



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 115151250 A

(43) 申请公布日 2022. 10. 04

(21) 申请号 202180016676.8

(22) 申请日 2021.02.24

(30) 优先权数据

62/980,645 2020.02.24 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.08.24

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/019457 2021.02.24

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/173702 EN 2021.09.02

(71) 申请人 欧博拉托股份有限公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 姜信旭 金京洵 成智惠

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司 31100

专利代理师 陈扬扬 蔡文清

(51) Int.Cl.

A61K 31/15 (2006.01)

A61K 9/48 (2006.01)

A61K 31/185 (2006.01)

A61P 27/16 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

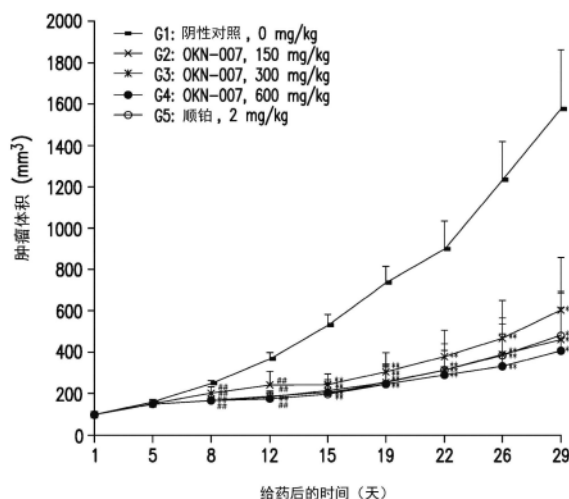
权利要求书2页 说明书21页 附图11页

(54) 发明名称

用于治疗癌症或肿瘤的组合物和方法

(57) 摘要

提供了使用组合物来治疗对象的癌症或肿瘤的方法。该组合物包含治疗有效量的2,4-二碘基 α -苯基叔丁基硝酮 (2,4-di-PBN) 或其药学上可接受的盐,其中,所述治疗有效量减慢癌症或肿瘤的生长。



1. 一种用于对有需要对象的癌症或肿瘤进行治疗的方法,所述方法包括:给予治疗有效量的2,4-二磺酰基 α -苯基叔丁基硝酮(2,4-ds-PBN)或其药学上可接受的盐,其中,所述治疗有效量减慢癌症或肿瘤的生长。

2. 如权利要求1所述的方法,其中,所述癌症是非小细胞肺癌。

3. 如权利要求1至2中任一项所述的方法,其中,2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐的治疗有效量是约5mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天。

4. 如权利要求1至3中任一项所述的方法,其中,通过静脉内注射或动脉内注射将治疗有效量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐递送至对象。

5. 如权利要求1至4中任一项所述的方法,其中,通过肠内给药或口服给药将治疗有效量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐递送至对象。

6. 如权利要求1至5中任一项所述的方法,所述方法还包括测量癌症或肿瘤的体积、面积或它们的组合。

7. 如权利要求6所述的方法,其中,在给予治疗有效量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐后,癌症体积或肿瘤体积减少至少约50%。

8. 如权利要求6所述的方法,其中,在给予治疗有效量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐后,癌症或肿瘤生长减慢至少约40%。

9. 如权利要求1至5中任一项所述的方法,所述方法还包括:对凋亡癌细胞或凋亡肿瘤细胞进行计数。

10. 如权利要求9所述的方法,其中,在给予治疗有效量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐后,凋亡癌细胞或凋亡肿瘤细胞的数量增加至少约15%。

11. 如权利要求1至10中任一项所述的方法,至少每周一次将治疗有效量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐递送至对象。

12. 如权利要求1至11中任一项所述的方法,所述方法还包括给予对象治疗有效量的抗癌剂或抗肿瘤剂。

13. 如权利要求12所述的方法,其中,抗癌剂或抗肿瘤剂选自下组:化疗剂、免疫治疗剂、细胞因子、抗血管生成剂、酪氨酸激酶抑制剂(TKI)、凋亡诱导剂、抗癌抗体及它们的组合。

14. 如权利要求1至13中任一项所述的方法,所述方法还包括给予附加治疗,其中,所述附加治疗选自下组:抗肿瘤治疗、抗癌治疗、化疗、靶向治疗、免疫治疗、放射治疗、射频消融治疗、手术、使用肿瘤治疗场(TTFields)装置的治疗或它们的组合。

15. 一种用于治疗对象癌症或肿瘤的药物组合物,其包含治疗有效量的2,4-二磺酰基 α -苯基叔丁基硝酮(2,4-ds-PBN)或其药学上可接受的盐,其中,所述治疗有效量以减缓癌症或肿瘤的生长量存在。

16. 如权利要求15所述的药物组合物,其中,药物组合物为用于口服给药或肠内给药的片剂、丸剂、胶囊、凝胶剂、液体、糖浆、浆液或混悬剂的形式。

17. 如权利要求16所述的药物组合物,其中,2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐的治疗有效量是约5mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天。

18. 如权利要求15至17中任一项所述的药物组合物,其中,所述组合物包括至少一个包衣层,其中,所述至少一个包衣层包封2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐并在预定的pH范

围内溶解。

19. 如权利要求15所述的药物组合物, 其中, 所述药物组合物为用于静脉内注射或动脉内注射的溶液或液体的形式。

20. 如权利要求19所述的药物组合物, 其中, 2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐的治疗有效量是约10mg/kg体重/天至约500mg/kg体重/天。

21. 如权利要求15至20中任一项所述的药物组合物, 其中, 所述癌症是非小细胞肺癌。

用于治疗癌症或肿瘤的组合物和方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2020年2月24日提交的美国临时专利申请系列号62/980,645的优先权,其全部内容通过引用纳入本文。

发明领域

[0003] 本文公开的主题涉及用于抑制癌症和肿瘤发展的技术。具体来说,本文公开的主题涉及用于抑制癌症和肿瘤发展的方法和组合物。

背景技术

[0004] 癌症是一组涉及细胞异常生长的疾病,可能会侵袭对象的其他部位/组织,导致严重的功能障碍。例如,肺癌是一种开始肺部中异常细胞生长的癌症。有可以进行不同治疗的两种主要类型的肺癌。第一种是非小细胞肺癌(NSCLC)。在直至晚期(advance)为止,NSCLC生长缓慢,并且症状相对较少。NSCLC的亚型包括腺癌、鳞状细胞癌、腺鳞癌、肉瘤样癌和大细胞癌。第二种是小细胞肺癌(SCLC)。与NSCLC相比,SCLC可以更快地生长并扩散到其他组织。由于其快速生长速率,化疗和放疗可用于治疗SCLC。尽管NSCLC侵袭性较低,但NSCLC可能在更晚的阶段诊断,因为NSCLC病例在晚期前症状较少,导致致命的预后(prognosis)。

[0005] 癌细胞可能不受控制地生长并形成肿块(称为肿瘤)。癌症是导致死亡的主要原因之一,并且全球约有六分之一的死亡人数死于癌症。癌症和/或肿瘤形成可能是对象的遗传因素与外部因素(如物理致癌物、化学致癌物和生物致癌物)相互作用的结果。尽管在理解癌症的分子机制方面取得了进展,但目前可用的抗癌和/或抗肿瘤治疗仍存在某些副作用。虽然2,4-二磺酰基 α -苯基叔丁基硝酮(2,4-ds-PBN)可抑制啮齿动物胶质瘤模型中的恶性胶质瘤(GBM)肿瘤生长,并提高其他抗癌药物对GBM治疗的敏感性,但其对其他肿瘤和/或癌症的治疗效果尚未确定。

[0006] 因此,需要改进使用2,4-ds-PBN治疗癌症或肿瘤(例如NSCLC)的技术。

发明内容

[0007] 本公开提供了用于治疗癌症或肿瘤的药物组合物和方法。用于治疗对象癌症或肿瘤的方法可包括:给予包含治疗有效量的2,4-二磺酰基 α -苯基叔丁基硝酮(2,4-ds-PBN)或其药学上可接受的盐的组合物,其中,所述治疗有效量可以减慢癌症或肿瘤的生长。

[0008] 在某些实施方式中,所述癌症可以是非小细胞肺癌。

[0009] 在某些实施方式中,2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐的治疗有效量可以为约5mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天。

[0010] 在某些实施方式中,通过静脉内注射或动脉内注射可以将治疗有效量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐递送至对象。在非限制性实施方式中,通过肠内给药或口服给药可以将治疗有效量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐递送至对象。

[0011] 在某些实施方式中,所述方法还可包括测量癌症或肿瘤的面积、体积或它们的组

合。在非限制性实施方式中,在给予治疗有效量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐后,癌症体积或肿瘤体积减少至少约50%。在非限制性实施方式中,在给予治疗有效量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐后,癌症或肿瘤生长减慢至少约40%。

[0012] 在某些实施方式中,所述方法还可以包括对凋亡癌细胞或凋亡肿瘤细胞进行计数。在非限制性实施方式中,在给予治疗有效量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐后,凋亡癌细胞或凋亡肿瘤细胞的数量增加至少约15%。

[0013] 在某些实施方式中,可以每周至少一次将治疗有效量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐给予对象。

[0014] 在某些实施方式中,所述方法还可以包括给予对象治疗有效量的抗癌剂或抗肿瘤剂。在非限制性实施方式中,抗癌剂/抗肿瘤剂可以选自下组:化疗剂、放疗剂、细胞因子、抗血管生成剂、酪氨酸激酶抑制剂(TKI)、凋亡诱导剂、抗癌抗体、免疫治疗剂及它们的组合。

[0015] 在某些实施方式中,所述方法还可以包括给予附加治疗。所述附加治疗选自下组:抗肿瘤治疗、抗癌治疗、化疗、靶向治疗、免疫治疗、放射治疗、射频消融治疗、手术、使用肿瘤治疗场(TTFields)装置的治疗或它们的组合。

[0016] 在某些实施方式中,本公开提供一种用于治疗对象癌症或肿瘤的药物组合物,其包含治疗有效量的2,4-二磺酰基 α -苯基叔丁基硝酮(2,4-ds-PBN)或其药学上可接受的盐,其中,所述治疗有效量可以以减慢癌症或肿瘤的生长量存在。

[0017] 在某些实施方式中,药物组合物可以为用于口服给药或肠内给药的片剂、丸剂、胶囊、凝胶剂、液体、糖浆、浆液或混悬剂的形式。在非限制性实施方式中,用于口服给药或肠内给药的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐的治疗有效量可以为约5mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天。

[0018] 在某些实施方式中,所述药物组合物可以是用于静脉内注射或动脉内注射的溶液或液体的形式。在非限制性实施方式中,用于静脉内注射或动脉内注射的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐的治疗有效量可以为约10mg/kg体重/天至约500mg/kg体重/天。

[0019] 在某些实施方式中,所述癌症可以是非小细胞肺癌。

[0020] 附图简要说明

[0021] 图1提供了显示给予阴性对照、OKN-007 (150mg/kg、300mg/kg或600mg/kg) 或顺铂(2mg/kg) 后肿瘤体积的图表。各点代表十个独立实验的平均值 $\pm$ 标准偏差(S.D.)。##表示通过斯氏t检验(Steel's t-test),与阴性对照组相比,p值小于0.01 ($p < 0.01$)。**表示通过邓氏t检验(Dunnett's t-test),与阴性对照组相比,p值小于0.01 ($p < 0.01$)。

[0022] 图2提供了显示给予阴性对照、OKN-007 (150mg/kg、300mg/kg或600mg/kg) 或顺铂(2mg/kg) 后肿瘤重量的图表。各点代表十个独立实验的平均值 $\pm$ 标准偏差(S.D.)。**表示通过邓氏t检验(Dunnett's t-test),与阴性对照组相比,p值小于0.01 ($p < 0.01$)。

[0023] 图3提供了给予阴性对照、OKN-007 (150mg/kg、300mg/kg或600mg/kg) 或顺铂(2mg/kg) 后观察期结束时A549荷瘤裸鼠的照片。

[0024] 图4提供了给予阴性对照或OKN-007 (150mg/kg) 后观察期结束时从A549荷瘤裸鼠取出的肿瘤的照片。在阴性对照组(G1)中,肿瘤大小和体积随时间增加。与阴性对照组(G1)相比,OKN-007 (150mg/kg) 治疗组(G2)显示出肿瘤体积和大小在统计学上显著减小。

[0025] 图5提供了给予阴性OKN-007 (300或600mg/kg) 后观察期结束时从A549荷瘤裸鼠取

出的肿瘤的照片。与阴性对照组 (G1) 相比, OKN-007 (300mg/kg) 治疗组 (G3) 和 OKN-007 (600mg/kg) 治疗组 (G4) 显示出肿瘤体积和大小在统计学上显著减小。

[0026] 图6提供了给予顺铂 (2mg/kg) 后观察期结束时从A549荷瘤裸鼠取出的肿瘤的照片。作为阳性对照, 与阴性对照相比, 顺铂 (2mg/kg) 治疗组 (G5) 显示出肿瘤体积和大小在统计学上显著减小。

[0027] 图7提供了从阴性对照治疗组 (G1) 收获的肿瘤的苏木精和曙红 (H&E) 染色和末端脱氧核苷酸转移酶dUTP缺口末端标记 (TUNEL) 分析图像。通过H&E染色图像评估肿瘤坏死, 并且通过TUNEL分析图像评估肿瘤细胞凋亡。

[0028] 图8提供了从OKN-007 (150mg/kg) 治疗组 (G2) 收获的肿瘤的H&E染色和TUNEL分析图像。与阴性对照组 (G1) 相比, OKN-007 (150mg/kg) 治疗组 (G2) 显示出肿瘤中凋亡细胞 (箭头) 数量显著增加。

[0029] 图9提供了从OKN-007 (300mg/kg) 治疗组 (G3) 收获的肿瘤的H&E染色和TUNEL分析图像。与阴性对照组 (G1) 相比, OKN-007 (300mg/kg) 治疗组 (G3) 显示出肿瘤中凋亡细胞 (箭头) 数量显著增加。

[0030] 图10提供了从OKN-007 (600mg/kg) 治疗组 (G4) 收获的肿瘤的H&E染色和TUNEL分析图像。与阴性对照组 (G1) 相比, OKN-007 (600mg/kg) 治疗组 (G4) 显示出肿瘤中凋亡细胞 (箭头) 数量显著增加。

[0031] 图11提供了从顺铂 (2mg/kg) 治疗组 (G5) 收获的肿瘤的H&E染色和TUNEL分析图像。作为阳性对照, 与阴性对照组 (G1) 相比, 顺铂 (2mg/kg) 治疗组 (G5) 显示出肿瘤中凋亡细胞 (箭头) 数量显著增加。

具体实施方式

[0032] 为了清楚而非限制, 将所公开主题的详细描述分为以下小节:

[0033] I. 定义;

[0034] II. 药物组合物; 以及

[0035] III. 使用方法。

[0036] I. 定义

[0037] 本说明书中使用的术语通常在本领域、所公开主题的上下文中以及在使用各术语的特定上下文中具有其普通含义。下文或说明书中的其他地方讨论了某些术语, 以在描述所公开主题的组合物和方法时为从业者提供额外指导。

[0038] 词语“一”或“一个”当与“包含”在权利要求和说明书中联用时, 可表示“一”, 但也与“一个或多个”, “至少一个”和“一个或超过一个”的意思一致。此外, 术语“具有”、“包括”、“包含”和“含有”可互换使用, 且本领域技术人员知晓其为开放式术语。

[0039] 术语“约”或“大约”表示就某特定数值而言在本领域普遍技术人员能够确定的可接受的误差范围内, 这将部分取决于该数值的测量或确定方式, 例如, 测量体系的极限。例如, 根据本领域的实践, “约”可以指3个或超过3个标准偏差。或者, “约”可以是指给定值的至多20%、优选至多10%、更优选至多5%、更优选至多1%的范围。或者, 尤其对于生物系统或过程而言, 该术语可表示某值的一定数量级内, 优选5倍内, 更优选2倍内。

[0040] 如本文所用, 术语“给予/给药”可以是指任意合适途径 (例如, 全身给药、口服给药

和静脉内给药)。

[0041] 此处使用的术语“试剂”是指产生或能够产生效果的物质,包括但不限于化学品、药物、生物制品、小有机分子、抗体、核酸、肽和蛋白质。

[0042] “抗癌作用/效应”或“抗肿瘤作用/效应”是指聚集癌细胞团减少、癌细胞生长速率降低、癌症进展减少、癌细胞增殖减少、肿瘤质量减少、肿瘤体积减少、肿瘤细胞增殖减少、肿瘤生长速率降低和/或肿瘤转移减少中的一种或多种。在某些实施方式中,抗癌作用可以指被诊断为癌症的患者的完全响应、部分响应、稳定的疾病(无进展或复发)、后期复发的响应或无进展存活。

[0043] 本文所述的“抗癌剂”或“抗肿瘤剂”可以是具有抗癌作用的任何分子、化合物、化学品或组合物。抗癌剂包括但不限于:化疗剂、放疗剂、细胞因子、抗血管生成剂、酪氨酸激酶抑制剂(TKI)、凋亡诱导剂、抗癌抗体和/或促进免疫系统活性的试剂。在某些实施方式中,抗癌剂可以是放疗剂。在某些实施方式中,抗癌剂可以是免疫治疗剂。在某些实施方式中,抗癌剂可以是化疗剂。可用于本公开主题的其他非限制性示例性抗癌剂包括基于肿瘤抗原的疫苗和嵌合抗原受体T细胞。

[0044] 如本文所用,术语“共同给予”(co-administer)是指在给予额外治疗的同时、之前或之后给予本文所述组合物。本公开的组合物可以单独给予或可以与第二组合物/治疗剂共同给予对象。共同给予意味着包括单独或与第二组合物/治疗剂组合同时或顺序给药组合物。另外,第一和第二试剂可以单独或一起配制成一种或多种组合物。

[0045] 如本文所用,“包括”、“包含”、“含有”和“具有”等可以具有美国专利法赋予它们的含义,并且可以是指“包括”、“涵盖”等;“基本由.....组成”或“基本由.....构成”同样具有美国专利法中规定的含义,并且该术语是开放式的,允许存在所述内容以外的内容,只要所述基本或新颖特征不会因存在所述内容以外的内容而发生变化,但不包括现有技术实施方式。

[0046] 如本文所用,“同时给予”(concurrent administration)包括持续时间至少部分重叠。例如,当同时给予两种试剂(例如,本文所述的任何组合物)时,其给予发生在特定的所需时间内。组合物的给予可以在同一天开始和结束。一种组合物的给予也可以在第二组合物的给予之前按天施用,只要两种组合物在同一天摄取至少一次。类似地,一种组合物的给予可以延伸超过第二组合物的给予,只要两种组合物在同一天摄取至少一次。组合物不必每天同时摄取,从而包括同时给予。

[0047] 如本文所用,术语“疾病”是指损害或干扰细胞、组织或器官正常功能的任何病症或紊乱。

[0048] 术语“检测”或“检查”包括任何检测手段,包括直接和间接检测。

[0049] 术语“剂量”旨在涵盖以相对于给定时间表的总量表示的制剂,例如, $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{小时}$ 、 $\mu\text{g}/\text{千克}/\text{天}$ 、 $\text{mg}/\text{kg}/\text{天}$ 或 $\text{mg}/\text{kg}/\text{小时}$ 。剂量是根据特定剂量方案给予的量的量。“剂量”是以单位体积或质量给予哺乳动物的试剂量,例如,以试剂 mg 表示的绝对单位剂量。剂量取决于制剂中试剂的浓度,例如,摩尔/升(M)、质量/体积(m/v)或质量/质量(m/m)。这两个术语密切相关,因为特定剂量由制剂的一个或多个剂量的给予方案产生。在任何情况下,该特定含义将是上下文中显而易见的。

[0050] 试剂的“有效量”或“治疗有效量”是指在必要的剂型和时间段内有效实现所需治

疗或预防结果(例如,治疗对象的癌症)的量。可以一次或多次给药形式给予治疗有效量。

[0051] 本文的“个体”或“对象”是脊椎动物,例如,人或非人动物,例如,哺乳动物。哺乳动物包括但不限于,人、灵长类、农场动物、竞技动物、啮齿动物和宠物。非人动物对象的非限制性示例包括啮齿动物,例如,小鼠、大鼠、仓鼠和豚鼠;兔;狗;猫;绵羊;猪;山羊;牛;马;和非人灵长类动物,例如,猩猩和猴子。

[0052] 在本文涉及的术语“抑制”、“消除”、“降低”、“减少”或“防止”或这些术语的任意变体包括任何可测量的减少或完全抑制以实现所需结果。

[0053] 术语“需要治疗”是指已知或怀疑患有疾病(例如,癌症)或有发展疾病(例如,癌症)的风险的对象。

[0054] 本文所用的“液体”是由处于液态的组合物组成的剂型。液体是可倾倒的;其在室温下流动并顺应其容器液体显示出牛顿或假塑性流动性质。在某些实施方式中,本文使用的“半液体”可以具有液体和另一制剂(即,悬浮液、乳液、溶液、乳膏、凝胶、果冻等)的性质。

[0055] 如本文所用,“药学上可接受的运载体”包括生理上相容的任何和所有溶剂,分散介质,包被,抗菌剂和抗真菌剂,等渗剂和吸收延迟剂,等等。运载体的类型可以基于预期给药途径进行选择。药学活性物质的这类介质和试剂的用法是本领域熟知的。

[0056] 如本文所使用的,术语“预防”、“防止”或“阻止”、“预防性治疗”等指的是降低未患有发展或易发展紊乱或病症风险的对象患上疾病或病症的概率。预防可以是完全的(即,没有可检测的症状)或部分的,以使观察到的症状比没有治疗时可能出现的症状少。该术语还包括预防益处。对于要预防的疾病或病症,即使不能对该疾病进行诊断,也可以将组合物给予具有发展特定疾病风险的对象或报告疾病的一个或多个生理症状的对象。

[0057] 如本文所用,“溶液”是一种透明、均匀的液体剂型,其含有一种或多种溶解在溶剂或可相互混溶溶剂的混合物中的化学物质。溶液是一种液体制剂,其含有一种或多种溶解在合适溶剂或可相互混溶溶剂的混合物中的化学物质。由于药物物质在溶液中的分子是均匀分散的,因此使用溶液作为剂型通常可以保证给药时的均匀剂量,并且当溶液被稀释或以其他方式混合时具有良好的准确性。

[0058] 本文中所用的“治疗”(及其语法变化形式)指试图改变受治疗的个体的自然病程,并且可供预防或在临床病理学的病程中采用的临床介入。治疗的理想效果包括但不限于:延长生存期,预防疾病复发,缓解症状,减轻疾病的任何直接或间接病理后果,预防转移,降低疾病进展速率,改善或缓解疾病状态,缓解或改善预后。在一些实施方式中,本公开主题的抗体用于延迟疾病发展或减缓疾病的进展,所述疾病为例如癌症和/或肿瘤。

[0059] 如本文所用“顺序给予”包括两种药剂(如本文所述组合物)的给药分别在同一天进行或不在同一日进行(如连续进行几天)。

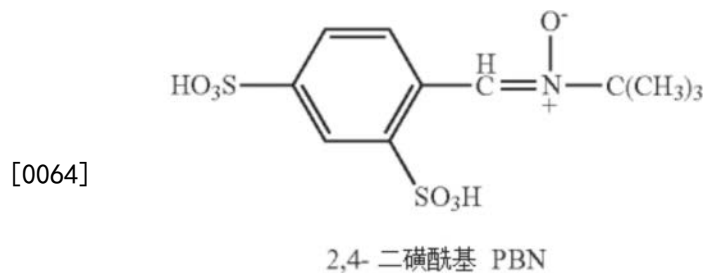
[0060] 如本文所述,除非另有说明,否则任何浓度范围、百分比范围、比率范围或整数范围应理解为包括所述范围内的任何整数值,并在适当时包括其分数(例如整数的十分之一和百分之一)。

[0061] II. 药物组合物

[0062] 本公开提供一种药物组合物,其包含治疗有效量的2,4-二磺酰基 α -苯基叔丁基硝酮(2,4-ds-PBN)或其药学上可接受的盐,以减慢了癌症或肿瘤的生长。

[0063] 在某些实施方式中,2,4-ds-PBN可以在较低pH条件下以式I的以下酸形式作为固

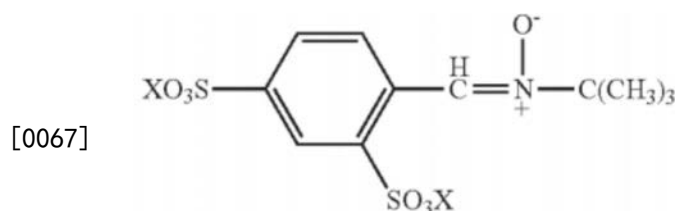
体存在或以溶液形式存在：



式I

[0065] 在非限制性实施方式中，2,4-ds-PBN可以在较高pH条件下以式II或式III的以下离子化盐形式存在：

[0066] 式II



式III。

[0068] 在一些实施方式中，式III中的X可以是药学上可接受的阳离子。例如，该阳离子可以是一价物质，例如，钠、钾或铵。在非限制性实施方式中，阳离子可以是单独的多价阳离子或与药学上可接受的单价阴离子组合的阳离子。例如，药学上可接受的单价阴离子可以包括钙与氯化物、溴化物、碘化物、氢氧根、硝酸根、磺酸根、乙酸根、酒石酸根、草酸根、琥珀酸根、棕榈酸根或类似阴离子、镁与此类阴离子、锌与此类阴离子等。在非限制性实施方式中，游离酸和钠盐、钾盐、钙盐、镁盐或铵盐可以是优选的。

[0069] 在某些实施方式中，可以通过两步反应顺序制备2,4-ds-PBN。例如，硝酸叔丁酯(2-甲基-2-硝基丙烷)可以使用合适的催化剂如活化的锌/乙酸催化剂或铝/汞合金催化剂转化为相应的n-羟胺。该反应可在约0.5至12小时、特别是约2至6小时左右，在约15-100℃的温度下，在液体反应介质(如在锌催化剂情况下的醇/水混合物或铝汞合金催化剂情况下的醚/水混合物)中进行。新形成的羟胺可以与4-甲酰基-1,3-苯二磺酸反应，并且使用略微过量的胺。该反应可以在类似温度条件下进行。该反应可以在约10小时至24小时完成。通过两个反应所形成的材料可以是游离酸，并且其特征在于分子量为337.3g/摩尔。在一些实施方式中，所形成的材料可以是在加热时分解的白色粉末材料。在非限制性实施方式中，所形成的材料的特征为在水中的溶解度大于1克/ml，并且D₂O中的¹H NMR为8.048ppm(dd, 8.4, 1.7Hz) ; 8.836ppm(d, 8.4Hz) ; 8.839ppm(d, 1.7Hz) ; 8.774ppm(s)。

[0070] 通过将介质中的游离酸与碱(例如，对于钾盐，为KOH等)混合，可以容易地形成各种盐。

[0071] 在某些实施方式中，所公开的组合物可以具有改进的输送效率。例如，2,4-ds-PBN可以提供改进的穿过血/脑屏障的输送效率。

[0072] 在某些实施方式中，适用于本公开主题的药物组合物可以包括其中以治疗有效量包含活性成分(例如2,4-ds-PBN)的组合物。治疗有效量的活性成分可以取决于活性成分、

所用组合物、癌症和/肿瘤及其严重程度,以及待治疗对象的年龄、体重等而变化。在某些实施方式中,对象可以一种或多种组合物的单次或多次给药接收治疗有效量的所公开组合物,其可以取决于患者所需和耐受的剂量和频率。

[0073] 在某些实施方式中,药物组合物中2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐的治疗有效量可以为至少约5mg/kg体重/天、至少约10mg/kg体重/天、至少约20mg/kg体重/天、至少约50mg/kg体重/天、至少约100mg/kg体重/天、至少约200mg/kg体重/天、至少约300mg/kg体重/天、至少约400mg/kg体重/天、至少约500mg/kg体重/天、至少约600mg/kg体重/天、至少约700mg/kg体重/天、至少约800mg/kg体重/天、至少约900mg/kg体重/天、或至少约1,000mg/kg体重/天。在非限制性实施方式中,有效剂量可以为约5mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约10mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约10mg/kg体重/天至约400mg/kg体重/天、约10mg/kg体重/天至约300mg/kg体重/天、约10mg/kg体重/天至约200mg/kg体重/天、约10mg/kg体重/天至约100mg/kg体重/天、约20mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约50mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约50mg/kg体重/天至约600mg/kg体重/天、约50mg/kg体重/天至约400mg/kg体重/天、约50mg/kg体重/天至约200mg/kg体重/天、约60mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约70mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约80mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约90mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约100mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约200mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约300mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约400mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约500mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约600mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约700mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约800mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约5mg/kg体重/天至约900mg/kg体重/天、约5mg/kg体重/天至约800mg/kg体重/天、约5mg/kg体重/天至约700mg/kg体重/天、约5mg/kg体重/天至约600mg/kg体重/天、约5mg/kg体重/天至约500mg/kg体重/天、约5mg/kg体重/天至约400mg/kg体重/天、约5mg/kg体重/天至约300mg/kg体重/天、约5mg/kg体重/天至约200mg/kg体重/天或约5mg/kg体重/天至约100mg/kg体重/天。

[0074] 含有活性化合物(例如,2,4-ds-PBN)的药物组合物可以含有生理上相容的载剂(vehicle),如本领域技术人员可以使用常规标准选择的。可以与本公开主题一起使用的合适的药学上可接受的载剂具有不干扰活性成分(例如2,4-ds-PBN)的生物活性的有效性并且对给药的患者无毒的特性。在非限制性实施方式中,合适的药物载剂可以包括磷酸盐缓冲盐水溶液,水,乳液如油/水乳液,各种类型的润湿剂和无菌溶液。药学上可接受的载剂的其他非限制性示例包括凝胶、生物可吸收的基质材料、含有抑制剂和/或其它合适载剂的植入元件、递送或分配装置或材料。这些药学上可接受的载剂可以通过常规方配制,并且可以给予对象。在某些实施方式中,药学上可接受的载剂可以包括:缓冲剂如磷酸盐、柠檬酸盐和其它有机酸缓冲剂;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(例如但不限于十八烷基二甲基苄基氯化铵;氯化六甲铵;苯扎氯铵、苄索氯铵;丁基或苄基醇;对羟基苯甲酸烷酯,如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯;邻苯二酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(小于约10个残基)的多肽;蛋白质,如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其它糖,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,如EDTA;糖,如蔗糖、甘露醇、海藻糖或

山梨糖醇；形成盐的抗衡离子，如钠；金属络合物（如Zn-蛋白质络合物）；和/或非离子型表面活性剂，如聚乙二醇（PEG）。在某些实施方式中，合适的药学上可接受的载剂可以包括如下物质中的一种或多种：水、盐水、磷酸盐缓冲盐水、右旋糖、甘油、乙醇或它们的组合。

[0075] 在某些实施方案中，药物组合物可以配置成用于口服给药。例如，本公开的药物组合物可以使用适合用于口服给药的本领域中已知的药学上可接受的运载体进行配制。此类运载体使药物组合物能配制为片剂、丸剂、胶囊、液体、凝胶剂、糖浆、浆液、混悬剂等，用于治疗的患者口服或经鼻摄取。在非限制性实施方式中，药物组合物可以是固体剂型。在一些实施方式中，片剂可以是立即释放型片剂。或者或另外，片剂可以是缓释或控释片剂。固体剂量可以包括立即释放部分和缓释或控释部分。

[0076] 在某些实施方式中，药物组合物可以配置为肠溶包衣片剂或肠溶包衣胶囊。例如，2,4-ds-PBN可以用至少一个包衣层进行肠溶包衣。在非限制性实施方式中，用于肠溶包衣的包衣材料可以包括缓释型肠溶聚合物。缓释型肠溶聚合物的合适示例可包括但不限于：乙酸邻苯二甲酸纤维素、乙酸偏苯三甲酸纤维素、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯、聚乙烯基乙酸邻苯二甲酸酯、羧甲基乙基纤维素、共聚合甲基丙烯酸/甲基丙烯酸甲酯（例如已知的商品名为EUDRAGIT®L12.5、L100、EUDRAGIT®L13.5、Eudragit®, EUDRAGIT®S12.5、S100的材料）或用于获得肠溶包衣的类似化合物。共聚合的甲基丙烯酸/甲基丙烯酸甲酯可包括三个子类化合物：A型甲基丙烯酸共聚物、B型甲基丙烯酸共聚物和C型甲基丙烯酸共聚物。各种类型的共聚物代表具有不同比例的甲基丙烯酸与甲基丙烯酸甲酯的配混物。例如，A型甲基丙烯酸共聚物的甲基丙烯酸与甲基丙烯酸甲酯的比例约为1:1，B型的比例约1:2，C型的比例与A型类似，但可以加入其他组分，如表面活性剂。也可以采用水性胶体聚合物分散体或再分散体，包括例如以商品名EUDRAGIT®L 30D-55、EUDRAGIT®L100-55、EUDRAGIT®S100、EudraGit®制剂4110D（罗姆制药公司（Rohm Pharma））；EUDAGRITO FS 30D；AQUATERIC®、AQUACOAT®CPD 30（FMC）；KOLLICOATMAE®30D和30DP（巴斯夫（BASF））；和EASTACRYL®30D（伊士曼化学公司（Eastman Chemical））销售的聚合物。在一些实施方式中，缓释肠溶聚合物可以包括A型甲基丙烯酸共聚物。在非限制性实施方式中，缓释肠溶聚合物可以包括A型甲基丙烯酸共聚物和B型甲基丙烯酸共聚物的混合物。本领域技术人员应理解，在不偏离本发明范围的情况下，可以将其它组分添加至缓释聚合物中。例如，可以将增塑剂添加至缓释肠溶聚合物中，以改善缓释聚合物层的物理特性。增塑剂的非限制性示例包括柠檬酸三乙酯、柠檬酸乙酰三乙酯、柠檬酸三丁酯、柠檬酸乙酰三丁酯、柠檬酸三己酯、柠檬酸乙酰三己酯、柠檬酸三辛酯、柠檬酸乙酰三辛酯、柠檬酸丁酰三己酯、柠檬乙酰丁酰三己酯、柠檬酸三甲酯、乙酰化单甘油酯、烷基磺酸苯基酯或它们的组合。在一些实施方式中，增塑剂可以包括柠檬酸三乙酯。

[0077] 在某些实施方式中，所公开的肠溶聚合物可以通过与不是pH敏感的其它包衣产品混合来进行改性。此类包衣产品的示例可包括中性甲基丙烯酸酯和少部分甲基丙烯酸三甲基铵乙酯氯化物，目前以商品名EUDRAGIT®和EUDRAGIT®RL销售；不含任何官能团的中性酯分散体，以商品名EUDRAGIT®NE30D和EUDRAGIT®NE30销售；和其它与pH无关的包衣产品。

[0078] 在某些实施方式中，额外的改性层可以添加至肠溶包衣层顶部上。该改性层可包括水渗透屏障层（半渗透聚合物），其可在肠溶包衣后相继包衣，以降低通过肠溶包衣层的

水渗透速率,从而增加药物释放的滞后时间。本领域技术人员已知的控释包衣可通过使用聚合物在水或合适有机溶剂中的溶液或通过使用水性聚合物分散体的包衣技术(例如锅包衣或流化床包衣)用于此目的。例如,控释聚合物的以下非限制性列表可以用于本公开:乙酸纤维素、乙酸丁酸纤维素、乙酸丙酸纤维素、乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、乙酸纤维素、丙酸纤维素(较低分子量、中等分子量或较高分子量)、乙酸丙酸纤维素、乙酸丁酸纤维素、乙酸邻苯二甲酸纤维素、三乙酸纤维素、聚甲基丙烯酸甲酯、聚甲基丙烯酸乙酯、聚甲基丙烯酸丁酯、聚甲基丙烯酸异丁酯、聚甲基丙烯酸己酯、聚甲基丙烯酸异癸酯、聚甲基丙烯酸酯月桂酯、聚甲基丙烯酸苯基酯、聚丙烯酸甲酯、聚丙烯酸异丙酯、聚丙烯酸酯异丁酯、聚丙烯酸十八酯、聚乙烯、低密度聚乙烯、高密度聚乙烯、聚丙烯、聚环氧乙烷、聚对苯二甲酸乙二醇酯、聚乙烯基异丁基醚、聚乙酸乙烯酯、聚氯乙烯、聚氨酯、乙基纤维素水分散体如AQUACOAT®和Surese®,聚(甲基丙烯酸丁酯、(2-二甲基氨基乙基)甲基丙烯酸酯、甲基丙烯酸甲酯)、聚(甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯)、聚(甲基丙烯酸酯、乙基丙烯酸酯)、聚(丙烯酸甲酯、甲基丙烯酸甲酯、甲基丙烯酸)、聚(丙烯酸乙酯、甲基丙烯酸甲酯、甲基丙烯酸三甲基铵乙酯氯化物)、聚(丙烯酸乙酯、甲基丙烯酸甲酯)、聚(甲基丙烯酸酯、丙烯酸乙酯)、A型甲基丙烯酸共聚物、B型甲基丙烯酸共聚物、C型甲基丙烯酸共聚物、甲基丙烯酸共聚物分散体、水性丙烯酸类聚合物分散体、(EUDRAGIT®配混物)、OPADRY®、脂肪酸及其酯、蜡、玉米蛋白和水性聚合物分散体如EUDRAGIT®RS和RL 30D、EUDRAGIT®NE 30D、乙酸纤维素胶乳。可以掺入上述聚合物和亲水性聚合物的组合如羟乙基纤维素、羟丙基纤维素(KLUCEL®,赫拉克里斯公司(Hercules Corp.))、羟丙基甲基纤维素(Methodocel®,陶氏化学公司(Dow Chemical Corp.))和聚乙烯吡咯烷酮。在非限制性实施方式中,控释聚合物可以包括乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素及它们的组合。在一些实施方式中,控释聚合物可以包括乙基纤维素与羟丙基甲基纤维素的组合,乙基纤维素与羟丙基甲基纤维素的比例为约0.1至约10、约0.2至约5、约0.5至约3和约1至约2。在非限制性实施方式中,控释聚合物可以包括乙基纤维素水性分散体与羟丙基甲基纤维素的组合,乙基纤维素水性分散体与羟丙基甲基纤维素的比例为约0.1至约10、约0.1至约5、约0.5至约4和约1.5至约3。

[0079] 在某些实施方式中,包衣层可以在生理环境的大于约5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1或7.2以及其中的值或之间范围的pH下溶解。在非限制性实施方式中,包衣层可以防止2,4-ds-PBN在生理环境的低于约5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1或7.2以及其中的值或之间范围的pH下释放。生理环境可以复制,例如,通过遵循美国药典(USP)肠溶包衣片剂崩解试验的要求。

[0080] 在某些实施方式中,可以通过本领域已知的包衣技术(例如,喷涂、流化床、浸没管或浸没床技术)实现对制剂的包衣。

[0081] 在非限制性实施方式中,本公开的药物组合物可以使用适合用于胃肠道外给药的本领域中已知的药学上可接受的运载体进行配制。本文所用术语“胃肠道外给予”和“胃肠道外给药”代表除肠内给药和局部给药外的给药形式,通常通过注射进行,并且包括但不限于静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眼内、心脏内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下(subcapsular)、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外和胸骨内注射和输注给药。例如,但非限制性地,本公开的药物组合物可以在药学上可接受的运载体如生理盐水中静脉内给药

至患者。在某些实施方式中,本公开提供了包含本文公开的抑制剂的胃肠道外药物组合物。

[0082] 在非限制性实施方式中,本公开的组合物包含治疗有效量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐,其中,治疗有效量可以减少癌症或肿瘤生长的量存在,并且所述癌症可以是非小细胞肺癌,其中,药物组合物可以为用于口服给药或肠内给药的片剂、丸剂、胶囊、凝胶、液体、糖浆、浆液或悬浮液的形式,其中,用于口服给药或肠内给药的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐的治疗有效量可以为约5mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天,其中,组合物可以包含至少一个包衣层,所述包衣层可以包封2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐并在预定的pH范围内溶解,或者,药物组合物可以是用于静脉内注射或动脉内注射的溶液或液体的形式,并且用于静脉内注射或动脉内注射的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐的治疗有效量可以为约10mg/kg体重/天至约500mg/kg体重/天。

[0083] III. 方法

[0084] 本公开提供了用于治疗对象癌症或肿瘤的方法。所述方法包括:给予包含治疗有效量的2,4-二磺酰基 α -苯基叔丁基硝酮(2,4-ds-PBN)的组合物,以减慢癌症或肿瘤的生长。

[0085] 在某些实施方式中,给予有效剂量的组合物可以治疗或预防靶肿瘤或靶癌的发生、复发、扩散、生长、转移或形成血管。在非限制性实施方式中,肿瘤或癌的生长可以减少至少约1%、至少约3%、至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%或至少约70%。

[0086] 在非限制性实施方式中,给予有效剂量的组合物可以减小靶肿瘤和/或癌的面积、体积或它们的组合。在非限制性实施方式中,肿瘤和/或癌体积可以减少至少约1%、至少约3%、至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%或至少约70%。例如,在将药物组合物递送至靶癌和/或靶肿瘤之后,非小细胞肺癌的体积可减少约70%。

[0087] 在某些实施方式中,所述方法还可以包括通过测量癌或肿瘤的体积来评估组合物的效力。例如,各肿瘤的最大直径(a)和最小直径(b)可以每周至少测量至少1次、2次、3次、4次、8次、12次、18次或24次或更多次,以估算肿瘤和/或癌症的面积或体积。

[0088] 在某些实施方式中,给予有效剂量的组合物可以增加靶肿瘤和/或癌细胞的凋亡或坏死。例如,靶肿瘤和/或癌症凋亡或坏死活性的等级可增加。等级可以通过每个靶肿瘤和/或靶癌症的直方图面积(例如,约1mm²)的阳性细胞数量来确定。凋亡或坏死等级可通过计算阳性细胞的平均数量来确定,并将其分级为相应的严重程度(例如,最小、轻微、中等、显著和严重)。在非限制性实施方式中,在给予所公开的组合物之后,可以减少靶癌症和/或靶肿瘤的预定面积的总数或平均值。例如,凋亡细胞计数的平均值可以增加至少约15%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约100%、至少约110%、至少约120%或至少约130%。在一些实施方式中,给予有效剂量的组合物可以增加靶肿瘤和/或癌细胞的凋亡,可以使凋亡细胞计数平均值增加约130%。

[0089] 在某些实施方式中,所述方法还可以包括通过对凋亡癌细胞或凋亡肿瘤细胞进行

计数来评估组合物的功效。例如,靶肿瘤或癌症可从患者获得并制备用于苏木精和曙红 (H&E) 染色和TUNEL染色。所获得的癌/肿瘤的坏死可以通过H&E染色来评估,并且所获得的癌/肿瘤的凋亡可以通过每预定面积(例如 1mm^2)的TUNEL染色阳性细胞的数量来评估。在一些实施方式中,肿瘤和/或癌的凋亡可通过计算阳性细胞的平均数量来确定,并将其分级为相应的严重程度(例如,最小、轻微、中等、显著和严重)。

[0090] 在某些实施方式中,靶癌症可以是非小细胞癌和实体癌(例如,胃癌、结肠癌、乳腺癌等)。

[0091] 剂量方案

[0092] 例如但不限于,所公开的主题的给药可以是口服给药、全身给药、静脉内给药或靶组织的局部注射。口服给药的示例可包括将含有2,4-ds-PBN或药学上可接受的盐的组合物以片剂、丸剂、胶囊、液体、凝胶剂、糖浆、浆液或混悬剂等形式通过对象的口腔递送给对象,以减少癌症或肿瘤的生长。全身给药的一个示例包括含有2,4-ds-PBN或药学上可接受的盐的组合物的静脉内、腹膜内、肌肉内或皮下注射、吸入(口服或经鼻)、透皮、栓剂或灌肠给药,以减少癌症或肿瘤的生长。在一些实施方式中,药物组合物可以是用于全身给药、静脉内给药或对靶癌或靶肿瘤局部注射的溶液的形式。

[0093] 在某些实施方式中,以下剂量方案可用于治疗对象的癌症或肿瘤。在非限制性实施方式中,用于口服给药的药物组合物包含如下含量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐:至少约5mg/kg体重/天、至少约10mg/kg体重/天、至少约20mg/kg体重/天、至少约50mg/kg体重/天、至少约100mg/kg体重/天、至少约200mg/kg体重/天、至少约300mg/kg体重/天、至少约400mg/kg体重/天、至少约500mg/kg体重/天、至少约600mg/kg体重/天、至少约700mg/kg体重/天、至少约800mg/kg体重/天、至少约900mg/kg体重/天、或至少约1,000mg/kg体重/天。在非限制性实施方式中,用于口服给药的有效剂量可以为约5mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约10mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约10mg/kg体重/天至约400mg/kg体重/天、约10mg/kg体重/天至约300mg/kg体重/天、约10mg/kg体重/天至约200mg/kg体重/天、约10mg/kg体重/天至约100mg/kg体重/天、约20mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约50mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约50mg/kg体重/天至约600mg/kg体重/天、约50mg/kg体重/天至约400mg/kg体重/天、约50mg/kg体重/天至约200mg/kg体重/天、约60mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约70mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约80mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约90mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约100mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约200mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约300mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约400mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约500mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约600mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约700mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约800mg/kg体重/天至约1,000mg/kg体重/天、约5mg/kg体重/天至约900mg/kg体重/天、约5mg/kg体重/天至约800mg/kg体重/天、约5mg/kg体重/天至约700mg/kg体重/天、约5mg/kg体重/天至约600mg/kg体重/天、约5mg/kg体重/天至约500mg/kg体重/天、约5mg/kg体重/天至约400mg/kg体重/天、约5mg/kg体重/天至约300mg/kg体重/天、约5mg/kg体重/天至约200mg/kg体重/天或约5mg/kg体重/天至约100mg/kg体重/天。

[0094] 在某些实施方式中,组合物可通过每天1至4次口服给药所公开剂量的组合物来给

药至对象。例如,组合物可以一天施用1、2、3、或4次或更多次。在某些实施方式中,组合物可通过每天1次、每天2次、每天3次或每天4次将所公开剂量的组合物给药至对象来施用。例如但不限于,组合物可通过每天3次(包括例如在早晨、中午和晚上)将所公开剂量的组合物给药至靶组织来施用。在非限制性实施方式中,所公开的组合物可以划分为若干部分的适当量在特定时间段内给予。

[0095] 在某些实施方式中,用于全身给药、静脉内给药或局部注射的组合物可以包含如下含量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐:至少约10mg/kg体重/天、至少约20mg/kg体重/天、至少约30mg/kg体重/天、至少约40mg/kg体重/天、至少约50mg/kg体重/天、至少约60mg/kg体重/天、至少约70mg/kg体重/天、至少约80mg/kg体重/天、至少约90mg/kg体重/天、至少约100mg/kg体重/天、至少约200mg/kg体重/天、至少约300mg/kg体重/天、至少约400mg/kg体重/天、或至少约500mg/kg体重/天。在非限制性实施方式中,用于全身给药、静脉内给药或局部注射的有效剂量可以为约10mg/kg体重/天至约500mg/kg体重/天、约20mg/kg体重/天至约500mg/kg体重/天、约30mg/kg体重/天至约500mg/kg体重/天、约40mg/kg体重/天至约500mg/kg体重/天、约50mg/kg体重/天至约500mg/kg体重/天、约60mg/kg体重/天至约500mg/kg体重/天、约70mg/kg体重/天至约500mg/kg体重/天、约80mg/kg体重/天至约500mg/kg体重/天、约90mg/kg体重/天至约500mg/kg体重/天、约100mg/kg体重/天至约500mg/kg体重/天、约200mg/kg体重/天至约500mg/kg体重/天、约300mg/kg体重/天至约500mg/kg体重/天、约20mg/kg体重/天至约500mg/kg体重/天、约20mg/kg体重/天至约400mg/kg体重/天、约20mg/kg体重/天至约300mg/kg体重/天、约20mg/kg体重/天至约200mg/kg体重/天、约20mg/kg体重/天至约100mg/kg体重/天、约60mg/kg体重/天至约400mg/kg体重/天、约60mg/kg体重/天至约300mg/kg体重/天、或约60mg/kg体重/天至约200mg/kg体重/天。

[0096] 在某些实施方式中,用于全身给药、静脉内给药或局部注射的组合物可以制备为水性生理缓冲液中的液体溶液或悬浮液。

[0097] 用于全身给药、静脉内给药或局部注射的组合物可通过将制备用于全身给药、静脉内给药或局部注射的组合物每周递送至靶区域1、2、3、4、5、6或7次来给药至靶癌症和/或靶肿瘤。在非限制性实施方式中,药物组合物可以一周递送一次或一周递送两次,或一周递送三次,或一周递送四次,或一周递送五次。

[0098] 在某些实施方式中,给药的剂量可以取决于已知因素而变化,如给药途径、接受者的年龄、健康和体重、症状的性质和程度、同时治疗的种类、治疗频率和所需效果。在非限制性实施方式中,所公开的剂量方案可以根据个体需要和给予或监督组合物给予的人的专业判断而随时间进行调整。例如,如果较低剂量在治疗本文所述病症(如非小细胞肺癌)时没有提供足够的活性,则可以增加组合物的剂量。或者,如果疾病(例如,非小细胞肺癌)缩减、不再可检测或被消除,则可以减少组合物的剂量。

[0099] 在某些实施方式中,所公开组合物可以单一剂量或分开的剂量给药至对象。

[0100] 在某些实施方式中,所公开治疗的持续时间可以为约1天至约5年。在某些实施方式中,所公开治疗的持续时间可以为至少约2周、至少约3周、至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少约5个月、至少约6个月、至少约7个月、至少约8个月、至少约9个月、至少约10个月、至少约11个月、至少约12个月、至少约2年、至少约3年、至少约4年、或

至少约5年。在某些实施方式中,可以给予组合物,直至癌症/肿瘤不再可检测。

[0101] 共同给予

[0102] 在某些实施方式中,本文公开的组合物可单独使用或与一种或多种治疗组合使用。例如但不限于,本公开的方法可以包括:给予所公开组合物和一种或多种抗肿瘤或抗癌治疗。本文所用的“与.....组合”是指将所公开组合物和一种或多种治疗作为治疗方案或计划的一部分给予对象。某些实施方式中,组合使用不要求组合物与用于附加治疗的一种或多种药剂在给药前物理合并或通过相同途径给药或在相同时间范围内给药。在某些实施方式中,用于附加治疗的试剂可以在所公开组合物之前给药。在某些实施方式中,用于附加治疗的试剂可以在所公开组合物之后给药。在某些实施方式中,用于附加治疗的试剂可以与所公开组合物同时给药。非限制的示例性附加治疗可以包括但不限于:抗肿瘤治疗、抗癌治疗、化疗、靶向治疗、免疫治疗、放疗、射频消融治疗、手术、使用肿瘤治疗场(TTFields)装置的治疗或它们的组合。在非限制性实施方式中,用于附加治疗的试剂可以包括:顺铂、环磷酰胺、阿霉素、长春新碱、拓扑替康(topotecan)、培美曲塞(pemetrexed)、吉非替尼(gefitinib)、厄洛替尼(erlotinib)、达克替尼(dacomitinib)、奥西替尼(osimertinib)、纳武单抗(nivolumab)、派姆单抗(pembrolizumab)、阿替利珠单抗(atezolizumab)、德瓦鲁单抗(durvalumab)、化疗剂、放疗剂、细胞因子、抗血管生成剂、酪氨酸激酶抑制剂(TKI)、凋亡诱导剂、抗癌抗体和靶向药物和/或促进免疫系统活性的试剂,所述试剂包括但不限于细胞因子,例如但不限于白细胞介素2(IL-2)、干扰素、抗CTLA4抗体、抗PD-1抗体和/或抗PD-L1抗体、免疫检查点抑制剂、免疫细胞治疗剂、治疗性抗体、抗癌疫苗或它们的组合。在某些实施方式中,抗癌剂可以是紫杉烷、铂基试剂、蒽环霉素(anthracycline)、蒽醌、烷基化剂、HER2靶向治疗、长春瑞滨、核苷类似物、伊沙匹隆(ixabepilone)、艾利布林(eribulin)、阿糖胞苷(cytarabine)、激素治疗、甲氨蝶呤、卡培他滨(capecitabine)、拉帕替尼(lapatinib)、5-FU、依托泊苷(etoposide)或它们的任意组合。

[0103] 在某些实施方式中,将所公开的组合物与一种或多种附加疗法组合给予可诱导用于减少或预防靶肿瘤和/或癌症生长的组合作用或协同作用。例如但非限制性地,当将所公开的组合物和附加治疗的组合递送至对象时,可以发生靶癌症和/或靶肿瘤的面积和体积的增长的协同减少。在非限制性实施方式中,所公开的组合物可以抑制靶肿瘤和/或癌症生长,并增加对用于靶癌症和/或肿瘤治疗的附加治疗的敏感性。

[0104] 在非限制性实施方式中,所公开的用于治疗有需要对象的癌症或肿瘤的方法可以包括:给予治疗有效量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐,测量癌症或肿瘤的体积、面积或它们的组合,对凋亡癌细胞或凋亡肿瘤细胞进行计数,给予对象治疗有效量的抗癌剂或抗肿瘤剂,以及给予附加治疗,其中,治疗有效量可以减少癌症或肿瘤生长,所述癌症可以是非小细胞肺癌,2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐的治疗有效量可以为约20mg/kg体重/天至约1,200mg/kg体重/天,治疗有效量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐可以通过静脉内注射或动脉内注射递送至对象,或者,治疗有效量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐可以通过肠内给药或口服给药递送至对象,在给予治疗有效量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐后,癌症体积或肿瘤体积可以减少至少约50%,在给予治疗有效量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐后,癌症或肿瘤生长可以减少至少约40%,在给予治疗有效量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐后,凋亡癌细胞或凋亡肿瘤细胞的数量可以增加至少约

15%，治疗有效量的2,4-ds-PBN或其药学上可接受的盐可以至少每周一次递送至对象，抗癌剂/抗肿瘤剂可以选自下组：化疗剂、免疫治疗剂、细胞因子、抗血管生成剂、酪氨酸激酶抑制剂(TKI)、凋亡诱导剂、抗癌抗体及它们的组合，所述附加治疗可以选自下组：抗肿瘤治疗、抗癌治疗、化疗、靶向治疗、免疫治疗、放射治疗、射频消融治疗、手术、使用肿瘤治疗场(TTFields)装置的治疗或它们的组合。

[0105] 实施例

[0106] 通过参考以下实施例将更好地理解本文公开的对象，所述实施例作为本公开主题的示例而非限制提供。

[0107] 实施例：OKN-007对移植到裸鼠中的人肺癌细胞系A549的抗癌作用

[0108] 在带有皮下植入胁腹的人A549肺癌异种移植物的裸鼠口服给药后，评估OKN-007的抗癌功效。

[0109] 材料和方法：

[0110] 试验物质为OKN-007，是指2,4-二磺酰基 α -苯基叔丁基硝酮(2,4-ds-PBN, 4-[(Z)-[叔丁基(氧)氮甲酰亚胺]甲基]苯-1,3-二磺酸二钠)，分子式为： $C_{11}H_{13}NO_7S_2 \cdot Na_2$ 。

[0111] 阳性物质为顺-二氯二氨合铂(II)(顺铂)，其分子式为： $Pt(NH_3)_2Cl_2$ 。

[0112] 盐水用作阴性对照。

[0113] 试验物质的制备：将所需量的试验物质置于试管中。添加并混合少量载剂。可以逐步添加载剂以产生所需浓度(例如，15、30和60mg/mL)。

[0114] 阳性对照的制备：将所需量的阳性对照物质置于试管中。添加并混合少量盐水。可以逐步添加盐水以产生所需浓度(例如，0.2mg/mL)。

[0115] 使用人肺癌细胞系A549。

[0116] 对于培养基：胎牛血清(FBS)、青霉素-链霉素(10000单位/mL青霉素和10000 μ g/mL链霉素)和RPMI1640如表1所示按每100mL进行混合。

	名称	量 (mL)
	FBS (批号：1982135, Gibco, 美国)	10
[0117]	青霉素-链霉素 (批号：2019315, Gibco, 美国)	1
	RPMI1640 (0000704247, Lonza, 美国)	89
	总体积	100

[0118] 表1：培养基

[0119] 细胞培养物的制备：冷冻的细胞在水浴中解冻。将细胞置于含有培养基的试管中，离心(1000rpm, 5分钟)，丢弃上清液。用培养基重新悬浮后，将细胞置于细胞培养瓶中，并在37℃的5%CO₂培养箱中进行培养。细胞以1:5的比例传代培养，并且以70-80%的汇合度(confluency)在培养容器中生长。细胞系移植当天培养的细胞进行离心(1000rpm, 5分钟)，丢弃上清液并用D-PBS制备细胞悬浮液。然后，细胞悬浮液以1:1的比例(5×10^7 个细胞/mL)与人工基质凝胶(Matrigel)混合。

[0120] 使用BALB/c裸鼠，CAnN.Cg-Foxn1nu/CrlOri, SPF。接收时动物的性别、数量、年龄和体重范围：小鼠(65只)为雄性，5周龄，在接收时重约为14.5-19.6克。

[0121] 给药开始时动物的性别、数量、年龄和体重范围：小鼠(50只)为雄性，7周龄，在给药开始时重约为18.4-24.0克。

[0122] 细胞移植:在隔离适应期后,对健康动物进行体重测量和细胞移植。每周观察所有动物临床迹象。用一次性注射器将制备的细胞(1×10^7 细胞/0.2ml)悬浮液皮下注射到右肋腹。在移植和植入期间,每天一次观察动物临床迹象。

[0123] 小组分配:移植细胞后,监测65只动物各肿瘤的大小。当肿瘤体积达到87-112mm³时,将50只动物分配到各自的组,并且平均肿瘤体积约为99mm³。根据肿瘤体积,对动物进行选择并随机分为5组(10只动物/组)。

[0124] 给药途径:口服给药。给药途径为口服,因为试验物质的临床施用是口服的。

[0125] 给予的方法和频率:对于阴性对照和试验物质,使用一次性注射器每天一次口服给药,持续4周,共28次。对于阳性对照,使用一次性注射器每周一次腹膜内给药,持续4周,共4次。

组		途径	剂量 (mg/kg)	剂量体积 (mL/kg)	动物数量 (动物编号)
[0126]	G1 阴性对照	P.O.	0	10	10 (1101-1110)
	G2 试验物质1	P.O.	150	10	10 (1201-1210)
	G3 试验物质2	P.O.	300	10	10 (1301-1310)
	G4 试验物质3	P.O.	600	10	10 (1401-1410)
	G5 阳性对照	I.P.	2	10	10 (1501-1510)

[0127] 表II:小组分配

[0128] 给药途径:试验物质的剂量水平选择为150、300和600mg/kg。阳性物质的剂量水平选择为2mg/kg。所有组的剂量体积选择为10ml/kg,并根据给药前动物的体重计算个体剂量。

[0129] 肿瘤体积的测量:在观察期间,每周两次使用卡尺测量各肿瘤的最大直径(a)和最小直径(b)。可以根据下式每周两次计算肿瘤体积(TV): $TV(mm^3) = (a(mm) \times b^2(mm^2)) / 2$ 。将给予至各动物前的肿瘤体积设置为小组分配时测量的值。

[0130] 肿瘤取出和体重测量:观察期结束后,通过吸入异氟醚对动物进行麻醉。在提取肿瘤后,记录所取出的肿瘤的重量。使用下式计算肿瘤生长抑制率(IR): $IR(\%) = (1 - T/C) \times 100$,其中,T是试验物质组和阳性物质组的平均肿瘤重量,C是阴性对照组的平均肿瘤重量。

[0131] 组织病理学检验:将提取的肿瘤固定在10%中性缓冲福尔马林溶液(10%中性缓存福尔马林)中。将肿瘤切片至一定厚度(约3mm)后,进行常规制备程序,包埋在石蜡中,切成4至5μm大小,并且组织切片用苏木精和曙红(H&E)和TUNEL染色。制作4至5μm大小的IHC(免疫组织化学)玻片,并将其发送给主办方(sponsor)(阴性对照组(G1)、试验物质2(G3,动物ID号:1301、1302、1303、1307、1310)、试验物质3(G4,动物ID编号:1401、1402、1404、1408、1409))。

[0132] 苏木精和曙红(H&E)染色结果的确定:通过对整个肿瘤切片的坏死程度进行分级(±、+、++、+++、++++、++++)来评估肿瘤坏死。通过形态学改变,如细胞核塌陷或消失和细胞质嗜酸性改变来评估坏死。肿瘤坏死的程度通过以下坏死区域百分比来确定。

[0133]	严重程度	比率 (%)
	最小 (±)	0 ~ 15
	轻微 (+)	15 ~ 45
	中等 (++)	45 ~ 70
	显著 (+++)	70 ~ 85
	严重 (++++)	85~

[0134] 表3. 坏死评级

[0135] TUNEL染色结果的确定:在对肿瘤的整个横截面进行组织学检查以对细胞凋亡进行分级(±、+、++、+++、++++)后,将有核棕色染色的细胞读取为良性细胞,并对良性细胞的数量进行计数。通过每个直方图面积(1mm²)的阳性细胞数量来确定肿瘤的凋亡。通过计算阳性细胞平均数并分级为相应严重程度来确定肿瘤的凋亡。通过对每个单位面积(1mm²)的阳性细胞数量进行计数来确定其中发生凋亡的阳性细胞数量。

[0136]	严重程度	凋亡数
	最小 (±)	5 ~ 10
	轻微 (+)	11 ~ 20
	中等 (++)	21 ~ 30
	显著 (+++)	31 ~ 40
	严重 (++++)	41 ~

[0137] 表4. 凋亡评级

[0138] 统计学分析:使用统计程序(美国SAS研究所,9.3版 (Version 9.3,SAS Institute Inc.,U.S.A.))对数据进行统计学分析,包括体重、肿瘤体积、肿瘤重量和组织病理学检验。对方差的同质性采用Bartlett检验(显著性水平:0.05)。对同质数据进行单向方差分析(ANOVA)。如果有显著性,则采用邓氏t检验进行多重比较(显著性水平:0.05和0.01,单尾)。克鲁斯卡尔-沃利斯检验(Kruskal-Wallis test)用于否决同质数据。如果有显著性,则采用斯氏t检验进行多重比较(显著性水平:0.05和0.01,单尾)。

[0139] 结果

[0140] 肿瘤体积变化(图1、3、4、5、6和表5):阴性对照组(G1)中,在对照物的给药前和给药后29天的平均肿瘤体积范围为99-1576mm³,并有随时间变大的趋势(图1、3和4)。

组 / 剂 量 (mg/kg)		肿瘤体积 (mm ³)								
		给药后时间 (天)								
G1	平均	1	5	8	12	15	19	22	26	29
		99	160	248	366	531	735	897	1235	1576
		8	13	14	33	52	80	138	185	287
0	S.D.	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		10	10	10	10	10	10	10	10	10
		10	10	10	10	10	10	10	10	10
G2	平均	99	152	200	240	243	306	376	466	603
		8	14	35	66	54	92	130	183	254
		10	10	10	10	10	10	10	10	10
150	S.D.	10	10	##	##	**	**	**	**	**
		10	10	10	10	10	10	10	10	10
		10	10	10	10	10	10	10	10	10
G3	平均	99	146	172	182	212	254	310	390	460
		8	16	14	24	54	90	131	177	228
		10	10	10	10	10	10	10	10	10
300	S.D.	10	10	##	##	**	**	**	**	**
		10	10	10	10	10	10	10	10	10
		10	10	10	10	10	10	10	10	10

[0142]	G4 600	平均	99	149	176	179	209	249	288	331	407
		S.D.	8	13	13	26	46	86	121	159	210
		N	10	10	10	10	10	10	10	10	10
					##	##	**	**	**	**	**
[0142]	G5 2	平均	99	152	171	176	199	250	314	385	481
		S.D.	8	11	26	37	51	79	127	152	216
		N	10	10	10	10	10	10	10	10	10
					##	##	**	**	**	**	**

[0143] 表5:观察期间的平均肿瘤体积在表5中,G1是指阴性对照组。G2、G3和G4是指OKN-007治疗的组。G5是指顺铂治疗的组。S.D是指标准偏差。N是指动物数量。## $p < 0.01$ 表示通过斯氏t检验存在与阴性对照组(G1)的显著差异。** $p < 0.01$ 表示通过邓氏t检验存在与阴性对照组(G1)的显著差异。

[0144] 在150mg/kg试验物质1(OKN-007)组(G2)中,平均肿瘤体积(范围为99至603mm³)减少,在所有剂量水平的某个测量点处,与阴性对照组(G1)相比,达到统计显著性差异($p < 0.01$:给药后8至29天)。参见图1和4。

[0145] 在300mg/kg试验物质2(OKN-007)组(G3)中,平均肿瘤体积(范围为99至460mm³)减少,在所有剂量水平的某个测量点处,与阴性对照组(G1)相比,达到统计显著性差异($p < 0.01$:给药后8至29天)。参见图1和5。

[0146] 在600mg/kg试验物质3(OKN-007)组(G4)中,平均肿瘤体积(范围为99至407mm³)减少,在所有剂量水平的某个测量点处,与阴性对照组(G1)相比,达到统计显著性差异($p < 0.01$:给药后8至29天)。参见图1和5。

[0147] 在2mg/kg阳性对照(顺铂)组(G5)中,平均肿瘤体积(范围为99至484mm³)减少,在所有剂量水平的某个测量点处,与阴性对照组(G1)相比,达到统计显著性差异($p < 0.01$:给药后8至29天)。参见图1和6。

[0148] 肿瘤重量和生长抑制率(图2、3、4、5、6和表6):在第29天取出肿瘤并称重。阴性对照组(G1)中,平均肿瘤重量为0.92g(肿瘤生长抑制率(IR):0.0%)。

组/剂量 (mg/kg)		肿瘤重量 (g)	IR (%)
[0149] G1 0	平均	0.92	0.0
	S.D.	0.34	
	N	10	

[0150]	G2 150	平均 S.D. N	0.47 0.28 10 **	48.9
	G3 300	平均 S.D. N	0.43 0.27 10 **	53.3
	G4 600	平均 S.D. N	0.38 0.24 10 **	58.7
	G5 2	平均 S.D. N	0.37 0.27 10 **	59.8

[0151] 表6:肿瘤重量和肿瘤生长抑制率的平均数据

[0152] 在表6中,G1是指阴性对照组.G2、G3和G4是指OKN-007治疗的组.G5是指顺铂治疗的组.S.D是指标准偏差.IR是指以下等式:(肿瘤生长抑制率,%) = $(1 - T/C) \times 100$,其中,T是试验物质组和阳性物质组的平均肿瘤重量,C是阴性对照组的平均肿瘤重量.**p<0.01表示通过邓氏t检验存在与阴性对照组(G1)的显著差异。参见图2。

[0153] 150mg/kg试验物质1(OKN-007)组(G2)中,肿瘤重量的平均值为0.47g(肿瘤生长抑制率(IR):48.9%)。阴性对照组与第2组之间存在统计显著性差异。参见图2。

[0154] 300mg/kg试验物质2(OKN-007)组(G3)中,肿瘤重量的平均值为0.43g(肿瘤生长抑制率(IR):53.3%)。阴性对照组与第3组之间存在统计显著性差异。参见图2。

[0155] 600mg/kg试验物质3(OKN-007)组(G4)中,肿瘤重量的平均值为0.38g(肿瘤生长抑制率(IR):58.7%)。阴性对照组与第4组之间存在统计显著性差异。参见图2。

[0156] 2mg/kg阳性对照(顺铂)组(G5)中,肿瘤重量的平均值为0.37g(肿瘤生长抑制率(IR):59.8%)。阴性对照组与第5组之间存在统计显著性差异。参见图2。

[0157] 组织病理学检验(表7、图7-11):将提取的固定肿瘤切割至一定厚度(约3mm),然后进行常规组织处理,进行石蜡包埋,以产生块,并制备4至5μm大小的组织切片。然后,进行苏木精和曙红(H&E)染色和TUNEL染色。

[0158] 提取肿瘤的坏死通过H&E染色进行评估。因此,在所有治疗组中,肿瘤坏死的严重程度大多观察为最低严重程度,从坏死分级来看,这适用于最小、轻微和中等严重程度。与阴性对照组(G1)相比,试验物质组(G2、G3和G4)和阳性对照(顺铂)组(G5)之间的坏死严重程度没有显著差异。

[0159] 凋亡通过TUNEL分析来确认,并相应地对凋亡细胞进行计数。结果,与阴性对照组(G1)相比,所有给药组中的凋亡均增加。所有给药组的凋亡均增加。

组/剂量 (mg/kg)	N	凋亡 计数* (数量 /mm ²)	坏死									
			±	+	++	++ +	+++ +	±	+	++	++ +	++ ++
[0160] G1 / 0	1 0	65.3±27. 7	9	1	0	0	0	5	4	1	0	0
G2 / 150	1 0	79.6±20. 8 ^{##}	9	1	0	0	0	5	3	2	0	0
G3 / 300	1 0	91.5±32. 2 ^{##}	8	2	0	0	0	7	2	1	0	0
G4 / 600	1 0	149.9±59. 5 ^{##}	3	5	2	0	0	6	2	2	0	0
G5 / 2	1 0	87.5±50. 6	8	2	0	0	0	6	2	2	0	0

[0161] 表7:组织病理学发现汇总

[0162] 在表7中,G1是指阴性对照组。G2、G3和G4是指OKN-007治疗的组。G5是指顺铂治疗的组。S.D是指标准偏差。N是指动物数量。##p<0.01表示通过斯氏t检验存在与阴性对照组(G1)的显著差异。*是指组平均值±S.D.。±是指最小等级。+表示轻度等级,++表示中等等级,+++表示显著等级,++++表示严重等级。坏死通过H&E染色分析确定。凋亡通过TUNEL分析确定。

[0163] 在阴性对照组(G1)中,凋亡计数的平均值为65.3±27.7。参见图7和表7。

[0164] 150mg/kg试验物质1(OKN-007)组(G2)中,凋亡计数的平均值为79.6±29.8。与阴性对照组(G1)相比,存在统计显著性差异(p<0.01)。参见图8和表7。

[0165] 300mg/kg试验物质2(OKN-007)组(G3)中,凋亡计数的平均值为91.5±32.2。与阴性对照组(G1)相比,存在统计显著性差异(p<0.01)。参见图9和表7。

[0166] 600mg/kg试验物质3(OKN-007)组(G4)中,凋亡计数的平均值为149.9±59.5。与阴性对照组(G1)相比,存在统计显著性差异(p<0.01)。参见图10和表7。

[0167] 在2mg/kg阳性对照(顺铂)组(G5)中,凋亡计数的平均值为87.5±50.6。与阴性对照组(G1)相比,不存在统计显著性差异。参见图11和表7。

[0168] 结果,与阴性对照组(G1)相比,在所有组中,每次口服饲喂600mg/kg试验物质(G4)的小鼠的凋亡计数最高,其次是300mg/kg试验物质组(G3)、2mg/kg阳性对照(顺铂)组(G5)和150mg/kg试验物质组(G2)。

[0169] 讨论

[0170] 该研究的目的是在带有皮下植入肋腹的人A549肺癌异种移植物的裸鼠口服给药后,评估试验物质OKN-007的体内抗癌功效。

[0171] 本研究中进行的人肿瘤异种移植体系为实验癌症治疗研究提供了一个有用的模型,因为已知裸鼠由于T淋巴细胞缺乏而具有弱免疫排斥反应。

[0172] 通过测量肿瘤体积和重量来评估肿瘤抑制功效。当肿瘤体积和重量值与阴性对照组相比减少,且该结果被认为具有统计显著性时,试验物质被视为对抗肿瘤治疗有效。

[0173] 在肿瘤体积中,与阴性对照组(G1)相比,最小至最大的肿瘤体积为600mg/kg试验物质(G4),然后是300mg/kg试验物质组(G3)、2mg/kg阳性对照(顺铂)组(G5)和150mg/kg试验物质组(G2)。肿瘤体积与肿瘤面积相关。例如,类似于与肿瘤体积减少相关的数据,在

OKN-007治疗后,肿瘤面积和/或肿瘤面积生长减少。

[0174] 在肿瘤重量中,2mg/kg阳性对照(顺铂)组(G5)显示为最低。这表明阳性对照对肿瘤生长具有肿瘤生长抑制作用。次低的肿瘤重量是600mg/kg试验物质组(G4)、300mg/kg试验物质组(G3)、150mg/kg试验物质组(G2),并且阴性对照组最高。

[0175] 关于肿瘤生长抑制率,与阴性对照(0.0%抑制)相比,最高至最低为导致59.8%抑制的2mg/kg阳性对照(顺铂)组(G5),然后是600mg/kg试验物质(G4)(58.7%抑制),300mg/kg试验物质组(G3)(53.5%抑制)、和150mg/kg试验物质组(G2)(48.9%抑制)。

[0176] 此外,所有研究组提取的肿瘤的统计学分析和重量测量数据被认为具有统计显著性。

[0177] 凋亡用TUNEL分析来评估,并且分析结果为:与阴性对照相比,所有给药组的凋亡均增加。与阴性对照相比,在所有组中,600mg/kg试验物质(G4)显示出最高水平的凋亡活性,然后是300mg/kg试验物质组(G3)、2mg/kg阳性对照(顺铂)组(G5)和150mg/kg试验物质组(G2)。除了阳性对照之外的所有测试组均被认为具有统计显著性。

[0178] 确定试验物质的肿瘤生长抑制作用具有剂量依赖性,并且认为试验物质具有肿瘤生长抑制作用。

[0179] 总之,在裸鼠的人肺癌A549异种移植物中观察到试验物质(OKN-007)对肿瘤生长的剂量依赖性抑制作用。临床相关量的OKN-007可用于人施用,以诱导临床相关的抗癌和/或抗肿瘤作用。例如,浓度范围为约10mg/kg体重/天至约500mg/kg重量/天的OKN-007可用于对人对象进行全身给药、静脉内给药或局部给药。浓度范围为约5mg/kg体重/天至约1,000mg/kg重量/天的OKN-007可用于对人对象进行口服给药或肠内给药。

[0180] 参考文献

[0181] Guanjai Dai等人,杨梅醇在体内诱导非小细胞肺癌的凋亡细胞死亡和抗肿瘤活性(Myricanol Induces Apoptotic Cell Death and Anti-Tumor Activity in Non-Small Cell Lung Carcinoma in Vivo),国际分子科学杂志(International Journal of Molecular Sciences),2015年1月;16(2):2717-2731.

[0182] Rhyu JJ等人,人脂肪组织衍生间充质干细胞在人肺腺癌A549异种移植物和大肠腺癌HT-29异种移动物中的双重作用(Dual effects of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in human lung adenocarcinoma A549 xenografts and colorectal adenocarcinoma HT-29 xenografts in mice),肿瘤学杂志(Oncology Reports),2015年10月;34(4):1733-1744.

[0183] Towner,等人,OKN-007增加替莫唑胺(TMZ)敏感性并抑制TMZ抗性胶质母细胞瘤(GBM)肿瘤生长(OKN-007Increases temozolomide(TMZ)Sensitivity and Suppresses TMZ-Resistant Glioblastoma(GBM)Tumor Growth),转化肿瘤学(Translational Oncology),2019年2月;12(2):320-335.

[0184] Towner,等人,硝酮OKN-007对F98和U87大鼠胶质瘤模型中胶质瘤生长的影响(Regression of glioma tumor growth in F98 and U87 rat glioma models by the Nitrone OKN-007),神经肿瘤学(Neuro Oncology),2013年1月;15(3):330-340

[0185] ***

[0186] 本说明书中引用的所有专利、专利申请、出版物、产品说明书和协议/条款均通过

引用全文纳入本文。在术语冲突的情况下,以本公开为准。

[0187] 虽然本文所描述的主题很好地进行计算以实现上文所述的益处和优点将变得明显的,但本公开的主题的范围并不受限于本文所描述具体实施方式。应当理解,所公开的主题易于进行修改、变化和改变而不背离本公开的精神。本领域技术人员应了解或能够确定采用不超过常规实验即可获得本文所述的具体实施方式的许多等同形式。这样的等同形式意在被所附权利要求所涵盖。

[0188] 本文引用了各种出版物和核酸及氨基酸序列登录号,其内容和完整序列通过引用纳入本文。

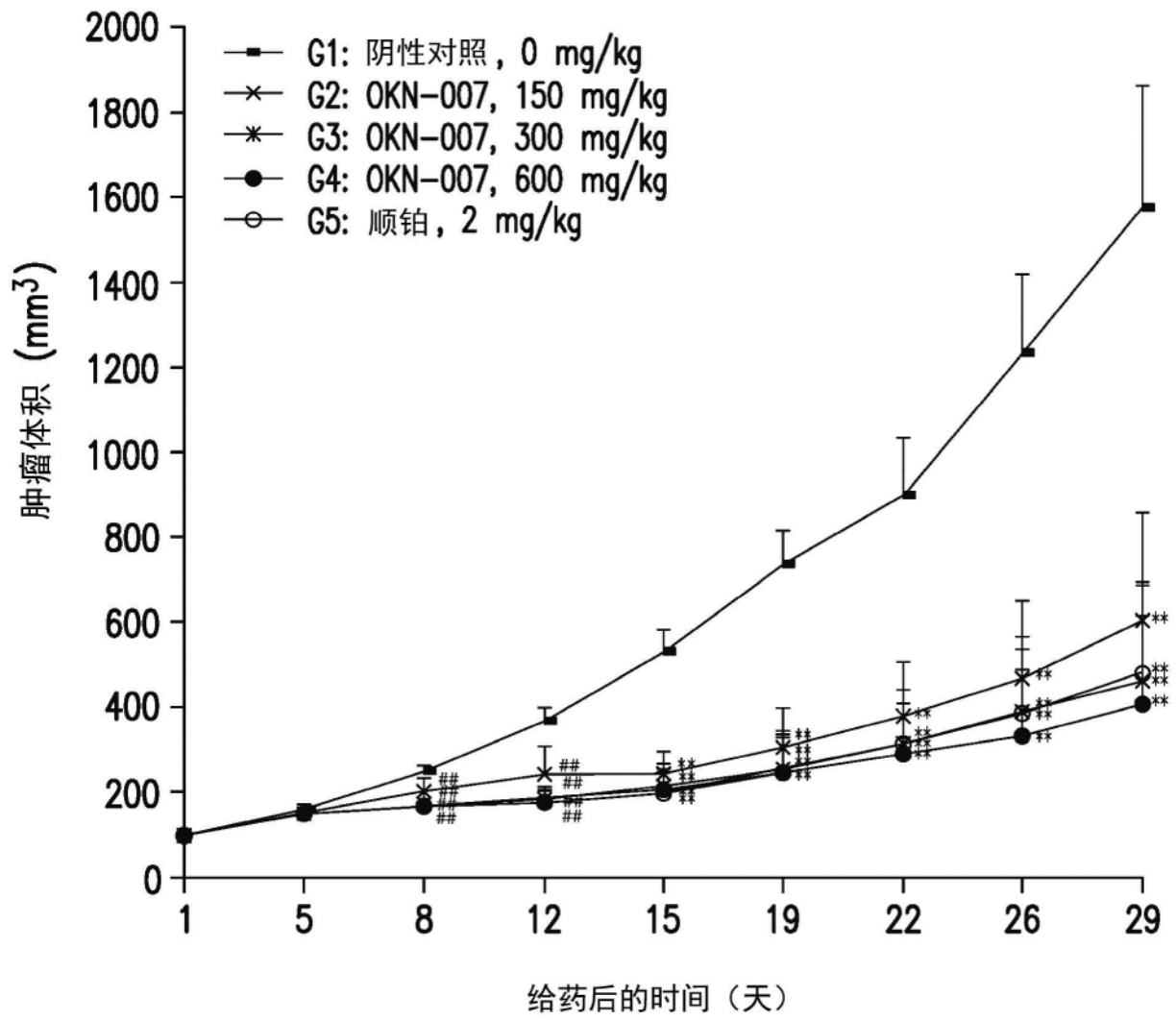


图1

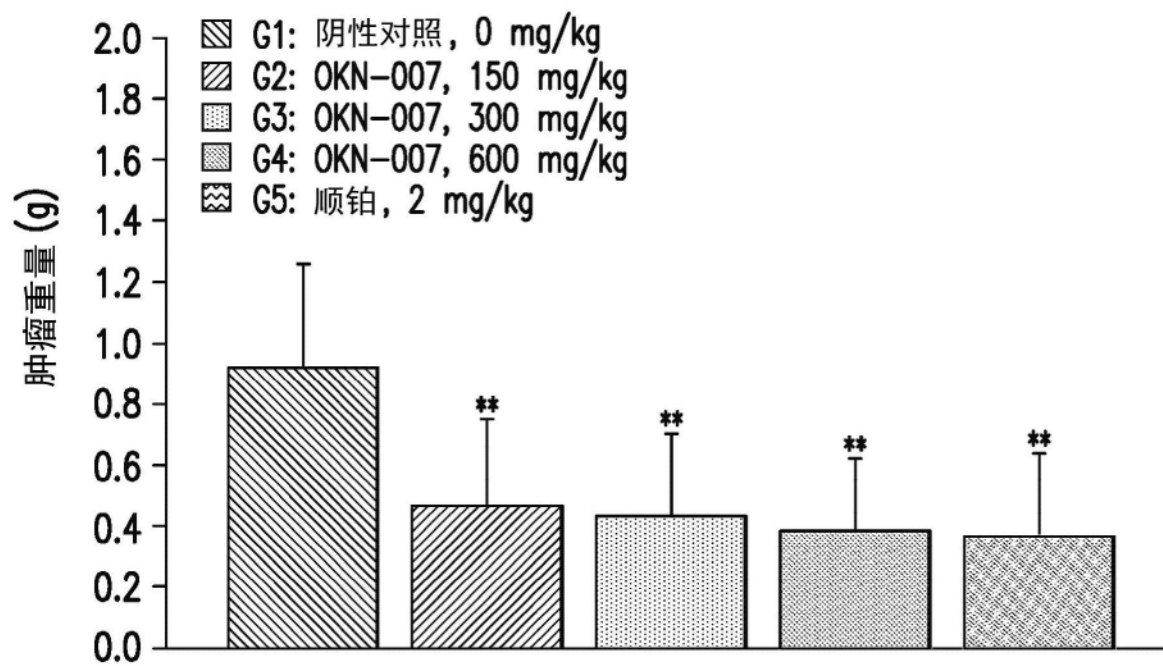


图2

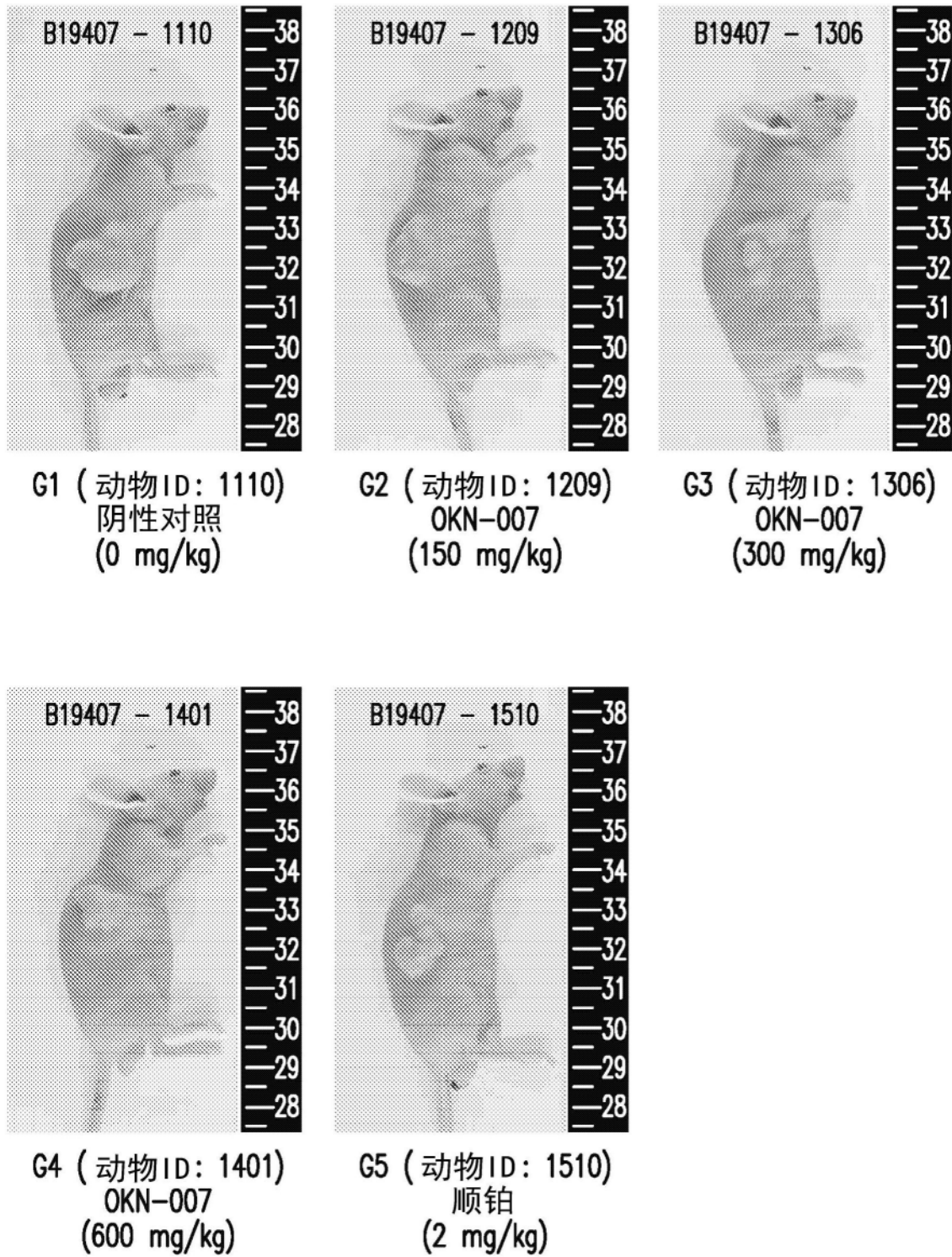
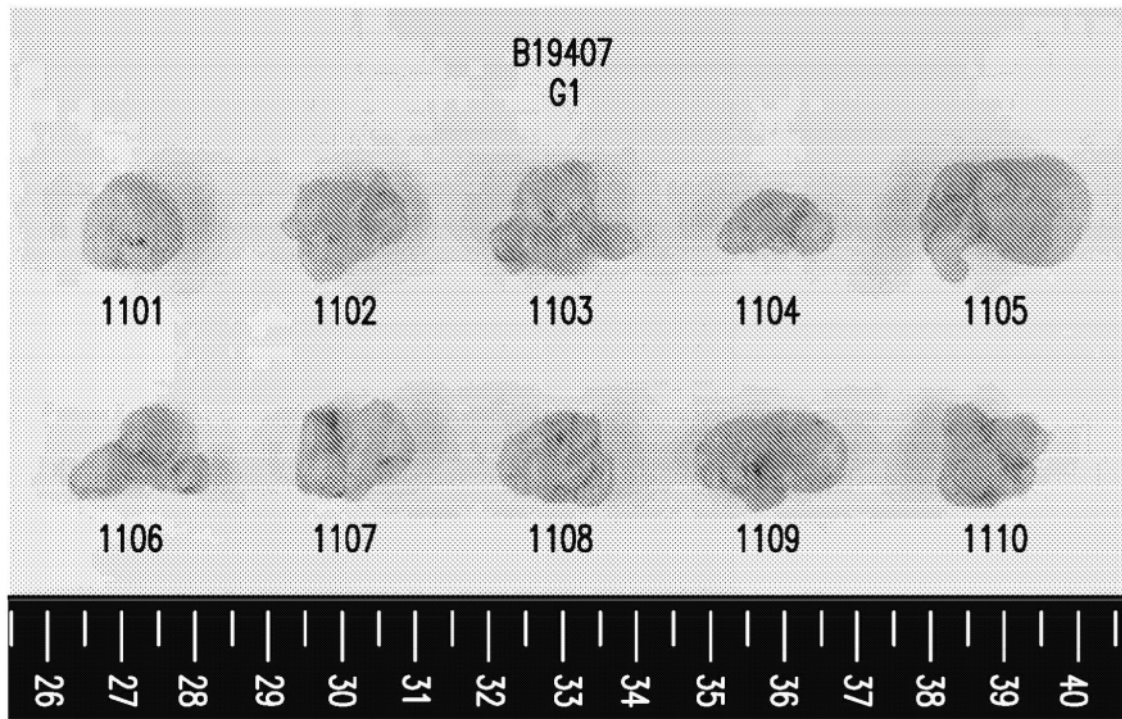
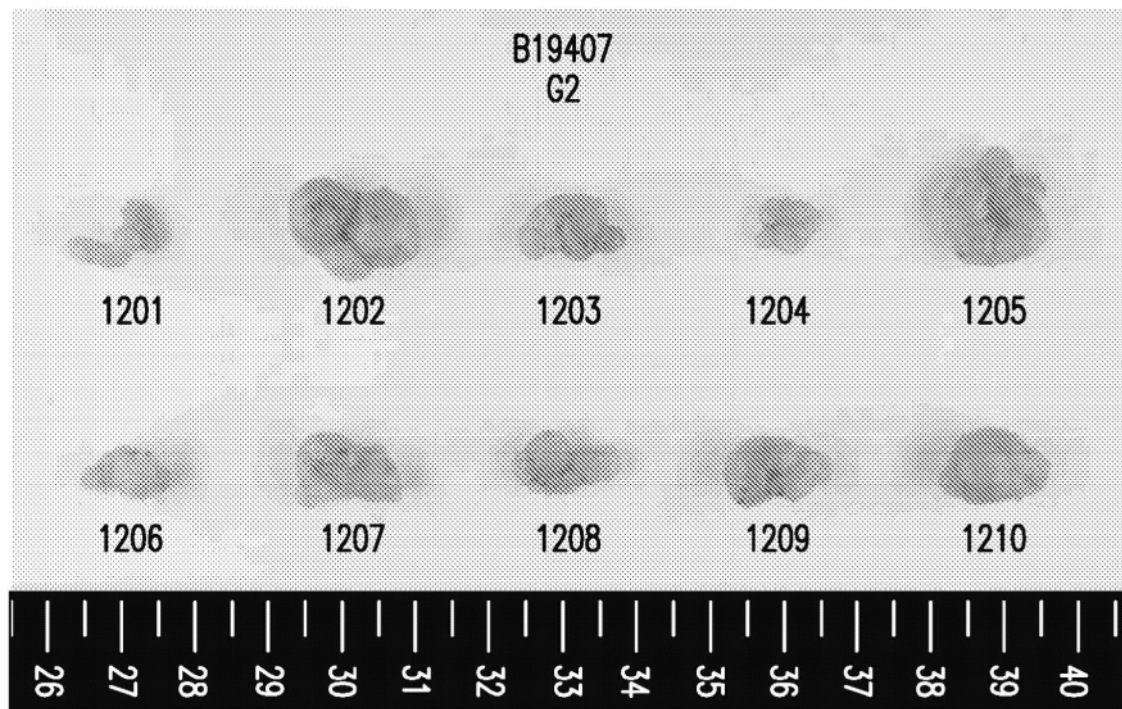


图3



G1: 阴性对照
(0 mg/kg)



G2: OKN-007
(150 mg/kg)

图4

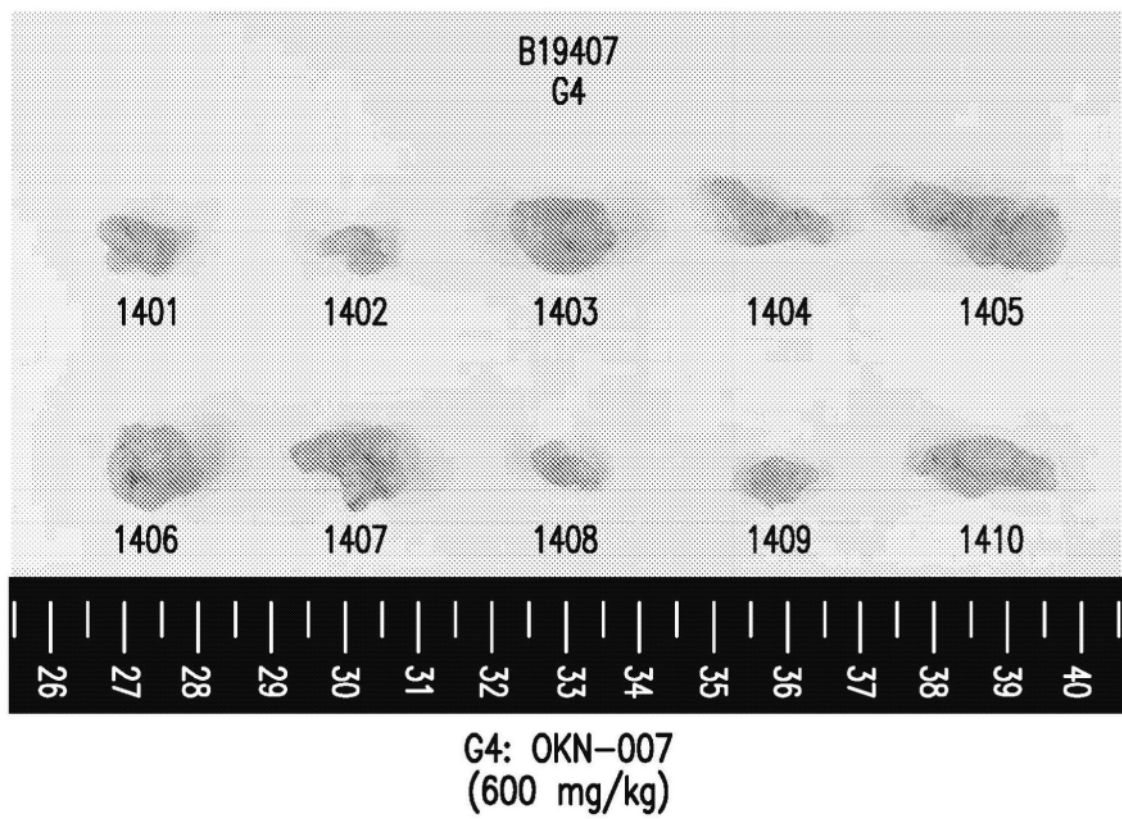
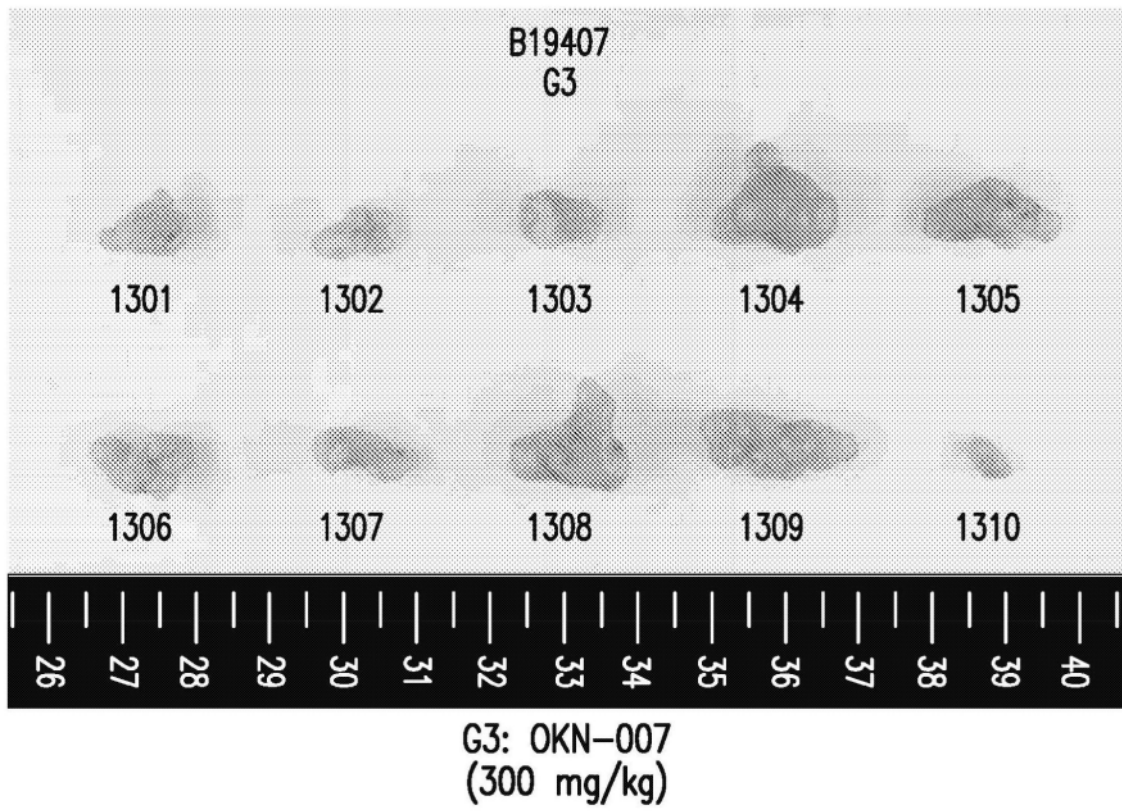


图5

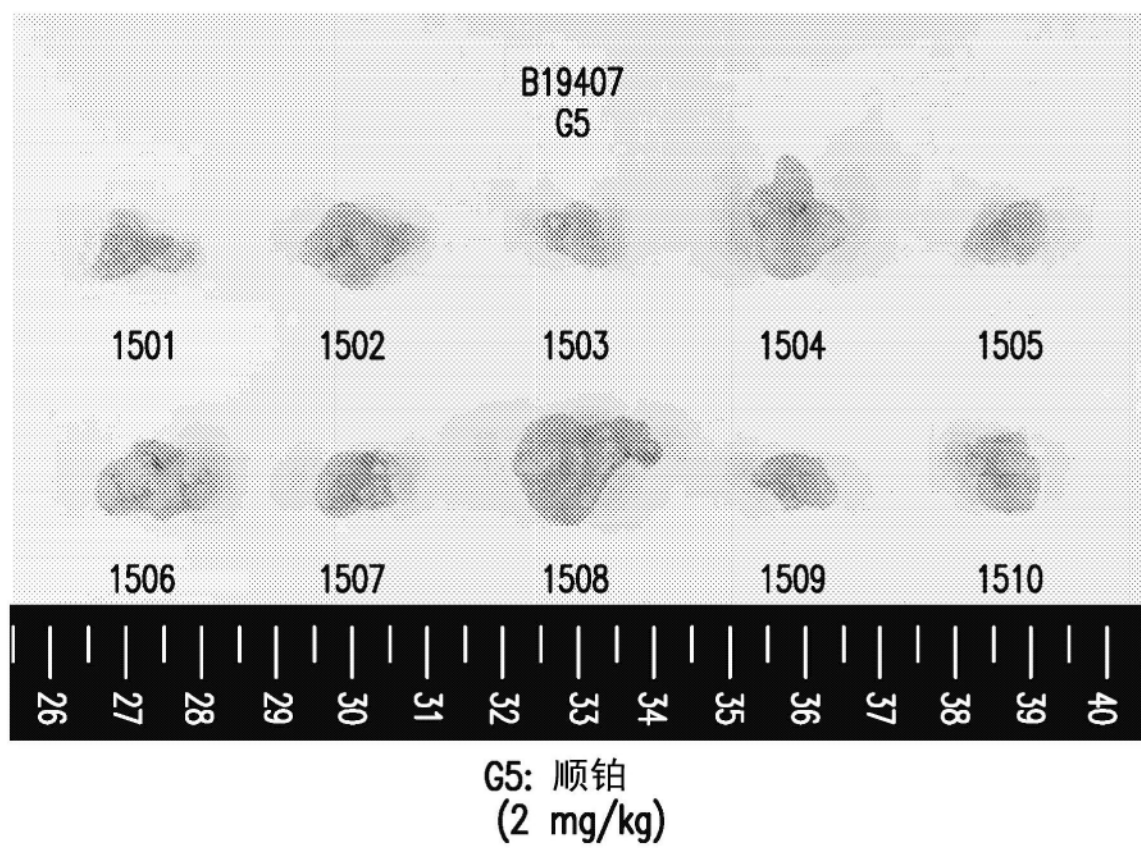
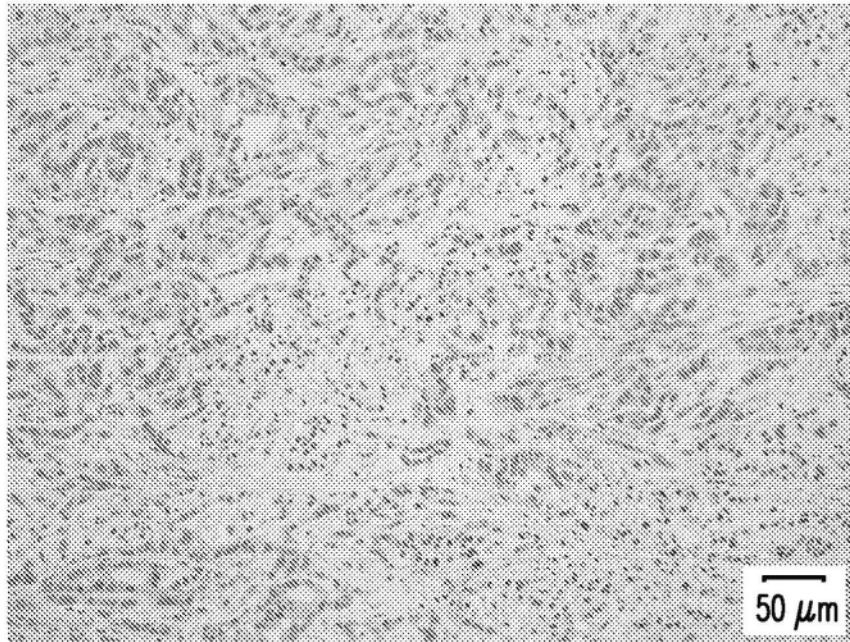
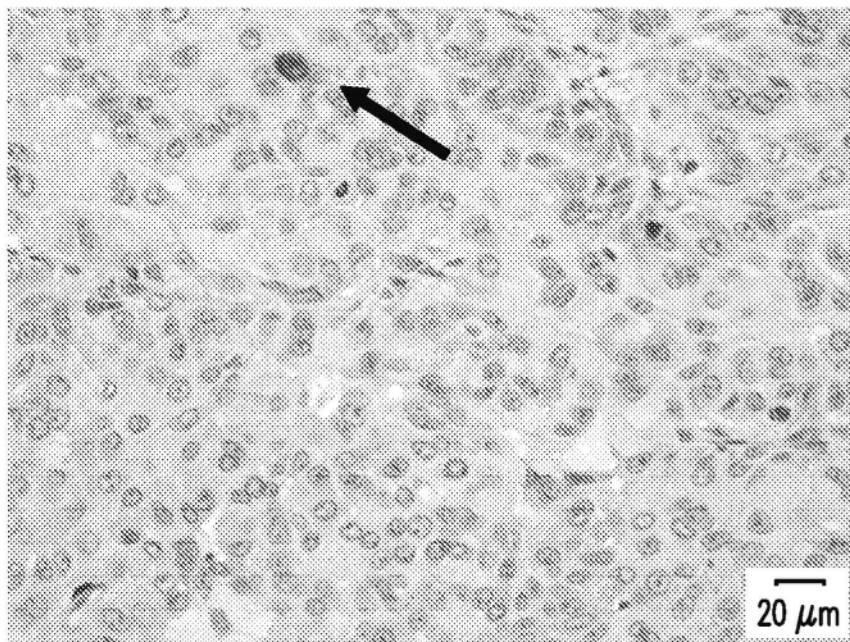


图6

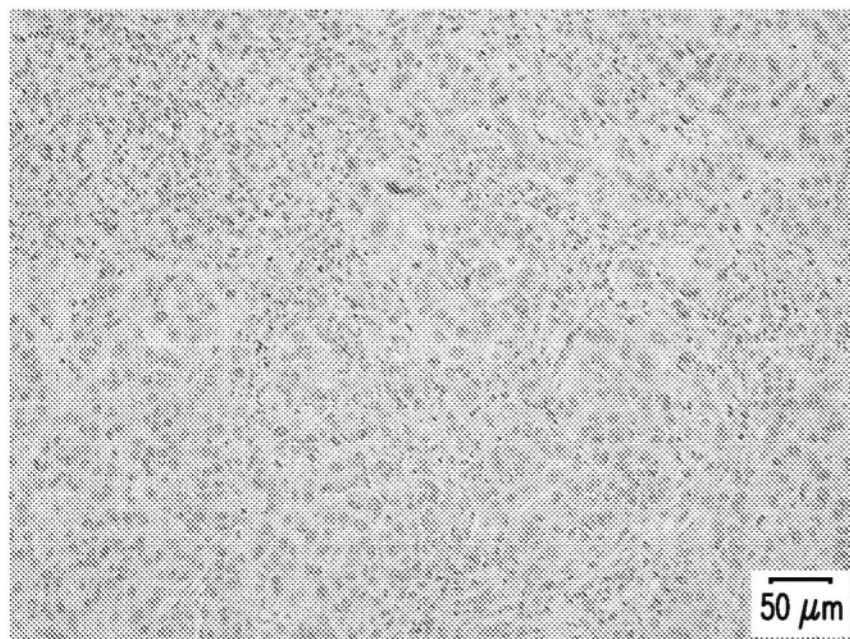


<H & E 染色>

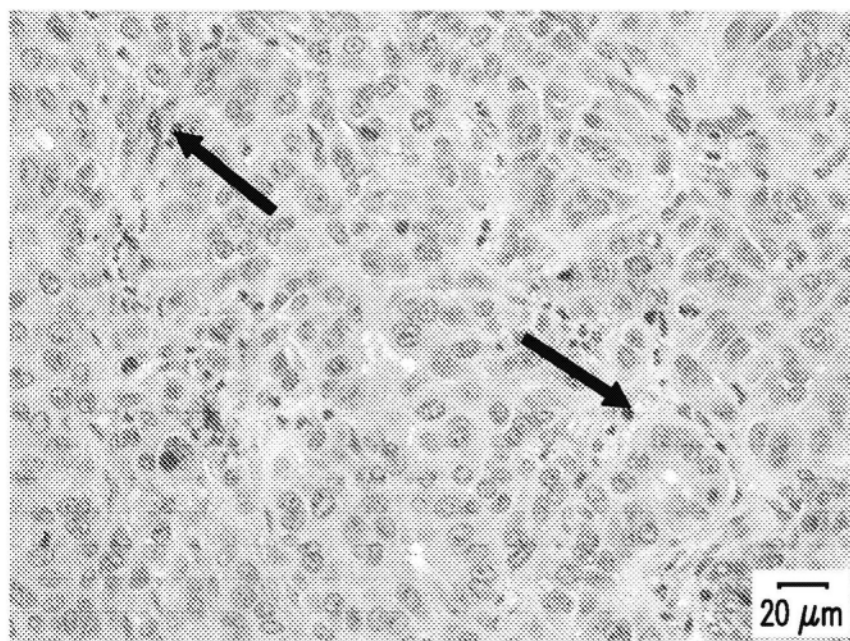


<TUNEL 分析>
G1 (动物ID: 1107)
阴性对照 (0 mg/kg)

图7

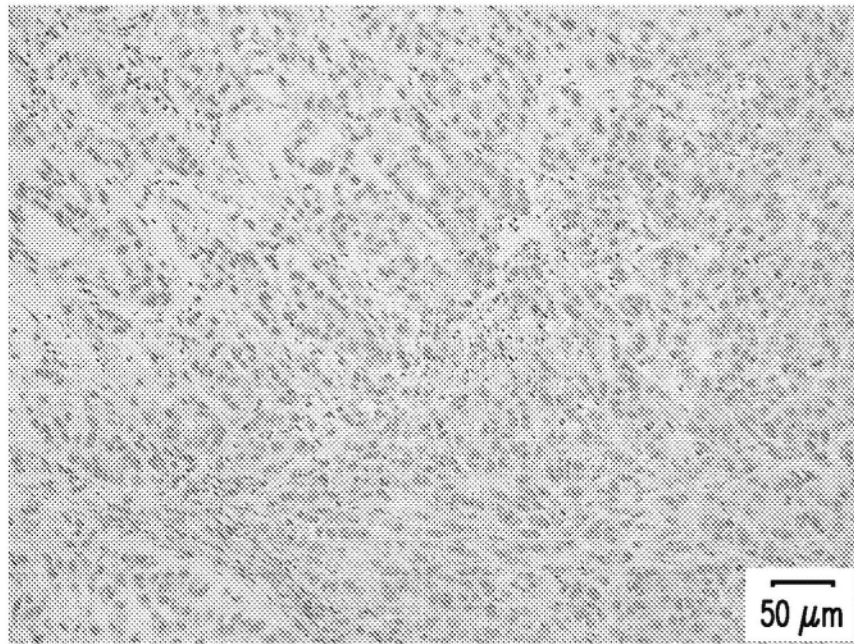


<H & E 染色>

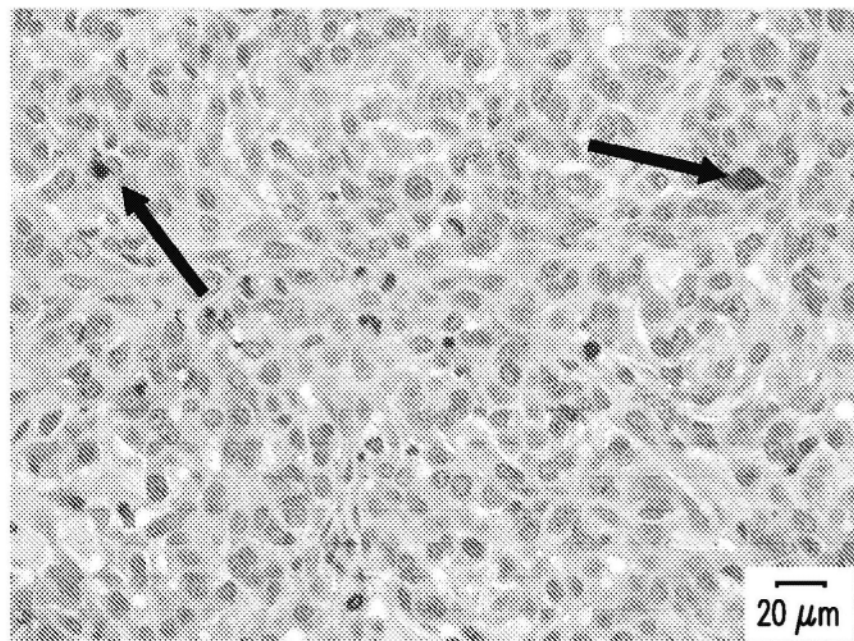


<TUNEL 分析>
G2 (动物ID : 1208)
OKN-007 (150 mg/kg)

图8

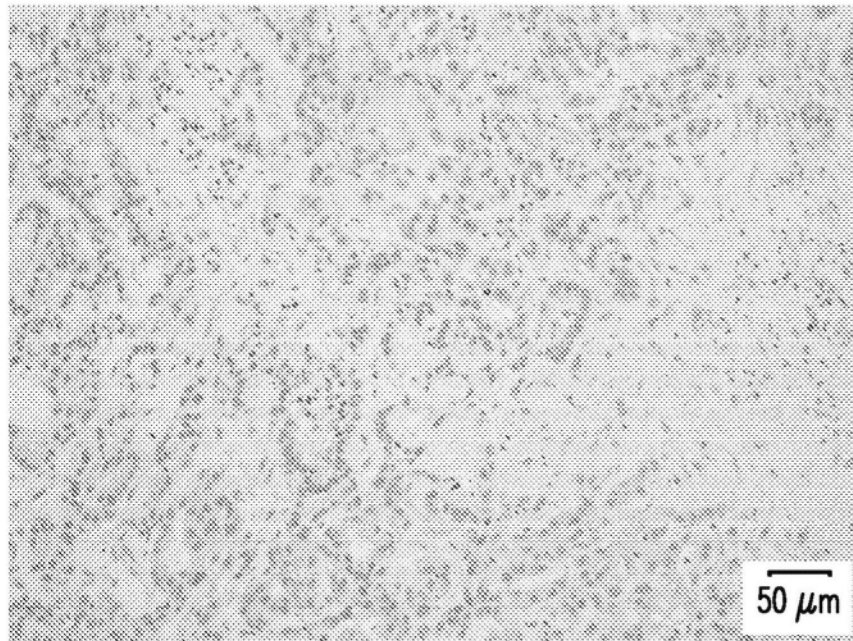


<H & E 染色>

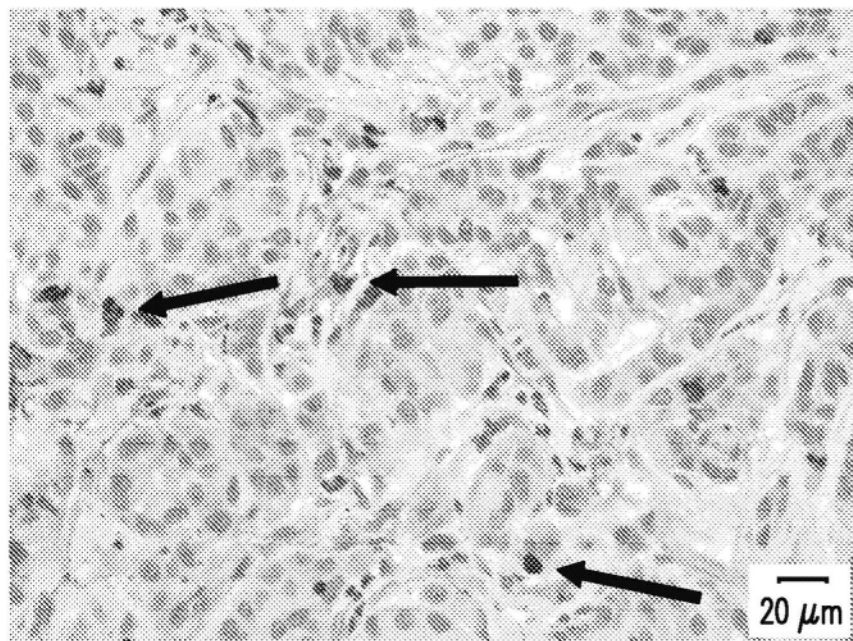


<TUNEL 分析>
G3 (动物ID: 1306)
OKN-007 (300 mg/kg)

图9

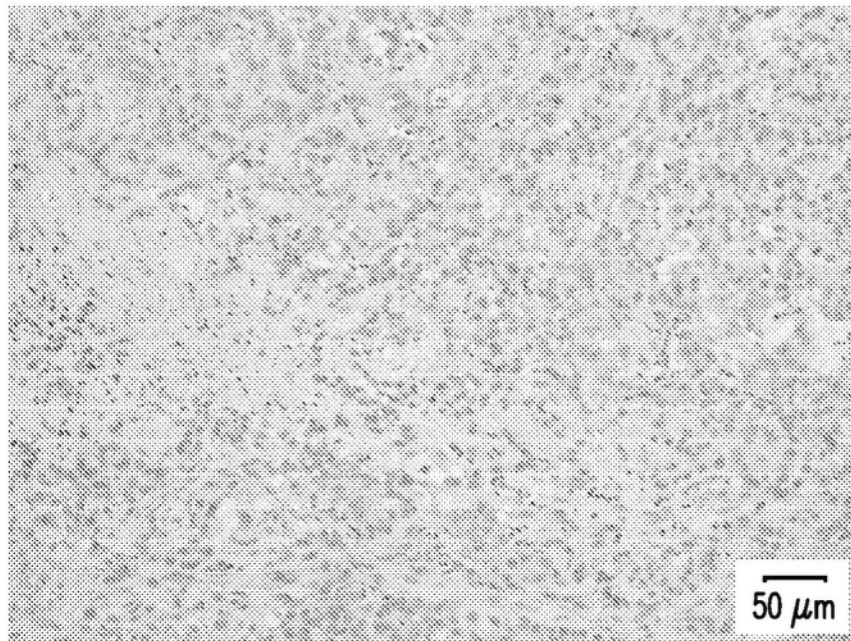


<H & E 染色>

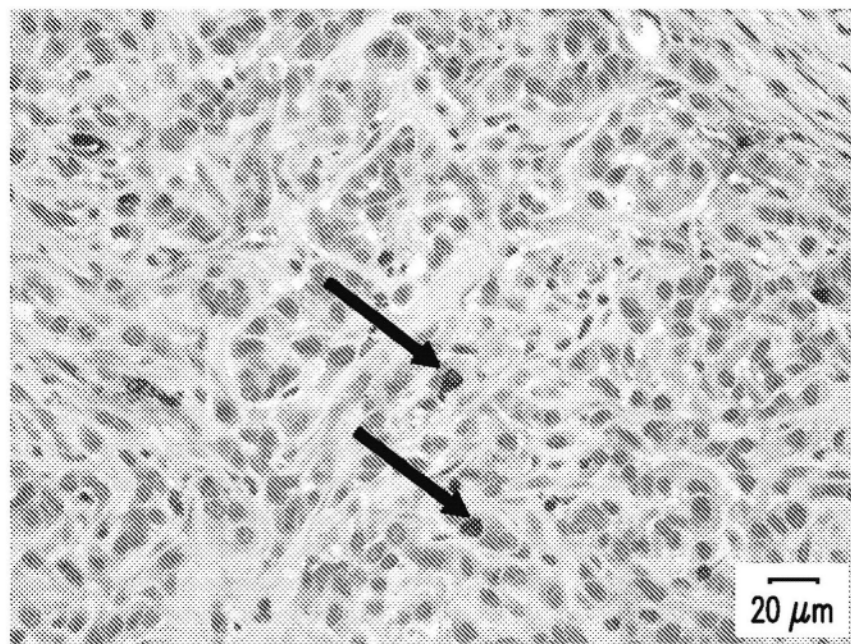


<TUNEL 分析>
G4 (动物ID: 1404)
OKN-007 (600 mg/kg)

图10



<H & E 染色>



<TUNEL 分析>
G5 (动物ID: 1509)
顺铂 (2 mg/kg)

图11