蛋白、胶原蛋白IV、骨膜蛋白、内皮素受体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1、EphA受体、EphB受体、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphA1、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、整联蛋白(例如,整联蛋白αvβ3、αvβ5或αvβ6)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、内皮糖蛋白、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFRα、PDGFRβ、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR和MuSK。在一些实施方案中,所述脂质体包含靶向部分,所述靶向部分对源自或被确定为在特定受试者的癌症(肿瘤)上表达的一种或多种细胞表面抗原(如新抗原)上的表位具有特异性亲和力。在一些实施方案中,所述靶向部分是抗体或抗原结合抗体片段。在一些实施方案中,所述脂质体包含αPPMX,所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中,所述脂质体包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所述脂质体包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中,所述脂质体包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所述脂质体包含Lα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,脂质体包含Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所述脂质体包含L和Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所述癌症选自由以下组成的组:肺癌(例如,非小细胞肺癌)、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠癌、食道癌、宫颈癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌和血液系统恶性疾病(例如,白血病或淋巴瘤)。在一些实施方案中,所述癌症是肺癌(例如,NSCLC或间皮瘤)。在一些实施方案中,所述癌症是乳腺癌(例如,HER2++或三阴性乳腺癌)。在一些实施方案中,所述癌症是结肠直肠癌。在一些实施方案中,所述癌症

是卵巢癌。在一些实施方案中，所述癌症是子宫内膜癌。在一些实施方案中，所述癌症是胰腺癌。在一些实施方案中，所述癌症是肝癌。在一些实施方案中，所述癌症是头颈癌。在一些实施方案中，所述癌症是骨肉瘤。

[0612] 在另外的实施方案中，本公开提供了一种用于治疗癌症的方法，所述方法包括向患有癌症或有患癌症风险的受试者施用有效量的脂质体组合物，所述脂质体组合物含有脂质体，所述脂质体包含α聚谷氨酸化培美曲塞和靶向部分，所述靶向部分对癌症表面上的抗原的表位具有特异性亲和力。在一些实施方案中，所述脂质体包含对选自由以下组成的组的细胞表面抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分：GONMB、TACSTD2(TROP2)、CEACAM5、EPCAM、叶酸受体(例如，叶酸受体-α、叶酸受体-β或叶酸受体-δ)、粘蛋白1(MUC-1)、MUC-6、STEAP1、间皮素、结合素4、ENPP3、鸟苷酸环化酶C(GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70(TNFSF7)、CA9(碳酸酐酶)、5T4(TPBG)、SLTRK6、SC-16、组织因子、LIV-1(ZIP6)、CGEN-15027、P钙粘蛋白、纤连蛋白外结构域B(ED-B)、VEGFR2(CD309)、肌腱蛋白、胶原蛋白IV、骨膜蛋白、内皮素受体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1、EphA受体、EphB受体、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphA1、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、整联蛋白(例如，整联蛋白αvβ3、αvβ5或αvβ6)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、内皮糖蛋白、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFRα、PDGFRβ、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR和MuSK。在一些实施方案中，所述脂质体包含靶向部分，所述靶向部分对源自或被确定为在特定受试者的癌症(肿瘤)上表达的一种或多种细胞表面抗原(如新抗原)上的表位具有特异性亲和力。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物包含聚乙二醇化脂质体(例如，TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物包含非聚乙二醇化的脂质体。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含αPPMX，所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗选自由以下组成的组的癌症：肺癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠癌、食道癌、宫颈癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌和血液系统恶性疾病。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗肺癌(例如，NSCLC或间皮瘤)。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗乳腺癌(例如，HER2++或三阴性乳腺癌)。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗结肠直肠癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗卵巢癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗子宫内膜癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗胰腺癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗肝癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗头颈癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗骨肉瘤。

[0613] 在一些实施方案中，所述脂质体包含对肿瘤特异性抗原(TSA)或肿瘤相关抗原

(TAA)的表位具有特异性亲和力的靶向部分。在一些实施方案中,所述脂质体包含对选自由以下组成的组的抗原的表位具有特异性亲和力的靶向部分:肿瘤分化抗原(例如,MART1/MelanA、gp100(Pmel 17)、酪氨酸酶、TRP1和TRP2)、肿瘤特异性多谱系抗原(例如,MAGE1、MAGE3、BAGE、GAGE1、GAGE2和p15)、过表达的胚胎抗原(例如,癌胚抗原(CEA))、过表达的致癌基因或突变的肿瘤抑制基因产物(例如,p53、Ras和HER2/neu)、由染色体易位产生的独特肿瘤抗原(例如,BCR-ABL、E2A-PRL、H4-RET、IGH-IGK和MYL-RAR)、病毒抗原(例如,爱泼斯坦巴尔病毒抗原EBVA、人乳头瘤病毒(HPV)抗原E6或E7)、GP 100)、前列腺酸性磷酸酶(PAP)、前列腺特异性抗原(PSA)、PTGER4、ITGA4、CD37、CD52、CD62L(L-选择素)、CXCR4、CD69、EVI2B CD361)、SLC39A8、MICB、LRRC70、CLELC2B、HMHA1、LST1和CMTM6 CKLFSF6)。

[0614] 在一些实施方案中,所述脂质体包含对血液系统肿瘤抗原的表位具有特异性亲和力的靶向部分。在其他实施方案中,所述靶向部分对选自由以下组成的组的血液系统肿瘤抗原的表位具有特异性亲和力:CD19、CD20、CD22、CD30、CD138、CD33 CD34、CD38、CD123、CS1、ROR1、Lewis^{Y}、Igκ轻链、TCR、BCMA、TACI、BAFFR(CD268)、CALLA和NKG2DL配体)。在一些实施方案中,所述脂质体包含对B细胞淋巴瘤特异性独特型免疫球蛋白或B细胞分化抗原(例如,CD19、CD20和CD37)的表位具有特异性亲和力的靶向部分。在一些实施方案中,所述脂质体包含对多发性骨髓瘤细胞上的抗原(例如,CS-1、CD38、CD138、MUC1、HM1.24、CYP1B1、SP17、PRAME、威尔姆斯肿瘤1WT1)和热休克蛋白gp96)或髓样细胞上的抗原(例如,TSLPR和IL-7R)的表位具有特异性亲和力的靶向部分。

[0615] 在一些实施方案中,所述脂质体包含对实体瘤抗原的表位具有特异性亲和力的靶向部分。在其他实施方案中,所述靶向部分对选自由以下组成的组的血液系统肿瘤抗原的表位具有特异性亲和力:二唾液酸神经节苷脂(GD2)、邻乙酰基GD2、EGFRvIII、ErbB2、VEGFR2、FAP、间皮素、IL13Ra2(神经胶质瘤)、cMET、PSMA、L1CAM、CEA和EGFR。在一些实施方案中,所述脂质体包含对选自由以下组成的组的抗原的表位具有特异性亲和力的靶向部分:GONMB、TACSTD2(TROP2)、CEACAM5、EPCAM、叶酸受体(例如,叶酸受体-α、叶酸受体-β或叶酸受体-δ)、粘蛋白1(MUC-1)、MUC-6、STEAP1、间皮素、结合素4、ENPP3、鸟苷酸环化酶C(GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70(TNFSF7)、CA9(碳酸酐酶)、5T4(TPBG)、SLTRK6、SC-16、组织因子、LIV-1(ZIP6)、CGEN-15027、P钙粘蛋白、纤连蛋白外结构域B(ED-B)、VEGFR2(CD309)、肌腱蛋白、胶原蛋白IV、骨膜蛋白、内皮素受体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1、EphA受体、EphB受体、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphA1、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、整联蛋白(例如,整联蛋白αvβ3、αvβ5或αvβ6)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、内皮糖蛋白、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFRα、PDGFRβ、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR和MuSK。在一些实施方案中,所述脂质体包含对选自由以下组成的组的抗原的表位具有特异性亲和力的靶向部分:CD137、PDL1、CTLA4、CD47、KIR、TNFRSF10B(DR5)、TIM3、PD1、cMet、糖脂F77、EGFRvIII、HLAA2(NY-ESO-1)、LAG3、CD134(OX40)、HVEM、BTLA、TNFRSF25(DR3)、CD133、MAGE A3、PSCA、MUC1、CD44v6、

CD44v6/7、CD44v7/8、IL11Ra、ephA2、CAIX、MNCAIX、CSPG4、MUC16、EPCAM(EGP2)、TAG72、EGP40、ErbB受体家族、ErbB2(HER2)、ErbB3/4、RAGE1、GD3、FAR、Lewis^{Y}、NCAM、HLAA1/MAGE1、MAGEA1、MAGEA3、MAGE-A4、B7H3、WT1、MelanA(MART1)、HPVE6、HPVE7、甲状腺球蛋白、酪氨酸酶、PSA、CLL1GD3、Tn Ag、FLT3、KIT、PRSS21、CD24、PDGFR-β、SSEA4、前列腺酶(prostase)、PAP、ELF2M、ephB2、IGF1、IGFII、IGFI受体、LMP2、gp100、bcr-ab1、岩藻糖基GM1、sLe、GM3、TGS5、叶酸受体β、TEM1(CD248)、TEM7R、CLDN6、TSHR、GPRC5D、CXORF61、CD97、CD7a、HLE、CD179a、ALK、聚唾液酸、PLAC1、GloboH、NY—BR-1、UPK2、HAVCR1、ADRB3、PANX3、GPR20、LY6K、OR51E2、TARP、LAGE1a、豆荚蛋白、E7、ETV6-AML、精子蛋白17、XAGE1、Tie 2、MAD-CT1、MAD-CT2、Fos相关抗原1、p53、p53突变体、前列腺特异性蛋白、存活蛋白、端粒酶、PCTA1(半乳凝素8)、Ras突变体、hTERT、肉瘤易位断点、ML-IAP、ERG(TMPRSS2 ETS融合基因)、NA17、PAX3、雄性激素受体、细胞周期蛋白B1、MYCN、RhoC、TRP2、CYP1B1、BORIS、SART3、PAX5、OY-TES1、LCK、AKAP4、SSX2、逆转录酶、RU1、RU2、肠道羧基酯酶、嗜中性粒细胞弹性蛋白酶、mut hsp70-2、CD79a、CD79b、CD72、LAIR1、FCAR、LILRA2、CD300LF、CLEC12A、BST2、EMR2、LY75、GPC3、FCRLS、IGLL1、TSP-180、MAGE4、MAGE5、MAGE6、VEGFR1、IGF1R、肝细胞生长因子受体、p185ErbB2、p180ErbB-3、nm-23H1、CA 19-9、CA 72-4、CAM 17.1、NuMa、K-ras、β-连环蛋白、CDK4、Mum1、p15、p16、43-9F、5T4、791Tgp72、β-人绒毛膜促性腺激素、BCA225、BTAA、CA125、CA15-3、CA 27.29(BCAA)、CA195、CA242、CA-50、CAM43、CD68、CO-029、FGF5、G250、HTgp-175、M344、MA50、MG7-Ag、MOV18、NB/70K、NY-CO1、RCAS1、SDCCAG16、M2BP、TAAL6、TLP和TPS、胶质瘤相关抗原、甲胎蛋白(AFP)、AFP的p26片段、凝集素反应性AFP以及TLR4。

[0616] 在一些实施方案中,所述脂质体包含对选自由以下组成的组的抗原的表位具有特异性亲和力的靶向部分:PDGFRA、VEGFR1、VEGFR3、神经纤毛蛋白1(NRP1)、神经纤毛蛋白2(NRP2)、乙胞素、PLGF、RET(转染重排)、TIE1、TIE2(TEK)、CA125、CD3、CD4、CD7、CD10、CD13、CD25 CD32、CD32b、CD44(例如,CD44v6)、CD47、CD49e(整联蛋白α5)、CD54(ICAM)、CD55、CD64、CD74、CD80、CD90、CD200、CD147、CD166、CD200、ESA、SHH、DHH、IHH、patched 1(PTCH1)、smoothened(SMO)、WNT1、WNT2B、WNT3A、WNT4、WNT4A、WNT5A、WNT5B、WNT7B、WNT8A、WNT10A、WNT10B、WNT16B、LKP5、LRP5、LRP6、FZD1、FZD2、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、Notch、Notch1、Notch3、Notch4、DLL4、Jagged、Jagged1、Jagged2、Jagged3、TNFRSF1A(TNFR1、p55、p60)、TNFRSF1B(TNFR2)、TNFRSF6(Fas、CD95)、TNFRSF6B(DcR3)、TNFRSF7(CD27)、TNFSF9(41BB配体)、TNFRSF8(CD30)、TNFRSF10A(TRAILR1、DR4)、TNFRSF11A(RANK)、TNFRSF12(TWEAKR)、TNFRSF19L(KELT)、TNFRSF19(TROY)、TNFRSF21(DR6)、ILIRI、1L1R2、IL2R、IL5R、IL6R、1L8R、IL10R、IL12R、IL13R、IL15R、IL18R、IL19R、IL21R、IL23R、XAG1、XAG3、REGIV、FGFR1、FGFR2、FGFR3、ALK、ALK1、ALK7、ALCAM、Axl、TGFb、TGFb2、TGFb3、TGFBR1、IGFIIR、BMPRI、N-钙粘蛋白、E-钙粘蛋白、VE-钙粘蛋白、神经节苷脂GM2、神经节苷脂GD3、PSGR、DCC、CDCP1、CXCR2、CXCR7、CCR3、CCR4、CCR5、CCR7、CCR10、密封蛋白1、密封蛋白2、密封蛋白3、密封蛋白4、TMEFF2、神经调节蛋白、MCSF、CSF、CSFR(fms)、GCSF、GCSFR、BCAM、BRCA1、BRCA2、HLA-DR、ABCC3、ABCB5、HM 1.24、LFA1、LYNX、S100A8、S100A9、SCF、冯维勒布兰德因子、Lewis Y6受体、CA G250(CA9)、CRYPTO、VLA5、HLADR、MUC18、粘蛋白CanAg、EGFL7、整联蛋白avb3、整联蛋白α5β活化素B1α、白三烯B4受体(LTB4R)、神经降压素NT受体(NTR)、5T4癌胚抗原、肌腱蛋白C、MMP、MMP2、MMP7、MMP9、MMP12、MMP14、MMP26、组织蛋白酶G、SULF1、SULF2、MET、CA9、

TM4SF1、多配体聚糖(SDC1)、肝配蛋白B4、TEM1、TGFβ1以及TGFBRII。

[0617] 在一些实施方案中,所述脂质体包含靶向部分,所述靶向部分对与免疫系统病症(例如,自身免疫性病症和炎症性病症)相关的抗原的表位具有特异性亲和力,或与调控免疫应答相关。在一些实施方案中,所述靶向部分对在巨噬细胞(表达CD44)的表面上表达的细胞表面抗原的表位具有特异性亲和力。

[0618] 在一些实施方案中,所述脂质体包含对免疫抑制靶标的表位具有特异性亲和力的靶向部分。在另一个实施方案中,AD是选自由以下组成的组的免疫抑制靶标的表位:IL1Ra、IL6R、CD26L、CD28、CD80、FcγRIIB。在另一个实施方案中,衔接子中的AD是选自以下的免疫刺激靶标的表位:CD25、CD28、CTLA4、PD1、B7H1(PDL1)、B7H4 TGFβ、TNFRSF4(OX40)、TNFRSF5(CD40)、TNFRSF9(41BB、CD137)、TNFRSF14(HVEM)、TNFRSF25(DR3)和TNFRSF18(GITR)。

[0619] 在一些实施方案中,所述脂质体包含对选自由以下组成的组的抗原的表位具有特异性亲和力的靶向部分:IL1Rb、C3AR、C5AR、CXCR1、CXCR2、CCR1、CCR3、CCR7、CCR8、CCR9、CCR10、ChemR23、MPL、GP130、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR7、TLR8、TLR9、TREM1、TREM2、CD49a(整联蛋白α1)、整联蛋白a5b3、α4整联蛋白亚基、A4B7整联蛋白、组织蛋白酶G、TNFRSF3(LTBR)、TNFRSF6(Fas、CD95)、TNFRSF6B(DcR3)、TNFRSF8(CD30)、TNFRSF11A(RANK)、TNFRSF16(NGFR)、TNFRSF19L(RELT)、TNFRSF19(TROY)、TNFRSF21(DR6)、CD14、CD23、CD36、CD36L、CD39、CD91、CD153、CD164、CD200、CD200R、B71(CD80)、B72(CD86)、B7h、B7DC(PDL2)、ICOS、ICOSL、MHC、CD、B7H2、B7H3、B7x、SLAM、KIM1、SLAMF2、SLAMF3、SLAMF4、SLAMF5、SLAMF6、SLAMF7、TNFRSF1A(TNFR1、p55、p60)、TNFRSF1B(TNFR2)、TNFRSF7(CD27)、TNFRSF12(TWEAKR)、TNFRSF5(CD40)、IL1R、IL2R、IL4Ra、IL5R、IL6RIL15R、IL17R、IL17Rb、IL17RC、IL22RA、IL23R、TSLPR、B7RP1、cKit、GMCSF、GMCSFR、CD2、CD4、CD11a、CD18、CD30、CD40、CD86、CXCR3、CCR2、CCR4、CCR5、CCR8、RhD、IgE以及Rh。

[0620] 在另外的实施方案中,本公开提供了一种用于治疗癌症的方法,所述方法包括向患有在其细胞表面上表达叶酸受体的癌症或有患所述癌症风险的受试者施用有效量的脂质体组合物,其中所述脂质体组合物包含脂质体,所述脂质体包含(a)α聚谷氨酸化培美曲塞(αPPMX)和(b)对叶酸受体具有特异性结合亲和力的靶向部分。在一些实施方案中,所述靶向部分对叶酸受体α(FR-α)、叶酸受体β(FR-β)和/或叶酸受体δ(FR-δ)具有特异性结合亲和力。在一些实施方案中,所述靶向部分对叶酸受体α(FR-α)、叶酸受体β(FR-β)和/或叶酸受体δ(FR-δ)具有特异性结合亲和力。在一些实施方案中,所述靶向部分对叶酸受体α(FR-α)和叶酸受体β(FR-β)具有特异性结合亲和力。在一些实施方案中,所施用的脂质体组合物包含聚乙二醇化脂质体(例如,TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中,所施用的脂质体组合物包含非聚乙二醇化的脂质体。在一些实施方案中,所施用的脂质体组合物的脂质体包含αPPMX,所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中,所施用的脂质体组合物的脂质体包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所施用的脂质体组合物的脂质体包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中,所施用的脂质体组合物的脂质体包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗上皮组织恶性疾病。在一些实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗选自由以下组成的组的癌症:肺癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠癌、食道癌、宫颈癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌和血液系统恶性疾病。在一些实施方案中,施用所述

脂质体组合物以治疗肺癌(例如,NSCLC或间皮瘤)。在一些实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗乳腺癌(例如,HER2++或三阴性乳腺癌)。在一些实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗结肠直肠癌。在一些实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗卵巢癌。在一些实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗子宫内膜癌。在一些实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗胰腺癌。在一些实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗肝癌。在一些实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗头颈癌。在一些实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗骨肉瘤。

[0621] 在一些实施方案中,本公开提供了一种用于治疗肺癌(例如,非小细胞肺癌)的方法,所述方法包括向患有肺癌或有患肺癌风险的受试者施用有效量的包含α聚谷氨酸化培美曲塞(例如,本文公开的αPPMX)的递送媒介物(例如,抗体或脂质体)。在特定实施方案中,所述癌症是非小细胞肺癌。在一些实施方案中,所述递送媒介物是抗体(例如,全长IgG抗体、双特异性抗体或scFv)。在一些实施方案中,所述递送媒介物是脂质体(例如,Lp-αPPMX,如PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物是聚乙二醇化的。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物是非聚乙二醇化的。在另外的实施方案中,所述递送媒介物在其表面上包含靶向部分,所述靶向部分对肺癌(例如,非小细胞肺癌)细胞表面上的抗原上的表位具有特异性亲和力。在其他实施方案中,所述递送媒介物包含对选自由以下组成的组的抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分:粘蛋白1、结合素4、NaPi2b、CD56、EGFR和SC-16。在一些实施方案中,所述靶向部分是抗体或抗体的片段。在另外的实施方案中,所述递送媒介物是脂质体,并且所述脂质体包含对选自由以下组成的组的抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分:粘蛋白1、结合素4、NaPi2b、CD56、EGFR和SC-16。在其他实施方案中,所述递送媒介物是聚乙二醇化脂质体,所述聚乙二醇化脂质体包含对选自由以下组成的组的抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分:粘蛋白1、结合素4、NaPi2b、CD56、EGFR和SC-16。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含αPPMX,所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中,所施用的递送媒介物包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含Lα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含L和Dα聚谷氨酸化培美曲塞。

[0622] 在一些实施方案中,本公开提供了一种用于治疗胰腺癌的方法,所述方法包括向患有胰腺癌或有患胰腺癌风险的受试者施用有效量的包含α聚谷氨酸化培美曲塞(例如,本文公开的αPPMX)的递送媒介物(例如,抗体(ADC)或脂质体)。在一些实施方案中,所述递送媒介物是抗体(例如,全长IgG抗体、双特异性抗体或scFv)。在一些实施方案中,所述递送媒介物是脂质体(例如,Lp-αPPMX,如PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物是聚乙二醇化的。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物是非聚乙二醇化的。在另外的实施方案中,所述递送媒介物在其表面上包含靶向部分,所述靶向部分对胰腺癌细胞表面上的抗原上的表位具有特异性亲和力。在其他实施方案中,所述递送媒介物包含对选自由以下组成的组的抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分:TACSTD2(TROP2)、粘蛋白1、间皮素、鸟苷酸环化酶C(GCC)、SLC44A4和结合素4。在其他实施方案中,所述递送媒介物是脂质体,并且所述脂质体包含对

选自由以下组成的组的抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分:TACSTD2(TROP2)、粘蛋白1、间皮素、鸟苷酸环化酶C(GCC)、SLC44A4和结合素4。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含αPPMX,所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中,所施用的递送媒介物包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含Lα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含L和Dα聚谷氨酸化培美曲塞。

[0623] 在另外的实施方案中,本公开提供了一种用于治疗乳腺癌(例如,三阴性乳腺癌(雌激素受体-、孕激素受体-和HER2))的方法,所述方法包括向患有乳腺癌或有患乳腺癌风险的受试者施用有效量的包含α聚谷氨酸化培美曲塞(例如,本文公开的αPPMX)的递送媒介物(例如,抗体或脂质体)。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物是包含α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体。在一些实施方案中,所述递送媒介物是抗体(例如,全长IgG抗体、双特异性抗体或scFv)。在一些实施方案中,所述递送媒介物是脂质体(例如,Lp-αPPMX,如PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物是聚乙二醇化的。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物是非聚乙二醇化的。在另外的实施方案中,所述递送媒介物在其表面上包含靶向部分,所述靶向部分对乳腺癌细胞表面上的抗原上的表位具有特异性亲和力。在其他实施方案中,所述递送媒介物包含对选自由以下组成的组的抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分:LIV-1(ZIP6)、EGFR、HER2、HER3、粘蛋白1、GONMB和结合素4。在一些实施方案中,所述靶向部分是抗体或抗体的片段。在另外的实施方案中,所述递送媒介物是脂质体,并且所述脂质体包含对选自由以下组成的组的抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分:LIV-1(ZIP6)、EGFR、HER2、HER3、粘蛋白1、GONMB和结合素4。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含αPPMX,所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中,所施用的递送媒介物包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含Lα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含L和Dα聚谷氨酸化培美曲塞。

[0624] 在一些实施方案中,本公开提供了一种用于治疗血液系统癌症的方法,所述方法包括向患有血液系统癌症或有患血液系统癌症风险的受试者施用有效量的包含α聚谷氨酸化培美曲塞(例如,本文公开的αPPMX)的递送媒介物(例如,抗体或脂质体)。在一些实施方案中,所述递送媒介物是抗体(例如,全长IgG抗体、双特异性抗体或scFv)。在一些实施方案中,所述递送媒介物是脂质体(例如,Lp-αPPMX,如PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物是聚乙二醇化的。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物是非聚乙二醇化的。在另外的实施方案中,所述递送媒介物在其表面上包含靶向部分,所述靶向部分对血液癌细胞表面上的抗原上的表位具有特异性亲和力。在其他实施方案中,所述递送媒介物包含对选自由以下组成的组的抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分:CD30、CD79b、CD19、CD138、CD74、CD37、CD19、CD22、CD33、CD34和CD98。在其他实施方案中,所述递送媒介物是脂质体,并且所述脂质体包含对选自由以下组成的组的抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分:CD30、CD79b、CD19、

CD138、CD74、CD37、CD19、CD22、CD33、CD34和CD98。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含αPPMX，所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所施用的递送媒介物包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含Lα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含L和Dα聚谷氨酸化培美曲塞。

[0625] 在一些实施方案中，本公开提供了一种用于治疗患有癌症或有患癌症风险的受试者的方法，所述癌症可通过其细胞表面上的抗原的表达来区分。因此，在一些实施方案中，本公开提供了一种用于治疗癌症的方法，所述方法包括向患有癌症或有患癌症风险的受试者施用有效量的递送媒介物(例如，抗体或脂质体)，所述递送媒介物包含对所述癌症的表面抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分和α聚谷氨酸化培美曲塞(例如，本文公开的αPPMX)。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物是聚乙二醇化的。在一些实施方案中，所述靶向部分是抗体或抗体的片段。在另外的实施方案中，所述递送媒介物是脂质体。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含由4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基组成的αPPMX。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所施用的递送媒介物包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含Lα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含L和Dα聚谷氨酸化培美曲塞。

[0626] 在一些实施方案中，向患有癌症、实体瘤和/或转移或有患癌症、实体瘤和/或转移的风险的受试者施用所公开的组合物(例如，含有α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体)，所述癌症、实体瘤和/或转移可通过其细胞表面上的肿瘤特异性抗原或肿瘤相关抗原的表达来区分。因此，在一些实施方案中，本公开提供了一种用于治疗癌症的方法，所述方法包括向患有癌症、实体瘤和/或转移或有患癌症、实体瘤和/或转移风险的受试者施用有效量的包含靶向部分和α聚谷氨酸化培美曲塞(例如，本文公开的αPPMX)递送媒介物(例如，脂质体)，所述癌症、实体瘤和/或转移可通过其细胞表面上的肿瘤特异性抗原或肿瘤相关抗原的表达来区分，并且其中所述靶向部分对肿瘤特异性抗原或肿瘤相关抗原上的表位具有特异性结合亲和力。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物是脂质体。在其他实施方案中，所述脂质体是聚乙二醇化的。在另外的实施方案中，所述递送媒介物包含靶向部分，所述靶向部分对癌症、实体瘤和/或转移细胞表面上表达的细胞表面抗原上的表位具有特异性亲和力。在另外的实施方案中，所述靶向部分对选自由以下组成的组的抗原上的表位具有特异性亲和力：GONMB、TACSTD2(TROP2)、CEACAM5、EPCAM、叶酸受体(例如，叶酸受体-α、叶酸受体-β或叶酸受体-δ)、粘蛋白1(MUC-1)、MUC-6、STEAP1、间皮素、结合素4、ENPP3、鸟苷酸环化酶C(GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70(TNFSF7)、CA9(碳酸酐酶)、5T4(TPBG)、SLTRK6、SC-16、组织因子、LIV-1(ZIP6)、CGEN-15027、P钙粘蛋白、纤连蛋白外结构域B(ED-B)、VEGFR2(CD309)、肌腱蛋白、胶原蛋白IV、骨膜蛋白、内皮素受体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、

CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1、EphA受体、EphB受体、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphA1、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、整联蛋白(例如,整联蛋白αvβ3、αvβ5或αvβ6)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、内皮糖蛋白、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFRα、PDGFRβ、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR和MuSK。

[0627] 在其他实施方案中,所述递送媒介物是脂质体,并且所述脂质体包含对选自由以下组成的组的细胞表面抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分:GONMB、TACSTD2(TROP2)、CEACAM5、EPCAM、叶酸受体(例如,叶酸受体-α、叶酸受体-β或叶酸受体-δ)、粘蛋白1(MUC-1)、MUC-6、STEAP1、间皮素、结合素4、ENPP3、鸟苷酸环化酶C(GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70(TNFSF7)、CA9(碳酸酐酶)、5T4(TPBG)、SLTRK6、SC-16、组织因子、LIV-1(ZIP6)、CGEN-15027、P钙粘蛋白、纤连蛋白外结构域B(ED-B)、VEGFR2(CD309)、肌腱蛋白、胶原蛋白IV、骨膜蛋白、内皮素受体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1、EphA受体、EphB受体、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphA1、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、整联蛋白(例如,整联蛋白αvβ3、αvβ5或αvβ6)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、内皮糖蛋白、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFRα、PDGFRβ、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR和MuSK。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含αPPMX,所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中,所施用的递送媒介物包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含Lα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含L和Dα聚谷氨酸化培美曲塞。

[0628] 在其他实施方案中,本公开提供了一种用于治疗癌症的方法,所述方法包括向患有癌症或有患癌症风险的受试者施用有效量的递送媒介物(例如,抗体或脂质体),所述递送媒介物在其表面上包含对叶酸受体上的表位具有特异性亲和力的靶向部分和α聚谷氨酸化培美曲塞(例如,本文公开的αPPMX),所述癌症含有在其细胞表面上表达叶酸受体的细胞。在一些实施方案中,所述靶向部分是抗体或抗体的抗原结合片段。在其他实施方案中,所述靶向部分对叶酸受体α、叶酸受体β或叶酸受体δ具有特异性亲和力。如本文所公开的,与正常细胞相比,含有α聚谷氨酸化培美曲塞的叶酸受体靶向聚乙二醇化脂质体能够向癌细胞、且特别是表达叶酸受体的癌细胞递送大量α聚谷氨酸化培美曲塞(即,与癌细胞不同的细胞不会主动摄取脂质体,和/或不表达叶酸受体)。表达叶酸受体的任何癌症都可根据所公开的方法进行治疗。应该注意的是,一些癌症可能在早期表达叶酸受体,而大多数癌症可能在晚期表达叶酸受体。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物是脂质体。在其他实施方案中,所述脂质体是聚乙二醇化的。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含αPPMX,所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中,所施用的递送媒介物包含

α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含Lα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含L和Dα聚谷氨酸化培美曲塞。

[0629] 在另外的实施方案中，本公开提供了一种用于癌症维持疗法的方法，所述方法包括向正在进行癌症疗法或已经进行了癌症疗法的受试者施用有效量的脂质体组合物，所述脂质体组合物包含脂质体，所述脂质体含有α聚谷氨酸化培美曲塞(例如，本文公开的αPPMX)。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物是PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物包含聚乙二醇化脂质体(例如，PLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物包含对癌细胞的表面抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分(例如，TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物包含聚乙二醇化的且靶向的脂质体(例如，TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物包含靶向的脂质体和非靶向的脂质体。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物包含聚乙二醇化的脂质体和非聚乙二醇化的脂质体。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含α聚谷氨酸化培美曲塞，所述α聚谷氨酸化培美曲塞含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含α六谷氨酸化培美曲塞。

[0630] 在一些实施方案中，通过本文公开的一种或多种方法治疗的癌症是实体瘤淋巴瘤。实体瘤淋巴瘤的实例包括霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤和B细胞淋巴瘤。

[0631] 在一些实施方案中，通过本文公开的一种或多种方法治疗的癌症是骨癌、脑癌、乳腺癌、结肠直肠癌、结缔组织癌、消化系统癌、子宫内膜癌、食道癌、眼癌、头颈癌、胃癌、上皮内肿瘤、黑素瘤成神经细胞瘤、非霍奇金淋巴瘤、非小细胞肺癌、前列腺癌、成视网膜细胞瘤或横纹肌肉瘤。在一些实施方案中，所述癌症是肺癌(例如，NSCLC或间皮瘤)。在一些实施方案中，所述癌症是乳腺癌(例如，HER2++或三阴性乳腺癌)。在一些实施方案中，所述癌症是结肠直肠癌。在一些实施方案中，所述癌症是卵巢癌。在一些实施方案中，所述癌症是子宫内膜癌。在一些实施方案中，所述癌症是胰腺癌。在一些实施方案中，所述癌症是肝癌。在一些实施方案中，所述癌症是头颈癌。在一些实施方案中，所述癌症是骨肉瘤。

[0632] 在一些实施方案中，本公开提供了一种用于治疗癌症的方法，所述方法包括向患有癌症或有患癌症风险的受试者施用有效量的包含递送媒介物和α聚谷氨酸化培美曲塞的组合物。在一些实施方案中，所施用的组合物包含聚乙二醇化的递送媒介物。在一些实施方案中，所施用的组合物包含靶向部分，所述靶向部分对目标靶细胞(如癌细胞)表面上的抗原的表位具有特异性亲和力。在一些实施方案中，所述递送媒介物包含抗体或抗原结合抗体片段。在一些实施方案中，施用所述组合物以治疗选自由以下组成的组的癌症：肺癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠直肠癌、食道癌、宫颈癌、肝癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌、膀胱癌、肉瘤(例如，骨肉瘤)、脑癌、中枢神经系统癌症、黑素瘤、骨髓瘤、白血病和淋巴瘤。在一些实施方案中，施用所述组合物以治疗结肠直肠癌。在一些实施方案中，施用所述组合物以治疗卵巢癌。在一些实施方案中，施用所述组合物以治疗子宫内膜癌。在一些实施方案中，施用所述组合物以治疗胰腺癌。在一些实施方案中，施用所述组

合物以治疗肝癌。在一些实施方案中，施用所述组合物以治疗头颈癌。在一些实施方案中，施用所述组合物以治疗骨肉瘤。

[0633] 在一些实施方案中，所施用的组合物含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中，所施用的组合物包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的组合物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所施用的组合物包含α六谷氨酸化培美曲塞。

[0634] 在另外的实施方案中，本公开提供了一种用于治疗癌症的方法，所述方法包括向患有癌症或有患癌症风险的受试者施用有效量的脂质体组合物，所述脂质体组合物包含含有α聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体(例如，Lp-αPPMX、PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗选自由以下组成的组的癌症：肺癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠直肠癌、食道癌、宫颈癌、肝癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌、膀胱癌、肉瘤(例如，骨肉瘤)、脑癌、中枢神经系统癌症、黑素瘤、骨髓瘤、白血病和淋巴瘤。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗肺癌(例如，NSCLC或间皮瘤)。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗乳腺癌(例如，HER2++或三阴性乳腺癌)。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗结肠直肠癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗卵巢癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗子宫内膜癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗胰腺癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗肝癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗头颈癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗骨肉瘤。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物包含聚乙二醇化脂质体(例如，PLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含αPPMX，所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所施用的脂质体组合物的脂质体包含α六谷氨酸化培美曲塞。

[0635] 在另外的实施方案中，本公开提供了一种用于治疗癌症的方法，所述方法包括向患有癌症或有患癌症风险的受试者施用有效量的包含靶向脂质体的脂质体组合物(例如，TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)，其中所述脂质体组合物包含脂质体，所述脂质体包含α聚谷氨酸化培美曲塞(Lp-αPPMX)并且还包含对癌症上的表面抗原(表位)具有特异性亲和力的靶向部分。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗选自由以下组成的组的癌症：肺癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠直肠癌、食道癌、宫颈癌、肝癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌、膀胱癌、肉瘤(例如，骨肉瘤)、脑癌、中枢神经系统癌症、黑素瘤、骨髓瘤、白血病和淋巴瘤。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗肺癌(例如，NSCLC或间皮瘤)。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗乳腺癌(例如，HER2++或三阴性乳腺癌)。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗结肠直肠癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗卵巢癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗子宫内膜癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗胰腺癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗肝癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗头颈癌。在一些实施方案中，施用所述脂质体组合物以治疗骨肉瘤。在一些实施

方案中,所施用的脂质体组合物包含聚乙二醇化脂质体(例如,TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中,所施用的脂质体组合物的脂质体包含αPPMX,所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中,所施用的脂质体组合物的脂质体包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所施用的脂质体组合物的脂质体包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中,所施用的脂质体组合物的脂质体包含α六谷氨酸化培美曲塞。

[0636] 在其他实施方案中,本公开提供了一种用于治疗癌症的方法,所述方法包括向患有在其细胞表面上表达叶酸受体的癌症或有患所述癌症风险的受试者施用有效量的含有靶向脂质体的脂质体组合物(例如,TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX),其中所述脂质体组合物包含脂质体,所述脂质体包含(a)α聚谷氨酸化培美曲塞(αPPMX)和(b)对叶酸受体具有特异性结合亲和力的靶向部分。在一些实施方案中,所施用的脂质体组合物包含聚乙二醇化脂质体(例如,TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中,所述靶向部分对叶酸受体α(FR-α)、叶酸受体β(FR-β)和/或叶酸受体δ(FR-δ)具有特异性结合亲和力。在一些实施方案中,所述靶向部分对叶酸受体α(FR-α)、叶酸受体β(FR-β)和/或叶酸受体δ(FR-δ)具有特异性结合亲和力。在一些实施方案中,所述靶向部分对叶酸受体α(FR-α)和叶酸受体β(FR-β)具有特异性结合亲和力。在一些实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗选自由以下组成的组的癌症:肺癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠癌、食道癌、宫颈癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌和血液系统恶性疾病。在一些实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗肺癌(例如,NSCLC或间皮瘤)。在一些实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗乳腺癌(例如,HER2++或三阴性乳腺癌)。在一些实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗结肠直肠癌。在一些实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗卵巢癌。在一些实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗子宫内膜癌。在一些实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗胰腺癌。在一些实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗肝癌。在一些实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗头颈癌。在一些实施方案中,施用所述脂质体组合物以治疗骨肉瘤。在一些实施方案中,所施用的脂质体组合物的脂质体包含αPPMX,所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中,所施用的脂质体组合物的脂质体包含α四谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中,所施用的脂质体组合物的脂质体包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中,所施用的脂质体组合物的脂质体包含α六谷氨酸化培美曲塞。

[0637] 在一些实施方案中,本公开提供了一种用于治疗免疫系统病症(例如,自身免疫性疾病,如类风湿性关节炎)的方法,所述方法包括向患有免疫系统病症或有患免疫系统病症风险的受试者施用有效量的包含α聚谷氨酸化培美曲塞(例如,本文公开的αPPMX)的递送媒介物(例如,抗体或脂质体)。在一些实施方案中,所述递送媒介物是抗体(例如,全长IgG抗体、双特异性抗体或scFv)。在一些实施方案中,所述递送媒介物是脂质体(例如,Lp-αPPMX,如PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物是聚乙二醇化的。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物是非聚乙二醇化的。在另外的实施方案中,所施用的递送媒介物包含靶向部分,所述靶向部分对与免疫系统病症相关的免疫细胞表面上的抗原的表位具有特异性亲和力。在一些实施方案中,所述靶向部分是抗体或抗原结合抗体片段。在一些实施方案中,所施用的递送媒介物包含αPPMX,所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中,

所施用的递送媒介物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所施用的递送媒介物包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含Lα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含L和Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，自身免疫性疾病是类风湿性关节炎。

[0638] 在一些实施方案中，本公开提供了一种用于治疗感染性疾病(例如，HIV)的方法，所述方法包括向患有感染性疾病或有患感染性疾病风险的受试者施用有效量的包含α聚谷氨酸化培美曲塞(例如，本文公开的αPPMX)的递送媒介物(例如，抗体或脂质体)。在一些实施方案中，所述递送媒介物是抗体(例如，全长IgG抗体、双特异性抗体或scFv)。在一些实施方案中，所述递送媒介物是脂质体(例如，Lp-αPPMX，如PLp-αPPMX、NTLp-αPPMX、NTPLp-αPPMX、TLp-αPPMX或TPLp-αPPMX)。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物是聚乙二醇化的。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物是非聚乙二醇化的。在另外的实施方案中，所施用的递送媒介物包含靶向部分，所述靶向部分对与感染性疾病相关的病原体表面上的抗原的表位具有特异性亲和力。在一些实施方案中，所述靶向部分是抗体或抗原结合抗体片段。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含αPPMX，所述αPPMX含有4个、5个、6个、2-10个、4-6个或超过5个谷氨酰基。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含α五谷氨酸化培美曲塞。在其他实施方案中，所施用的递送媒介物包含α六谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含Lα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含Dα聚谷氨酸化培美曲塞。在一些实施方案中，所施用的递送媒介物包含L和Dα聚谷氨酸化培美曲塞。

[0639] 在一些实施方案中，所施用的递送媒介物是脂质体。在其他实施方案中，所述脂质体是聚乙二醇化的。在另外的实施方案中，所述递送媒介物在其表面上包含对目标靶细胞表面上的表位具有特异性亲和力的靶向部分。在其他实施方案中，所述递送媒介物包含对选自由以下组成的组的细胞表面抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分：GONMB、TACSTD2(TROP2)、CEACAM5、EPCAM、叶酸受体(例如，叶酸受体-α、叶酸受体-β或叶酸受体-δ)、粘蛋白1(MUC-1)、MUC-6、STEAP1、间皮素、结合素4、ENPP3、鸟苷酸环化酶C(GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70(TNFSF7)、CA9(碳酸酐酶)、5T4(TPBG)、SLTRK6、SC-16、组织因子、LIV-1(ZIP6)、CGEN-15027、P钙粘蛋白、纤连蛋白外结构域B(ED-B)、VEGFR2(CD309)、肌腱蛋白、胶原蛋白IV、骨膜蛋白、内皮素受体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1、EphA受体、EphB受体、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphA1、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、整联蛋白(例如，整联蛋白αvβ3、αvβ5或αvβ6)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、内皮糖蛋白、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFRα、PDGFRβ、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR和MuSK。

[0640] 在其他实施方案中，所述递送媒介物是脂质体，并且所述脂质体包含对选自由以下组成的组的细胞表面抗原上的表位具有特异性亲和力的靶向部分：GONMB、TACSTD2

(TROP2)、CEACAM5、EPCAM、叶酸受体(例如,叶酸受体-α、叶酸受体-β或叶酸受体-δ)、粘蛋白1(MUC-1)、MUC-6、STEAP1、间皮素、结合素4、ENPP3、鸟苷酸环化酶C(GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70(TNFSF7)、CA9(碳酸酐酶)、5T4(TPBG)、SLTRK6、SC-16、组织因子、LIV-1(ZIP6)、CGEN-15027、P钙粘蛋白、纤连蛋白外结构域B(ED-B)、VEGFR2(CD309)、肌腱蛋白、胶原蛋白IV、骨膜蛋白、内皮素受体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1、EphA受体、EphB受体、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphA1、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、整联蛋白(例如,整联蛋白αvβ3、αvβ5或αvβ6)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、内皮糖蛋白、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFRα、PDGFRβ、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR和MuSK。

[0641] 在一些实施方案中,本公开提供了包含α聚谷氨酸化培美曲塞的组合物用于制造用于治疗过度增生性疾病的药物的用途。在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞包含5个或更多个谷氨酰基。在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞是五谷氨酸化的或六谷氨酸化的。在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞是聚谷氨酸化培美曲塞(PMX)、培美曲塞(PMX)。在一些实施方案中,所述α聚谷氨酸化培美曲塞在脂质体中。在一些实施方案中,所述过度增生性疾病是癌症。在一些实施方案中,所述癌症选自由以下组成的组:肺癌(例如,非小细胞肺癌)、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠癌、食道癌、宫颈癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌和血液系统恶性疾病。在一些实施方案中,所述癌症是肺癌(例如,NSCLC或间皮瘤)。在一些实施方案中,所述癌症是乳腺癌(例如,HER2++或三阴性乳腺癌)。在一些实施方案中,所述癌症是结肠直肠癌。在一些实施方案中,所述癌症是卵巢癌。在一些实施方案中,所述癌症是子宫内膜癌。在一些实施方案中,所述癌症是胰腺癌。在一些实施方案中,所述癌症是肝癌。在一些实施方案中,所述癌症是头颈癌。在一些实施方案中,所述癌症是骨肉瘤。在一些实施方案中,所述癌症是白血病或淋巴瘤。在一些实施方案中,所述过度增生性疾病是自身免疫性疾病。在一些实施方案中,所述过度增生性疾病是类风湿性关节炎。

[0642] 所公开的方法可在可能受益于本文预期的组合物(例如,α聚谷氨酸化培美曲塞组合物,如含有五谷氨酸化或六谷氨酸化PMX的脂质体)的递送的任何受试者中实践。哺乳动物受试者,且特别是人受试者是优选的。在一些实施方案中,受试者还包括动物,如家养宠物(例如,狗、猫、兔和雪貂)、牲畜或家畜(例如,牛、猪、羊,鸡和其它家禽)、马(如纯种马)、实验室动物(例如,小鼠、大鼠和兔)和其它哺乳动物。在其他实施方案中,受试者包括鱼和其他水生物种。

[0643] 向其递送剂的受试者可以是正常受试者。或者,受试者可具有或有风险发展可被诊断的病症或可从所提供的一种或多种组合物的递送中受益的病症。在一些实施方案中,此类疾患包括癌症(例如,实体瘤癌症或非实体癌,如白血病)。在一些实施方案中,这些疾患(例如,癌症)涉及表达抗原的细胞,所述抗原可由本文公开的靶向聚乙二醇化脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞特异性地结合。在其他实施方案中,这些抗原特异性地结合靶向聚乙二

醇化脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞并将所述培美曲塞内化至细胞中。在一些实施方案中，所述靶向聚乙二醇化脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞特异性地结合在癌细胞表面上表达的叶酸受体(例如，叶酸受体α(FR-α)、叶酸受体β(FR-β)和叶酸受体δ(FR-δ))。

[0644] 用于诊断可用所提供的组合物治疗的疾患的测试是本领域已知的并且对于医疗从业者来说是熟悉的。可使用市售抗体确定细胞类型是否表达叶酸受体。这些实验室测试包括但不限于显微镜分析、培养依赖性测试(如培养)和核酸检测测试。这些包括湿支架、染色增强显微镜、免疫显微镜(例如，FISH)、杂交显微术、颗粒凝集、酶联免疫吸附测定、尿液筛选测试、DNA探针杂交和血清学测试。除了进行上述实验室测试外，执业医师通常还会记录完整的病史并进行全面的体检。

[0645] 患有癌症的受试者可以是例如具有可检测的癌细胞的受试者。例如，有患癌症风险的受试者可以是具有高于发展癌症的正常概率的受试者。这些受试者包括，例如，具有已证明与发展癌症的可能性更高相关的遗传异常的受试者、具有癌症家族素因的受试者、暴露于致癌因子(即致癌物)如烟草、石棉或其他化学毒素的受试者、以及先前接受过癌症治疗并明显缓解的受试者。

[0646] 在一些实施方案中，本公开提供了用于将叶酸受体靶向的聚乙二醇化脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞以比在其细胞表面上不表达叶酸受体的细胞更高的速率(例如，高至少两倍、高至少三倍、高至少四倍或高至少五倍)选择性地递送至在表面上表达叶酸受体的肿瘤细胞的方法。在一些实施方案中，所递送的聚乙二醇化脂质体包含α聚谷氨酸化PMX。在一些实施方案中，所递送的聚乙二醇化脂质体包含L-α聚谷氨酸化PMX。在一些实施方案中，所递送的聚乙二醇化脂质体包含D-α聚谷氨酸化PMX。

[0647] i.组合疗法

[0648] 在某些实施方案中，除了施用本文所述的α聚谷氨酸化PMX组合物之外，所述方法或治疗还包括施用至少一种另外的治疗剂。可在施用α聚谷氨酸化PMX组合物之前、同时和/或之后施用另外的治疗剂。所述另外的治疗剂可与存在于含有α聚谷氨酸化PMX递送媒介物的溶液中的α聚谷氨酸化PMX递送媒介物(例如，与脂质体中的α聚谷氨酸化PMX共包封)缔合，或在与含有α聚谷氨酸化PMX组合物的组合物分开的制剂中。还提供了包含多肽或剂与一种或多种另外的治疗剂的药物组合物。在一些实施方案中，至少一种另外的治疗剂包括1、2、3或更多种另外的治疗剂。

[0649] 使用两种或更多种治疗剂的组合疗法经常使用通过不同作用机制起作用的剂，虽然这并非必要的。使用具有不同作用机制的剂的组合疗法可产生相加或协同效应。组合疗法可允许每一剂的使用剂量低于单一疗法中所使用的剂量，从而降低毒性副作用和/或增加一种或多种多肽或剂的治疗指数。组合疗法可降低将发展耐药性癌细胞的可能性。在一些实施方案中，组合疗法包括影响免疫应答(例如，增强或活化应答)的治疗剂和影响(例如，抑制或杀死)肿瘤/癌细胞的治疗剂。

[0650] 在本文所述的方法的一些实施方案中，本文所述的αPPMX组合物与至少一种另外的治疗剂的组合产生相加或协同结果。在一些实施方案中，组合疗法使得αPPMX或剂的治疗指数增加。在一些实施方案中，组合疗法使得一种或多种另外治疗剂的治疗指数增加。在一些实施方案中，组合疗法使得αPPMX或剂的毒性和/或副作用降低。在一些实施方案中，组合疗法使得一种或多种另外治疗剂的毒性和/或副作用降低。

[0651] 在一些实施方案中，本公开提供了一种用于治疗癌症的方法，所述方法包括施用有效量的本文公开的αPPMX组合物和生物制剂。在一些实施方案中，所述α聚谷氨酸化抗叶酸剂与治疗性抗体组合施用。在其他实施方案中，所述αPPMX组合物与抗CD抗体(例如，利妥昔单抗)或结合免疫检查点蛋白(例如，CTLA4、PD1、PDL1和TIM3)的抗体组合施用。在其他实施方案中，所述αPPMX组合物与fc融合蛋白(例如，依那西普)组合施用。

[0652] 在一些实施方案中，除了施用本文所述的α聚谷氨酸化PMX组合物之外，本文所述的方法或治疗还包括施用选自以下的至少一种另外的治疗剂：抗微管蛋白剂、奥瑞斯他汀、DNA小沟结合剂、DNA复制抑制剂、烷化剂(例如，铂复合物，如顺铂、单(铂)、双(铂)和三核铂复合物及卡铂)、蒽环类药物、抗生素、抗叶酸剂(例如，可聚谷氨酸化的抗叶酸剂或不可聚谷氨酸化的抗叶酸剂)、抗有丝分裂剂(例如，长春花生物碱，如长春新碱、长春碱、长春瑞滨或长春地碱)、辐射敏化剂、类固醇、紫杉烷、拓扑异构酶抑制剂(例如，阿霉素HCl、柠檬酸柔红霉素、米托蒽醌HCl、放线菌素D、依托泊苷、拓扑替康HCl、替尼泊苷(VM-26)和伊立替康)、抗代谢药、化疗增敏剂、倍癌霉素、依托泊苷、氟化嘧啶、离子载体、拉克左素(lexitropsin)、亚硝基脲、铂、嘌呤抗代谢药、PARP抑制剂和嘌呤霉素。在某些实施方案中，第二治疗剂是烷化剂、抗代谢药、抗有丝分裂剂、拓扑异构酶抑制剂或血管生成抑制剂。

[0653] 可与本文所述的αPPMX组合物组合施用的治疗剂包括化学治疗剂。因此，在一些实施方案中，本文所述的方法或治疗还包括将本文所述的αPPMX组合物与化学治疗剂组合或与化学治疗剂混合物组合施用。用αPPMX组合物治疗可在施用化学疗法之前、同时或之后发生。组合施用可包括共同施用(无论是在单一药物制剂中还是使用分开的制剂)，或以任何顺序连续施用，但通常在一段期间内使用，从而使所有活性剂能够同时发挥其生物活性。此类化学治疗剂的制备和给药时间表可根据制造商的说明书使用或由技术熟练的从业人员根据经验决定。这种化学疗法的制备和给药时间表也描述于The Chemotherapy Source Book，第4版，2008，M.C.Perry，编辑，Lippincott，Williams&Wilkins，Philadelphia，Pa中。

[0654] 可用于本发明的化学治疗剂包括但不限于烷化剂，如噻替哌和环磷酰胺(CYTOXAN®)；烷基磺酸酯，如白消安、英丙舒凡(improsulfan)和哌泊舒凡(piposulfan)；氮杂环丙烷，诸如苯佐多巴(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、米特多巴(meturedopa)和尤利多巴(uredopa)；乙烯亚胺和甲基密胺(methylamelamines)，包括六甲蜜胺(altretamine)、三亚乙基蜜胺、三亚乙基磷酰胺、三亚乙基硫代磷酰胺和三羟甲基密胺；氮芥，如苯丁酸氮芥、萘氮芥(chlornaphazine)、氯磷酰胺、雌莫司汀(estramustine)、异环磷酸胺、二氯甲基二乙胺(mechlorethamine)、盐酸甲氧氮芥、美法仑、新恩比兴(novembichin)、苯芥胆固醇(phenesterine)、泼尼莫司汀(prednimustine)、曲磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥；亚硝基脲，如卡莫司汀、氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀、尼莫司汀(nimustine)、雷莫司汀(rani mustine)；抗生素，如阿克拉霉素(aclacinomysins)、放线菌素、安曲霉素(authramycin)、重氮丝氨酸、博来霉素(bleomycins)、放线菌素(cactinomycin)、卡奇霉素(calicheamicin)、卡拉比星(carabicin)、洋红霉素(caminomycin)、嗜癌菌素(carzinophilin)、色霉素(chromomycins)、更生霉素、道诺霉素、地托比星(detorubicin)、6-重氮基-5-氧代-L-正亮氨酸、阿霉素、表柔比星、依索比星(esorubicin)、伊达比星(idarubicin)、麻西罗霉素(marcellomycin)、丝裂霉素、霉酚酸、诺加霉素(nogalamycin)、橄榄霉素(olivomycins)、

培洛霉素(peplomycin)、泊非霉素(potfiromycin)、嘌呤霉素(puromycin)、三铁阿霉素(quelamycin)、罗多比星(rodorubicin)、链黑菌素、链脲菌素、杀结核菌素(tubercidin)、乌苯美司(ubenimex)、净司他丁(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin);抗代谢药,如氨甲蝶呤和5-氟尿嘧啶(5-FU);叶酸类似物,如二甲叶酸(denopterin)、氨甲蝶呤、蝶罗呤(pteropterin)、三甲曲沙(trimetrexate);嘌呤类似物,如氟达拉滨(fludarabine)、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤(thiaraiprine)、硫鸟嘌呤(thioguanine);嘧啶类似物,如安西他滨(ancitabine)、阿扎胞苷、6-氮杂尿苷、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷、二去氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷、依诺他滨(enocitabine)、氟尿苷、5-FU;雄激素,如卡鲁睾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone)、环硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane),睾内酯(testolactone);抗肾上腺素药,如氨鲁米特(aminoglutethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane);叶酸补充剂,如亚叶酸(frolinic acid);醋葡醛内酯(aceglatone);醛磷酰胺糖苷;氨基乙酰丙酸;安丫啶(amsacrine);贝曲布西(bestrabucil);比生群(bisantrene);依达曲沙(edatraxate);德福法明(defofamine);秋水仙胺(de mecolcine);地吖醌(diaziquone);依氟鸟氨酸(elformithine);依利醋铵(elliptinium acetate);依托格鲁(etoglucid);硝酸镓;羟基脲;香菇多糖;氯尼达明(lonidamine);米托胍腙(mitoguazone);米托蒽醌(mitoxantrone);莫哌达醇(mopidamol);二胺硝吖啶(nitracrine);喷司他丁(pentostatin);蛋氨氮芥(phenamet);吡柔比星(pirarubicin);鬼臼酸;2-乙基线肼;丙卡巴肼;PSK;雷佐生(razoxane);西佐喃(sizofuran);锗螺胺(spirogermanium);细交链孢菌酮酸(tenuazonic acid);三亚胺醌(triaziquone);2,2',2"-三氯三乙胺;尿烷(urethan);长春地辛(vindesine);达卡巴嗪(dacarbazine);甘露莫司汀(mannomustine);二溴甘露醇(mitobronitol);二溴卫矛醇(mitolactol);哌泊溴烷(pipobroman);加西托星(gacytosine);阿糖胞苷(Ara-C);紫杉烷类,如紫杉醇(TAXOL®)和多西他赛(TAXOTERE®);苯丁酸氮芥;吉西他滨;6-硫鸟嘌呤;巯基嘌呤;铂类似物,如顺铂和卡铂;长春花碱;铂;依托泊苷(VP-16);异环磷酰胺;丝裂霉素C;米托蒽醌;长春新碱;长春瑞滨;诺维本;诺消灵(novantrone);替尼泊苷;道诺霉素;氨基蝶呤;伊班膦酸盐(ibandronate);CPT11;拓扑异构酶抑制剂RFS2000;二氟甲基鸟氨酸(DMFO);视黄酸;埃斯佩拉霉素(esperamicins);卡培他滨(XELODA®);抗激素剂,如他莫昔芬、雷洛昔芬、抑制芳香酶的4(5)-咪唑、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬、雷洛西芬(keoxifene)、LY117018、奥那司酮和托瑞米芬(FARESTON®);抗雄激素,如氟他胺(flutamide)、尼鲁米特(nilutamide)、比卡鲁胺(bicalutamide)、醋酸亮丙瑞林和戈舍瑞林(goserelin);以及上述任一者的药学上可接受的盐、酸或衍生物。在某些实施方案中,另外的治疗剂是顺铂。在某些实施方案中,另外的治疗剂是卡铂。在其他实施方案中,另外的治疗剂是奥沙利铂(oxaloplatin)。

[0655] 可与本文所述的αPPMX组合物组合施用的另外治疗剂包括一种或多种免疫治疗剂。

[0656] 在一些实施方案中,αPPMX与抑制一种或多种T细胞相关的抑制性分子(例如,CTLA4、PD1、淋巴细胞活化基因-3(LAG-3,CD223)、T细胞免疫球蛋白-3(TIM-3)、T细胞免疫球蛋白和ITIM结构域(TIGIT)、T细胞活化的V结构域Ig抑制因子(VISTA)、B7同源物3(B7-H3,CD276)、B和T细胞淋巴细胞衰减子(BTLA,CD272)或腺苷A2a受体(A2aR)或CD73)的免疫

治疗剂组合施用。在一些实施方案中，所述αPPMX组合物与免疫治疗剂分开施用。在一些实施方案中，所述αPPMX组合物与免疫治疗剂同时(例如，同时或连续地)施用。在一些实施方案中，所述αPPMX和免疫治疗剂被包封在同一脂质体内或以其他方式与同一脂质体缔合。

[0657] 在一些实施方案中，本文提供的治疗方法包括与PD1抑制剂组合施用本文所述的αPPMX组合物。在一些实施方案中，所述αPPMX组合物与派姆单抗组合施用。在一些实施方案中，所述αPPMX组合物与纳武单抗组合施用。在一些实施方案中，所述αPPMX组合物与PD1抑制剂分开施用。在一些实施方案中，所述αPPMX组合物与PD1抑制剂同时(例如，同时或连续地)施用。在一些实施方案中，所述αPPMX和PD1抑制剂被包封在同一脂质体内或以其他方式与同一脂质体缔合。

[0658] 在其他实施方案中，所述αPPMX组合物与PDL1抑制剂组合施用。在一些实施方案中，所述αPPMX组合物与阿特珠单抗组合施用。在一些实施方案中，所述αPPMX组合物与阿维鲁单抗组合施用。在一些实施方案中，所述αPPMX组合物与德瓦鲁单抗组合施用。在一些实施方案中，所述αPPMX组合物与PDR001组合施用。在一些实施方案中，所述αPPMX组合物与PDL-1抑制剂分开施用。在一些实施方案中，所述αPPMX组合物与PDL-1抑制剂同时(例如，同时或连续地)施用。在一些实施方案中，所述αPPMX和PDL-1抑制剂被包封在同一脂质体内或以其他方式与同一脂质体缔合。

[0659] 在一些实施方案中，本文提供的治疗方法包括与抑制CTLA4 LAG3、TIM-3、TIGIT、VISTA、B7-H3、BTLA、A2aR或CD73的活性的治疗剂组合施用αPPMX组合物。在一些实施方案中，本文提供的治疗方法包括与CTLA4抑制剂组合施用本文所述的αPPMX组合物。在其他实施方案中，所述αPPMX组合物与伊匹单抗组合施用。在一些实施方案中，本文提供的治疗方法包括与LAG3抑制剂组合施用αPPMX组合物。在其他实施方案中，所述αPPMX组合物与TSR-033、MK-4280、LAG525、BMS-986106或MGD013组合施用。在一些实施方案中，本文提供的治疗方法包括与TIM-3抑制剂组合施用αPPMX组合物。在其他实施方案中，所述αPPMX组合物与MBG453或MEDI9447组合施用。在一些实施方案中，本文提供的治疗方法包括与TIGIT抑制剂组合施用αPPMX组合物。在其他实施方案中，所述αPPMX组合物与BMS-986207或OMP-31M32组合施用。在一些实施方案中，本文提供的治疗方法包括与VISTA抑制剂组合施用αPPMX组合物。在其他实施方案中，所述αPPMX组合物与JNJ-61610588或CA-170组合施用。在一些实施方案中，本文提供的治疗方法包括与B7-H3抑制剂组合施用αPPMX组合物。在其他实施方案中，所述αPPMX组合物与neoblituzumab、恩利珠单抗(enoblituzumab)、MGD009或8H9组合施用。在一些实施方案中，本文提供的治疗方法包括与BTLA抑制剂组合施用αPPMX组合物。在一些实施方案中，本文提供的治疗方法包括与A2aR或CD73抑制剂组合施用αPPMX组合物。在其他实施方案中，所述αPPMX组合物与CPI444组合施用。在一些实施方案中，所述αPPMX组合物与免疫治疗剂分开施用。在一些实施方案中，所述αPPMX组合物与免疫治疗剂同时(例如，同时或连续地)施用。在一些实施方案中，所述αPPMX和免疫治疗剂被包封在同一脂质体内或以其他方式与同一脂质体缔合。

[0660] 在一些实施方案中，本文提供的治疗方法包括与抑制转化生长因子(TGF)-β、磷酸肌醇3-激酶γ(PI3Kγ)、杀伤性免疫球蛋白样受体(KIR，CD158)、CD47或吲哚胺2,3-双加氧酶(IDO)活性的治疗剂组合施用αPPMX组合物。在一些实施方案中，本文提供的治疗方法包括与TGFβ拮抗剂组合施用本文所述的αPPMX组合物。在其他实施方案中，所述αPPMX组合物

与M7824或盖伦塞替(Galusertinib)(LY2157299)组合施用。在一些实施方案中,本文提供的治疗方法包括与PI3Kγ拮抗剂组合施用本文所述的αPPMX组合物。在其他实施方案中,所述αPPMX组合物与IPI-549组合施用。在一些实施方案中,本文提供的治疗方法包括与KIR拮抗剂组合施用本文所述的αPPMX组合物。在其他实施方案中,所述αPPMX组合物与IPH4102或立鲁单抗(lirilumab)组合施用。在一些实施方案中,本文提供的治疗方法包括与CD47拮抗剂组合施用本文所述的αPPMX组合物。在其他实施方案中,所述αPPMX组合物与Hu5F9-G4或TTI-621组合施用。在一些实施方案中,本文提供的治疗方法包括与IDO拮抗剂组合施用本文所述的αPPMX组合物。在其他实施方案中,所述αPPMX组合物与BMS-986205、吲哚莫德(indoximod)或艾卡哚司他(epacadostat)组合施用。在一些实施方案中,所述αPPMX组合物与治疗剂分开施用。在一些实施方案中,所述αPPMX组合物与治疗剂同时(例如,同时或连续地)施用。在一些实施方案中,所述αPPMX和治疗剂被包封在同一脂质体内或以其他方式与同一脂质体缔合。

[0661] 在一些实施方案中,本文提供的治疗方法包括与治疗剂组合施用αPPMX组合物,所述治疗剂是OX40(CD134)、诱导型共刺激剂(ICOS)、糖皮质激素诱导的TNF受体家族相关蛋白(GITR)、4-1BB(CD137)、CD40、CD27-CD70或Toll样受体(TLR)的激动剂。在一些实施方案中,本文提供的治疗方法包括与OX40激动剂组合施用本文所述的αPPMX组合物。在其他实施方案中,所述αPPMX组合物与GSK3174998、MOXR0916、9B12、PF-04518600(PF-8600)、MEDI6383、MEDI0562、INCAGN01949或GSK3174998组合施用。在一些实施方案中,本文提供的治疗方法包括与ICOS激动剂组合施用本文所述的αPPMX组合物。在其他实施方案中,所述αPPMX组合物与JTX-2011、GSK3359609或MEDI-570组合施用。在一些实施方案中,本文提供的治疗方法包括与GITR激动剂组合施用本文所述的αPPMX组合物。在其他实施方案中,所述αPPMX组合物与TRX-518、AMG 228、BMS-986156、MEDI1873、MK-4166、INCAGN01876或GWN32组合施用。在一些实施方案中,本文提供的治疗方法包括与4-1BB激动剂组合施用本文所述的αPPMX组合物。在其他实施方案中,所述αPPMX组合物与乌托鲁单抗(utomilumab)或乌瑞鲁单抗(urelumab)(PF-05082566)组合施用。在一些实施方案中,本文提供的治疗方法包括与CD40激动剂组合施用本文所述的αPPMX组合物。在其他实施方案中,所述αPPMX组合物与CP-870893、APX005M、ADC-1013、鲁卡木单抗(lucatumumab)、Chi Lob 7/4、达西珠单抗(dacetuzumab)、SEA-CD40或RO7009789组合施用。在一些实施方案中,本文提供的治疗方法包括与CD27-CD70激动剂组合施用本文所述的αPPMX组合物。在其他实施方案中,所述αPPMX组合物与ARGX-110或BMS-936561(MDX-1203)组合施用。在一些实施方案中,本文提供的治疗方法包括与TLR激动剂组合施用本文所述的αPPMX组合物。在其他实施方案中,所述αPPMX组合物与MEDI9197、PG545(pixatimod,pINN)或聚-ICLC组合施用。在一些实施方案中,所述αPPMX组合物与治疗剂分开施用。在一些实施方案中,所述αPPMX组合物与治疗剂同时(例如,同时或连续地)施用。在一些实施方案中,所述αPPMX和治疗剂被包封在同一脂质体内或以其他方式与同一脂质体缔合。

[0662] 包括αPPMX组合物的药盒

[0663] 本公开还提供了药盒,所述药盒包括本文所述的αPPMX组合物并且可用于执行本文所述的方法。在某些实施方案中,药盒包括在一个或多个容器中的至少一种纯化的αPPMX组合物。

[0664] 在一些实施方案中,所述药盒包括至少一种如本文公开的αPPMX组合物(例如,αPPMX脂质体)或其药物制剂的剂量(例如,用于治疗或诊断)。药盒还可包括适合的包装和/或使用所述组合物的说明书。药盒还可包括用于递送所述组合物或其药物制剂的装置,诸如,如本文所述和本领域技术人员已知的注射用注射器或其他装置。本领域的技术人员将容易地认识到,所公开的αPPMX组合物可容易地并入本领域中熟知的已建立的药盒形式之一。

[0665] 还提供了包括αPPMX组合物以及至少一种另外的治疗剂的药盒。在某些实施方案中,所述第二(或更多)治疗剂是抗代谢药。在某些实施方案中,所述第二(或更多)治疗剂是化学治疗剂。

[0666] 以下实施例是意图说明,但并非是以明确或隐含地任何方式、状态或形式限制本公开。虽然它们是可使用的实施例中的典型实施例,但可替代地在不脱离本公开的范围的情况下使用本领域技术人员已知的其他程序、方法或技术。

[0667] 图1B-1N示出本公开所涵盖的示例性α聚谷氨酸盐的化学式。

[0668] 实施例

[0669] 实施例1:脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物

[0670] 方法

[0671] α六谷氨酸化培美曲塞(αHgPMX)脂质体的产生

[0672] 简言之,通过以下程序将Lα六谷氨酸化培美曲塞(aG6)和Dα六谷氨酸化培美曲塞(aDG6)包封在脂质体中。首先,称出脂质体膜的脂质组分,并在约65℃的温度下作为浓缩的乙醇溶液合并。在此实施例中,所用的脂质是氢化大豆磷脂酰胆碱、胆固醇和DSPE-PEG-2000(1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(聚乙二醇)-2000])。HSPC:胆固醇:PEG-DSPE的摩尔比是大约3:2:0.15。接下来,将aG6或aDG6以150mg/ml的浓度溶解于5%右旋糖中,pH值为6.5-6.9。将药物溶液加热至65℃。使用小孔针将乙醇脂质溶液注入aG6或aDG6溶液中。在此步骤期间,使用磁力搅拌器充分搅拌药物溶液。在升高的温度(63℃-72℃)下进行混合以确保脂质处于液晶状态(与在低于脂质转变温度Tm=51℃-54℃的温度下达到的凝胶状态相反)。结果,脂质水合并在水性核心中形成含有aG6或aDG6的多个双层(多层)囊泡(MLV)。

[0673] 使用过滤器挤出缩小MLV

[0674] 通过使用三次通过堆叠(径迹蚀刻的聚碳酸酯)膜的高压挤出将MLV片段化成所需尺寸的单层(单双层)囊泡。第一次通过经由孔径为200nm的两个层组成的堆叠膜进行。其余两次通过经由孔径为100nm的三个层组成的堆叠膜进行。在挤出过程中,温度保持在Tm以上,以确保脂质膜的可塑性。由于挤出,大且大小和层状不均匀的MLV变成小的、均匀的(90-125nm)单层囊泡(ULV),其将药物隔离在其内部。使用具有背散射检测器(90°)的Malvern Zetasizer Nano ZS仪器(Southborough,MA)在石英微比色杯中测量25℃下的流体动力学尺寸(直径)。在分析之前将样品在制剂基质中稀释50倍。

[0675] 脂质体的纯化

[0676] 在产生含有aG6或aDG6的ULV后,使用用于小体积的柱或用于大体积的相对于合适缓冲液的切向流渗滤除去脂质体外gG6。尽管可使用任何缓冲溶液,但在此实施例中,所用的缓冲液是5mM HEPES、145mM氯化钠(pH 6.7)。完成纯化后,使用0.22微米过滤器进行过滤

灭菌。脂质体衍生物的典型特征显示在下表中。

[0677]

	起始浓度	包封效率	最终浓度	药物/脂质比率	直径	PDI	ζ电位
Lps aDG6	1 mg/ml	4.75%	0.031 mg/ml	25-30 g/mM 脂质	122.8 nm	0.021	-1.14 mV
Lps aG6	1 mg/ml	5.90%	0.039 mg/ml	25-30 g/mM 脂质	100.2 nm	0.018	-1.90 mV
LpS aG6	150 mg/ml	36%	8.0 mg/ml	230 – 260 g/mM 脂质	104 nm	0.04	-2.73 mV

[0678] αHGP(六谷氨酸化培美曲塞)和脂质体的剂量反应研究

[0679] 在第3天(48小时)和第4天(72小时)通过CellTiter-Glo® (CTG)发光细胞活力测定来测定细胞活力。此测定基于定量存在于其中的ATP来确定培养物中活细胞的数量,ATP反过来表示代谢活性细胞的存在。CTG测定使用荧光素酶作为读数。为了评估细胞活力,使用CellTiter-Glo®发光细胞活力测定研究培美曲塞、HGP和脂质体对不同癌细胞生长的剂量反应抑制。收获人癌细胞,计数并在第0天以相同的细胞密度接种。在第1天,将每种测试物品的一系列8份稀释液添加至细胞。使用GraphPad Prism产生并拟合剂量反应曲线,并计算每种测试物品的IC50。IC50越低,测试物品在癌细胞生长抑制方面越有效。

[0680] 在第0天,将细胞以每孔5x 10^4个细胞的细胞密度接种到96孔板中的100μl新鲜培养基中。产生培养基中每种测试物品的8份连续2倍稀释液并在第1天一式三份添加至细胞。另外,仅用媒介物(用于游离药物的HBS或用于脂质体HGP的空脂质体)作为对照处理三个孔的细胞。

[0681] 在第3天和第4天,向每个孔添加100μl的CellTiterGlo®试剂,并在室温下温育15分钟。记录每个孔的荧光素酶发光。另外,将媒介物(HBS或空脂质体)在培养基中的8份连续2倍稀释液添加至空孔中并包括在测定中以产生背景发光信号。通过分别从读数中减去背景发光信号来将荧光素酶信号标准化。

[0682] 人正常原代骨髓CD34+细胞获自ATCC.(ATCC目录号PCS-800-012)。将细胞在37℃下解冻1分钟,然后置于冰上。然后将细胞重悬于StemSpan SFEM(干细胞技术目录号9650)加10%热灭活的胎牛血清(Corning 35-015-CV)中。将细胞以2.5x 10^4个细胞/孔的密度接种到96孔培养板中。第二天,经由离心收集活细胞并以2.5x104个细胞/孔的密度重悬于嗜中性粒细胞生长培养基(StemSpan SFEM加10%热灭活的胎牛血清加100ng/ml人干细胞因子(Sigma目录号H8416)、20ng/ml人粒细胞集落刺激因子(Sigma目录号H5541)和10ng/ml人重组IL3(Sigma SRP3090)中。将细胞在37℃下孵育10天。每两天添加新鲜培养基。然后收集成熟嗜中性粒细胞并以1x10^4个细胞/孔的密度接种于96孔板中,并在37℃下孵育过夜。第二天,将测试物品或媒介物重悬于嗜中性粒细胞生长培养基中并添加至板中。然后将细胞在37℃下孵育48小时或72小时,然后使用Cell Titer Glo测定(Promega目录号G7572)在每个时间点进行测定。

[0683] 用于细胞系AML12(非癌性肝细胞)和CCD841(非癌性结肠上皮细胞)的方法类似于用于癌细胞的方法。

[0684] 结果

[0685] 在一组剂量反应实验中，研究了代表不同类型癌症的6种细胞系，即HT-29(结肠癌)、H2342(NSCLC，腺癌亚型)、H292(NSCLC，腺癌亚型)、SW620(CRC)、H1806(三阴性乳腺癌)和OAW28(卵巢癌)(图2)。处理由使用脂质体α培美曲塞六谷氨酸盐的2种不同的包封衍生物暴露48小时组成，即脂质体αL六谷氨酸盐(脂质体aG6)及其镜像脂质体αD六谷氨酸盐(脂质体aDG6)，也称为其相应的对映异构体。

[0686] 在暴露后48小时内，上述衍生物与培美曲塞相比的相对效力示于图2中。对于每种细胞系，如此图所示，使用各种衍生物处理的相对效力是通过将培美曲塞的IC50除以脂质体α培美曲塞六谷氨酸盐的IC50来计算。如此图所示，在所有细胞系中，脂质体α培美曲塞六谷氨酸盐的效力远远超过培美曲塞的效力。举例来说，考虑NSCLC细胞系H292。如图所示，脂质体α培美曲塞六谷氨酸盐的效力为培美曲塞的≥50倍。这表明2％或更低剂量的脂质体α培美曲塞六谷氨酸盐可具有与100％剂量的培美曲塞相同的治疗效果。

[0687] 如在一些实例中所述，可通过使用诸如叶酸受体α的抗体靶向脂质体递送媒介物来实现增加的有效负载摄取。作为实例，在接下来的两个实验中，使用以上先前描述的方法包封了脂质体LγG6/Lps Hexa gG6。随后，分别如图3和图4所示，测试了培美曲塞、脂质体γ培美曲塞六谷氨酸盐衍生物(脂质体LγG6/Lps Hexa gG6)和叶酸受体α靶向脂质体LγG6(脂质体gG6-FR1Ab)、游离(未包封)的LγG6对非小细胞肺癌细胞(NCI-H2342)和结肠直肠癌细胞(HT-29)中的代表性细胞系的细胞毒性活性。这些数据表明脂质体Lγ培美曲塞六谷氨酸盐和叶酸受体α靶向脂质体Lγ培美曲塞六谷氨酸盐在两种细胞系中均比培美曲塞更有效。一般来说，叶酸受体α抗体靶向脂质体显示出最高的效力。相比之下，游离LγG6由于无法有效地跨细胞膜运输而具有最低的效力。

[0688] 比较脂质体α培美曲塞六谷氨酸盐衍生物(脂质体LαG6/Lps Hexa aG6和脂质体DαG6/Lps Hexa aDG6)和培美曲塞对乳腺癌、肺癌和卵巢癌中的代表性细胞系的细胞毒性活性的癌细胞活力研究显示在图5-7中。这些数据表明脂质体αL培美曲塞六谷氨酸盐和脂质体αD培美曲塞六谷氨酸盐两者均比培美曲塞更有效。此外，作为功效的指标，在图8-10中描绘了在16至128nM范围内的不同剂量水平下对相同细胞系的实验结果。如这些图所示，在这些剂量范围的每一个中，对于肺癌和乳腺癌细胞系，脂质体αL培美曲塞六谷氨酸盐和脂质体αD培美曲塞六谷氨酸盐在抑制癌细胞方面优于培美曲塞。在卵巢癌细胞系中，剂量为128nM的培美曲塞似乎与脂质体α培美曲塞六谷氨酸盐同样有效，而剂量为32nM和64nM的脂质体α培美曲塞六谷氨酸盐具有比培美曲塞更好的治疗效果；在16nM下，对于脂质体α培美曲塞六谷氨酸盐和培美曲塞，治疗效果较低且幅度相似。

[0689] 如图21A-F所示，在48小时内脂质体培美曲塞α-L四谷氨酸盐(脂质体aG4)、脂质体培美曲塞α-L六谷氨酸盐(脂质体aG6)、脂质体培美曲塞α-L八谷氨酸盐(脂质体aG8)和脂质体培美曲塞α-L十三谷氨酸盐(脂质体aG13)分别在处理H2342(NSCLC，腺癌亚型)细胞、H292(NSCLC，腺癌亚型)细胞、HT-29(结肠癌)细胞、HCC1806(三阴性乳腺癌)细胞、MCF7(ER+乳腺癌)细胞和OAW28(卵巢癌)细胞方面展示剂量依赖性效应。

[0690] 在用培美曲塞治疗的患者中观察到的主要毒性是骨髓抑制，其表现为血细胞计数，包括嗜中性粒细胞计数(一种类型的白细胞)的减少。对口腔和肠道的内膜也有一些不利影响，其表现为腹泻和粘膜炎，以及在一些情况下对肝脏的不利影响。为了评估上述毒性，在48小时时在分化为嗜中性粒细胞、CCD841结肠上皮细胞和AML12肝细胞的CD34+细胞

上测量脂质体α培美曲塞六谷氨酸盐衍生物(L和D)和培美曲塞的处理。如图11所示,与培美曲塞相比,脂质体α培美曲塞六谷氨酸盐对分化人嗜中性粒细胞的毒性显著更低。与培美曲塞相比,在16nM至128nM的剂量范围下,在用脂质体αL培美曲塞六谷氨酸盐或脂质体αD培美曲塞六谷氨酸盐处理后更好地保留的嗜中性粒细胞计数也支持这一点(图12)。引人注目的是,在所研究的剂量水平下用脂质体Lα培美曲塞六谷氨酸盐或脂质体αD培美曲塞六谷氨酸盐处理后,对肝细胞似乎没有任何毒性(图13)。相比之下,所研究的所有剂量的培美曲塞导致肝细胞计数减少大约40%。最后,在处理上皮结肠细胞后观察到相同的趋势(图14)。如此图所示,与在用脂质体αL培美曲塞六谷氨酸盐和脂质体αD培美曲塞六谷氨酸盐处理后减少大约20%或更少相比,所研究的所有剂量的培美曲塞导致细胞数量减少大约≥50%。

[0691] 实施例2:聚谷氨酸化抗叶酸剂-顺铂复合物(PGPD)

[0692] 方法

[0693] 叶酸类似物(也称为抗叶酸剂)在过去70年中一直是重要的抗癌治疗。在这种情况下使用的这类抗癌药物干扰重要叶酸代谢途径中的各种酶。这可导致嘧啶和嘌呤(DNA和RNA)合成受损,氨基酸甘氨酸和丝氨酸代谢受损,氧化还原反应受损以及细胞内的甲基化过程受损。

[0694] 在临床实践中,抗叶酸剂(如培美曲塞和氨甲蝶呤)通常与铂剂(如顺铂和卡铂)组合使用。所述组合产生增强的功效。在这种情况下,我们着手将聚谷氨酸盐与铂剂以特定比例共包封,以促进预定比例的两种抗癌药物即聚谷氨酸化抗叶酸剂和铂类似物的受控递送。出人意料地发现,长形式的聚谷氨酸化抗叶酸剂(例如,五谷氨酸化抗叶酸剂)与顺铂形成在高pH下稳定的复合物,并且这种复合物在低pH下解离为聚谷氨酸盐和顺铂。低pH被认为在许多肿瘤细胞和肿瘤细胞环境中,特别是在低氧环境中发生。这一发现的应用提供了有助于将αPPMX与治疗剂如顺铂的组合递送至靶细胞如肿瘤细胞并在生理上相关的低pH条件下从复合物中释放药物的能力。

[0695] 聚谷氨酸化抗叶酸剂-DDAP(顺铂)复合物(PGPD)的产生

[0696] 为了产生(聚谷氨酸化抗叶酸剂-顺铂DDAP复合物),使用了α六谷氨酸盐(aG6)和二胺二羧酸铂(DDAP)。复合过程取决于氯化铂化合物的存在和pH条件。通过铂酸盐衍生物对谷氨酸盐的一个或两个羧基的亲核攻击来实现复合。简言之,通过以下程序形成复合物。首先,称量活性化合物DDAP并溶解于5%右旋糖中。在DDAP溶解步骤后,称量出aG6并添加至DDAP-Captisol®(溶液并允许在45℃-55℃下搅拌1小时。使用1N NaOH将溶液的pH调节至6.5-7.0,并将溶液搅拌1-2小时。视觉上确认复合物的形成。然而,当将pH值调节至3-5的酸性pH值时,颜色恢复回原来的颜色,从而表明聚谷氨酸化抗叶酸剂和顺铂的解络。图15描绘提供可能的方案的示意图,所述方案解释了所观察到的在聚谷氨酸化抗叶酸剂与顺铂之间的pH依赖性复合物形成。

[0697] 使用HPLC确认复合物形成,其显示出两个不同的峰,所述峰在6.5至7.5的高pH值下合并成1个大峰,然后在3-5的低pH值下重新出现。在没有Captisol的情况下重复实验表明复合物形成独立于Captisol®

[0698] 五谷氨酸化培美曲塞-DDAP复合物(PGPD)脂质体的产生

[0699] 简言之,通过以下程序将PGPD包封在脂质体中。首先,称出脂质体膜的脂质组分,并在约65℃的温度下作为浓缩的乙醇溶液合并。在此实施例中,所用的脂质是氢化大豆磷

脂酰胆碱、胆固醇和DSPE-PEG-2000(1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(聚乙二醇)-2000])。HSPC:胆固醇:PEG-DSPE的摩尔比是大约3:2:0.15。接下来,如上所述制备PGPD。将PGPD药物溶液加热至65℃。使用小孔针将乙醇脂质溶液注入PGPD溶液中。在此步骤期间,使用磁力搅拌器充分搅拌药物溶液。在升高的温度(63℃-72℃)下进行混合以确保脂质处于液晶状态(与在低于脂质转变温度Tm=51℃-54℃的温度下达到的凝胶状态相反)。结果,脂质水合并在水性核心中形成含有PGPD的多个双层(多层)囊泡(MLV)。

[0700] 使用过滤器挤出缩小MLV

[0701] 通过使用两次通过堆叠(径迹蚀刻的聚碳酸酯)膜的高压挤出将MLV片段化成所需尺寸的单层(单双层)囊泡。堆叠的膜具有两个孔径为200nm的层和六个孔径为100nm的层。在挤出过程中,温度保持在Tm以上,以确保脂质膜的可塑性。由于挤出,大且大小和层状不均匀的MLV变成小的、均匀的(100-120nm)单层囊泡(ULV),其将药物隔离在其内部。使用具有背散射检测器(90°)的Malvern Zetasizer Nano ZS仪器(Southborough,MA)在石英微比色杯中测量25℃下的流体动力学尺寸(直径)。在分析之前将样品在制剂基质中稀释50倍。

[0702] 脂质体的纯化:

[0703] 在产生含有PGPD的ULV后,使用用于小体积的柱或用于大体积的相对于合适缓冲液的切向流渗滤除去脂质体外PGPD。尽管可使用本领域中已知的许多不同的缓冲液,但是在此实施例中,所用的缓冲液是5mM HEPES、145mM氯化钠(pH 6.7)。完成纯化后,使用0.22微米过滤器进行过滤灭菌。确定根据上述程序制备的脂质体具有116.6nm的直径、0.083的PDI和-2.05mV的ζ电位。

[0704] 实施例3:靶向脂质体聚谷氨酸化培美曲塞细胞递送

[0705] 方法

[0706] 靶向γ六谷氨酸化培美曲塞(HGP)脂质体的产生

[0707] 将γHGP(gG6)包封在脂质体中,并根据基本上如实施例1所述的程序将脂质体缩小并纯化。

[0708] 抗体缀合

[0709] 通过将DSPE-PEG-马来酰亚胺添加至脂质组合物中来制备活化的脂质体。脂质体含有四种不同的脂质:氢化大豆磷脂酰胆碱(HSPC)、胆固醇、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(聚乙二醇)-2000](DSPE-PEG-2000)和1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基剂-3-磷酸乙醇胺-N-[马来酰亚胺(聚乙二醇)-2000](DSPE-PEG-马来酰亚胺),比例为3:2:0.1125:0.0375。

[0710] 通过使用Traut试剂(2-亚氨基硫杂环戊烷)将巯基连接到伯胺上来完成抗体硫醇化。将抗体以0.9-1.6mg/ml的浓度悬浮于PBS中。将Traut试剂(14mM)添加至最终浓度为1-5mM的抗体溶液中,然后在室温下孵育1小时后通过透析除去。将硫醇化抗体以60g/mol磷酸脂质的比例添加至活化的脂质体中,并将反应混合物在室温下孵育1小时并使用4uL半胱氨酸过夜以终止反应,并通过透析除去未缀合的抗体。

[0711] 下文提供示例性直接和后插入抗体-脂质体缀合方法。

[0712] 示例性抗体缀合方法1:直接缀合

[0713] 抗体或其片段(如Fab或scFv)可直接缀合至巯基反应性脂质体上。通过将DSPE-PEG-马来酰亚胺添加至脂质组合物中来制备巯基反应性脂质体。脂质体含有四种不同的脂

质:氢化大豆磷脂酰胆碱(HSPC)、胆固醇、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(聚乙二醇)-2000](DSPE-PEG-2000)和1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-N-[马来酰亚胺(聚乙二醇)-2000](DSPE-PEG-马来酰亚胺),比例为3:2:0.1125:0.0375。

[0714] 通过使用Traut试剂(2-亚氨基硫杂环戊烷)将巯基连接到伯胺上来完成抗体(或其片段,如Fab或scFv)硫醇化。将抗体(或其片段)以0.9-1.6mg/ml的浓度悬浮于PBS中。将Traut试剂(14mM)添加至最终浓度为1-5mM的抗体(或其片段)溶液中,然后在室温下孵育1小时后通过透析除去。将硫醇化抗体(或其片段)以60g/mol磷酸脂质的比例添加至硫醇反应性脂质体中,并将反应混合物在室温下孵育1小时,并在4℃下过夜。L-半胱氨酸用于终止反应,并且通过透析除去未缀合的抗体(或其片段)。

[0715] 通过将还原的抗体(或其片段)与硫醇反应性脂质体一起孵育,可将在C-末端含有半胱氨酸残基的抗体或其片段(如Fab或scFv)直接缀合至脂质体上。将具有半胱氨酸尾的抗体(或其片段)溶解并在pH<7时通过10-20mM还原剂(如2-巯基乙胺、半胱氨酸或二硫赤藓糖醇)还原。通过尺寸排阻色谱法或透析将过量的还原剂彻底除去。纯化且还原的抗体(或其片段)可直接缀合至巯基反应性脂质体。

[0716] 示例性抗体缀合方法2:后插入:

[0717] 可将在C-末端含有半胱氨酸残基的抗体或其片段(如Fab或scFv)通过“后插入”方法缀合并掺入脂质体中。通过以10mg/ml溶解于水溶液中来制备硫醇反应性脂质聚合物(如DSPE-PEG-马来酰亚胺)的胶束。将具有半胱氨酸尾的抗体(或其片段)溶解并在pH<7时通过10-20mM还原剂(如2-巯基乙胺、半胱氨酸或二硫赤藓糖醇)还原。通过尺寸排阻色谱法或透析将过量的还原剂彻底除去。然后将纯化且还原的抗体(或其片段)与硫醇反应性脂质聚合物的胶束以1:4的摩尔比孵育。在反应结束时,通过少量的半胱氨酸(1mM)或巯基乙醇淬灭过量的马来酰亚胺基团。通过尺寸排阻色谱法除去未缀合的抗体(或其片段)。然后将纯化的缀合胶束与脂质体在37℃或升高的温度下孵育。

[0718] 纳米颗粒的物理特征

[0719]

	起始浓度	包封效率	最终浓度	药物/脂质比率	直径	PDI	ζ电位
Lps gG6	20 mg/ml	10.60%	1.39 mg/ml	35-50 g/mM 脂质	114.9 nm	0.035	-1.76 mV

[0720] HGP(五谷氨酸化培美曲塞)和脂质体的剂量反应研究。

[0721] 在第3天(48小时)和第4天(72小时)通过CellTiter-Glo® (CTG)发光细胞活力测定来测定细胞活力。此测定基于定量存在于其中的ATP来确定培养物中活细胞的数量,ATP反过来表示代谢活性细胞的存在。CTG测定使用荧光素酶作为读数。为了评估细胞活力,使用CellTiter-Glo®发光细胞活力测定研究培美曲塞、HGP和脂质体对不同癌细胞生长的剂量反应抑制。收获人癌细胞,计数并在第0天以相同的细胞密度接种。在第1天,将每种测试物品的一系列8份稀释液添加至细胞。使用GraphPad Prism产生并拟合剂量反应曲线,并计算每种测试物品的IC50。IC50越低,测试物品在癌细胞生长抑制方面越有效。

[0722] 在第0天,将细胞以每孔5x 10^4个细胞的细胞密度接种到96孔板中的100μl新鲜培养基中。产生培养基中每种测试物品的8份连续2倍稀释液并在第1天一式三份添加至细胞。

另外,仅用媒介物(用于游离药物的HBS或用于脂质体HGP的空脂质体)作为对照处理三个孔的细胞。

[0723] 在第3天和第4天,向每个孔添加100μl的CellTiterGlo®试剂,并在室温下温育15分钟。记录每个孔的荧光素酶发光。另外,将媒介物(HBS或空脂质体)在培养基中的8份连续2倍稀释液添加至空孔中并包括在测定中以产生背景发光信号。通过分别从读数中减去背景发光信号来将荧光素酶信号标准化。

[0724] 人正常原代骨髓CD34+细胞获自ATCC.(ATCC目录号PCS-800-012)。将细胞在37℃下解冻1分钟,然后置于冰上。然后将细胞重悬于StemSpan SFEM(干细胞技术目录号9650)加10%热灭活的胎牛血清(Corning 35-015-CV)中。将细胞以2.5x10^4个细胞/孔的密度接种到96孔培养板中。第二天,经由离心收集活细胞并以2.5x10^4个细胞/孔的密度重悬于嗜中性粒细胞生长培养基(StemSpan SFEM加10%热灭活的胎牛血清加100ng/ml人干细胞因子(Sigma目录号H8416)、20ng/ml人粒细胞集落刺激因子(Sigma目录号H5541)和10ng/ml人重组IL3(Sigma SRP3090)中。将细胞在37℃下孵育10天。每两天添加新鲜培养基。然后收集成熟嗜中性粒细胞并以1x10^4个细胞/孔的密度接种于96孔板中,并在37℃下孵育过夜。第二天,将测试物品或媒介物重悬于嗜中性粒细胞生长培养基中并添加至板中。然后将细胞在37℃下孵育48小时或72小时,然后使用Cell Titer Glo测定(Promega目录号G7572)在每个时间点进行测定。

[0725] 用于细胞系AML12(非癌性肝细胞)和CCD841(非癌性结肠上皮细胞)的方法类似于用于癌细胞的方法。

[0726] 结果

[0727] 游离培美曲塞γ六谷氨酸盐(gG6)、(非靶向)脂质体γ六谷氨酸盐(脂质体gG6)、培美曲塞和叶酸受体α靶向抗体(FR1Ab)脂质体培美曲塞γ六谷氨酸盐(脂质体gG6-FR1Ab)在NCI H2342非小细胞肺癌(NSCLC)腺癌亚型中的剂量反应关系在图3中示出。输出是处理48小时后如通过荧光素酶发光测量的活细胞的百分比。如此图3所示,游离培美曲塞gG6似乎效力最低,如通过IC50所测量。脂质体培美曲塞gG6和脂质体培美曲塞gG6-FR1Ab两者的效力分别比游离培美曲塞高7倍和40倍。

[0728] 在图4中示出HT-29结肠癌细胞系的相似数据,其描绘以百分比表示的细胞活力。如此图所示,游离培美曲塞gG6似乎效力最低。在这种情况下,脂质体培美曲塞gG6的效力是培美曲塞的两倍,并且脂质体培美曲塞gG6-FR1Ab的效力比游离培美曲塞高5倍。

[0729] 实施例4:体内研究

[0730] 方法

[0731] 小鼠中的安全性研究

[0732] 由于与基于培美曲塞的治疗相关的主要毒性中的一些是血液系统的和肝的,因此评价脂质体αG6(Lp-aG6)在体内(鼠)模型中的效果并比较处理后血液和肝血清化学组的变化非常重要。为了获得此数据,使用健康雌性BALB/c小鼠(6-8周龄)进行了初始剂量范围研究,所述小鼠购自The Jackson Laboratory(Bar Harbor,ME)。在研究之前,对动物称重,按体重随机分配,观察临床异常情况,并分成组(每组5只小鼠)。研究了从10mg/kg直至200mg/kg的剂量,以鉴定小鼠的可耐受剂量。每周一次静脉内施用治疗,持续四周。每天记录体重和详细的临床观察结果。在研究结束时,第28天,对小鼠实施安乐死,并从未处理的对照小

鼠中以及用40mg/kg脂质体aG6和80mg/kg脂质体aG6处理的小鼠收获血液和组织。将全血收集到K2-EDTA抗凝管中以进行全面的全血细胞计数(CBC),并分离血清以进行全面的化学分析,并在收集当天送至IDEXX(Westbrook,ME)。

[0733] 结果

[0734] 一般而言,以每周一次40mg/kg和80mg/kg的两种剂量水平的脂质体aG6持续4周的处理良好耐受,并且与未处理的对照相比,体重没有重大差异。为了评估对血液学参数的一些影响,在用每周一次给予的40mg/kg和80mg/kg的两种剂量水平的脂质体aG6处理4周后测量白细胞(WBC)计数、嗜中性粒细胞计数以及血小板计数。如可在图16中看出,与未处理的对照动物相比,在经处理的动物中用脂质体aG6处理四周后,平均嗜中性粒细胞、平均白细胞和平均血小板计数没有明显降低。测量血红蛋白和网织红细胞指数以评估对红细胞的影响。如图17所示,在较高剂量水平下,平均血红蛋白浓度降低最小。并行地,平均网织红细胞增多指数略有增加,这表明骨髓对通过增加红细胞产生进行的治疗的反应。总的来说,这种效果似乎较小,因为在处理4周后,小鼠的血红蛋白水平得以维持。这些数据加在一起表明,在每周一次40mg/kg和80mg/kg的这些剂量水平下,对骨髓和相关血液学指标影响不大。

[0735] 培美曲塞的另一个问题是在用基于培美曲塞的疗法治疗的一些患者中观察到肝毒性。为了评估小鼠的肝脏健康状况,测量了包括血清天冬氨酸转氨酶(AST)和血清丙氨酸转氨酶(ALT)以及血清白蛋白的血清化学。如图18所示,在用每周一次给予的40mg/kg和80mg/kg两种剂量水平的脂质体aG6处理4周后,与未处理的对照相比,在4周时肝转氨酶平均AST和平均ALT水平没有明显增加。平均白蛋白水平也没有变化。这些数据加在一起表明脂质体aG6的有利安全性特征。

[0736] 小鼠异种移植物中的初步功效研究

[0737] 为了评估在用脂质体αG6(Lp-aG6)治疗后是否有任何肿瘤控制,进行了初步研究。在此研究中,免疫缺陷型雌性裸鼠(Nu/J;6-8周龄)购自The Jackson Laboratory(Bar Harbor,ME)。将NCI-H292(非小细胞肺癌)细胞在37℃、5%CO_2孵育箱中在补充有10%胎牛血清的RPMI培养基中培养。将1X 10^6个细胞皮下接种到每只小鼠的背后侧腹中。每周两次监测肿瘤体积和体重。在第0天通过肿瘤体积将携带肿瘤的小鼠随机分配并分成组(每组5只小鼠):对照、培美曲塞和脂质体aG6。每三周一次以167mg/kg的剂量静脉内给予培美曲塞。每三周167mg/kg的这一鼠剂量相当于FDA/EMA批准的每三周500mg/m^2的人剂量和时间表。每周一次以80mg/kg静脉内给予脂质体aG6,持续4周。用卡尺测量肿瘤大小,并使用以下等式计算肿瘤负荷:肿瘤体积=0.5x(肿瘤长度)x(肿瘤宽度)^2;相对肿瘤体积=(肿瘤体积/第0天的肿瘤体积)x100%。这一研究的初步结果在图19中示出。在此图中,显示了用脂质体aG6和培美曲塞处理后的相对肿瘤体积。如可从这些初步数据看出,与培美曲塞相比,脂质体aG6提供更好的肿瘤控制。

[0738] 在并行研究中,在NSCLC(H292)异种移植物模型中研究了每周一次静脉内给予90mg/kg脂质体aG6持续四周的小鼠(10)(每周一次静脉内90mg/kg,持续6周)和给予培美曲塞的小鼠(10)(每三周静脉内167mg/kg,持续6周)的存活期。这一研究的结果在图20和以下提供的表中呈现。如下表所示,在用脂质体aG6处理后中值存活期比用培美曲塞处理的中值存活期长。此外,在给药后60天,用脂质体aG6处理的小鼠中有50%存活,而用培美曲塞处理的小鼠中没有一个存活至60天。

[0739]

	中值存活期(天)	60天存活
对照	28.5	0%
培美曲塞	39.0	0%
脂质体aG6	58.5	50%

[0740] 其他实施方案：

[0741] 在本公开的非限制性实施方案中，提供了一种组合物，所述组合物包含α聚谷氨酸化培美曲塞。

[0742] 在前一段的组合物中，所述组合物可包含五谷氨酸化或六谷氨酸化培美曲塞。

[0743] 在前两段中任一段的组合物中，所述组合物可包含α聚谷氨酸化培美曲塞，所述α聚谷氨酸化培美曲塞可包括五谷氨酸化或六谷氨酸化培美曲塞。

[0744] 非限制性示例性脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞(L-αPPMX)组合物可包含前三段中任一段的组合物，并且脂质体可任选地聚乙二醇化(PL-αPPMX)。

[0745] 在前一段的L-αPPMX或PL-αPPMX组合物中，所述α聚谷氨酸化培美曲塞可包括五谷氨酸化或六谷氨酸化培美曲塞。

[0746] 在前两段中任一段的L-αPPMX或PL-αPPMX组合物中，所述脂质体可以是阴离子性或中性的。

[0747] 在前三段中任一段的L-αPPMX或PL-αPPMX组合物中，靶向部分可连接至PEG和所述脂质体的外部中的一者或两者，并且所述靶向部分可对目标靶细胞上的表面抗原具有特异性亲和力(TL-αPPMX或TPL-αPPMX)。

[0748] 在前四段中任一段的L-αPPMX或PL-αPPMX组合物中，靶向部分可连接至PEG和所述脂质体的外部中的一者或两者，并且可以是多肽。

[0749] 在前五段中任一段的L-αPPMX或PL-αPPMX组合物中，靶向部分可连接至PEG和所述脂质体的外部中的一者或两者，并且可以是抗体或抗体的片段。

[0750] 在前六段中任一段的L-αPPMX或PL-αPPMX组合物中，免疫刺激剂、可检测标记物和马来酰亚胺中的一者或多者可设置在PEG和所述脂质体的外部中的至少一者上。

[0751] 在前七段中任一段的L-αPPMX或PL-αPPMX组合物中，如使用BIACORE®分析所测定，多肽可以0.5x 10^{-10}至10x 10^{-6}范围内的平衡解离常数(Kd)结合抗原。

[0752] 在前八段中任一段的L-αPPMX或PL-αPPMX组合物中，多肽可特异性地结合一种或多种选自由以下组成的组的叶酸受体：叶酸受体α(FR-α)、叶酸受体β(FR-β)和叶酸受体δ(FR-δ)。

[0753] 一种杀死过度增殖性细胞的非限制性示例性方法，所述方法包括使过度增殖性细胞与前九段中任一段的脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物接触。

[0754] 在前一段的方法中，所述过度增殖性细胞是癌细胞。

[0755] 用于治疗癌症的非限制性示例性方法包括向患有癌症或有患癌症风险的受试者施用有效量的前第十一段至前第三段的前述段中任一段的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物。

[0756] 在前一段的方法中，所述癌症可以是选自由以下组成的组的一种或多种：肺癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、前列腺癌、头颈癌、胃癌、胃肠癌、结肠癌、食道癌、宫颈癌、肾癌、胆管癌、胆囊癌和血液系统恶性疾病。

[0757] 用于正在进行癌症疗法或已经进行了癌症疗法的受试者的非限制性示例性维持

疗法包括向正在进行癌症疗法或已经进行了癌症疗法的受试者施用有效量的前第十三段至前第五段的前述段中任一段的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物。

[0758] 非限制性示例性药物组合物可包含IV部分的任何α聚谷氨酸化培美曲塞组合物。

[0759] 用于治疗免疫系统病症的非限制性示例性方法可包括向患有免疫系统病症或有患免疫系统病症风险的受试者施用有效量的前第十四段至前第六段的前述段中任一段的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物。

[0760] 用于治疗感染的非限制性示例性方法可包括向患有感染性疾病或有患感染性疾病风险的受试者施用有效量的前第十五段至前第七段的前述段中任一段的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物。

[0761] 将α聚谷氨酸化培美曲塞递送至在表面上表达叶酸受体的肿瘤的非限制性示例性方法可包括向患有所述肿瘤的受试者施用一定量的前第十六段至前第八段的前述段中任一段的聚谷氨酸化培美曲塞组合物,以将治疗有效剂量的所述α聚谷氨酸化培美曲塞递送至所述肿瘤。

[0762] 制备脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物的非限制性示例性方法(所述脂质体α聚谷氨酸化培美曲塞组合物包含前第十七段至前第九段的前述段中任一段的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物)包括形成在溶液中包含脂质体组分、α聚谷氨酸化培美曲塞的混合物;使所述混合物均质化以在所述溶液中形成脂质体;以及加工所述混合物以形成含有所述聚谷氨酸化培美曲塞的脂质体。

[0763] 非限制性示例性药物组合物包含前第十八段至前第十段的前述段中任一段的α聚谷氨酸化培美曲塞组合物。

[0764] 尽管已参考各种一些实施方案描述了本公开,但应理解可在不脱离本公开的精神的情况下进行各种修改。因此,本公开的范围应参考随附权利要求书连同此类权利要求所赋予的等效物的全部范围来确定。在本申请通篇中,各种公布均以作者姓名和日期或专利号或专利公布号提及。这些出版物的公开内容特此以引用的方式整体并入本申请中,以便更全面地描述如为本领域技术人员所知的截至本文所述且要求保护的本发明日期的现有技术。然而,本文中的参考文献的引用不应该被解释为承认这种引用为本发明的现有技术。

[0765] 用于制备这些化学实体的各种新化学实体、方法和设备在下面的随附权利要求中阐述。

[0766] 应当理解,意图使用具体实施方式部分而非发明内容和摘要部分来对权利要求进行解释。发明内容和摘要部分可阐明如发明人所构想的本发明的一个或多个但非所有的示例性实施方案,并且因此,并不意图以任何方式对本发明和随附权利要求进行限制。

[0767] 2018年2月7日提交的美国申请号62/627,703;2018年2月7日提交的美国申请号62/627,714;2018年2月7日提交的美国申请号62/627,716;2018年2月7日提交的美国申请号62/627,731;2018年2月7日提交的美国申请号62/627,741;2018年2月14日提交的美国申请号62/630,629;2018年2月14日提交的美国申请号62/630,634;2018年2月14日提交的美国申请号62/630,637;2018年2月14日提交的美国申请号62/630,671;2018年2月14日提交的美国申请号62/630,713;2018年2月14日提交的美国申请号62/630,728;2018年2月14日提交的美国申请号62/630,744;2018年2月14日提交的美国申请号62/630,820;2018年2月14日提交的美国申请号62/630,825;2018年2月28日提交的美国申请号62/636,294;2018年

4月25日提交的美国申请号62/662,374;2018年7月24日提交的美国申请号62/702,732;2018年7月24日提交的美国申请号62/702,561;2018年8月17日提交的美国申请号62/764,943;以及美国申请号62/764,955各自的公开内容。

序列表

<110> L.E.A.F.控股集团公司(L.E.A.F. HOLDINGS GROUP LLC)

C·尼基萨(NIYIKIZA, Clet)

V·M·莫约(MOYO, Victor M.)

<120> α聚谷氨酸化培美曲塞及其用途

<130> 6155.0113

<140> 待分配

<141> 随同提交

<150> US 62/627,703

<151> 2018-02-07

<150> US 62/627,741

<151> 2018-02-07

<150> US 62/630,629

<151> 2018-02-14

<150> US 62/662,374

<151> 2018-04-25

<150> US 62/702,561

<151> 2018-07-24

<150> US 62/702,732

<151> 2018-07-24

<150> US 62/764,943

<151> 2018-08-17

<150> US 62/764,955

<151> 2018-08-17

<160> 44

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 1

Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys
1 5 10 15

Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
20 25

<210> 2

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> MISC_特征
<222> (6)..(6)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 2
Arg Lys Lys Arg Arg Xaa Arg Arg Arg Gly Cys
1 5 10
<210> 3
<211> 13
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 3
ccgccaagaa gcg 13
<210> 4
<211> 100
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 4
gcgtgcacac gcgcgtagac ttcccccgca agtcactcgt tagcccgcca agaagcgacc 60
cctccggggc gagctgagcg gcgtggcgcg ggggcgtcat 100
<210> 5
<211> 101
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 5
acgtgcatac gcacgtagac attccccgct tcccactcca aagtccgcca agaagcgtat 60
cccgctgagc ggcgtggcgc gggggcgtca tccgtcagct c 101
<210> 6

<211> 58
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 6
acttcccccg caagtcactc gttagcccgc caagaagcga ccccctccggg gcgagctg 58
<210> 7
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 7
Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5
<210> 8
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 8
Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Thr Pro Gln
1 5 10
<210> 9
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 9
Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5 10
<210> 10
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> 合成构建体
<400> 10
Ala Ala Val Ala Leu Leu Pro Ala Val Leu Leu Ala Leu Leu Ala
1 5 10 15
<210> 11
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 11
Met Gly Leu Gly Leu His Leu Leu Val Leu Ala Ala Ala Leu Gln
1 5 10 15
<210> 12
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 12
Gly Ala Leu Phe Leu Gly Phe Leu Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met
1 5 10 15
<210> 13
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 13
Ala Gly Tyr Leu Leu Gly Lys Ile Asn Leu Lys Ala Leu Ala Ala Leu
1 5 10 15
Ala Lys Lys Ile Leu
20
<210> 14
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体

<400> 14
Arg Val Ile Arg Val Trp Phe Gln Asn Lys Arg Cys Lys Asp Lys Lys
1 5 10 15
<210> 15
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 15
Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys
1 5 10 15
<210> 16
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 16
Gly Leu Phe Glu Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly
1 5 10 15
Met Ile Asp Gly
20
<210> 17
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 17
Gly Trp Thr Leu Asn Ser Ala Gly Tyr Leu Leu Gly Lys Ile Asn
1 5 10 15
<210> 18
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 18

Arg Ser Gln Ser Arg Ser Arg Tyr Tyr Arg Gln Arg Gln Arg Ser
1 5 10 15

<210> 19
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 19
Leu Ala Ile Pro Glu Gln Glu Tyr
1 5

<210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 20
Leu Gly Ile Ala Glu Gln Glu Tyr
1 5

<210> 21
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 21
Leu Gly Ile Pro Ala Gln Glu Tyr
1 5

<210> 22
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 22
Leu Gly Ile Pro Glu Ala Glu Tyr
1 5

<210> 23

<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 23
Leu Gly Ile Pro Glu Gln Ala Tyr
1 5
<210> 24
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 24
Leu Gly Ile Ala Glu Ala Glu Tyr
1 5
<210> 25
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 25
Leu Gly Ile Pro Glu Ala Ala Tyr
1 5
<210> 26
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 26
Leu Gly Ile Ala Glu Gln Ala Tyr
1 5
<210> 27
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成构建体
<400> 27
Leu Gly Ile Ala Glu Ala Ala Tyr
1 5
<210> 28
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 28
Leu Leu Ile Ile Leu Arg Arg Arg Ile Arg Lys Gln Ala His Ala His
1 5 10 15
Ser Lys
<210> 29
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 29
Leu Lys Ala Leu Ala Ala Leu Ala Lys Lys Ile Leu
1 5 10
<210> 30
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 30
Lys Leu Ala Leu Lys Leu Ala Leu Lys Ala Leu Lys Ala Ala Leu Lys
1 5 10 15
Leu Ala
<210> 31
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> 合成构建体
<400> 31
Lys Glu Thr Trp Trp Glu Thr Trp Trp Thr Glu Trp Ser Gln Pro Lys
1 5 10 15
Lys Lys Arg Lys Val
20
<210> 32
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 32
Asp His Gln Leu Asn Pro Ala Phe
1 5
<210> 33
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 33
Asp Pro Lys Gly Asp Pro Lys Gly
1 5
<210> 34
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 34
Val Thr Val Thr Val Thr Val Thr Val Thr Gly Lys Gly Asp Pro Lys
1 5 10 15
Pro Asp
<210> 35
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> 合成构建体
<400> 35
Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys
1 5 10 15
<210> 36
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 36
Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Gln
1 5 10
<210> 37
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 37
Gly Trp Thr Leu Asn Ser Ala Gly Tyr Leu Leu Gly Lys Ile Asn Leu
1 5 10 15
Lys Ala Leu Ala Ala Leu Ala Lys Lys Ile Leu
20 25
<210> 38
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 38
Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5 10
<210> 39
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体

<400> 39
Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5
<210> 40
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 40
Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5
<210> 41
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 41
Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5
<210> 42
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 42
Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5 10
<210> 43
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 43
Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5 10

<210> 44
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> MISC_特征
<222> (33)..(33)
<223> Xaa可以是独立地呈L和/或D形式的2至15个Arg
<400> 44

Tyr	Thr	Ile	Trp	Met	Pro	Glu	Asn	Pro	Arg	Pro	Gly	Thr	Pro	Cys	Asp
1				5					10					15	
Ile	Phe	Thr	Asn	Ser	Arg	Gly	Lys	Arg	Ala	Ser	Asn	Gly	Gly	Gly	Gly
			20					25					30		

Xaa

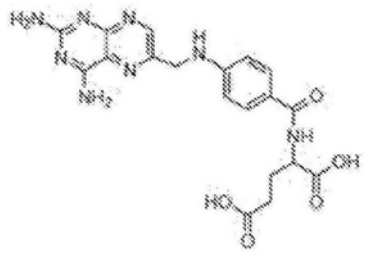


图1A

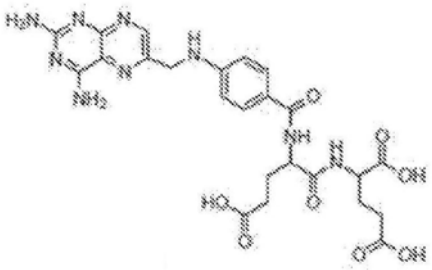


图1B

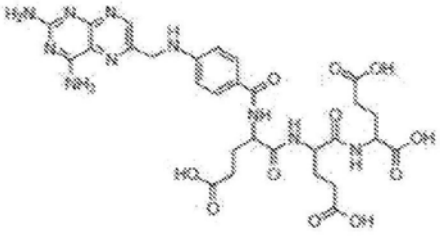


图1C

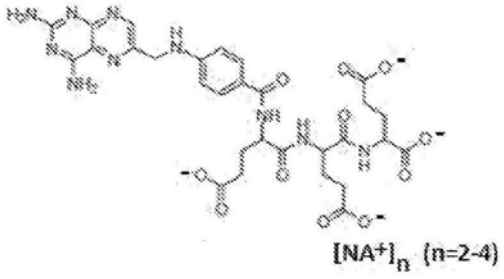


图1D

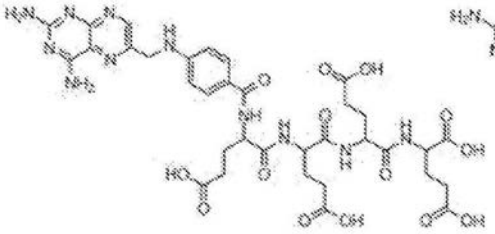


图 1E

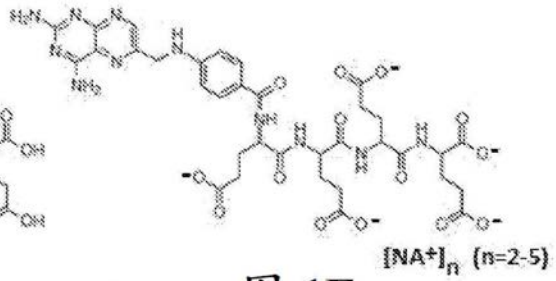


图 1F

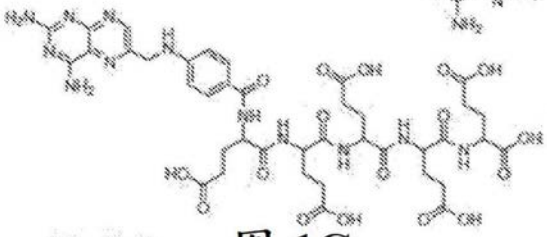


图 1G

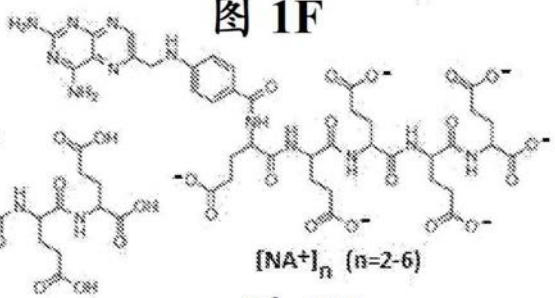


图 1H

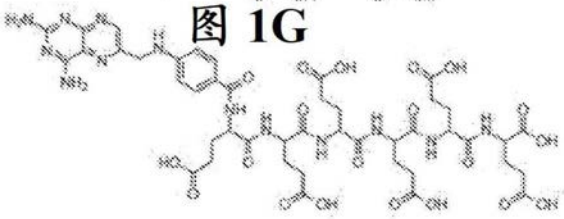


图 1I

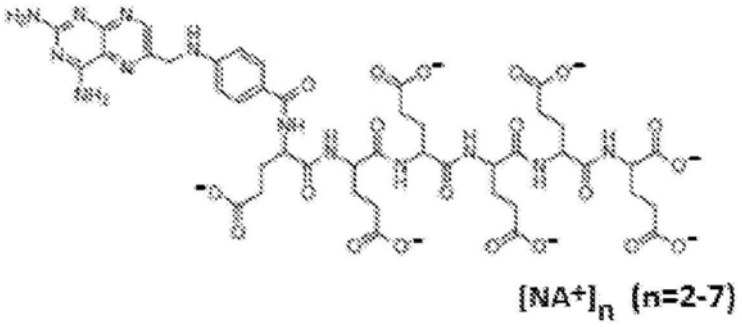


图1J

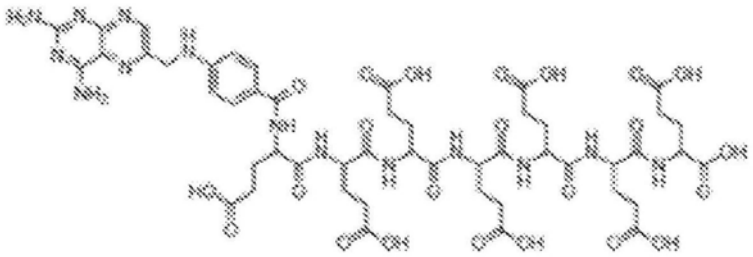


图1K

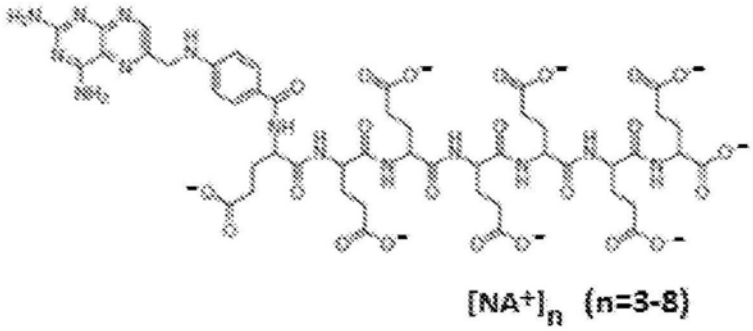


图1L

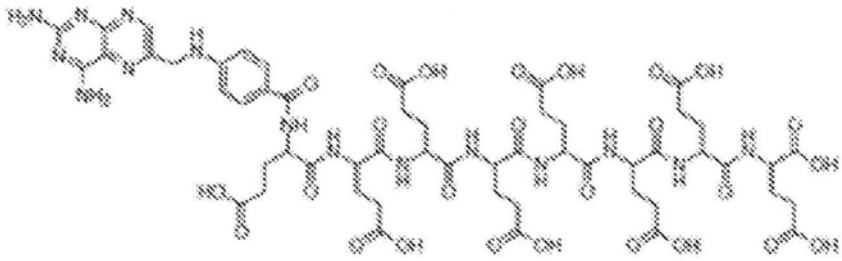


图1M

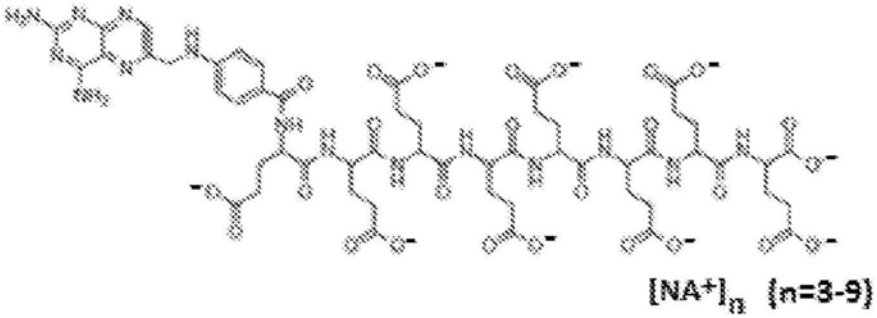


图1N

图1A培美曲塞

图1B-N培美曲塞的α聚谷氨酸盐衍生物的实例

示例性α聚谷氨酸化培美曲塞分子

$$PMX - [谷氨酰基]_n$$

其中：

至少一个谷氨酰基是L-α谷氨酰基或D-α谷氨酰基，并且其中其他谷氨酰基中的每一个(即使在同一分子中)可独立地是

D-α谷氨酰基，

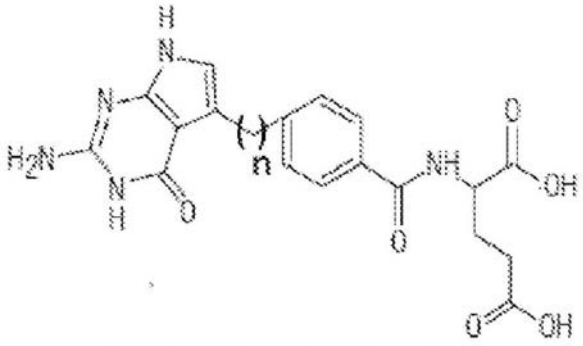
L-α谷氨酰基，或

D-γ谷氨酰基，并且其中

n＝4、5、2-10、4-6或>5

图10

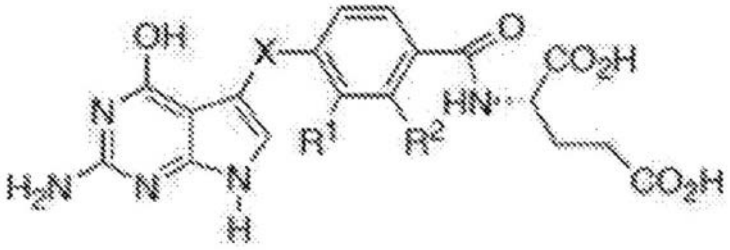
示例性培美曲塞衍生物



n＝1、3、4、5、6、7

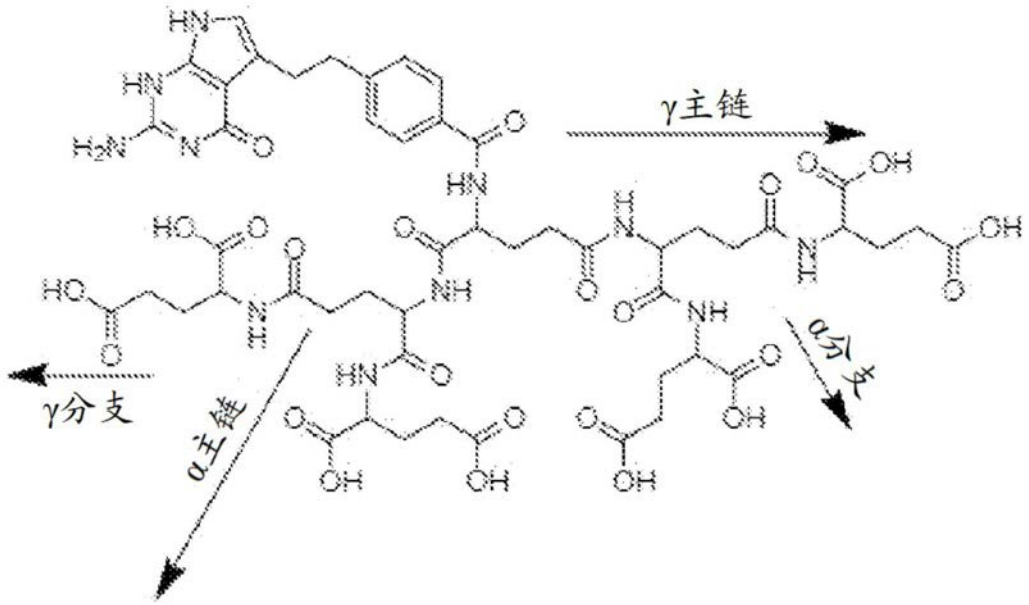
图1P

示例性培美曲塞衍生物



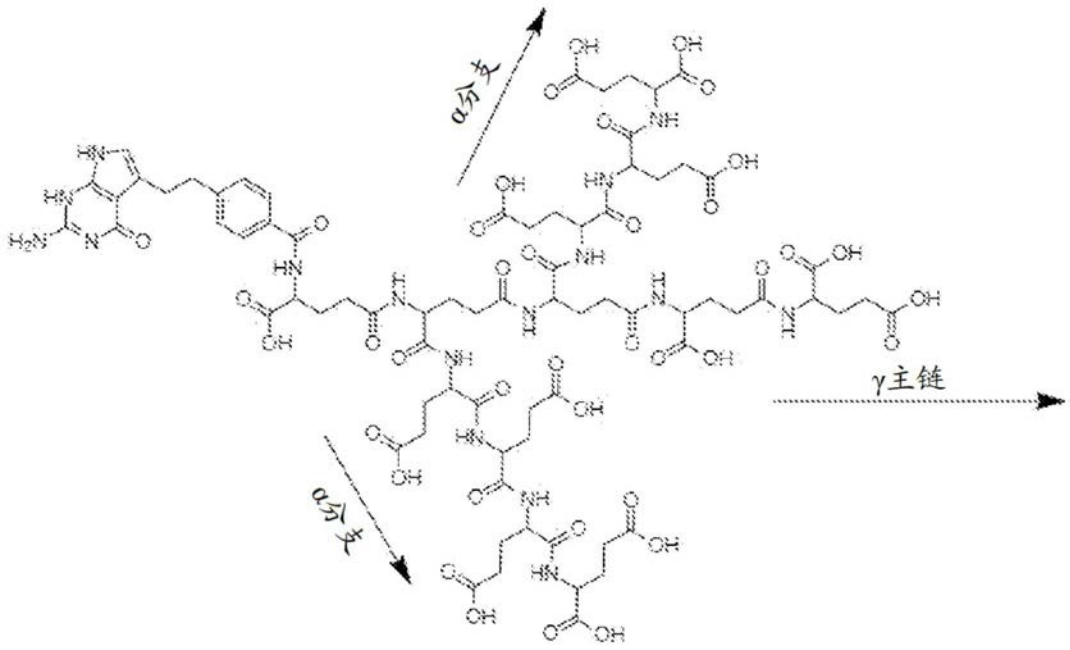
其中(a) X = C_2H_4, C_4H_8, C_6H_{12}, $O(CH_2)_2O$, 或 $O(CH_2)_3O$,
R^1 和 R^2 = H, Cl, 或 R^1=Cl 并且 R^2=H,
(b) X= C_2H_4, R^1=Cl, R^2=H,
(c) X= C_2H_4, R^1= R^2=Cl,
(d) X= C_4H_8, R^1= R^2=H,
(e) X= C_6H_{12}, R^1= R^2=H,
(f) X= $O(CH_2)_2O$, R^1= R^2=H,
(g) X= $O(CH_2)_3O$, R^1= R^2=H

图1Q



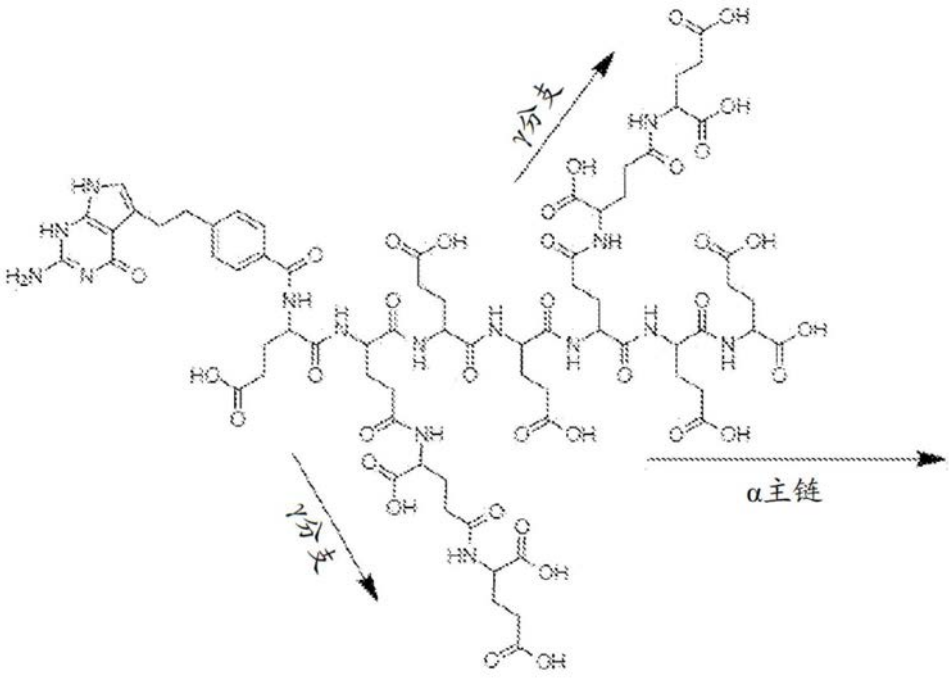
α/γ谷氨酰基支化的原理

图1R



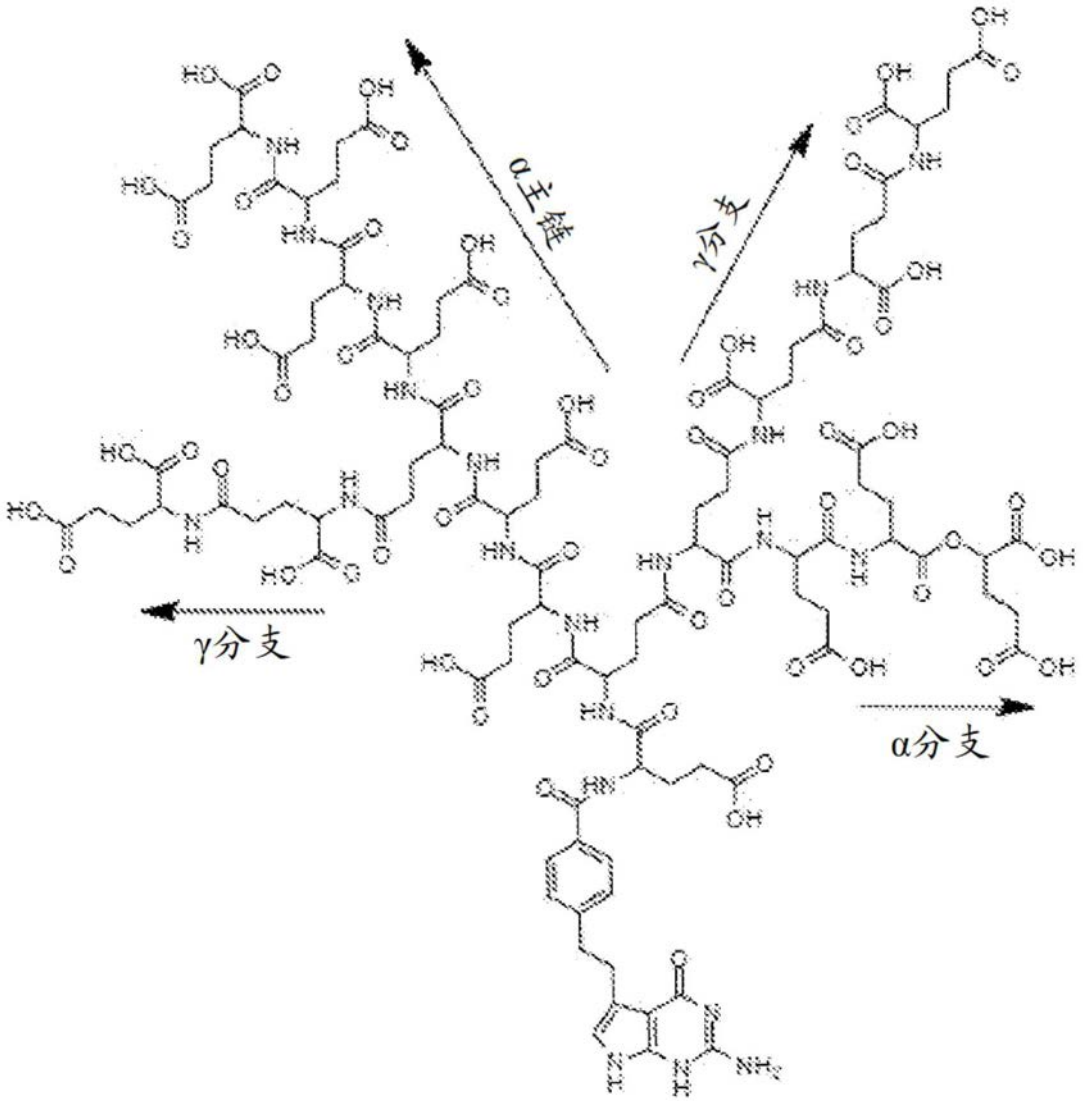
γ谷氨酰基主链α谷氨酰基分支

图1S



α谷氨酰基主链γ谷氨酰基分支

图1T



α谷氨酰基主链γ谷氨酰基分支

图1U

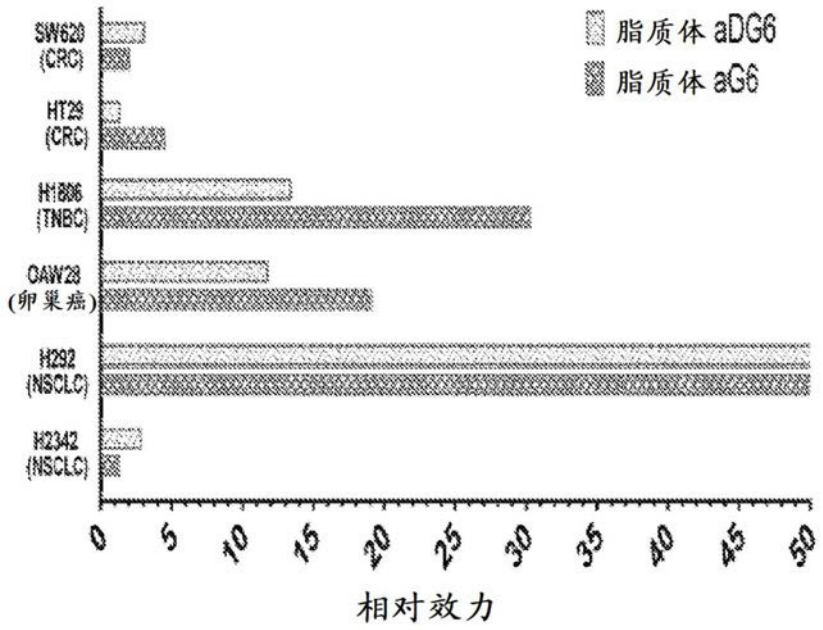

脂质体 aDG6
脂质体 aG6
SW620 (CRC)
HT29 (CRC)
H1806 (TNBC)
OAW28 (卵巢癌)
H292 (NSCLC)
H2342 (NSCLC)
0 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50
相对效力

图2

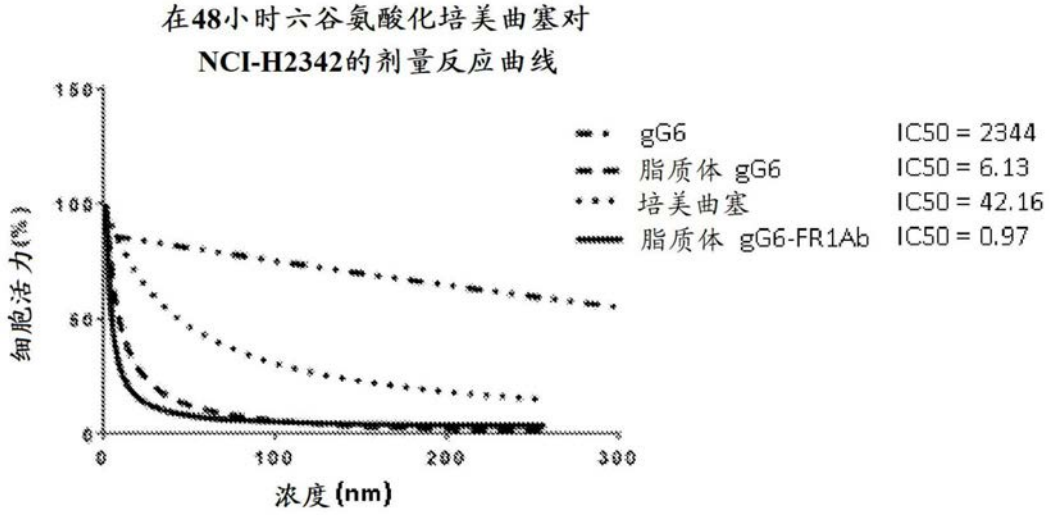

在48小时六谷氨酸化培美曲塞对
NCI-H2342的剂量反应曲线
gG6 IC50 = 2344
脂质体 gG6 IC50 = 6.13
培美曲塞 IC50 = 42.16
脂质体 gG6-FR1Ab IC50 = 0.97
细胞活力(%)
浓度(nm)

图3

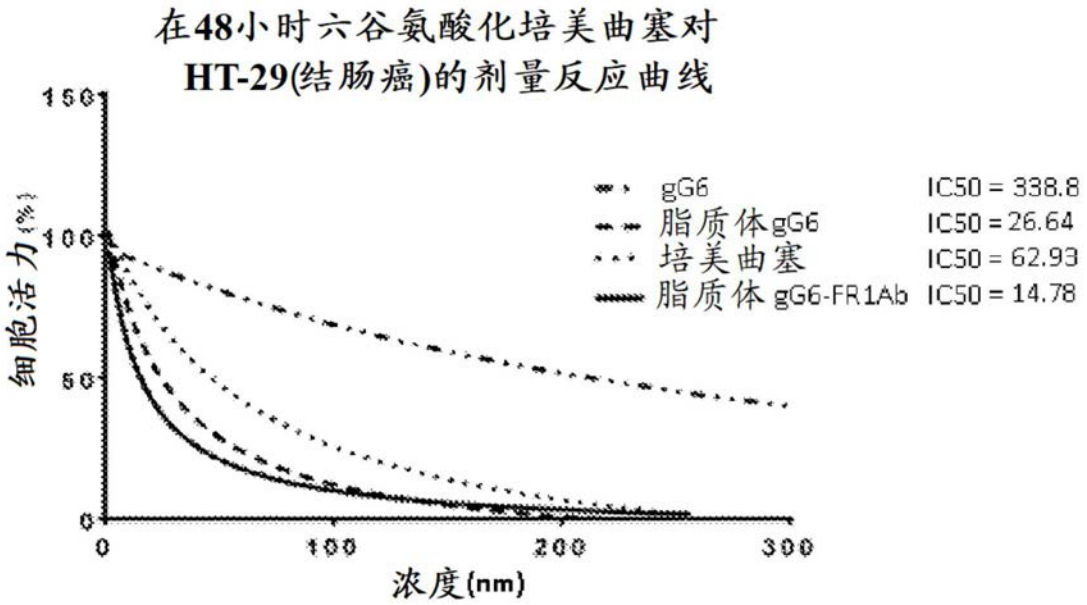

在48小时六谷氨酸化培美曲塞对
HT-29(结肠癌)的剂量反应曲线
细胞活力(%)
浓度(nm)
gG6 IC50 = 338.8
脂质体gG6 IC50 = 26.64
培美曲塞 IC50 = 62.93
脂质体 gG6-FR1Ab IC50 = 14.78

图4

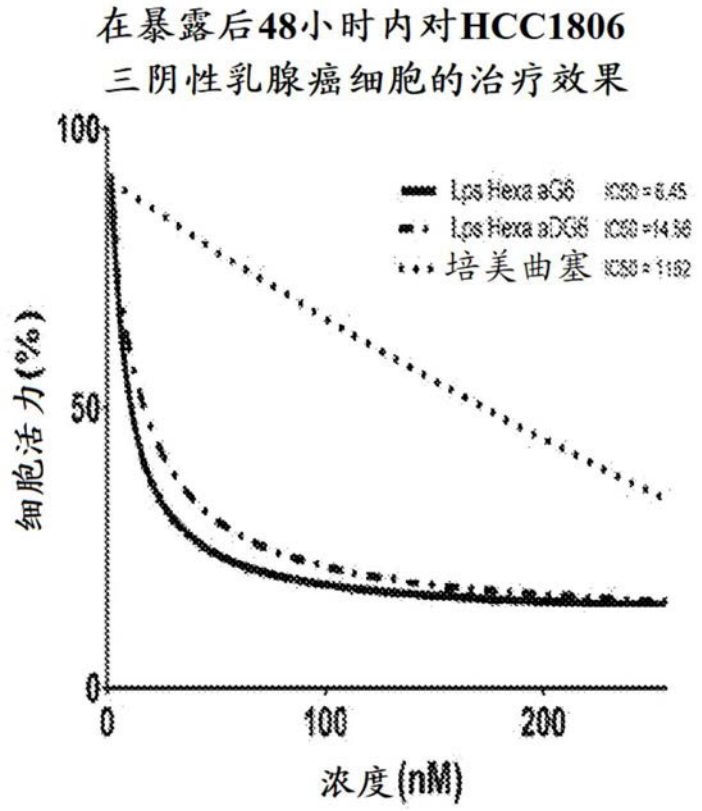

在暴露后48小时内对HCC1806
三阴性乳腺癌细胞的治疗效果
细胞活力(%)
浓度(nM)
培美曲塞

图5

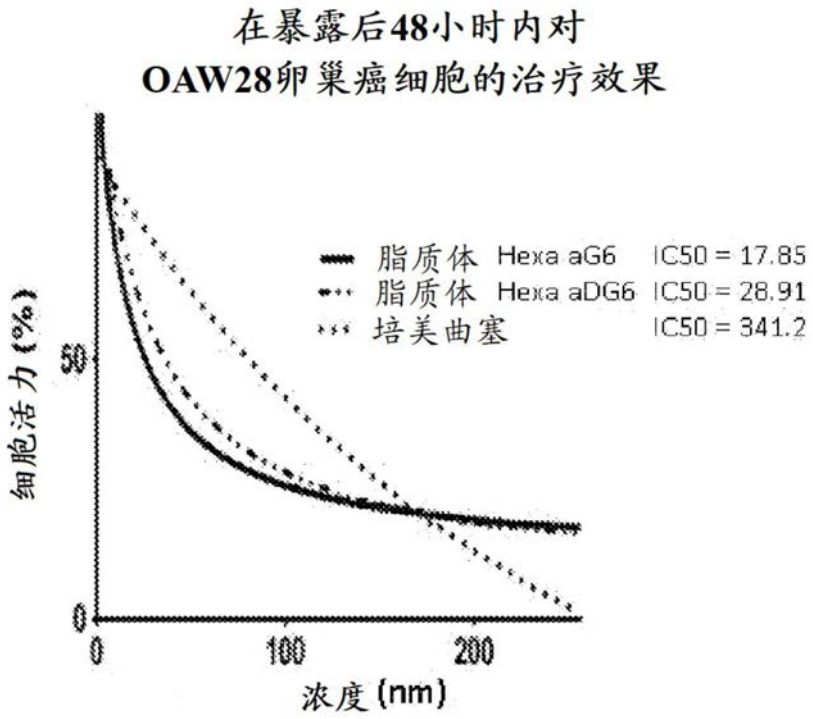

在暴露后48小时内对
OAW28卵巢癌细胞的治疗效果
脂质体 Hexa aG6 IC50 = 17.85
脂质体 Hexa aDG6 IC50 = 28.91
培美曲塞 IC50 = 341.2
细胞活力 (%)
50
0
0
100
200
浓度 (nm)

图6

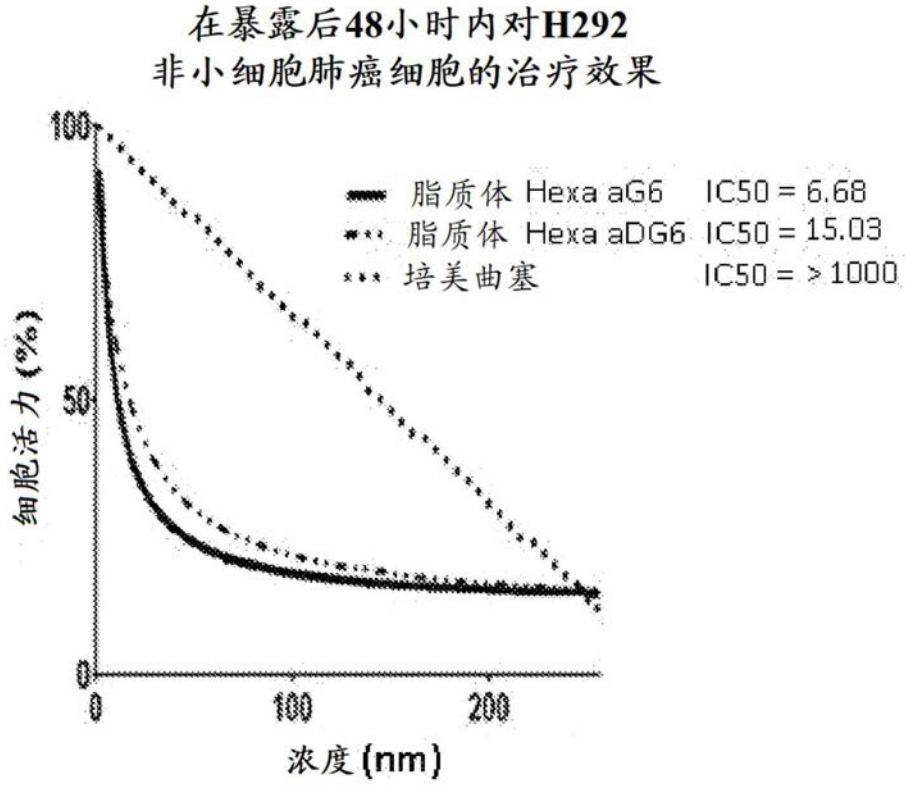

在暴露后48小时内对H292
非小细胞肺癌细胞的治疗效果
脂质体 Hexa aG6 IC50 = 6.68
脂质体 Hexa aDG6 IC50 = 15.03
培美曲塞 IC50 = > 1000
细胞活力 (%)
100
50
0
0
100
200
浓度 (nm)

图7

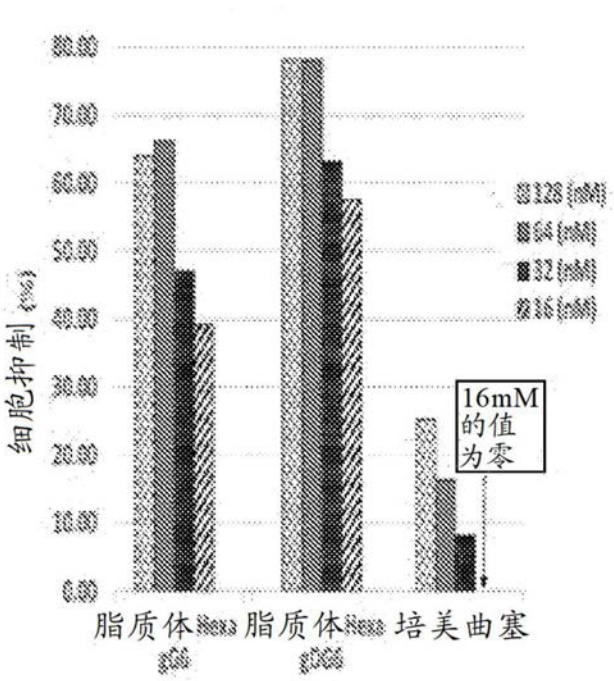

在暴露后48小时内对H292
非小细胞肺癌细胞的治疗效果
细胞抑制 (%)
16mM
的值
为零
脂质体
脂质体
培美曲塞

图8

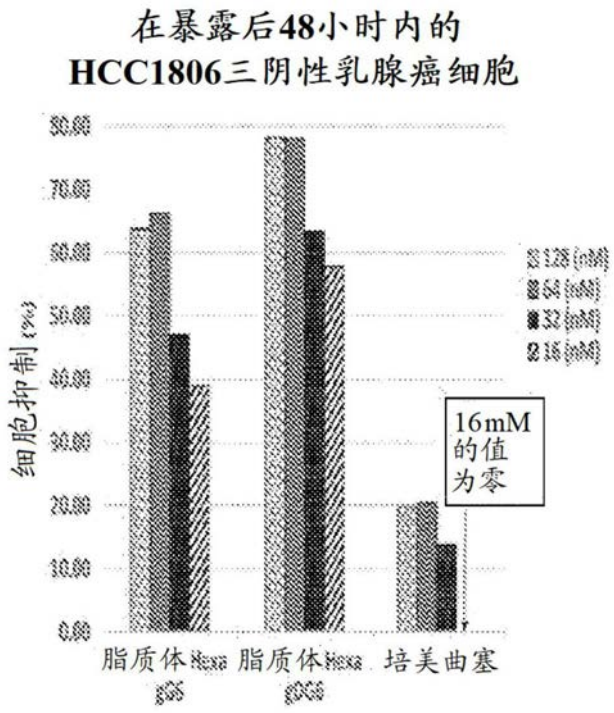

在暴露后48小时内的
HCC1806三阴性乳腺癌细胞
细胞抑制 (%)
16mM
的值
为零
脂质体
脂质体
培美曲塞

图9

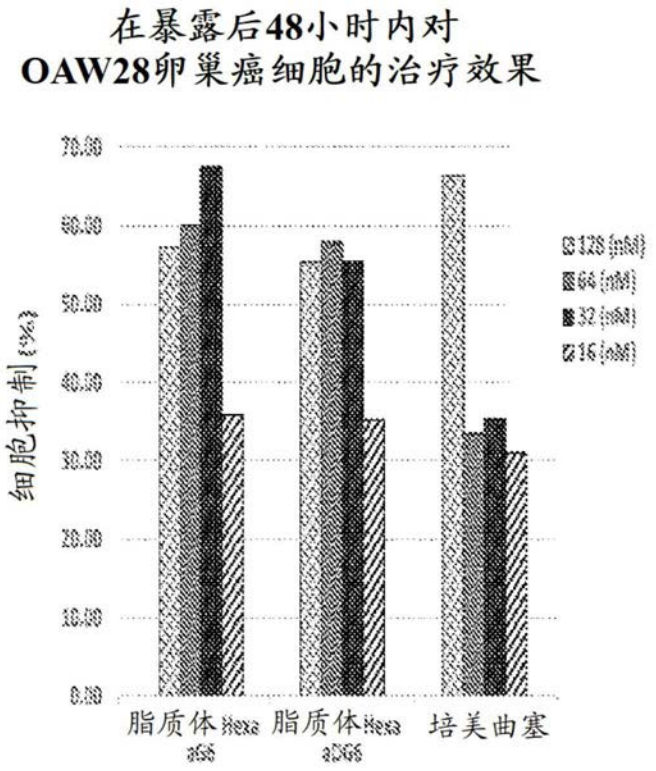

在暴露后48小时内对
OAW28卵巢癌细胞的治疗效果
细胞抑制(%)
脂质体
培美曲塞

图10

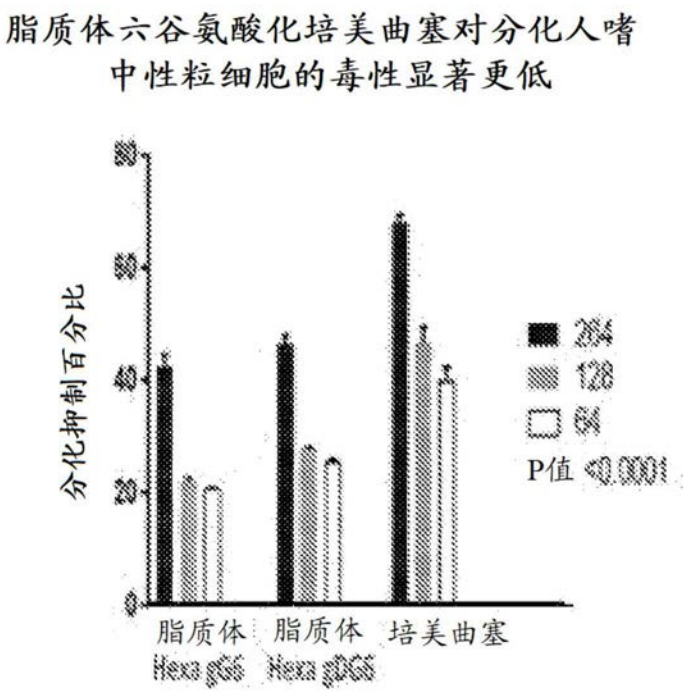

脂质体六谷氨酸化培美曲塞对分化人嗜
中性粒细胞的毒性显著更低
分化抑制百分比
脂质体
培美曲塞
P值 <0.0001

图11

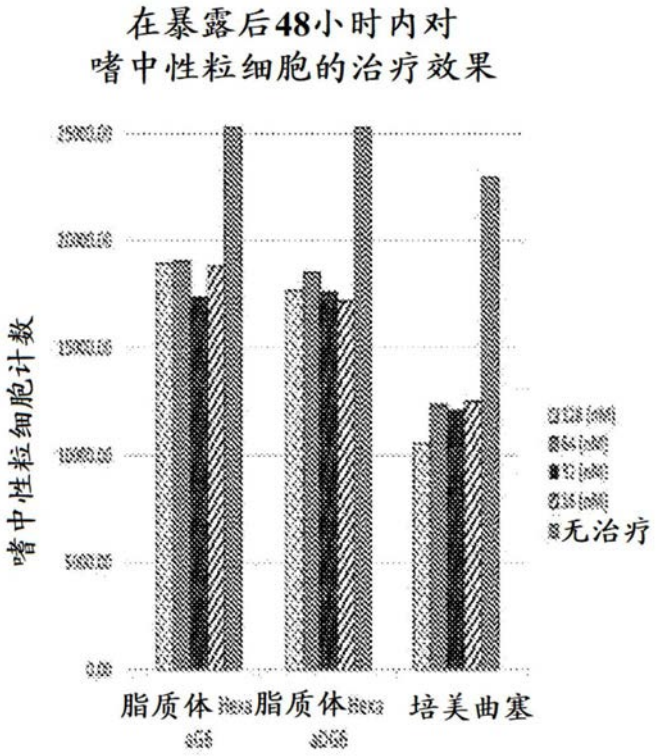

在暴露后48小时内对
嗜中性粒细胞的治疗效果
嗜中性粒细胞计数
无治疗
脂质体
脂质体
培美曲塞

图12

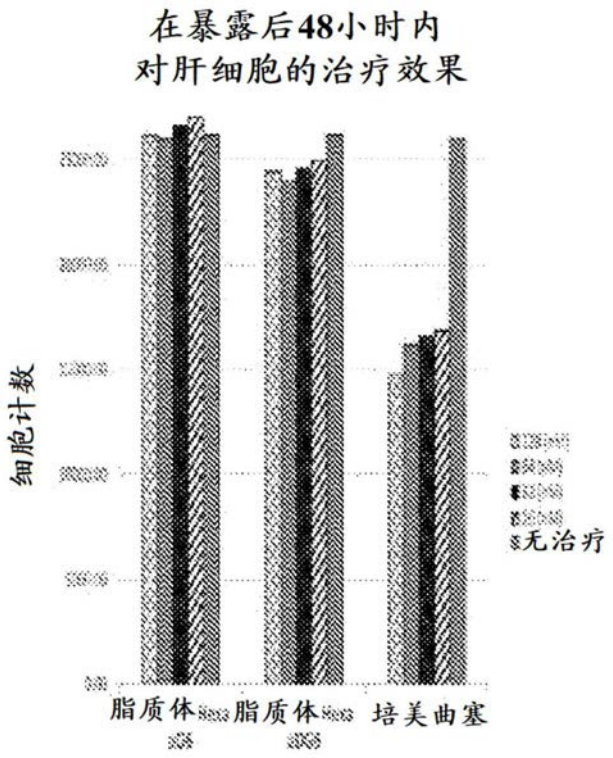

在暴露后48小时内
对肝细胞的治疗效果
细胞计数
无治疗
脂质体
脂质体
培美曲塞

图13

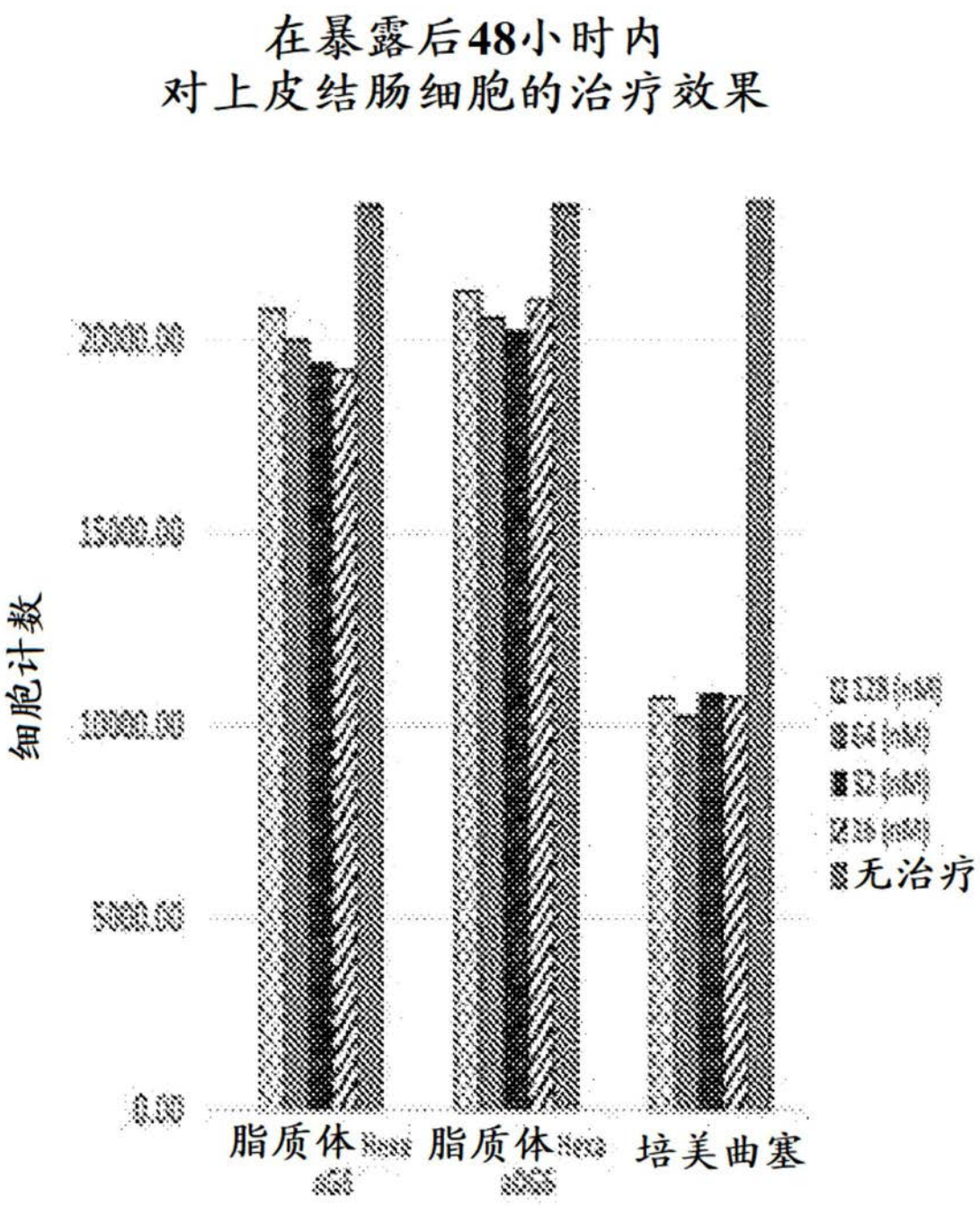

在暴露后48小时内
对上皮结肠细胞的治疗效果
细胞计数
20000.00
15000.00
10000.00
5000.00
0.00
脂质体
脂质体
培美曲塞
无治疗

图14

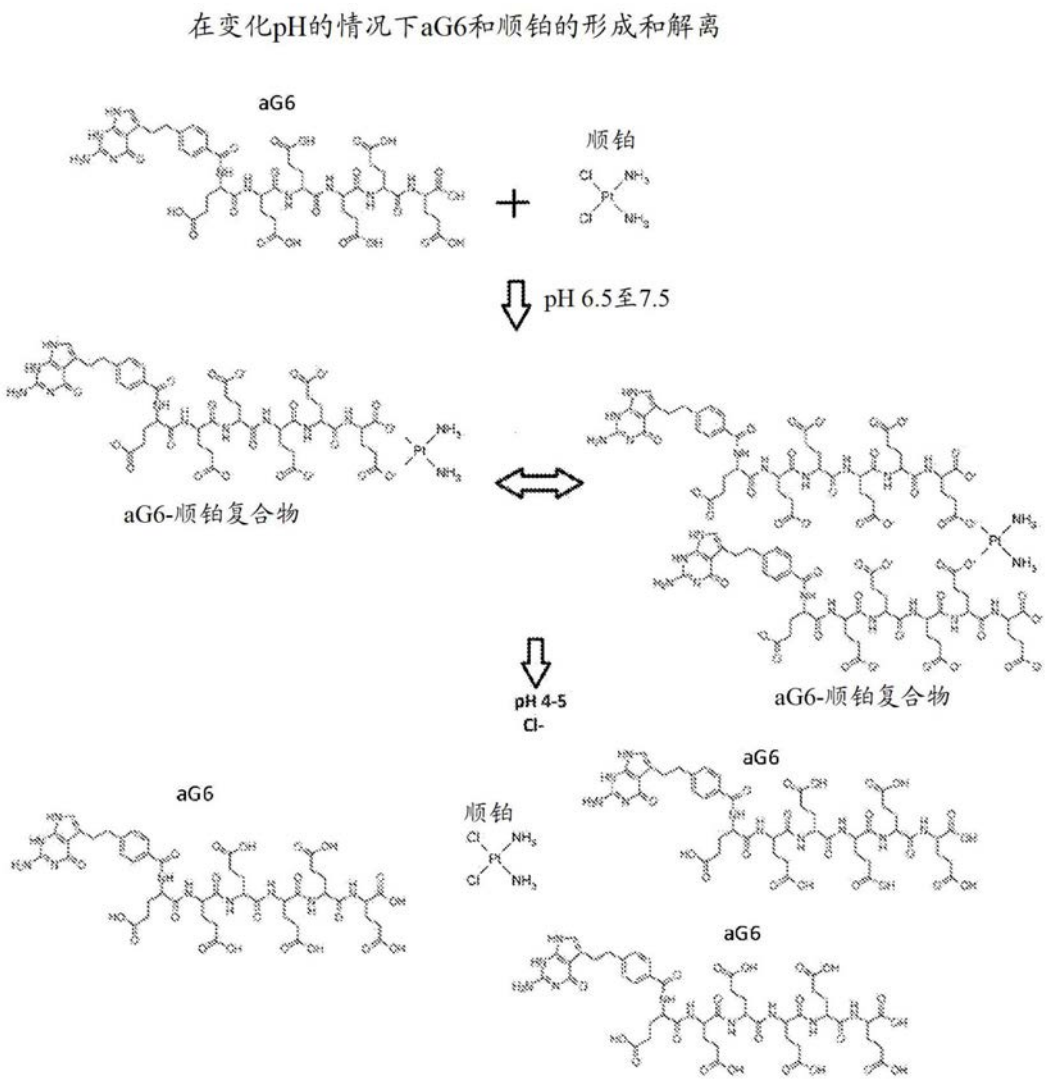

在变化pH的情况下aG6和顺铂的形成和解离
aG6
顺铂
pH 6.5至7.5
aG6-顺铂复合物
aG6-顺铂复合物
pH 4-5
Cl-
aG6
顺铂
aG6
aG6

图15

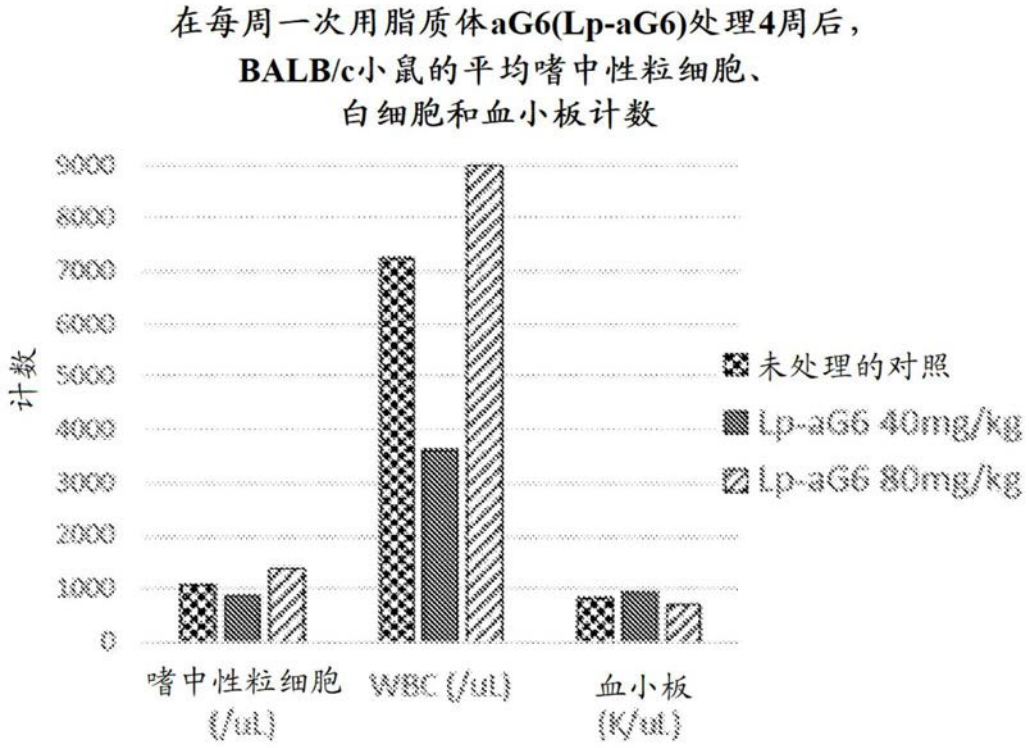

在每周一次用脂质体aG6(Lp-aG6)处理4周后，
BALB/c小鼠的平均嗜中性粒细胞、
白细胞和血小板计数
计数
9000
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
嗜中性粒细胞 (/uL)
WBC (/uL)
血小板 (K/uL)
未处理的对照
Lp-aG6 40mg/kg
Lp-aG6 80mg/kg

图16

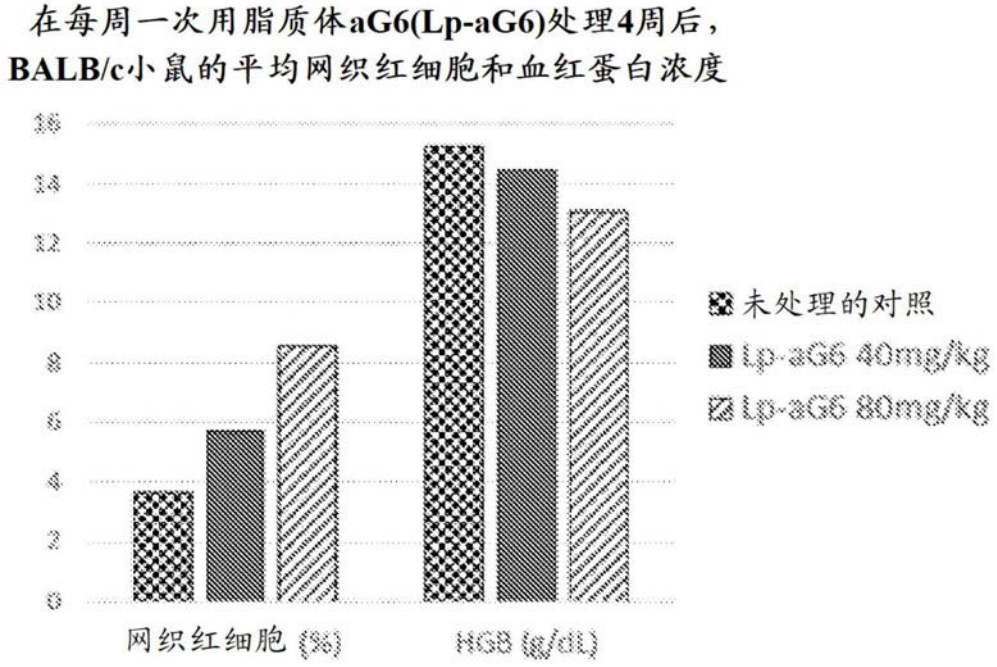

在每周一次用脂质体aG6(Lp-aG6)处理4周后，
BALB/c小鼠的平均网织红细胞和血红蛋白浓度
16
14
12
10
8
6
4
2
0
网织红细胞 (%)
HGB (g/dL)
未处理的对照
Lp-aG6 40mg/kg
Lp-aG6 80mg/kg

图17

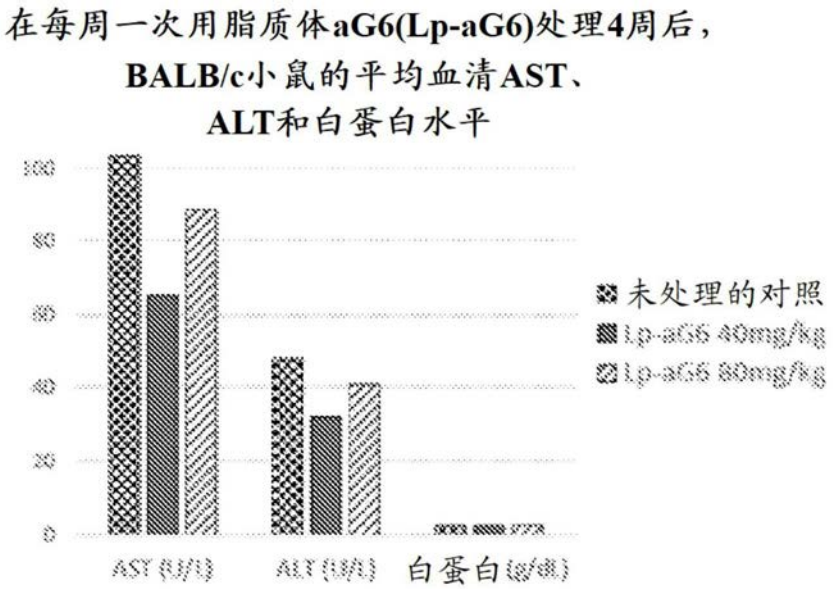

在每周一次用脂质体aG6(Lp-aG6)处理4周后，
BALB/c小鼠的平均血清AST、
ALT和白蛋白水平
未处理的对照
Lp-aG6 40mg/kg
Lp-aG6 80mg/kg
AST (U/L)
ALT (U/L)
白蛋白(g/dL)

图18

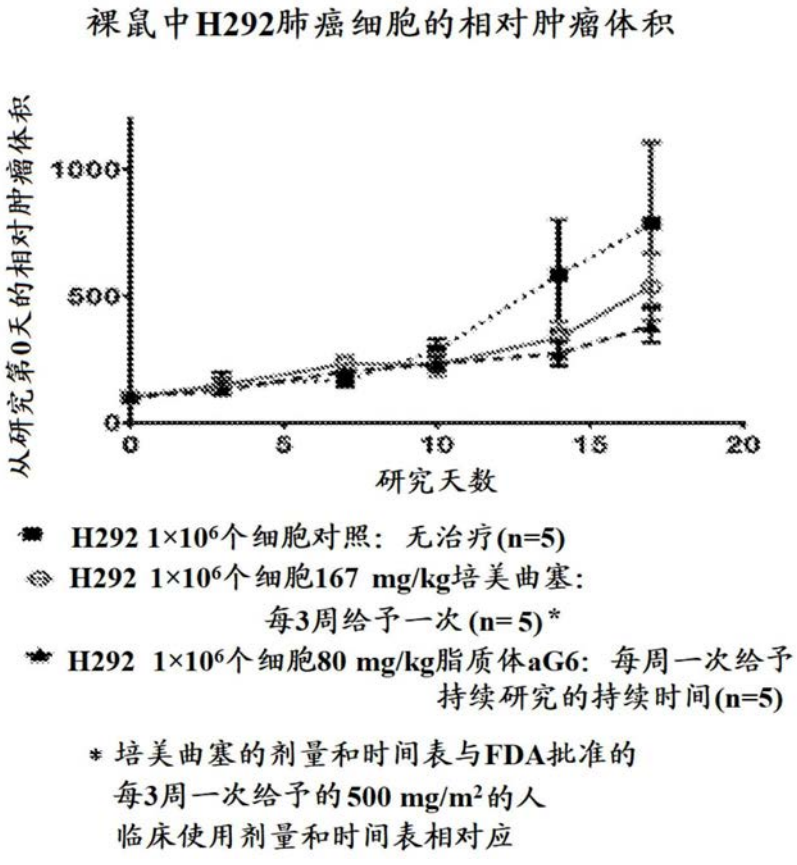

裸鼠中H292肺癌细胞的相对肿瘤体积
从研究第0天的相对肿瘤体积
1000
500
0
0
5
10
15
20
研究天数
H292 1×10⁶个细胞对照：无治疗(n=5)
H292 1×10⁶个细胞167 mg/kg培美曲塞：
每3周给予一次 (n= 5)*
H292 1×10⁶个细胞80 mg/kg脂质体aG6：每周一次给予
持续研究的持续时间(n=5)
* 培美曲塞的剂量和时间表与FDA批准的
每3周一次给予的500 mg/m²的人
临床使用剂量和时间表相对应

图19

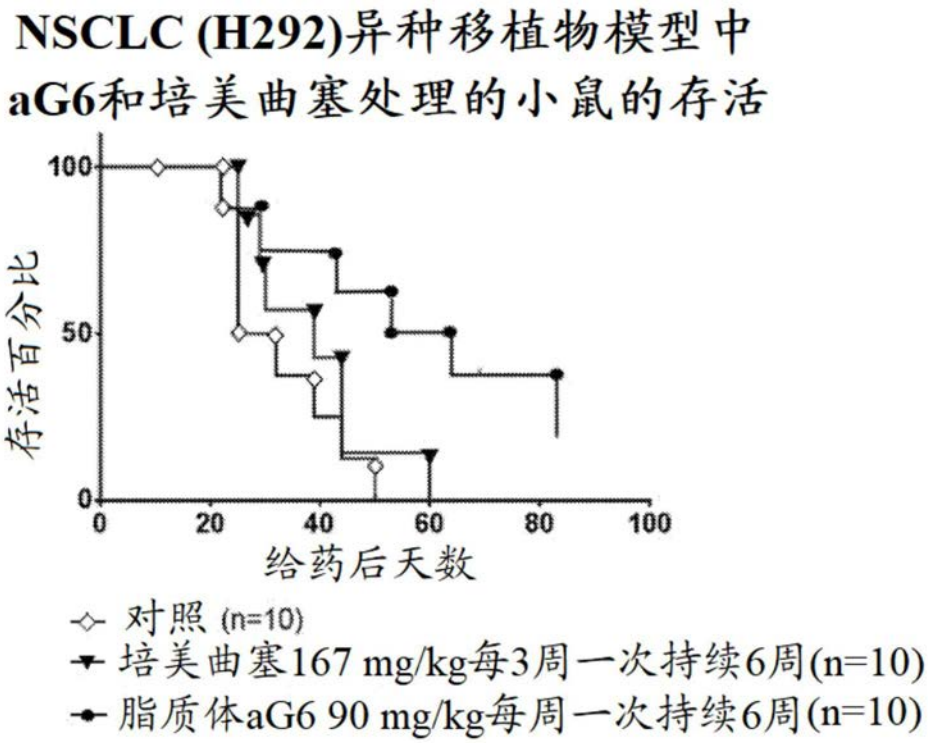

NSCLC (H292)异种移植物模型中
aG6和培美曲塞处理的小鼠的存活
存活百分比
100
50
0
0
20
40
60
80
100
给药后天数
对照 (n=10)
培美曲塞167 mg/kg每3周一次持续6周(n=10)
脂质体aG6 90 mg/kg每周一次持续6周(n=10)

图20

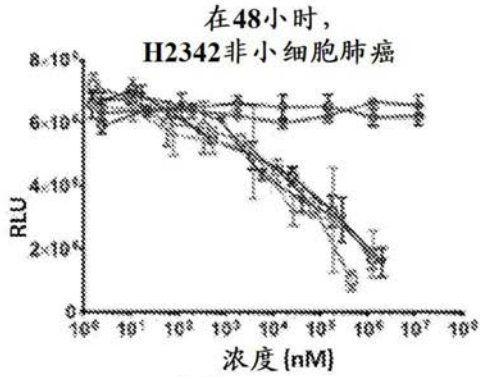


图 21A

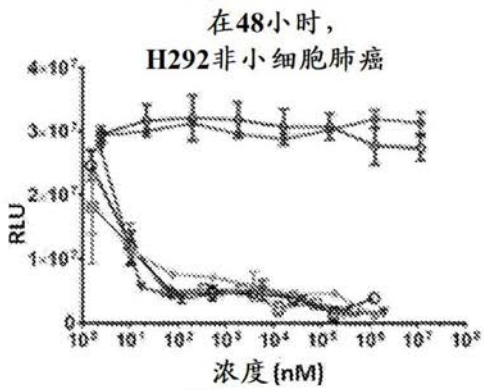


图 21B

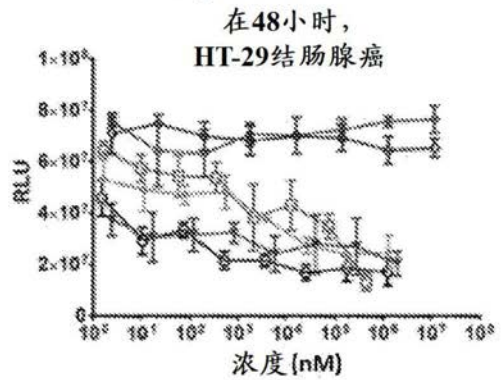


图 21C

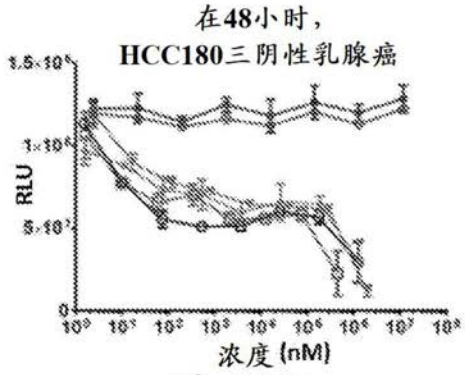


图 21D

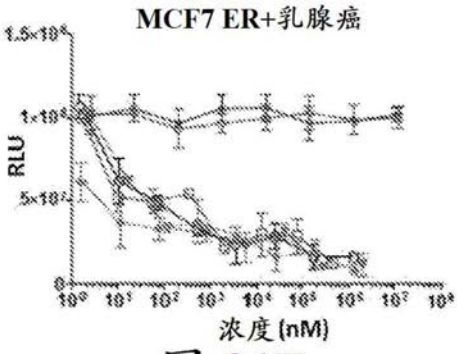


图 21E

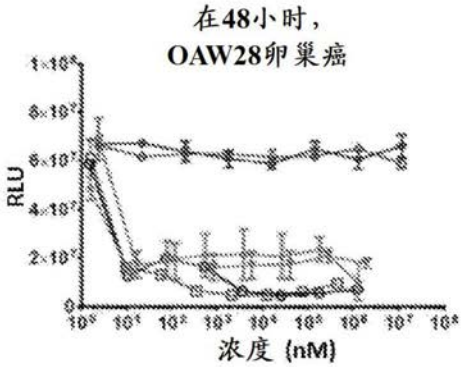


图 21F

媒介物
空脂质体
脂质体 aG3
脂质体 aG5
脂质体 aG7
脂质体 aG6 和 aG12