

(12) **Österreichische Patentanmeldung**

(21) Anmeldenummer:	A 9306/2013	(51) Int. Cl.:	A61K 9/127	(2006.01)
(86) PCT-Anmeldenummer:	PCT/US13057744		A61K 31/12	(2006.01)
(22) Anmeldetag:	31.08.2013		A61K 9/16	(2006.01)
(43) Veröffentlicht am:	15.06.2015		A61P 35/00	(2006.01)

(30) **Priorität:**
31.08.2012 VEREINIGTE STAATEN VON AMERIKA 61/695827 beansprucht.
31.08.2013 VEREINIGTE STAATEN VON AMERIKA 14/016056 beansprucht.

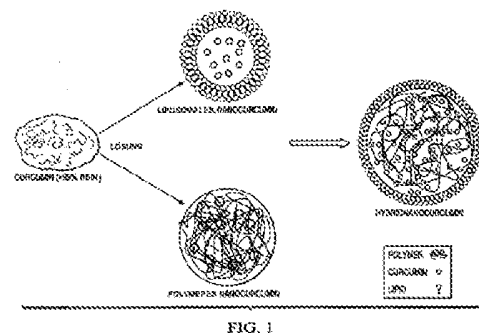
(71) **Patentanmelder:**
UNIVERSITY OF NORTH TEXAS HEALTH SCIENCE CENTER
76019 Fort Worth (VEREINIGTE STAATEN VON AMERIKA)
SIGNPATH PHARMA INC.
18951 Quakertown (VEREINIGTE STAATEN VON AMERIKA)

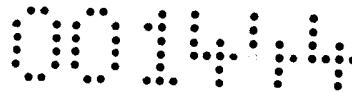
(72) **Erfinder:**
Ranjan Amalendu Prakash
76109 Texas (VEREINIGTE STAATEN VON AMERIKA)
Mukerjee Anindita
76109 Texas (VEREINIGTE STAATEN VON AMERIKA)
Vishwanatha Jamboor K.
76132 Texas (VEREINIGTE STAATEN VON AMERIKA)
Helson Lawrence
18951 Pennsylvania (VEREINIGTE STAATEN VON AMERIKA)

(74) **Vertreter:**
SONN & PARTNER PATENTANWÄLTE
WIEN

(54) **CURCUMIN-ER, EIN NANOCURCUMIN AUS LIPOSOMALEM PLGA MIT ANHALTENDER FREISETZUNG ZUR MINIMIERUNG DER QT-VERLÄNGERUNG ZUR KREBSTHERAPIE**

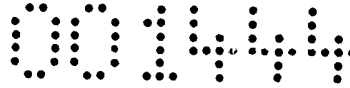
(57) Die vorliegende Erfindung beinhaltet Zusammensetzungen und Verfahren zum Herstellen einer Nanopartikel-Zusammensetzung, welche einen polymeren Kern enthält, der mindestens ein Polymer und mindestens einen Wirkstoff und mindestens eine Schicht mindestens eines Lipids auf der Oberfläche des polymeren Kerns enthält; insbesondere betrifft die Erfindung die Verwendung von Curcumin in einer solchen Lipid-Polymer-Nanopartikel-Formulierung zur Minimierung der QT-Verlängerung in Verbindung mit Curcumin bei der Behandlung von Krebs.





ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Erfindung beinhaltet Zusammensetzungen und Verfahren zum Herstellen einer Nanopartikel-Zusammensetzung, welche einen polymeren Kern enthält, der mindestens ein Polymer und mindestens einen Wirkstoff und mindestens eine Schicht mindestens eines Lipids auf der Oberfläche des polymeren Kerns enthält; insbesondere betrifft die Erfindung die Verwendung von Curcumin in einer solchen Lipid-Polymer-Nanopartikel-Formulierung zur Minimierung der QT-Verlängerung in Verbindung mit Curcumin bei der Behandlung von Krebs.



GEBIET DER ERFINDUNG

Die vorliegende Erfindung betrifft allgemein Nanopartikel, die einen polymeren Kern enthalten, der mindestens ein Polymer und mindestens einen Wirkstoff und mindestens eine Schicht mindestens eines Lipids auf der Oberfläche des polymeren Kerns enthält. Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung die Verwendung von Curcumin in einer solchen Lipid-Polymer-Nanopartikel-Formulierung zur Minimierung der QT-Verlängerung in Verbindung mit Curcumin bei der Behandlung von Krebs.

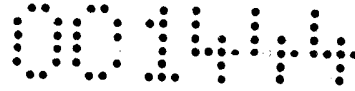
ALLGEMEINER STAND DER TECHNIK

Der mit der Erfindung verbundene Stand der Technik wird in Verbindung mit der Zuführung pharmazeutischer Wirkstoffe beschrieben, ohne den Geltungsumfang der Erfindung einzuschränken.

US-Patent 7,968,115 an Kurzrock (eingereicht am 7. September 2005) sieht eine Zusammensetzung und Verfahren zur Behandlung von Krebs, einschließlich Bauchspeicheldrüsenkrebs, Brustkrebs und Melanom, bei einem menschlichen Patienten vor. Die Verfahren und Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung verwenden Curcumin oder ein Curcumin-Analog, das in einem kolloidalen Arzneimittelzuführungssystem, vorzugsweise in einem liposomalen Arzneimittelzuführungssystem, eingekapselt ist. Geeignete kolloidale Arzneimittelzuführungssysteme sind auch Nanopartikel, Nanokapseln, Mikropartikel oder Block-Copolymer-Mizellen. Das Curcumin oder ein Curcumin-Analog einkapselnde kolloidale Arzneimittelzuführungssystem wird parenteral in einem pharmazeutisch geeigneten Träger verabreicht.

US-Patent 8,202,839 an Sung (eingereicht am 7. Januar 2012) offenbart eine aus Chitosan, Polyglutaminsäure und einem bioaktiven Mittel zusammengesetzte pharmazeutische Zusammensetzung bioaktiver Nanopartikel zur oralen Zuführung. Die chitosanbasierten Nanopartikel sind durch eine positive Oberflächenladung und verstärkte Durchlässigkeit zur oralen Arzneimittelzuführung gekennzeichnet.

Die US-Patentanmeldung mit der Publikationsnummer 20120058208 von Jacob (Synergistische Zusammensetzung zur Verstärkung der Bioverfügbarkeit von Curcumin) (eingereicht am 8. März 2012) betrifft eine Zusammensetzung zur Verstärkung der



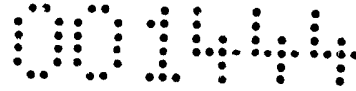
Bioverfügbarkeit von Curcumin. In einer Ausführungsform ist eine Zusammensetzung vorgesehen, welche Pflanzenextrakte von Curcumin, Vanille und Ingwer enthält, wobei die Extrakte von Ingwer und Vanille reich an Gingerol bzw. Vanillin sind. In anderen Ausführungsformen sind Curcumin und mindestens ein Element, das aus der Gruppe Vanille, Ingwer und Capsaicin ausgewählt ist, vorgesehen.

Die US-Patentanmeldung mit der Publikationsnummer 20120003177 von Shen (Curcumin enthaltende Polymere und wasserlösliche Curcuminderivate als Propharmaka von Propharmaka-Trägern) (eingereicht am 5. Januar 2012) beschreibt Curcumin, ein aus dem Kurkuma-Rhizom extrahiertes Polyphenol, das polymerisiert worden ist, um ein Polymermaterial herzustellen, das ein Gerüst aus mindestens einer sich wiederholenden Struktureinheit aufweist, von denen mindestens eine einen Curcuminmonomerrest enthält. Diese Curcumin enthaltenden Polymere haben ein breites Spektrum an pharmakologischen Aktivitäten, einschließlich unter anderem tumorhemmende, antioxidative, entzündungshemmende, thrombosehemmende und antibakterielle Aktivitäten. Bestimmte Arten dieser Polymere wiesen beträchtliche tumorhemmende Aktivität auf. Es sind auch wasserlösliche Curcuminderivate und deren Verwendung als Propharmaka und Propharmakaträger offenbart.

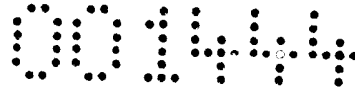
KURZBESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

Niedrige Löslichkeit, niedrige Bioverfügbarkeit, QT-Verlängerung und schnelle Beseitigung in vivo sind Probleme in Verbindung mit Curcumin. Die Vorteile von liposomalem Nanocurcumin sind keine QT-Verlängerung, hohe Bioverfügbarkeit und geringe Beseitigung in vivo, aber der Nachteil ist die rasche Freisetzung. Die Vorteile von polymerem Nanocurcumin sind hohe Bioverfügbarkeit, anhaltende Freisetzung und geringe Beseitigung in vivo, aber der Nachteil ist QT-Verlängerung. Die Vorteile von Hybrid-Nanocurcumin sind hohe Bioverfügbarkeit, anhaltende Freisetzung, keine QT-Verlängerung und geringe Beseitigung in vivo.

Die vorliegende Erfindung beinhaltet Verfahren und Zusammensetzungen, umfassend einen polymeren Nanopartikelkern, umfassend mindestens ein Polymer und mindestens einen Wirkstoff; und mindestens eine Schicht mindestens eines Lipids auf der Oberfläche des polymeren Kerns. Das mindestens eine Polymer kann PLGA um-

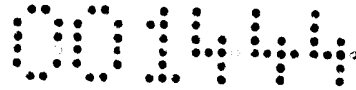


fassen; und/oder mindestens ein Polymer, das aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus Poly(milchsäure), Polylactid (PLA) und Poly-L-lactid-co-ε-caprolacton (PLCL) besteht. In bestimmten Erscheinungsformen umfasst der mindestens eine Wirkstoff Curcumin oder ein Curcuminoid. Der Wirkstoff kann mindestens ein krebs-hemmendes Arzneimittel umfassen; und/oder aus mindestens einem eines krebshemmenden Arzneimittels, einem Antibiotikum, einem Virustatikum, einem Antimykotikum, einem Antihelminthikum, einem Nährstoff, einem kleinen Molekül, einer siRNA, einem Antioxidans und einem Antikörper ausgewählt sein. In bestimmten Erscheinungsformen verursacht die Nanopartikel-Zusammensetzung keine QT-Verlängerung. In bestimmten Erscheinungsformen hat die Nanopartikel-Zusammensetzung hohe Bioverfügbarkeit. In bestimmten Erscheinungsformen kann der Wirkstoff ein konventionelles Radioisotop umfassen. Der mindestens eine Wirkstoff umfasst einen wasserunlöslichen Farbstoff; und/oder ein Metall-Nanopartikel, zur Verwendung als Kontrastmittel für die MRT; und/oder zur Auswahl aus der Gruppe, die Nil-Rot, Eisen und Platin enthält. In bestimmten Erscheinungsformen umfasst das mindestens eine Lipid 1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholin (DMPC); und/oder Dimyristoylphosphatidylglycerol (DMPG); 1,2-Dioctadecanoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin (DSPE), 1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin-N-[amino(polyethylenglycol)] (DSPE-PEG), DMPE-PEG-Maleimid, Lecithin, Cholesterin, 1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin-N-(lissaminrhodamin-B-sulfonyl) (Ammoniumsalz) und 1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin-N-(7-nitro-2-1,3-benzoxadiazol-4-yl) (Ammoniumsalz). In verschiedenen Erscheinungsformen kann die Nanopartikel-Zusammensetzung DMPC und DMPG in einem Molverhältnis von 9:1, 7:3, 8:2 oder 7,5:2,5 enthalten. In bestimmten Erscheinungsformen können die Nanopartikel mindestens ein Targeting-Mittel umfassen, wobei das Targeting-Mittel den Nanopartikel selektiv und gezielt zu erkranktem Gewebe/erkrankten Zellen bringt, wodurch die Ganzkörperdosis minimiert wird; und/oder wobei das Targeting-Mittel einen Antikörper oder ein funktionelles Fragment davon enthält, der bzw. das in der Lage ist, ein Zielantigen zu erkennen; und/oder ausgewählt aus der Gruppe, die aus einem Antikörper, einem kleinen Molekül, einem Peptid, einem Kohlenhydrat, einer siRNA, einem Protein, einer Nukleinsäure, einem Aptamer, einem zweiten Nanopartikel, einem Zytokin, einem Chemokin, einem Lymphokin, einem



Rezeptor, einem Lipid, einem Lectin, einem eisenhaltigen Metall, einem Magnetpartikel, einem Linker, einem Isotop oder Kombinationen davon besteht. In bestimmten Erscheinungsformen haben die Nanopartikel eine Größe von 90 bis 150 nm. Die Bioverfügbarkeit des Wirkstoffes kann erhöht werden, eine QT-Verlängerung ist reduziert und der Wirkstoff kann anhaltend freigesetzt werden.

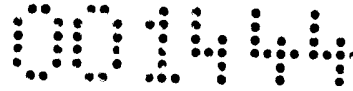
Die Erfindung beinhaltet Ausführungsformen von Verfahren zum Bilden einer Nanopartikel-Zusammensetzung, welche das Bilden einer organischen Phase durch Kombinieren mindestens eines Polymers, mindestens eines Lösungsmittels und mindestens eines Wirkstoffes; Bilden einer wässrigen Lipidphase durch Mischen mindestens eines Lipids mit Wasser; Mischen der organischen Phase mit der wässrigen Lipidphase, wodurch eine Emulsion gebildet wird; und Inkubieren der Emulsion, wobei eine Selbstorganisation von Nanopartikeln stattfindet. Das mindestens eine Polymer kann PLGA umfassen; und/oder mindestens ein Polymer, das aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus Poly(milchsäure), Polylactid (PLA) und Poly-L-lactid-co- ϵ -caprolacton (PLCL) besteht. Die organische Phase kann PLGA in einer Konzentration von 2-90 mg/ml; und/oder Curcumin in einer Konzentration von 1-15 Gew./Vol.-% enthalten. In verschiedenen Erscheinungsformen kann das mindestens eine Lösungsmittel ein organisches Lösungsmittel; Acetonitril; mindestens ein Lösungsmittel, das aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus Aceton, tert-Butylalkohol, Dimethylformamid und Hexafluorisopropanol besteht, umfassen. Der mindestens eine Wirkstoff umfasst Curcumin oder ein Curcuminoid; und/oder mindestens ein krebshemmendes Arzneimittel; und/oder ein konventionelles Radioisotop; und/oder mindestens einen Wirkstoff, der aus der Gruppe ausgewählt ist, die Nil-Rot, Eisen und Platin enthält. In bestimmten Erscheinungsformen kann das mindestens eine Lipid DMPC; und/oder DMPG und/oder mindestens ein Lipid umfassen, das aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus 1,2-Dioctadecanoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin (DSPE), 1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin-N-[amino(polyethylenglycol) (DSPE-PEG), DMPE-PEG-Maleimid, Lecithin, Cholesterol, 1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin-N-(lissaminrhodamin-B-sulfonyl) (Ammoniumsalz) und 1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin-N-(7-nitro-2-1,3-benzoxadiazol-4-yl) (Ammoniumsalz) besteht. In bestimmten Erscheinungsformen umfasst das mindestens eine Lipid DMPC und DMPG in einem Molverhältnis von



9:1, 7:3, 8:2, 7,5:2,5. In bestimmten Erscheinungsformen beinhaltet das Mischen der organischen Phase mit der wässrigen Lipidphase langsames Einrühren der organischen Phase in die wässrige Lipidphase; und/oder das Mischen der organischen Phase mit der wässrigen Lipidphase beinhaltet Vortexen; und/oder das Mischen der organischen Phase mit der wässrigen Lipidphase beinhaltet ferner Beschallen. In bestimmten Erscheinungsformen beinhaltet das Inkubieren der Emulsion das 2-stündige Rühren der Emulsion. In bestimmten Erscheinungsformen kann das Verfahren ferner das Trennen der Nanopartikel nach Inkubieren der Emulsion; und/oder Filtrieren der Nanopartikel nach dem Inkubieren der Emulsion; und/oder Einfrieren der Nanopartikel; und/oder Lyophilisieren der Nanopartikel; und/oder Anbringen eines Targeting-Mittels an die Nanopartikel; und/oder Anbringen mindestens eines Targeting-Mittels beinhalten, wobei das Targeting-Mittel den Nanopartikel selektiv und gezielt zu erkranktem Gewebe/erkrankten Zellen bringt, wodurch eine Ganzkörperdosis minimiert wird; und/oder Anbringen mindestens eines Targeting-Mittels an die Nanopartikel, wobei das Targeting-Mittel einen Antikörper oder ein funktionelles Fragment davon enthält, der bzw. das in der Lage ist, ein Zielantigen zu erkennen. In bestimmten Erscheinungsformen haben die Nanopartikel eine Größe von 90 bis 150 nm.

Die Erfindung beinhaltet Ausführungsformen pharmazeutischer Mittel, die einen Nanopartikel zur Arzneimittelzuführung enthalten, umfassend ein Polymer, einen Wirkstoff und mindestens eine Schicht mindestens eines Lipids, welches das Polymer und den Wirkstoff einkapselt.

Die Erfindung beinhaltet Ausführungsformen zum Behandeln eines Patienten, der vermutlich an einer Krankheit leidet, welche das Verabreichen von Nanopartikeln beinhaltet, wobei die Nanopartikel einen polymeren Kern enthalten, der mindestens ein Polymer und mindestens einen Wirkstoff und mindestens eine Schicht mindestens eines Lipids auf der Oberfläche des polymeren Kerns enthält. In bestimmten Erscheinungsformen beinhaltet das Verabreichen von Nanopartikeln das Verabreichen des Nanopartikels durch intramuskuläre, subkutane, intravaskuläre oder intravenöse Verabreichung. Die Krankheit kann aus der Gruppe ausgewählt sein, die aus neurologischen, onkologischen und metabolischen Krankheiten besteht; und/oder aus der Gruppe, die aus Parkinson-Krankheit, Alzheimer-Krankheit, multipler Sklerose, ALS, einer



Folgeerscheinung, Verhaltens- und Kognitionsstörungen, einer Krankheit aus dem autistischen Spektrum, Depression und neoplastischer Krankheit besteht; und/oder Krebs. In bestimmten Erscheinungsformen wird der Wirkstoff anhaltend freigesetzt.

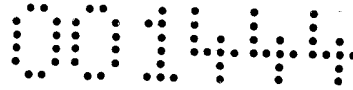
Die Erfindung beinhaltet Ausführungsformen einer Zusammensetzung, welche einen polymeren Nanopartikelkern enthält, enthaltend mindestens ein Polymer und Curcumin und mindestens eine Schicht mindestens eines Lipids auf der Oberfläche des polymeren Kerns.

Die Erfindung beinhaltet Ausführungsformen des Bildens einer Nanopartikel-Zusammensetzung, enthaltend das Bilden einer organischen Phase durch Kombinieren mindestens eines Polymers, mindestens eines Lösungsmittels und Curcumin; Bilden einer wässrigen Lipidphase durch Mischen mindestens eines Lipids mit Wasser; Mischen der organischen Phase mit der wässrigen Lipidphase, wodurch eine Emulsion gebildet wird; und Inkubieren der Emulsion, wobei eine Selbstorganisation von Nanopartikeln stattfindet.

Die Erfindung beinhaltet Ausführungsformen pharmazeutischer Mittel, die einen Nanopartikel zur Arzneimittelzuführung enthalten, umfassend ein Polymer, Curcumin und mindestens eine Schicht mindestens eines Lipids, welches das Polymer und den Wirkstoff einkapselt.

Die Erfindung beinhaltet Ausführungsformen zum Behandeln eines Patienten, der vermutlich an einer Krankheit leidet, wobei das Verfahren das Verabreichen von Nanopartikeln beinhaltet, wobei die Nanopartikel einen polymeren Kern enthalten, der mindestens ein Polymer, Curcumin und mindestens eine Schicht mindestens eines Lipids auf der Oberfläche des polymeren Kerns enthält.

Eine weitere Ausführungsform beinhaltet eine Zusammensetzung zum Behandeln von Krebs, enthaltend: einen polymeren Nanopartikelkern, der mindestens ein Polymer und mindestens eines aus Curcumin oder Curcuminoiden; und mindestens eine Schicht mindestens eines Lipids auf der Oberfläche des polymeren Kerns enthält, wobei die Zusammensetzung keine QT-Verlängerung verursacht, wenn ein Individuum mit ihr versehen wird. In einer Erscheinungsform umfasst das mindestens eine Polymer mindestens eines aus Poly(milchsäure-co-glycolsäure) (PLGA), Poly(milchsäure), Polylactid (PLA) oder Poly-L-lactid-co- ϵ -caprolacton



(PLCL).

Eine weitere Ausführungsform beinhaltet ein Verfahren zum Bilden einer Nanopartikel-Zusammensetzung, enthaltend: Bilden einer organischen Phase durch Kombinieren mindestens eines Polymers, mindestens eines Lösungsmittels und mindestens eines aus Curcumin oder Curcuminoiden; Bilden einer wässrigen Lipidphase durch Mischen mindestens eines Lipids mit Wasser; Mischen der organischen Phase mit der wässrigen Lipidphase, wodurch eine Emulsion gebildet wird; und Inkubieren der Emulsion, wobei eine Selbstorganisation von Nanopartikeln stattfindet und wobei die Curcumin oder Curcuminoid-Nanopartikel keine QT-Verlängerung verursachen, wenn ein Individuum mit ihnen versehen wird.

Eine weitere Ausführungsform beinhaltet ein Verfahren zum Behandeln eines Patienten, der vermutlich an einer Krankheit leidet, wobei das Verfahren das Verabreichen von Nanopartikeln beinhaltet, wobei die Nanopartikel einen polymeren Kern enthalten, der mindestens ein Polymer und mindestens einen Wirkstoff und mindestens eine Schicht mindestens eines Lipids auf der Oberfläche des polymeren Kerns enthält, wobei der Wirkstoff im Verdacht steht, eine QT-Verlängerung zu verursachen, wenn ein Individuum damit versehen wird. In einer Erscheinungsform beinhaltet das Verfahren auch den Schritt des Verabreichens des Nanopartikels durch intramuskuläre, subkutane, intravaskuläre oder intravenöse Verabreichung.

Eine weitere Ausführungsform beinhaltet ein Verfahren zum Bilden einer Nanopartikel-Zusammensetzung, die verhindert, dass der Wirkstoff eine QT-Verlängerung verursacht, enthaltend: Bilden einer organischen Phase durch Kombinieren mindestens eines Polymers, mindestens eines Lösungsmittels und des Wirkstoffs, der eine QT-Verlängerung verursacht; Bilden einer wässrigen Lipidphase durch Mischen mindestens eines Lipids mit Wasser; Mischen der organischen Phase mit der wässrigen Lipidphase, wodurch eine Emulsion gebildet wird; und Inkubieren der Emulsion, wobei eine Selbstorganisation von Nanopartikeln stattfindet.

Eine weitere Ausführungsform beinhaltet ein pharmazeutisches Mittel, enthaltend: einen Nanopartikel für die Arzneimittelzuführung, umfassend ein Polymer, einen Wirkstoff, der QT-Verlängerung verursacht und mindestens eine Schicht mindestens eines das Polymer und den Wirkstoff einkapselnden Lipids, und das Mittel verursacht keine QT-Verlängerung.



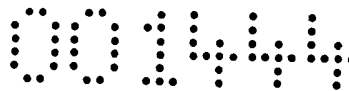
Eine weitere Ausführungsform beinhaltet ein Verfahren zum Behandeln eines Patienten, der vermutlich an einer Krankheit leidet, wobei das Verfahren das Verabreichen von Nanopartikeln beinhaltet, wobei die Nanopartikel einen polymeren Kern enthalten, der mindestens ein Polymer, Curcumin und mindestens eine Schicht mindestens eines Lipids auf der Oberfläche des polymeren Kerns enthält, wobei das Behandeln des Patienten keine QT-Verlängerung verursacht.

In einer anderen Ausführungsform beinhaltet das Verfahren zum Behandeln eines Individuums, das vermutlich Krebs hat: Identifizieren, das ein Patient vermutlich Krebs hat; und Versehen des Individuums mit einer Menge von mindestens einem aus Curcumin oder Curcuminoiden in einer zur Reduzierung des Krebses in dem Individuum ausreichenden Menge, wobei das mindestens eine aus Curcumin oder Curcuminoiden sich in einem polymeren Nanopartikelkern befindet, der mindestens ein Polymer und mindestens eines aus Curcumin oder Curcuminoiden und mindestens eine Schicht mindestens eines Lipids auf der Oberfläche des polymeren Kerns enthält, wobei das mindestens eine aus den Curcumin- oder Curcuminoid-Nanopartikeln keine QT-Verlängerung verursacht, wenn ein Individuum damit versehen wird. In einem Aspekt ist der Krebs ein Bauchspeicheldrüsen-, Prostata- oder Brustkrebs.

KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

Für ein umfassenderes Verständnis der Merkmale und Vorteile der vorliegenden Erfindung wird nun auf die ausführliche Beschreibung der Erfindung zusammen mit den begleitenden Figuren verwiesen, in denen Folgendes dargestellt ist:

Figur 1 stellt das Grundkonzept der Bildung von Hybridnanocurcumin (HNC) dar; Lipid-DMPC und DMPG. Probleme in Verbindung mit Curcumin sind geringe Löslichkeit, geringe Bioverfügbarkeit, QT-Verlängerung und schnelle Beseitigung in vivo. Die Vorteile von liposomalem Nanocurcumin sind keine QT-Verlängerung, hohe Bioverfügbarkeit und geringe Beseitigung in vivo, aber der Nachteil ist die rasche Freisetzung. Die Vorteile von polymerem Nanocurcumin sind hohe Bioverfügbarkeit, anhaltende Freisetzung und geringe Beseitigung in vivo, aber der Nachteil ist QT-Verlängerung. Die Vorteile von Hybrid-Nanocurcumin sind hohe Bioverfügbarkeit, anhaltende Freisetzung, keine QT-Verlängerung und



geringe Beseitigung in vivo.

Figur 2 zeigt die verbesserte Dispergierbarkeit von HNC in Wasser.

Figur 3 gibt transmissionselektronenmikroskopische Bilder von HNC wieder. Der TEM-Scan zeigt HNC als aufgekuigelte glatte Nanopartikel mit einheitlicher Größe.

Figur 4A und 4B: Figur 4A zeigt Formulierungen von Hybridnanocurcumin (HNC). Es sind vier verschiedene Formulierungen von HNC gezeigt, bei denen unterschiedliche Verhältnisse von DMPC und DMPG verwendet werden. Figur 4B zeigt die Partikelgrößenverteilung in Charge 3.

Figur 5 zeigt die HNC-Charakterisierung, einschließlich der durchschnittlichen Partikelgröße, der Wirkstoffbeladung und der Einkapselungseffizienz.

Figur 6 zeigt die hERG-Stromdichteanalyse von Curcumin; liposomalem Curcumin; und von PLGA-Curcumin.

Figur 7 zeigt die hERG-Stromdichteanalyse von Liposomen + Curcumin; und Liposomen.

Figur 8 zeigt die intrazelluläre Aufnahme von HNC in Mia-PaCa-Zellen.

Figur 9 zeigt eine Western-Blot-Analyse von MiaPaCa-Zellen nach Behandlung mit Hybridnanocurcumin (25 μ M (mikromolar)). Bahn 1: Unbehandelt; Bahn 2: Leerwert Nanopartikel; Bahn 3: Curcumin (24 Std.); Bahn 4: HNC (24 Std.) und; Bahn 5 HNC (48 Std.).

Figur 10 zeigt die Vitalität von MTT-Zellen unter Verwendung von HNC und einer Bauchspeicheldrüsenkrebszelllinie (MiaPaCa-Zelllinie) nach 48 Stunden.

Figur 11 zeigt das Protokoll der Pulse oder das ursprüngliche Datenerfassungsdesign: Erfassungsrate(n): 1,0 kHz

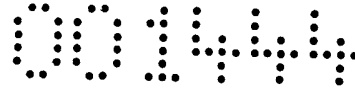
Figur 12 zeigt die Wirkung von Charge A auf die hERG-Stromdichte transfizierter HEK293-Zellen bei 20 mV.

Figur 13 zeigt die Wirkung von Charge A auf die hERG-Stromdichte transfizierter HEK293-Zellen bei 20 mV.

Figur 14 zeigt den Zusammenhang (I-V) der hERG-Stromamplitude transfizierter HEK293-Zellen, die Charge A ausgesetzt waren.

Figur 15 zeigt die Wirkung von Charge B auf die hERG-Stromdichte transfizierter HEK293-Zellen bei 20 mV.

Figur 16 zeigt die Wirkung von Charge B auf die hERG-Stromdichte transfizierter HEK293-Zellen bei 20 mV.



Figur 17 zeigt den Zusammenhang (I-V) der hERG-Stromamplitude transfizierter HEK293-Zellen, die Charge B ausgesetzt waren.

Figur 18 zeigt die Wirkung von Charge C auf die hERG-Stromdichte transfizierter HEK293-Zellen bei 20 mV.

Figur 19 zeigt die Wirkung von Charge C auf die hERG-Stromdichte transfizierter HEK293-Zellen bei 20 mV.

Figur 20 zeigt den Zusammenhang (I-V) der hERG-Stromamplitude transfizierter HEK293-Zellen, die Charge C ausgesetzt waren.

Figur 21 zeigt die Wirkung von Charge D auf die hERG-Stromdichte transfizierter HEK293-Zellen bei 20 mV.

Figur 22 zeigt die Wirkung von Charge D auf die hERG-Stromdichte transfizierter HEK293-Zellen bei 20 mV.

Figur 23 zeigt den Zusammenhang (I-V) der hERG-Stromamplitude transfizierter HEK293-Zellen, die Charge D ausgesetzt waren.

Figur 24 zeigt die Wirkung von Charge E auf die hERG-Stromdichte transfizierter HEK293-Zellen bei 20 mV.

Figur 25 zeigt die Wirkung von Charge E auf die hERG-Stromdichte transfizierter HEK293-Zellen bei 20 mV.

Figur 26 zeigt den Zusammenhang (I-V) der hERG-Stromamplitude transfizierter HEK293-Zellen, die Charge E ausgesetzt waren.

Figur 27 zeigt die Wirkung getesteter Verbindungen auf die hERG-Stromdichte bei +20 mV.

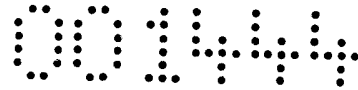
Figur 28 zeigt die Ergebnisse der Behandlung von Brustkrebs in einem Krebs-Xenotransplantat-Mausmodellsystem.

Figur 29 zeigt zusätzliche Ergebnisse der Behandlung eines anderen Brustkrebses in einem Krebs-Xenotransplantat-Mausmodellsystem.

BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

Während die Herstellung und Verwendung verschiedener Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung nachstehend ausführlich diskutiert sind, sollte berücksichtigt werden, dass die vorliegende Erfindung viele anwendbare erfindungsgemäße Konzepte vorsieht, die in ganz unterschiedlichem spezifischem Kontext ausgeführt werden können. Die hierin diskutierten, spezifischen Ausführungsformen veranschaulichen lediglich spezifische Möglichkeiten zur Herstellung und Verwendung der Erfindung und schränken den Geltungsumfang der Erfindung nicht ein.

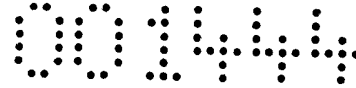
Nachstehend sind zahlreiche Begriffe definiert, um die Er-



findung besser verstehen zu können. Die Bedeutungen der hierin definierten Begriffe entsprechen denen, wie sie von einem durchschnittlichen Fachmann auf den Gebieten, die für die vorliegende Erfindung relevant sind, üblicherweise verstanden werden. Begriffe wie „einer“, „eine“, „eines“ und „der“, „die“, „das“ sollen sich nicht nur auf eine singuläre Einheit beziehen, sondern schließen die allgemeine Klasse ein, aus der gegebenenfalls ein bestimmtes Beispiel zur Veranschaulichung verwendet wird. Die vorliegende Terminologie wird verwendet, um bestimmte Ausführungsformen der Erfindung zu beschreiben, aber ihre Verwendung schränkt die Erfindung nicht ein, außer in dem in den Ansprüchen beschriebenen Umfang.

Probleme in Verbindung mit Curcumin sind niedrige Löslichkeit, niedrige Bioverfügbarkeit, QT-Verlängerung und schnelle Beseitigung in vivo. Die Vorteile von liposomalem Nanocurcumin sind keine QT-Verlängerung, hohe Bioverfügbarkeit und geringe Beseitigung in vivo, aber der Nachteil ist die rasche Freisetzung. Die Vorteile von polymerem Nanocurcumin sind hohe Bioverfügbarkeit, anhaltende Freisetzung und geringe Beseitigung in vivo, aber der Nachteil ist QT-Verlängerung. Die Vorteile von Hybrid-Nanocurcumin sind hohe Bioverfügbarkeit, anhaltende Freisetzung, keine QT-Verlängerung und geringe Beseitigung in vivo.

Ein Erfordernis bei der kommerziellen Arzneimittelentwicklung ist die Prüfung von Arzneimittelwirkungen auf hERG (IKr) in In-vitro-Assays unter Verwendung transfizierter KEK293-Zellen. Die vorliegenden Erfinder bestimmten die Anti-hERG-Aktivität von Curcumin (Diferuloylmethan) in DMSO und von drei formulierten Curcumin-Verbindungen: liposomalem Curcumin, Nanocurcumin und einem PLGA-Curcumin mit anhaltender Freisetzung. Die vorliegenden Erfinder erkennen, dass der K⁺-Strom-IC₅₀ von Curcumin, das in DMSO formuliert ist, 3,4 µM beträgt. Im Kontext der aktuellen klinischen Phase-1a-Pharmakokinetik in normalen Individuen, bei denen der Blutplasmaspiegel nach einer zweistündigen Infusion von 4,5 mg/kg im Bereich von 5 bis 11 µMol liegt, ist berücksichtigt, dass intravenöse oder subkutane Curcumin-Formulierungen für therapeutische Anwendungen IKr hemmen, zu Torsade-de-Points-Arrhythmien und möglicher klinischer Mortalität führen können. Jedoch haben weder die liposomale noch die Nanocurcumin-Formulierung bei 12 µMol diese Wirkung auf den K⁺-Kanal. Die gleichzeitige Verabreichung leerer Liposomen mit Curcumin war



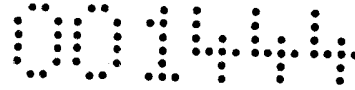
hinsichtlich der Verhinderung der hERG-Blockade gleich wirksam, die PLGA-Curcumin-Formulierung hatte diesen Effekt jedoch nicht.

Diese Beobachtungen sind eine Basis für (die Konstruktion einer neuen Curcumin-Formulierung) eine neue Curcumin-Formulierung, die aus Liposom und PLGA besteht und eine anhaltende Freisetzung von Curcumin ohne die begleitenden Hemmwirkungen von Curcumin auf den kardialen K⁺-Kanal ermöglicht.

Die Behandlung von Krebs ist durch die Nebenwirkungen der krebshemmenden Arzneimittel eingeschränkt. Zur Behandlung fortgeschrittener Krebserkrankungen ist Chemotherapie die einzige verfügbare Option. Die zunehmende Zahl von Hinweisen auf Arzneimittelresistenz und die unspezifische Toxizität dieser Mittel begrenzen jedoch ihre therapeutischen Ergebnisse. Um dieses Problem zu lösen, ist es wichtig, das Arzneimittel in der richtigen Menge der Stelle zuzuführen, an der sich der Krebs im Körper befindet. Eine neuartige Möglichkeit, sich diesem Problem zu nähern, ist durch gezielte Arzneimittelzuführungssysteme, die das Arzneimittel vorzugsweise der Krebsstelle zuführen. In bestimmten Ausführungsformen werden gezielt zuführende Moleküle (Targeting-Moleküle; z. B. Antikörper) verwendet, welche die Krebszellen erkennen und das Arzneimittel, das winzige aufgeku- gelte Partikel (Nanopartikel) enthält, zu den Krebszellen bringt.

In bestimmten Ausführungsformen ist mindestens ein Targeting-Mittel an den Nanopartikeln befestigt, wobei das Targeting-Mittel einen Antikörper oder ein funktionelles Fragment davon enthält, der bzw. das zum Erkennen eines Zielantigens in der Lage ist. Die Targeting-Mittel können durch Insertion eines hetero-/homobifunktionellen Abstandshalters, der mit Amin- enden von Lipiden und Targeting-Einheiten reagieren kann, befestigt werden.

Curcumin ist ein starkes krebshemmendes Mittel und wird seit einigen Jahrzehnten wegen seiner pharmakologischen Wirkung angewendet. Die mit Curcumin assoziierten Hauptprobleme sind jedoch (1) niedrige systemische Bioverfügbarkeit nach jeglicher Art der Verabreichung; (2) QT-Verlängerung, wenn Curcumin alleine verabreicht wird; und (3) schnelle In-vivo-Beseitigung von Curcumin. Die vorliegenden Erfindungen lösten diese Probleme, indem sie Curcumin (99 % rein) in eine Hybridnanoformulierung formulierten. Siehe Figur 1.



Die vorliegenden Erfinder erkannten, dass eine Nanoformulierung die Lösung bietet, um die Bioverfügbarkeit zu erhöhen und dass eine Liposomenformulierung von Curcumin nahezu keine QT-Verlängerung bewirkt. Solchen Formulierungen mangelt es jedoch an Stabilität, und sie besitzen in höheren Dosen eine gewisse inhärente Toxizität. Die vorliegende Erfindung erkennen, dass Curcumin nach Verabreichung an Tiermodelle sehr rasch beseitigt wird.

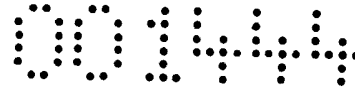
Die vorliegenden Erfinder haben ein Nanoformulierungssystem entwickelt, das die Bioverfügbarkeit von Curcumin erhöht, die QT-Verlängerung minimiert und das Arzneimittel Curcumin anhaltend freisetzt.

Das Hybridnanocurcumin(HNC)-System ist ein Hybrid aus Lipiden und Polymer, wobei der polymere Kern Curcumin einkapselt. Das Lipid ist als kontinuierliche Schicht auf der Oberfläche des polymeren Nanopartikels vorhanden. Anders gesagt, umhüllt das Lipid den polymeren Nanopartikel. Die Lipidkomponente des Hybridnanocurcumins trägt dazu bei, die QT-Verlängerung zu verringern, während der polymere Kern des Hybridsystems die anhaltende Freisetzung von Curcumin ermöglicht. Das Hybridnanocurcumin(HNC)-System löste alle vorstehend genannten Probleme, d. h. (1) Bioverfügbarkeit von Curcumin, (2) Curcuminbedingte QT-Verlängerung und (3) gleichzeitig anhaltende Freisetzung von Curcumin.

Das Hybridnanocurcumin(HNC)-System hat folgende Vorteile: (1) die In-vivo-Bioverfügbarkeit von Wirkstoffen (z. B. Curcumin) ist verbessert; (2) die Lipidkomponente des Hybridnanocurcumins verringert die QT-Verlängerung; (3) der polymere Kern des Hybridsystems ermöglicht die anhaltende Freisetzung des Wirkstoffes (z. B. Curcumin); (4) die Formulierung selbst ist ein einfacher, praktischer Prozess aus einem Schritt; und (5) dieses System kann verwendet werden, um einen anderen ähnlichen Typ von Arzneimitteln oder Wirkstoffen, die hydrophobe Moleküle enthalten, zu formulieren. Beispiele würden Curcuminanaloge, Docetaxel, Paclitaxel etc. beinhalten.

Aufgrund der besseren Bioverfügbarkeit und verringerter Nebenwirkungen ist das kommerzielle Potenzial von Hybridnanocurcumin-Formulierungen enorm.

Eine Ausführungsform ist eine liposomale Curcumin-PLGA-Verbindung mit anhaltender Freisetzung zur Verhinderung und Behand-



lung neurologischer, onkologischer oder metabolischer Krankheiten (Hybridnanocurcumin-Formulierung).

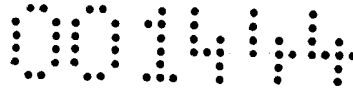
Bestimmte Ausführungsformen können als intravenöse und/oder subkutane Verabreichung einer neuartigen Formulierung von synthetisiertem Curcumin (Diferuloylmethan), das PLGA und ein Liposom gebunden ist, beschrieben werden. Eine solche Formulierung ist dazu ausgelegt, eine anhaltende Freisetzung von Curcumin als Wirkstoff zu bieten. Es wird auf die Verhinderung kardialer Ereignisse aufgrund des Einbaus einer liposomalen Komponente in die Formulierung verwiesen.

In weiteren Ausführungsformen können die Zusammensetzungen für die Behandlung neurologischer-auto-immunologischer degenerativer Krankheiten (Parkinson-Krankheit, Alzheimer-Krankheit, multiple Sklerose, ALS, Folgeerscheinungen, Verhaltens- und Kognitionsstörungen, Erkrankungen aus dem autistischen Spektrum und Depression), neoplastischen Krankheiten (Krebs) verwendet werden.

In bestimmten Ausführungsformen werden die Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung intramuskulär, subkutan und/oder intravaskulär verabreicht.

Bestimmte Ausführungsformen enthalten Curcumin (Diferuloylmethan), das in eine liposomale PLGA-Hülle eingekapselt ist, was als Hybridnanocurcumin-Formulierung bezeichnet wird.

In einer Ausführungsform ist der Wirkstoff Curcumin, bei dem es sich um ein starkes natürliches krebshemmendes Mittel handelt, das in einem Nanopartikel-basierten Zuführungssystem verwendet wird. Eine Einschränkung ist die QT-Verlängerungswirkung von Curcumin, selbst wenn es mit Nanopartikel-basierten Systemen assoziiert ist. Dadurch ist es schwierig, die FDA-Anforderungen an die kommerzielle Anwendung zu erfüllen. Die Hybridnanocurcumin-Formulierung löst dieses Problem und verringert die QT-Verlängerungswirkung von Curcumin, was sie für die kommerzielle Anwendung ideal macht. Darüber hinaus setzt die Hybridnanocurcumin-Formulierung Curcumin anhaltend frei, was die systemische Verfügbarkeit verbessert und die schnelle Beseitigung von Curcumin in Tiermodellen verringert. Daher kann die Hybridnanocurcumin-Formulierung direkt verwendet werden, um Nanotechnologie-basierte Hybrid-Dosierungsformen für Curcumin herzustellen. In anderen Ausführungsformen kann Curcumin durch verschiedene ähnliche Arzneimittel oder Wirkstoffe ersetzt werden. Solche Zusam-



mensetzungen können direkt in die Herstellung durch pharmazeutische Unternehmen gehen, um in der Phase I und in der Phase II geprüft zu werden.

Beispiel I: Hybridnanocurcumin-Formulierung: PLGA wurde in einem organischen Lösungsmittel, Acetonitril, gelöst, um eine Konzentration von 10 mg/ml zu erhalten. In dieser Phase aus Polymer und organischem Lösungsmittel wurde Curcumin (5 %) gelöst. Lipide (DMPC und DMPG) wurden in verschiedenen Molverhältnissen gemischt, und das Volumen wurde auf 1 ml aufgefüllt. Weitere Details:

Hybridnanocurcumin-Formulierung: Polymer-PLGA (10 mg) wurde in 1 ml organischem Lösungsmittel, Acetonitril, gelöst, um eine Konzentration von 10 mg/ml zu erhalten. In diesem Gemisch aus Polymer und organischem Lösungsmittel wurde Curcumin (5 % relativ zum Polymer) gelöst. Lipide (DMPC und DMPG) wurden in verschiedenen Molverhältnissen gemischt, und es wurde festgestellt, dass ein DMPC/DMPG-Verhältnis = 7,5/2,5 die besten Partikel ergab. DMPC (Lipid 1) wurde in 4 % Ethanol in Wasser gelöst. DMPG (Lipid 2) wurde in Wasser gelöst, und das Volumen wurde auf 1 ml aufgefüllt. Diese Lösungen wurden gemischt und erhitzt, um transparente Lösungen zu erhalten. Der Gesamtlipidgehalt relativ zum Polymer variierte von 2 mg bis 8 mg. Die organische Phase wurde langsam in die wässrige Lipidphase gerührt, wobei das Verhältnis von organischem zu wässrigem Volumen von 1:1 beibehalten wurde. Die Emulsion wurde 30 s auf dem Vortex gemischt und dann 5 Min. beschallt. Dann wurde das ganze Emulsionssystem 2-3 Stunden gerührt, damit eine Selbstorganisation stattfinden konnte. Dann wurde es dreimal mit einem Amicon-Filter (Cutoff von 10 kD) filtriert. Die so erhaltenen Hybridpartikel wurden mit Flüssigstickstoff schockgefroren und über Nacht lyophilisiert. Dann wurden sie bis zur weiteren Verwendung bei -20 °C aufbewahrt.

Die organische Phase wurde langsam in die wässrige Lipidphase gerührt, wobei das Verhältnis von organischem zu wässrigem Volumen von 1:1 beibehalten wurde. Die Emulsion wurde 30 s auf dem Vortex gemischt und dann 5 Min. beschallt. Dann wurde das ganze Emulsionssystem 2 Stunden gerührt, damit eine Selbstorganisation stattfinden konnte. Dann wurde es dreimal mit einem Amicon-Filter (Cutoff von 10 kD) filtriert. Die so erhaltenen Hybridpartikel wurden mit Flüssigstickstoff schockgefroren und



über Nacht lyophilisiert. Dann wurden sie bis zur weiteren Verwendung bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt.

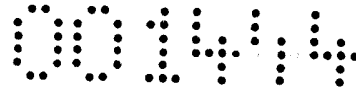
Charakterisierung von Hybridnanocurcumin: Die Hybridnanopartikel wurden hinsichtlich der Partikelgröße, der Arzneimittelladung, der Einkapselungseffizienz und der Oberflächenmorphologie charakterisiert. Figur 4A zeigt Ergebnisse aus einer Reihe von Studien, in denen die Gesamtlipidmengen variiert wurden, während das Molverhältnis von zwei Lipiden konstant blieb. In anderen Studien wurden Lipide (DMPC und DMPG) in anderen Molverhältnissen gemischt, und wir stellten fest, dass DMPC/DMPG $:: 7,5/2,5$ die besten Partikel ergaben. In bestimmten Ausführungsformen wird das Hybridnanocurcumin hierin als Curcumin ER bezeichnet.

Partikelgrößenverteilung: Die Partikelgrößenverteilung ist in Figur 4B gezeigt. Die Partikelgrößen für verschiedene Chargen nach der Lyophilisierung sind in Tabelle 1 gelistet. Die Partikelgrößenanalyse der lyophilisierten Nanopartikel wurde mit einem Nanotrak-System (Microtrac, Inc., Montgomeryville, PA, USA) durchgeführt. Die lyophilisierten Nanopartikel wurden in doppelt destilliertem Wasser dispergiert und auf hoher Stufe 10 s auf dem Vortex gemischt und dann hinsichtlich der Partikelgröße gemessen. Die Ergebnisse wurden als Durchschnitt von drei Durchgängen mit Dreifachmessungen pro Durchgang angegeben.

Charge	DMPC+DMPG (mg)	Durchschnittliche Partikelgröße (nm)
Charge 1	2	138,0
Charge 2	4	117,2
Charge 3	6	142,7
Charge 4	8	103,6

Tabelle 1: Durchschnittliche Partikelgrößenverteilung in allen Chargen

Effizienz der Arzneimittelladung und Einkapselung: Das Hybridnanocurcumin wurde in Acetonitril gelöst und die Arzneimittelladung und die Einkapselungseffizienz wurden spektrophotometrisch bestimmt. Die Werte sind in Tabelle 2 ge-



listet. Lyophilisierte Hybridnanopartikel (5 mg) wurden in 2 ml Acetonitril gelöst, um zur Bestimmung der Einkapselungseffizienz Curcumin in Acetonitril zu extrahieren. Die Proben in Acetonitril wurden 4 Std. bei Raumtemperatur vorsichtig auf einem Schüttler geschüttelt, um das Curcumin aus den Nanopartikeln vollständig in Acetonitril zu extrahieren. Diese Lösungen wurden bei 14.000 U/Min. (Zentrifuge 5415D, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) zentrifugiert, und der Überstand wurde gesammelt. Die Suspension (20 µl) wurde in Ethanol (1 ml) gelöst und für die Schätzungen verwendet. Die Curcuminkonzentrationen wurden spektrophotometrisch bei 450 nm gemessen. Unter identischen Bedingungen wurde ein Standardplot von Curcumin (0-10 µg/ml) erstellt.

Die Einkapselungseffizienz (EE) von PLGA-CURC wurde mit der folgenden Formel berechnet:

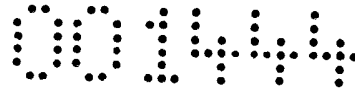
$$\text{Einkapselungseffizienz (\%)} = \frac{\text{Arzneimittelgesamtgehalt in Nanopartikeln}}{\text{Gesamtarzneimittelmenge}} \times 100$$

Die prozentuale Arzneimittelladung wurde aus der Gesamtmenge an Arzneimittel, das aus den Hybridnanopartikeln extrahiert wurde, im Verhältnis zu dem bekannten Gewicht der Nanopartikel berechnet.

$$\text{Arzneimittelladung (\%)} = \frac{\text{Arzneimittelgehalt}}{\text{Gewicht der Nanopartikel}} \times 100$$

Charge	Arzneimittelladung (%)	Einkapselungseffizienz (%)
Charge 1	0,5	10
Charge 2	0,6	12
Charge 3	1,0	20
Charge 4	0,3	6

Tabelle 2: Arzneimittelladung und Einkapselungseffizienz für alle Chargen.



Oberflächenmorphologie: Die Oberflächenmorphologie des HNC wurde mittels Transmissionselektronenmikroskopie bestimmt. Der TEM-Scan ist nachstehend in Figur 3 gezeigt. Die Oberflächenmorphologie des Hybridnanopartikels wurde mittels Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) bestimmt. Eine kleine Menge einer wässrigen Lösung der lyophilisierten Hybridnanopartikel (1 mg/ml) wurde auf einer TEM-Rasteroberfläche mit einem Filterpapier (Whatman Nr. 1) platziert. Auf die Oberfläche des kohlenstoffbeschichteten Rasters wurde ein Tropfen 1 % Uranylacetat gegeben. Nach 1-minütiger Inkubation wurde überschüssige Flüssigkeit entfernt, und die Rasteroberfläche wurde bei Raumtemperatur luftgetrocknet. Dann wurde sie in das Transmissionselektronenmikroskop (LEO EM910, Carl Zeiss SMT Inc, NY, USA) geladen, an das eine Gatan SC 1000 CCD-Kamera angeschlossen war. HNC werden charakterisiert, was die Bestimmung der durchschnittlichen Partikelgröße, der Arzneimittelladung und der Einkapselungseffizienz beinhaltet, und die Ergebnisse sind in Figur 5 gezeigt.

Evaluierung von Hybridnanocurcumin: Hybridnanocurcumin wurde mittels intrazellulärer Aufnahme und MTT-Assays evaluiert. Wie in Figur 8 gezeigt, ergab diese Studie eine robuste Aufnahme von HNC innerhalb 1 Stunde in MiaPaCa-Bauchspeicheldrüsenkrebszellen. Die intrazelluläre Aufnahme von Nanopartikeln in Bauchspeicheldrüsen-, Prostata- und Brustkrebszellen wurde mit einem Konfokal-Laserscanning-Mikroskop (CLSM) bestimmt. Für diese Studien wurden Zellen auf einem Deckgläschen in einer Gewebekulturplatte mit 6 Kavitäten platziert und bei 37 °C inkubiert, bis sie subkonfluent waren. Dann wurden die Zellen 100-µg/ml-Konzentrationen von Hybridnanopartikeln, die mit fluoreszierendem Nil-Rot markiert waren, ausgesetzt. Nach 2-stündiger Inkubation wurden die Zellen im Mikroskop betrachtet.

MTT-Assay: Dieser Assay wurde in der Bauchspeicheldrüsenkrebszelllinie MiaPaCa durchgeführt. Der IC50-Wert der HNC-Formulierung erwies sich als einer Konzentration von 22 µM entsprechend (Figur 10). Zur Bestimmung des Effekts von Hybridnanopartikeln auf das Zellwachstum wurde in Bauchspeicheldrüsen-, Prostata- und Brustkrebszelllinien ein Zellvitalitätsassay (MTT-Assay) durchgeführt. Mit dem MTT-Assay wurde die Hemmung des Zellwachstums gemessen. Bei diesem Assay wurden ~ 200 Zel-



len/Kavitäten in einer Platte mit 96 Kavitäten ausplattiert und mit freiem Arzneimittel in verschiedenen μM -Konzentrationen und äquivalenten Dosen von mit Arzneimittel beladenen Hybridnanopartikeln behandelt. Der Assay wurde nach 48 und nach 72 Stunden beendet, und es wurde die relative Wachstumshemmung im Vergleich zu Kontrollzellen gemessen. Für die statistische Analyse wurden alle Studien in Dreifachausführung vorbereitet und zweimal wiederholt. Die Ergebnisse wurden als Mittelwert \pm Standardabweichung (S.D.) ausgedrückt.

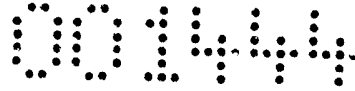
In Figur 9 sind die Ergebnisse der Western-Blot-Analyse von MiaPaCa-Zellen nach Behandlung mit Hybridnanocurcumin (25 μM (mikromolar)); unbehandelt; Leerwert Nanopartikel; Curcumin (24 Std.); HNC (24 Std.) und; HNC (48 Std.) vorgesehen.

Beispiel II:

Beurteilung der Auswirkungen von liposomalem PLGA-Curcumin auf den Kaliumkanal des Menschen unter Verwendung menschlicher embryonaler Nierenzellen (HEK293-Zellen), die mit einem menschlichen hERG-Gen (humanes „Ether-a-gogo-related“-Gen) transfiziert worden waren: In dem Beispiel geht es um die Quantifizierung der In-vitro-Auswirkungen von liposomalem PLGA-Curcumin auf den kaliumselektiven IKr-Strom, der unter normoxischen Bedingungen in stabil transfizierten HEK293-Zellen erzeugt wird. Der hERG-Assay wird verwendet, um das Potenzial einer Verbindung zur Beeinflussung des sich schnell aktivierenden, verzögert gleichrichtenden Kaliumkanals zu beurteilen, und beruht auf den „Harmonized Tripartite Guidelines“ der Internationalen Konferenz zur Harmonisierung (International Conference on Harmonisation (ICH)) [ICH S7a/b] und allgemein anerkannten Verfahren für die Prüfung pharmazeutischer Verbindungen.

Allgemeine Beschreibung der Studie: Prüfgegenstände: Charge A, Charge B, Charge C, Charge D und Charge E. Prüfsystem: hERG-exprimierende, transfizierte HEK293-Zelllinie. Durchgeführte Prüfung: Patch-Clamp-Stromerfassung und -analyse mit ganzen Zellen. Prüftemperatur: 35 ± 2 °C.

Applikation der Prüfgegenstände, Positivkontrolle und Vehikel: 5-minütige Exposition gegenüber jeder Konzentration bei Perfusion im geschlossenen Kreislauf (2 ml/Min.). 5-minütige Auswaschphase bei Durchflussperfusion (2 ml/Min.) zusätzlich zu einer Perfusion im geschlossenen Kreislauf (2 ml/Min.). Die Po-



sitivkontrolle (100 nM E-4031) wurde für einen Zeitraum von 5 Minuten bei Perfusion im geschlossenen Kreislauf (2 ml/Min.) zu unbehandelten Zellen aus derselben Zelllinie und derselben Passage gegeben.

Die Zellen waren während der Studien unter kontinuierlicher Stimulation entsprechend dem Pulsprotokoll, und nach 5-minütiger Exposition gegenüber jeder Bedingung wurden die Zellströme aufgezeichnet.

In Figur 11 ist das ursprüngliche Datenerfassungsdesign gezeigt.

Erfassungsdesign bei der Prüfung der Prüfgegenstände oder des Vehikels:

- 1 Aufzeichnung unter Basisbedingungen
- 1 Aufzeichnung bei Vorhandensein der Konzentration 1, 2 oder 3
- 1 Aufzeichnung nach dem Auswaschen (nur nach Konzentration 3)

Erfassungsdesign bei der Prüfung der Positivkontrolle:

- 1 Aufzeichnung unter Basisbedingungen
 - 1 Aufzeichnung bei Vorhandensein der Positivkontrolle
- n = Anzahl der reaktiven, gepatchten Zellen, auf die das gesamte vorstehende Protokoll anwendbar war.

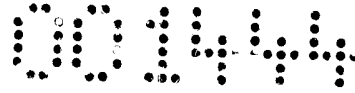
Statistische Analyse: Für statistische Vergleiche wurden gepaarte Student-t-Tests herangezogen. Bei den Prüfgegenständen wurden die Ströme, die nach Exposition gegenüber den verschiedenen Konzentrationen der Prüfgegenstände aufgezeichnet wurden, mit den unter Basisbedingungen aufgezeichneten Strömen statistisch verglichen. Die nach dem Auswaschen aufgezeichneten Ströme wurden statistisch mit den Strömen verglichen, die nach der höchsten Konzentration von Prüfgegenständen gemessen wurden. Auf die gleiche Weise wurden Ströme, die nach der Positivkontrolle aufgezeichnet worden waren, mit den unter Basisbedingungen aufgezeichneten Strömen verglichen.

Unterschiede galten bei $p \leq 0,05$ als signifikant.

Ausschlusskriterien:

1. Nichteinhaltung des Zeitrahmens der Arzneimittelexposition
2. Instabilität der Abdichtung
3. Gepatchte Zelle erzeugte keinen Tail-Strom
4. Keine signifikante Auswirkung der Positivkontrolle
5. Mehr als 10 % Variabilität der transienten Kapazitätsamplitude über die Dauer der Studie.

Auswirkung der Prüfgegenstände auf die Ganzzell-IKr-hERG-



Ströme:

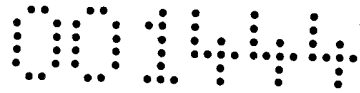
Es wurden die bei einem Spannungspuls erzeugten Ganzzell-Ströme unter Basisbedingungen und nach Applikation der ausgewählten Konzentrationen von Prüfgegenständen aufgezeichnet. Auch nach einem Auswaschzeitraum wurden Ströme aufgezeichnet. Die Zellen wurden ab dem Haltepotential (-80 mV) bis zum maximalen Wert von +40 mV eine Sekunde depolarisiert, wobei bei -40 mV begonnen und in Schritten von 10 mV fortgefahren wurde. Dann wurde das Membranpotential eine Sekunde auf -55 mV repolarisiert und schließlich wieder auf -80 mV gebracht.

Die Amplitude des Ganzzell-Tail-Stroms wurde bei einem Haltepotential von -55 mV nach Aktivierung des Stroms von -40 bis +40 mV gemessen. Die Stromamplitude wurde beim Maximum (Peak) dieses Tail-Stroms gemessen. Die Stromdichte wurde erhalten, indem die Stromamplitude durch die vor der vorübergehenden Minimierung der Kapazität gemessene Zellkapazität dividiert wurde. Protokollgemäß wurden von jedem Prüfgegenstand 3 Konzentrationen hinsichtlich der Hemmung des hERG-Stroms analysiert.

Die Ergebnisse der Studien, welche die Analyse der hERG-Stromdichte mit Curcumin, liposomalem Curcumin und PLGA-Curcumin zeigen, sind in Figur 6 und 7 vorgesehen, welche die Analyse der hERG-Stromdichte mit Liposomen + Curcumin und Liposomen zeigen.

Berichtigung hinsichtlich Strom-Rundown und Lösungsmittelleffekt. Alle Datenpunkte, die in diesem Ergebnisbericht präsentiert sind, wurden hinsichtlich des Lösungsmittelleffekts und des zeitabhängigen Strom-Rundowns berichtigt. Strom-Rundown und Lösungsmittelleffekte wurden simultan gemessen, indem das Studiendesign unter Bedingungen ohne Prüfgegenstand (hERG-externe Lösung oder DMSO) im selben Zeitrahmen wie mit den Prüfgegenständen gemessen wurde. Der bei diesen so genannten Vehikelstudien gemessene Verlust der Stromamplitude (was sowohl Lösungsmittelleffekte als auch ein zeitabhängiges Rundown wiedergibt) wurde vom bei Vorhandensein der Prüfgegenstände gemessenen Amplitudenverlust subtrahiert, um den Effekt der Prüfgegenstände getrennt vom Effekt des Lösungsmittels und dem unvermeidlichen Rundown der Stromamplitude im Zeitverlauf zu isolieren.

Diese Ergebnisse, wie in Figur 11-27 gezeigt, quantifizieren die Auswirkung von liposomalem PLGA-Curcumin (Charge A, Charge B, Charge C, Charge D und Charge E) auf den unter normoxischen Bedingungen in stabil transfizierten menschlichen embryonalen



Nierenzellen (HEK293-Zellen) erzeugten selektiven Strom an dem sich schnell aktivierenden, verzögert gleichrichtenden Kaliumkanal (IKr).

Die Konzentrationen von Curcumin (6, 12 und 18 μM) wurden ausgewählt und geben einen Bereich wieder, der den therapeutischen Bereich überschreiten dürfte.

Zur Bestätigung des Umkehreffekts der Prüfgegenstände wurden Zellen, die der höchsten Konzentration (18 μM) ausgesetzt waren, einem Auswaschzeitraum von 5 Minuten unterzogen. Der nach dem Auswaschzeitraum gemessene Strom unterschied sich statistisch nicht von dem Strom, der nach Aussetzen gegenüber der höchsten Konzentration der Verbindungen verblieben war, was zeigt, dass die Auswirkung dieser Verbindungen nicht reversibel war.

E-4031 ist einer der selektivsten bislang verfügbaren hERG-Inhibitoren. Er wurde gewählt, um die Empfindlichkeit des Prüfsystems aufzuzeigen. Drei nicht vorbehandelte HEK293-hERG-Zellen wurden 100 nM E-4031 ausgesetzt. E-4031 induzierte eine signifikante Hemmung um 81,8 % der Stromamplitude für I+20.

Angaben zu den Proben: Bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ und vor direktem Sonnenlicht geschützt aufbewahren:

1) Charge A -

Gesamtgewicht der Probe - 215 mg

Curcumin-Gehalt - 18 $\mu\text{g}/\text{mg}$ Testprobe

Verwendetes Material - Polymer (PLGA), Lipid (DMPC+DMPG), Curcumin, Saccharose.

2) Charge B -

Gesamtgewicht der Probe - 200 mg

Curcumin-Gehalt - 6,8 $\mu\text{g}/\text{mg}$ Testprobe

Verwendetes Material - Polymer (PLGA), Lipid (DMPC+DMPG), Curcumin, Saccharose.

3) Charge C -

Gesamtgewicht der Probe - 200 mg

Curcumin-Gehalt - 18,2 $\mu\text{g}/\text{mg}$ Testprobe

Verwendetes Material - Polymer (PLGA), Chitosan, Polyvinylalkohol (PVA), Lipid (DMPC+DMPG), Curcumin, Saccharose.

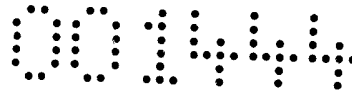
4) Charge D - Reines Curcumin

Gesamtgewicht - 50 mg.

5) Charge E - Liposomales Curcumin

Gesamtvolumen - 5 ml

Curcumin-Gehalt - 6,4 mg/ml



Verwendetes Material - Lipid (DMPC+DMPG), Curcumin

Angaben zum Molekulargewicht:

Curcumin-Molekulargewicht - 368,38 g/mol

PLGA (50:50) - Molekulargewicht- 124 kDa

DMPC (PC (14:0/14:0))- Molekulargewicht -677,933 g/mol

DMPG- Molekulargewicht- 688,845 g/mol

Saccharose - Molekulargewicht 342.30 g/mol

Chitosan - niedriges Molekulargewicht - 75-85 % deacetyliert

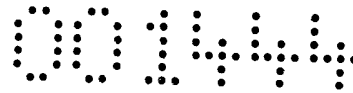
Polyvinylalkohol (PVA) - Durchschnittliches Molekulargewicht-
30.000- 70.000.

Es wird in Betracht gezogen, dass in Bezug auf jedes Verfahren, jedes Kit, jedes Reagenz oder jede Zusammensetzung der Erfindung jede in dieser Beschreibung besprochene Ausführungsform implementiert werden kann, und umgekehrt. Erfindungsgemäße Zusammensetzungen können ferner verwendet werden, um Verfahren der Erfindung durchzuführen.

Evaluierung der Auswirkungen von Curcumin ER und liposomalem Curcumin bei den Maus-Lungenkrebs-Xenotransplantatmodellen H-460 A-549.

Der Zweck dieser Studie war es, das mittlere Tumolvolumen des Maus-Xenotransplantatmodells während der Dauer der Behandlung zu quantifizieren. Insbesondere wurden das eingekapselte und das liposomal beschichtete Curcumin ER und das liposomale Curcumin bei den Zelllinien H-460 und A-549, einem Lungenkrebs-Xenotransplantatmodell, getestet. Kurz beschrieben, wurden weibliche 3-4 Wochen alte „Hsd:athymische Nacktmäuse-Foxnlnu“-Mäuse von Harlan Laboratories, USA, erhalten. Den Mäusen wurden die Krebszellen injiziert und das Tumolvolumen wurde evaluiert. Die liposomalen Curcumine, Curcumin ER und liposomales Curcumin wurden einmal pro Woche durch subkutane Injektion einer Dosis von 20 mg/kg Körpergewicht verabreicht. Figur 28 zeigt die Ergebnisse der Behandlung der Brustkrebszelllinie H-460 in den „Hsd:athymische Nacktmäuse-Foxnlnu“-Mäusen. Figur 29 zeigt zusätzliche Ergebnisse der Behandlung der Brustkrebszelllinie A-549 in den „Hsd:athymische Nacktmäuse-Foxnlnu“-Mäusen.

Es versteht sich, dass bestimmte, hierin beschriebene Ausführungsformen nur zur Veranschaulichung gezeigt sind und nicht als Einschränkung der Erfindung. Die Hauptmerkmale der vorliegenden Erfindung können in verschiedenen Ausführungsformen ange-



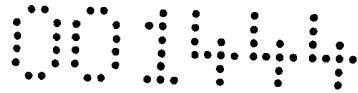
wendet werden, ohne vom Geltungsumfang der Erfindung abzuweichen. Ein Fachmann kennt zahlreiche Äquivalente zu den hierin beschriebenen spezifischen Verfahren bzw. kann solche allein mithilfe von Routine-Versuchen feststellen. Solche Äquivalente werden als im Geltungsumfang der vorliegenden Erfindung liegend erachtet und sind durch die Ansprüche abgedeckt.

Alle Veröffentlichungen und Patentanmeldungen, die in der Beschreibung erwähnt sind, geben den Stand des Fachwissens eines Fachmanns auf dem Gebiet wieder, auf das sich die vorliegende Erfindung bezieht. Alle Veröffentlichungen und Patentanmeldungen sind hierin durch Bezugnahme enthalten, und zwar im selben Maß, wie wenn jede einzelne angegebene Veröffentlichung oder Patentanmeldung spezifisch und individuell durch Bezugnahme enthalten wäre.

Die Verwendung des Wortes „einer“, „eine“ oder „eines“ bei Verwendung in Verbindung mit dem Begriff „enthaltend“ in den Ansprüchen und/oder der Beschreibung kann „einen“, „eine“ bzw. „eines“ bedeuten, kann aber auch der Bedeutung „mindestens einer“, „mindestens eine“ bzw. „mindestens eines“ entsprechen. Die Verwendung des Begriffes „oder“ in den Ansprüchen soll „und/oder“ bedeuten, sofern nicht ausdrücklich angegeben ist, dass es sich nur auf Alternativen bezieht, oder dass die Alternativen sich gegenseitig ausschließen, obwohl die Offenbarung eine Definition unterstützt, die sich nur auf Alternativen und „und/oder“ bezieht. In dieser Anmeldung wird der Begriff „etwa“ verwendet um anzugeben, dass ein Wert die inhärente Fehlervariation für die Vorrichtung, das zur Bestimmung des Werts verwendete Verfahren oder die Variation, die unter den Studienindividuen besteht, beinhaltet.

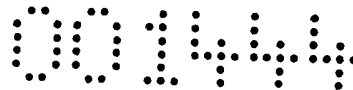
Wie in der vorliegenden Beschreibung und Ansprüchen verwendet, sind die Wörter „umfassend“ (und jede Form von „umfassend“, wie beispielsweise „umfassen“ und „umfasst“), „aufweisen“ (und jeder Form von „aufweisen“, wie beispielsweise „weisen auf“ und „weist auf“), „einschließlich“ (und jede Form von „einschließlich“, wie beispielsweise „schließen ein“ und „schließt ein“) oder „enthaltend“ (und jede Form von „enthaltend“, wie beispielsweise „enthalten“ und „enthält“) sind inklusiv oder unbegrenzt und schließen zusätzliche, nicht genannte Elemente oder Verfahrensschritte nicht aus.

Der Begriff „oder Kombinationen davon“ in seiner vorliegen-



den Verwendung bezieht sich auf alle Permutationen und Kombinationen der vor dem Begriff gelisteten Elemente. So soll zum Beispiel „A, B, C oder Kombinationen davon“ mindestens eines von: A, B, C, AB, AC, BC oder ABC und, wenn die Reihenfolge in einem bestimmten Kontext wichtig ist, auch BA, CA, CB, CBA, BCA, ACB, BAC oder CAB einschließen. Um bei diesem Beispiel zu bleiben, sind ausdrücklich auch Kombinationen eingeschlossen, die Wiederholungen mindestens eines Elements oder Begriffs enthalten, wie beispielsweise BB, AAA, AB, BBC, AAABCCCC, CBBAAA, CABABB und so weiter. Der Fachmann versteht, dass die Anzahl der Elemente oder Begriffe in jeglicher Kombination typischerweise nicht begrenzt ist, sofern aus dem Kontext nichts anderes hervorgeht. In bestimmten Ausführungsformen kann die vorliegende Erfindung auch Verfahren und Zusammensetzungen einschließen, in denen der Übergangsbegriff „im Wesentlichen bestehend aus“ oder „bestehend aus“ verwendet sein kann.

Alle hierin offenbarten und beanspruchten Zusammensetzungen und/oder Verfahren können in Anbetracht der vorliegenden Beschreibung ohne unangemessene Versuche hergestellt und ausgeführt werden. Obwohl die Zusammensetzungen und Verfahren der vorliegenden Erfindung als bevorzugte Ausführungsformen beschrieben worden sind, ist für einen Fachmann ersichtlich, dass hinsichtlich der Zusammensetzungen und/oder Verfahren und der Schritte bzw. der Reihenfolge von Schritten des hierin beschriebenen Verfahrens Variationen angewendet werden können, ohne vom Konzept, Geist und Geltungsumfang der Erfindung abzuweichen. Alle derlei ähnlichen Substitute und Modifikationen, die einem Fachmann ersichtlich sind, sollen im Geist, Geltungsumfang und Konzept der Erfindung, wie sie durch die angehängten Ansprüche definiert ist, enthalten sein.



PATENTANSPRÜCHE

1. Zusammensetzung zum Behandeln von Krebs, enthaltend:
 - einen polymeren Nanopartikelkern, der mindestens ein Polymer und mindestens eines aus Curcumin oder Curcuminoiden enthält;
 - und
 - mindestens eine Schicht mindestens eines Lipids auf der Oberfläche des polymeren Kerns,
 - wobei die Zusammensetzung keine QT-Verlängerung verursacht, wenn ein Individuum damit versehen wird.
2. Nanopartikel-Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei das mindestens eine Polymer mindestens eines aus Poly(milchsäure-co-glycolsäure) (PLGA), Poly(milchsäure), Polylactid (PLA) oder Poly-L-lactid-co-ε-caprolacton (PLCL) enthält.
3. Nanopartikel-Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei die Zusammensetzung ferner einen Wirkstoff enthält, der aus mindestens einem krebshemmenden Arzneimittel, einem Antibiotikum, einem Virustatikum, einem Antimykotikum, einem Antihelminthikum, einem Nährstoff, einem kleinen Molekül, einer siRNA, einem Antioxidans und einem Antikörper ausgewählt ist.
4. Nanopartikel-Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei das mindestens eine Lipid mindestens eines aus 1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholin (DMPC), Dimyristoylphosphatidylglycerol (DMPG), 1,2-Dioctadecanoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin (DSPE), 1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin-N-[amino(polyethylenglycol)] (DSPE-PEG), DMPE-PEG-Maleimid, Lecithin, Cholesterin, 1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin-N-(lissaminrhodamin-B-sulfonyl) (Ammoniumsalz) und 1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin-N-(7-nitro-2-1,3-benzoxadiazol-4-yl) (Ammoniumsalz) enthält.
5. Nanopartikel-Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei das mindestens eine Lipid Dimyristoylphosphatidylcholin (DMPC) und Dimyristoylphosphatidylglycerol (DMPG) in einem Molverhältnis von 9:1, 7:3, 8:2 oder 7,5:2,5 enthält.
6. Nanopartikel-Zusammensetzung nach Anspruch 1, ferner enthaltend mindestens ein gezielt zuführendes Mittel (Targeting-Mittel), wobei das Targeting-Mittel den Nanopartikel gezielt zu erkrankten Geweben/Zellen bringt, wodurch die Ganzkörperdosis minimiert wird.
7. Nanopartikel-Zusammensetzung nach Anspruch 1, ferner umfas-



send mindestens ein Targeting-Mittel, wobei das Targeting-Mittel einen Antikörper oder ein funktionelles Fragment davon, ein kleines Molekül, ein Peptid, ein Kohlenhydrat, eine siRNA, ein Protein, eine Nukleinsäure, ein Aptamer, einen zweiten Nanopartikel, ein Zytokin, ein Chemokin, ein Lymphokin, einen Rezeptor, ein Lipid, ein Lektin, ein eisenhaltiges Metall, einen Magnetpartikel, einen Linker, ein Isotop oder Kombinationen davon enthält.

8. Nanopartikel-Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei die Nanopartikel eine Größe von 90 bis 150 nm haben.

9. Nanopartikel-Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei eine Bioverfügbarkeit des Wirkstoffes erhöht, eine QT-Verlängerung reduziert und der Wirkstoff anhaltend freigesetzt wird.

10. Verfahren zum Bilden einer Nanopartikel-Zusammensetzung, enthaltend:

Bilden einer organischen Phase durch Kombinieren mindestens eines Polymers, mindestens eines Lösungsmittels und mindestens eines aus Curcumin oder Curcuminoiden;

Bilden einer wässrigen Lipidphase durch Mischen mindestens eines Lipids mit Wasser;

Mischen der organischen Phase mit der wässrigen Lipidphase, wodurch eine Emulsion gebildet wird; und

Inkubieren der Emulsion, wobei eine Selbstorganisation von Nanopartikeln stattfindet und wobei die Curcumin- oder Curcuminoid-Nanopartikel keine QT-Verlängerung verursachen, wenn ein Individuum damit versehen wird.

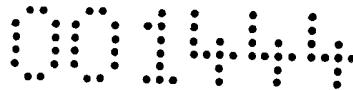
11. Verfahren nach Anspruch 10, wobei das mindestens eine Polymer mindestens eines von Poly(milchsäure-co-glycolsäure) (PLGA), Poly(milchsäure), Polylactid (PLA) und Poly-L-lactid-co- ϵ -caprolacton (PLCL) enthält.

12. Verfahren nach Anspruch 10, wobei die organische Phase PLGA in einer Konzentration von 2-90 mg/ml enthält.

13. Verfahren nach Anspruch 10, wobei die organische Phase Curcumin in einer Konzentration von 1-15 Gew.-% zu Volumen enthält.

14. Verfahren nach Anspruch 10, wobei das mindestens eine Lösungsmittel ein organisches Lösungsmittel enthält, das aus mindestens einem von Acetonitril, Aceton, tert-Butylalkohol, Dimethylformamid und Hexaflurisopropanol ausgewählt ist.

15. Verfahren nach Anspruch 10, wobei das mindestens eine Lipid mindestens eines aus DMPC, DMPG, 1,2-Dioctadecanoyl-sn-glycero-



3-phosphoethanolamin (DSPE), 1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin-N-[amino(polyethylenglycol) (DSPE-PEG), DMPE-PEG-Maleimid, Lecithin, Cholesterin, 1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin-N-(lissaminrhodamin-B-sulfonyl) (Ammoniumsalz) und 1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin-N-(7-nitro-2-1,3-benzoxadiazol-4-yl) (Ammoniumsalz) enthält.

16. Verfahren nach Anspruch 10, wobei das mindestens eine Lipid DMPC und DMPG in einem Molverhältnis von 9:1, 7:3, 8:2 oder 7,5:2,5 enthält.

17. Verfahren nach Anspruch 10, wobei das Mischen der organischen Phase mit der wässrigen Lipidphase mindestens eines aus langsamem Einrühren der organischen Phase in die wässrige Lipidphase enthält, Mischen der organischen Phase mit der wässrigen Lipidphase auf dem Vortexmischer enthält oder Mischen der organischen Phase mit der wässrigen Lipidphase ferner Beschallen enthält.

18. Verfahren nach Anspruch 10, wobei das Inkubieren der Emulsion 2-stündiges Rühren der Emulsion enthält.

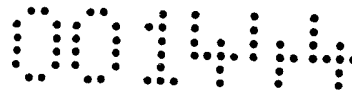
19. Verfahren nach Anspruch 10, ferner enthaltend mindestens eines der Folgenden: (1) Trennen der Nanopartikel nach Inkubieren der Emulsion; (2) Filtrieren der Nanopartikel nach Inkubieren der Emulsion; (3) Einfrieren der Nanopartikel; (4) Lyophilisieren der Nanopartikel; oder (5) Befestigen eines Targeting-Mittels an den Nanopartikeln.

20. Verfahren nach Anspruch 10, ferner enthaltend das Befestigen mindestens eines Targeting-Mittels, wobei das Targeting-Mittel den Nanopartikel gezielt zu erkrankten Geweben/Zellen bringt, wodurch die Ganzkörperdosis minimiert wird.

21. Verfahren nach Anspruch 10, ferner enthaltend das Befestigen mindestens eines Targeting-Mittels an den Nanopartikeln, wobei das Targeting-Mittel einen Antikörper oder ein funktionelles Fragment davon enthält, der bzw. das zum Erkennen eines Zielantigens in der Lage ist.

22. Verfahren nach Anspruch 10, wobei die Nanopartikel eine Größe von 90 bis 150 nm aufweisen.

23. Verfahren zum Behandeln eines Patienten, der vermutlich an einer Krankheit leidet, enthaltend das Verabreichen von Nanopartikeln, wobei die Nanopartikel einen polymeren Kern enthalten, der mindestens ein Polymer und mindestens einen Wirkstoff und mindestens eine Schicht mindestens eines Lipids auf der Oberflä-



che des polymeren Kerns enthält, wobei der Wirkstoff im Verdacht steht eine QT-Verlängerung zu verursachen, wenn ein Individuum damit versehen wird.

24. Verfahren nach Anspruch 23, wobei das Verabreichen von Nanopartikeln das Verabreichen des Nanopartikels durch intramuskuläre, subkutane, intravaskuläre oder intravenöse Verabreichung enthält.

25. Verfahren nach Anspruch 23, wobei die Krankheit aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus neurologischen, onkologischen und metabolischen Krankheiten besteht.

26. Verfahren nach Anspruch 23, wobei die Krankheit aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus Parkinson-Krankheit, Alzheimer-Krankheit, multipler Sklerose, ALS, einer Folgeerscheinung, Verhaltens- und Kognitionsstörungen, einer Krankheit aus dem autistischen Spektrum, Depression und neoplastischer Krankheit besteht.

27. Verfahren nach Anspruch 23, wobei der Wirkstoff anhaltend freigesetzt wird.

28. Verfahren zum Bilden einer Nanopartikel-Zusammensetzung, die verhindert, dass der Wirkstoff eine QT-Verlängerung verursacht, enthaltend:

Bilden einer organischen Phase durch Kombinieren mindestens eines Polymers, mindestens eines Lösungsmittels und des Wirkstoffs, der eine QT-Verlängerung verursacht;

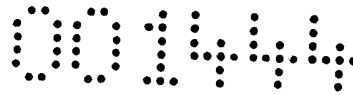
Bilden einer wässrigen Lipidphase durch Mischen mindestens eines Lipids mit Wasser;

Mischen der organischen Phase mit der wässrigen Lipidphase, wodurch eine Emulsion gebildet wird; und

Inkubieren der Emulsion, wobei eine Selbstorganisation von Nanopartikeln stattfindet.

29. Pharmazeutisches Mittel, enthaltend: einen Nanopartikel für die Arzneimittelzuführung, umfassend ein Polymer, einen Wirkstoff, der QT-Verlängerung verursacht und mindestens eine Schicht mindestens eines das Polymer und den Wirkstoff einkapselnden Lipids, wobei das Mittel keine QT-Verlängerung verursacht.

30. Verfahren zum Behandeln eines Patienten, der vermutlich an einer Krankheit leidet, wobei das Verfahren das Verabreichen von Nanopartikeln enthält, wobei die Nanopartikel einen polymeren Kern enthalten, der mindestens ein Polymer, Curcumin und mindes-



tens eine Schicht mindestens eines Lipids auf der Oberfläche des polymeren Kerns enthält, wobei das Behandeln des Patienten keine QT-Verlängerung verursacht.

31. Verfahren zum Behandeln eines Individuums, das vermutlich Krebs hat, enthaltend:

Identifizieren, das ein Patient vermutlich Krebs hat; und
Versehen des Individuums mit einer Menge von mindestens einem aus Curcumin oder Curcuminoiden in einer zur Reduzierung des Krebses in dem Individuum ausreichenden Menge, wobei das mindestens eine aus Curcumin oder Curcuminoiden sich in einem polymeren Nanopartikelkern befindet, der mindestens ein Polymer und mindestens eines aus Curcumin oder Curcuminoiden umfasst; und
mindestens eine Schicht mindestens eines Lipids auf der Oberfläche des polymeren Kerns enthält, wobei das mindestens eine aus den Curcumin- oder Curcuminoid-Nanopartikeln keine QT-Verlängerung verursacht, wenn ein Individuum damit versehen wird.

32. Verfahren nach Anspruch 31, wobei der Krebs ein Bauchspeicheldrüsen-, Prostata- oder Brustkrebs ist.

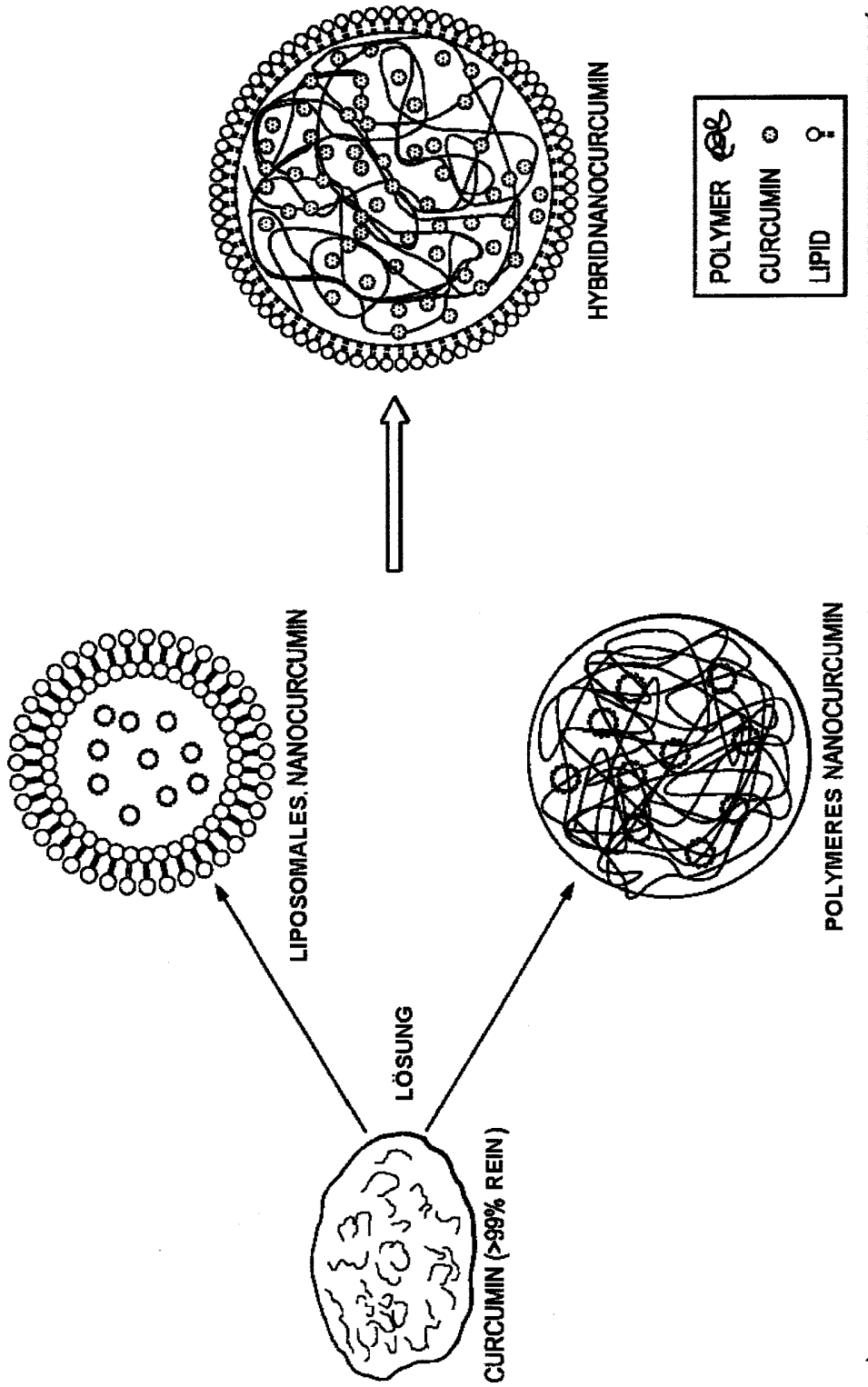


FIG. 1

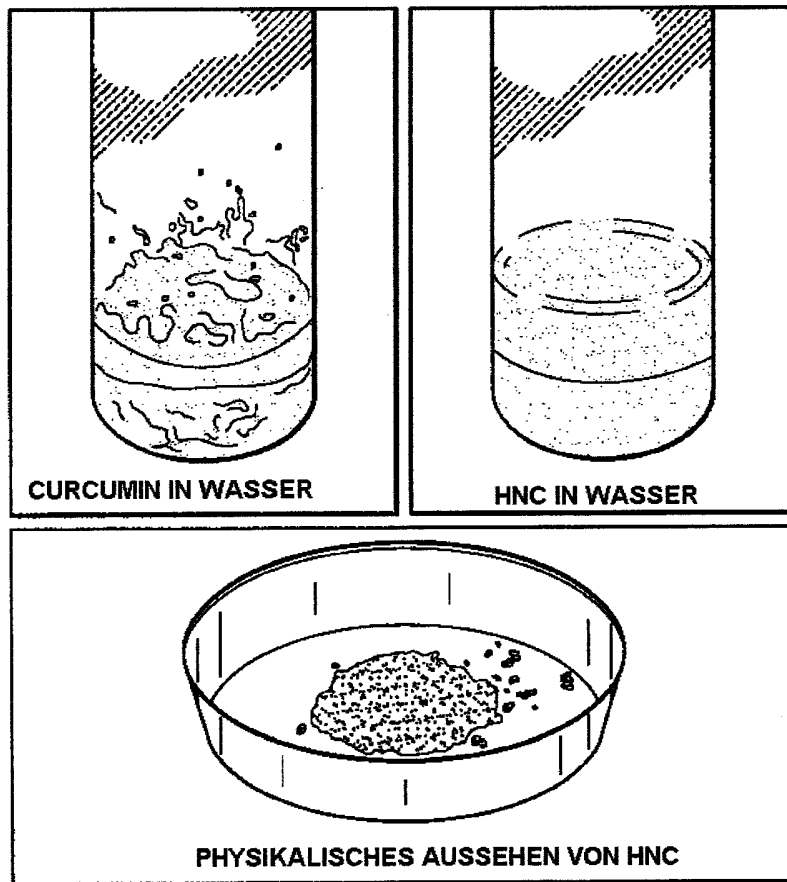


FIG. 2

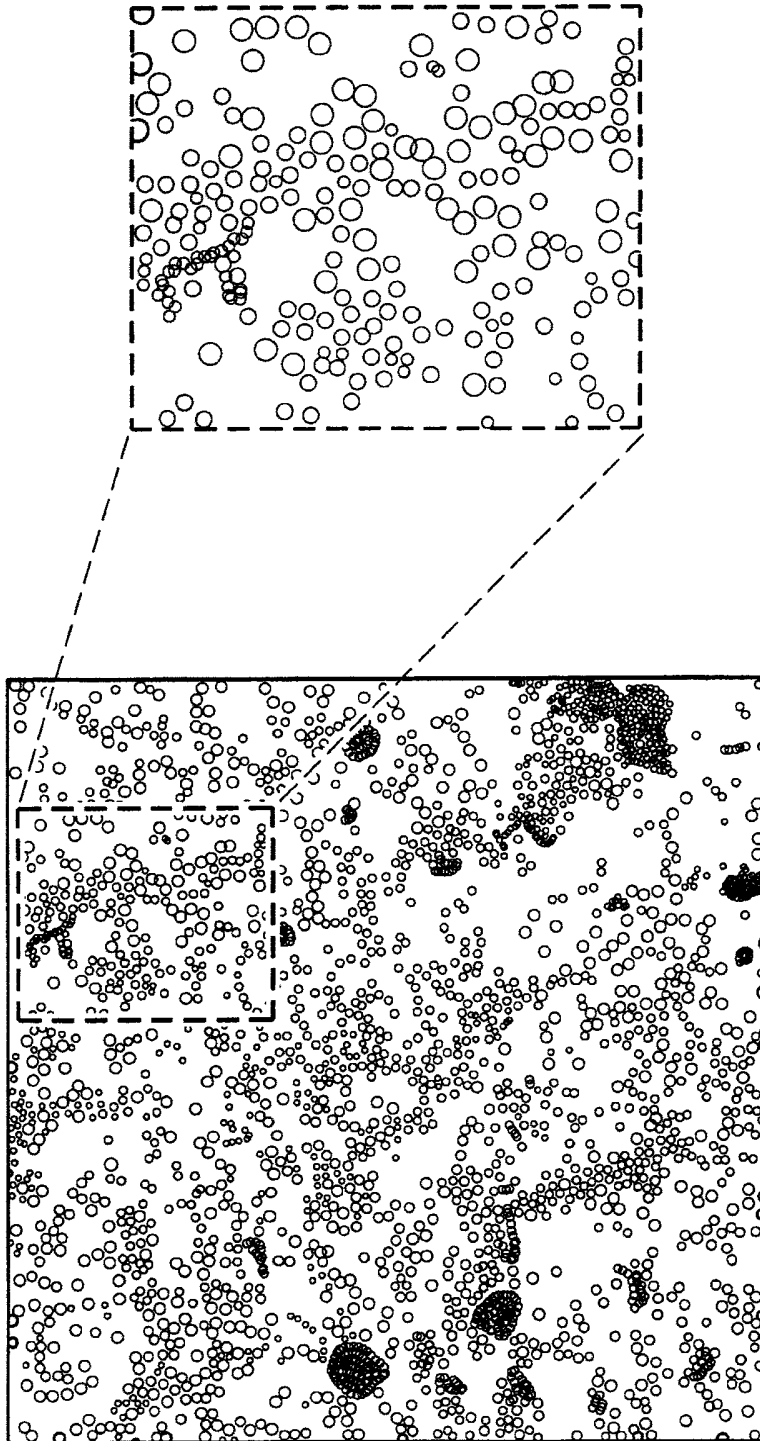


FIG. 3

4/17

BSP.	FORMULIERUNGSFAKTOREN	1	2	3	4
A	PLGA-KONZENTRATION (mg/ml)	10	10	10	10
B	LIPID ₁ /LIPID ₂ MOLVERHÄLTNIS	7:3	7:3	7:3	7:3
C	VOL.-VERHÄLTNIS ORGANISCH/AQ	1	1	1	1
D	ARZNEIMITTELLADUNG (mg)	1	1	1	1
E	(LIPID ₁ +LIPID ₂)-(mg)	2	4	6	8

FIG. 4A

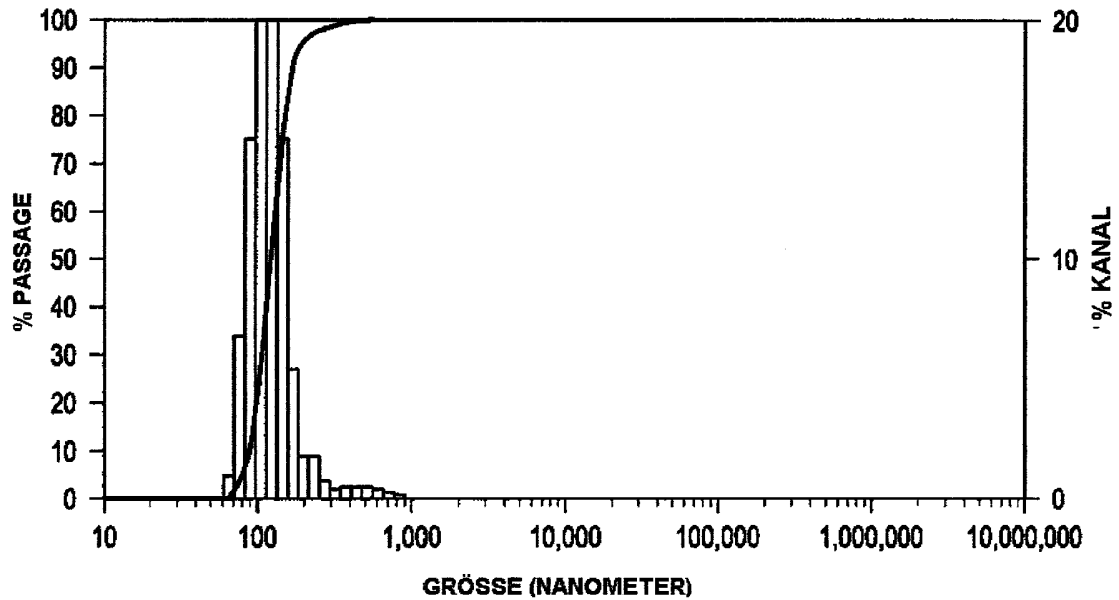


FIG. 4B

CHARGENNUMMER	DURCHSCHNITTLICHE PARTIKELGRÖSSE (nm)	ARZNEIMITTEL-LADUNG (%)	EINKAPSELUNGS-EFFIZIENZ (%)
1	138.0	0.5	10
2	117.2	0.6	12
3	142.7	1.0	20
4	103.6	0.3	6

FIG. 5

5/17

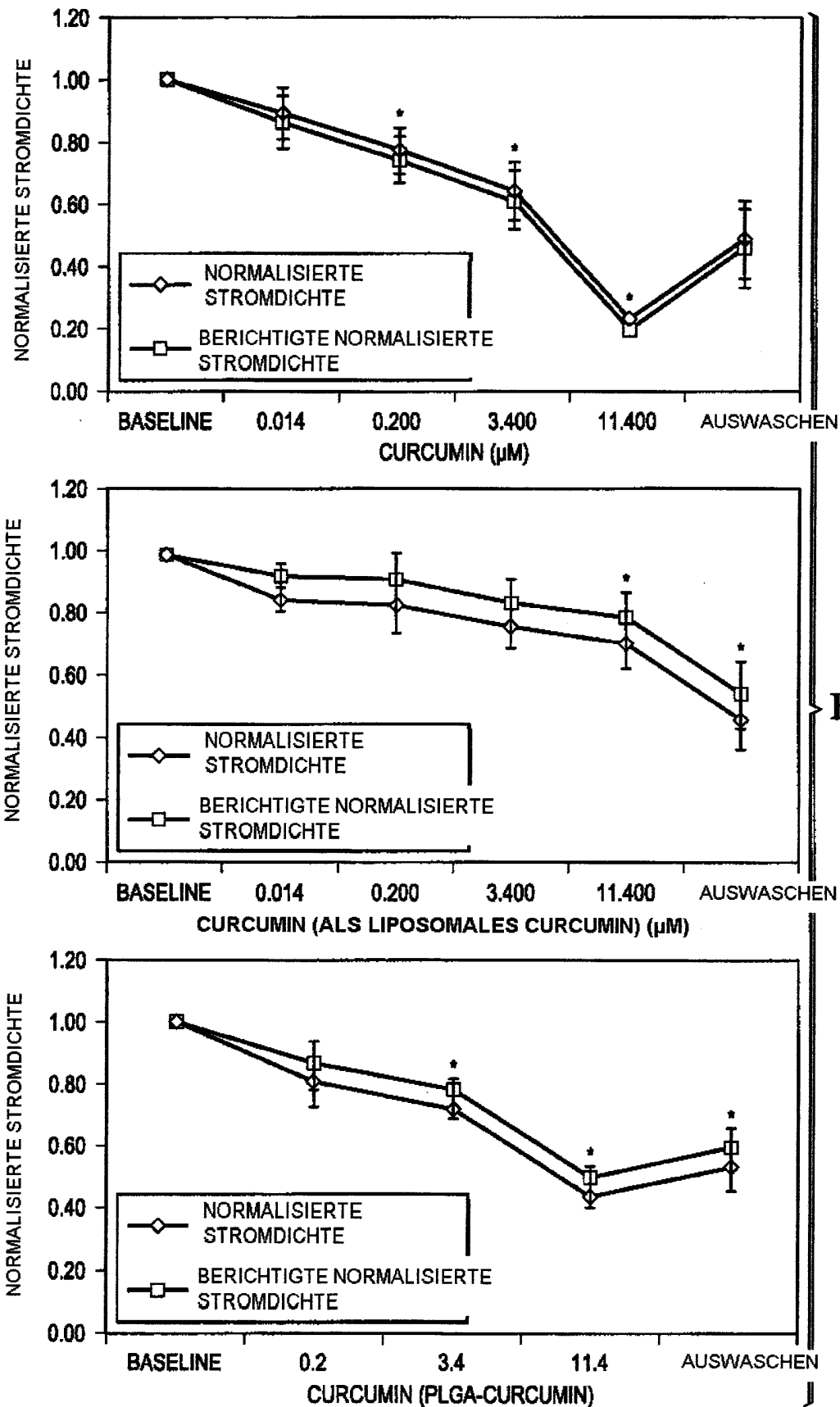


FIG. 6

6/17

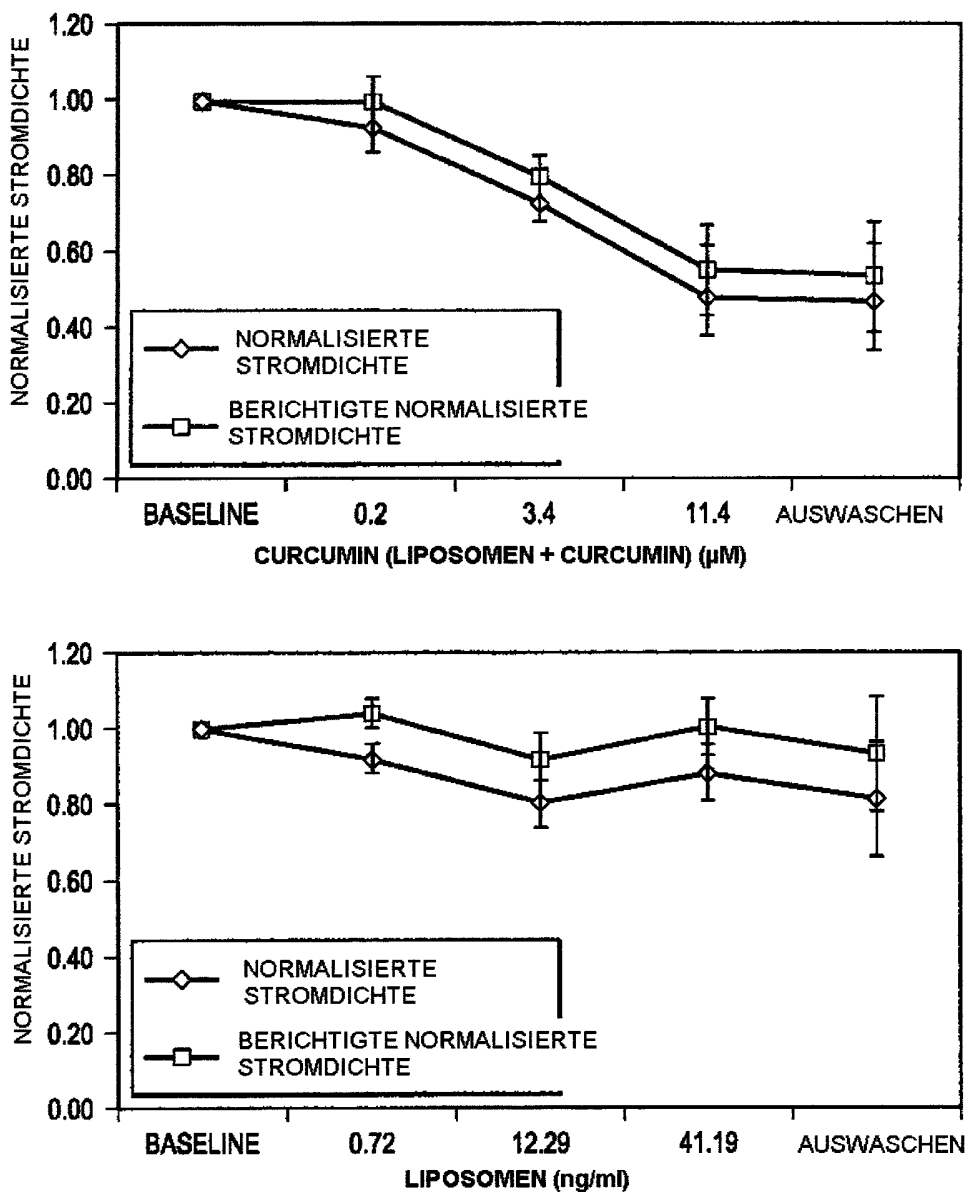


FIG. 7

00144

7/17

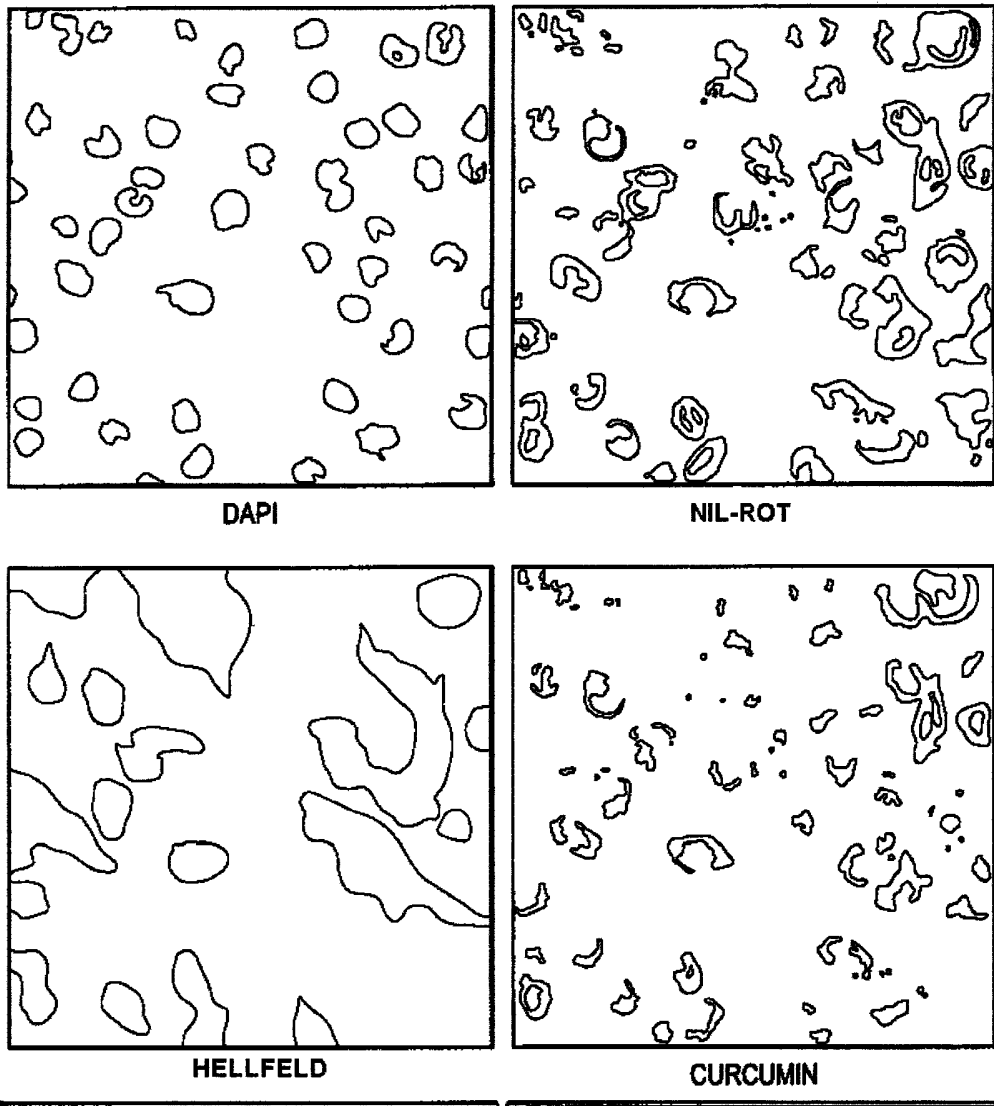


FIG. 8

00144

8/17

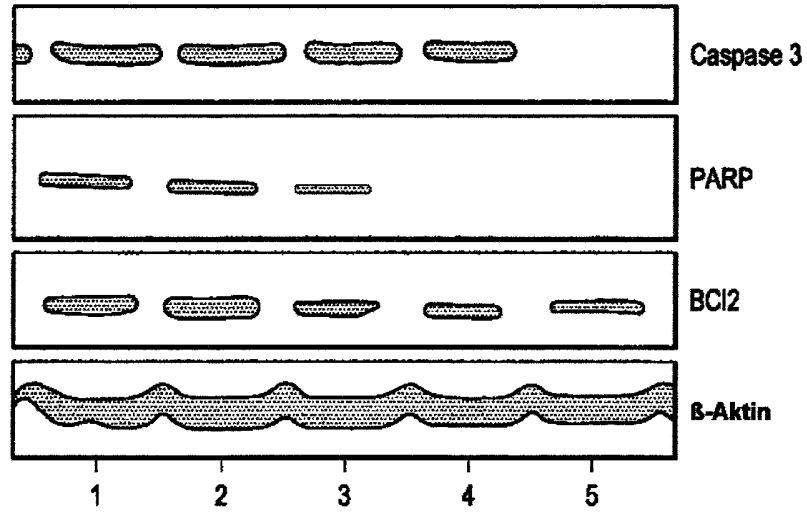


FIG. 9

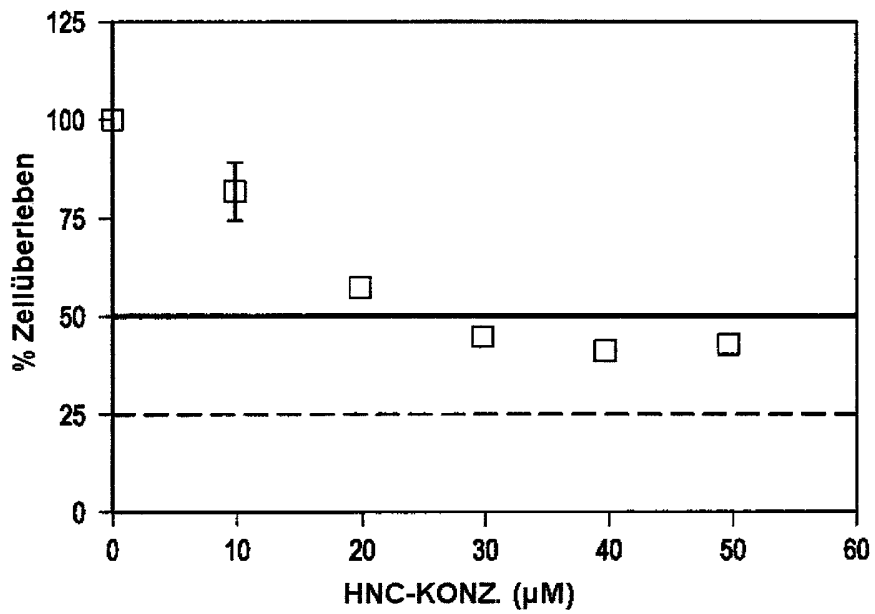


FIG. 10

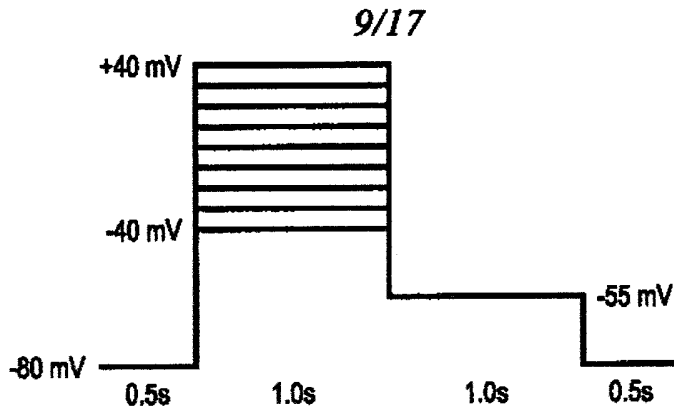


FIG. 11

	NORMALISIERTE STROMDICHTE	BERICHTIGTE NORMALISIERTE STROMDICHTE	SEM	p-Wert	n=
BASELINE	1.000	1.000	N/A	N/A	3
CHARGE A, 6 μ M	0.718	0.751	0.065	0.063	3
CHARGE A, 12 μ M	0.732	0.766	0.065	0.069	3
CHARGE A, 18 μ M	0.718	0.752*	0.030	0.014	3
AUSWASCHEN	0.439	0.473	0.027	0.175	2

FIG. 12

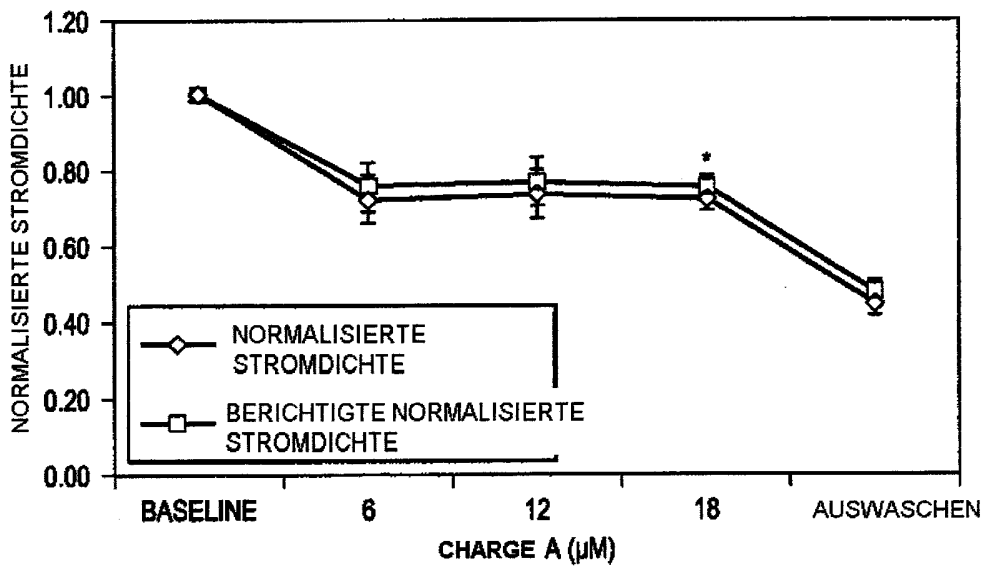
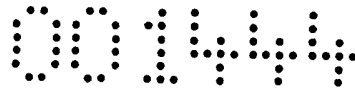


FIG. 13



10/17

FIG. 14

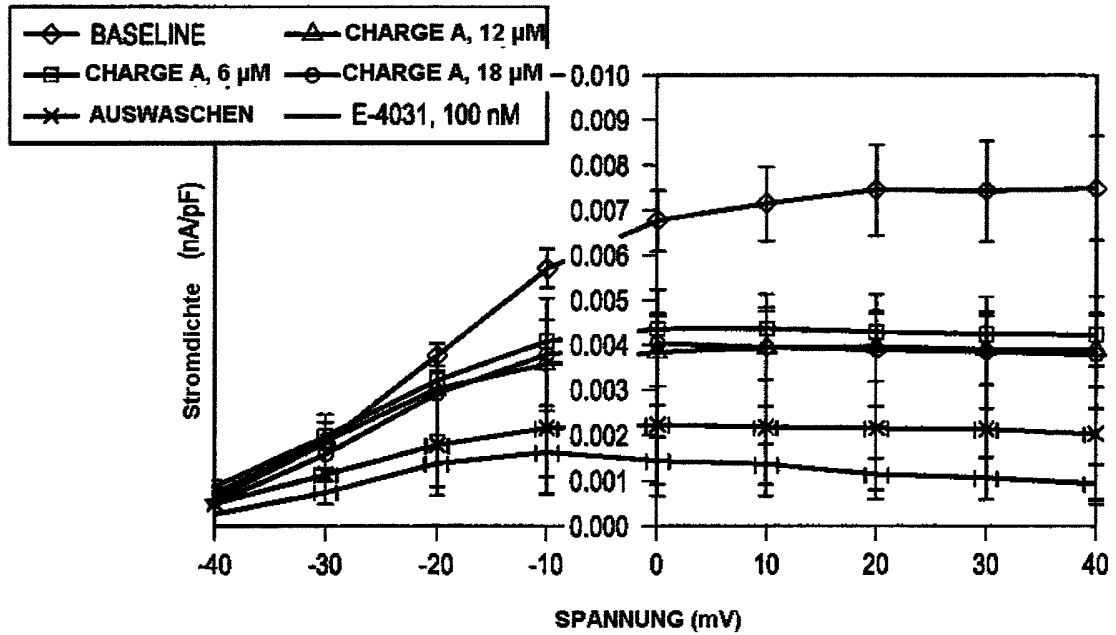


FIG. 15

	NORMALISIERTE STROMDICHTE	BERICHTIGTE NORMALISIERTE STROMDICHTE	SEM	p-Wert	n=
BASELINE	1.000	1.000	N/A	N/A	3
CHARGE B, 6 μM	0.840	0.873*	0.019	0.023	3
CHARGE B, 12 μM	0.877	0.911	0.133	0.572	3
CHARGE B, 18 μM	0.565	0.598*	0.092	0.022	4
AUSWASCHEN	0.460	0.493	0.086	0.473	2

00144

11/17

FIG. 16

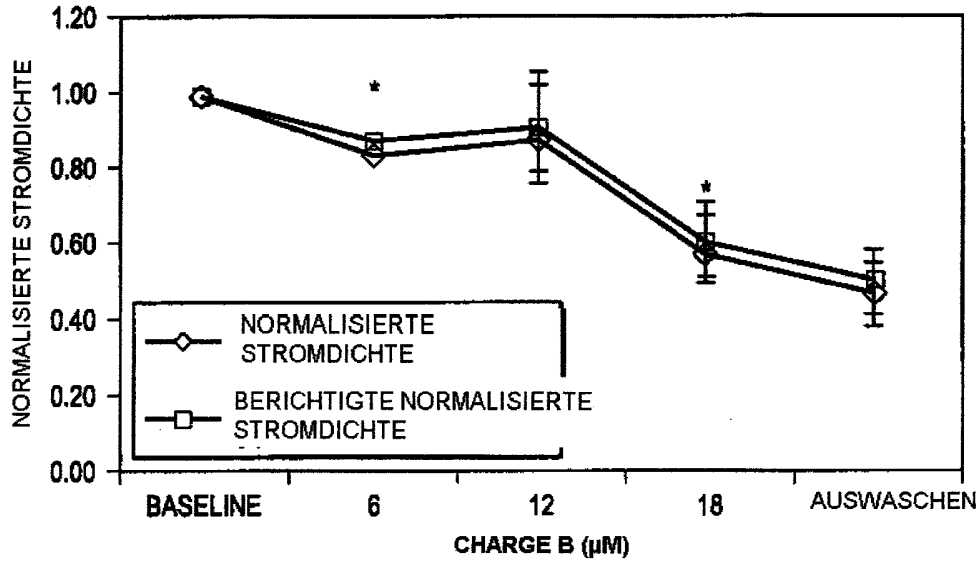
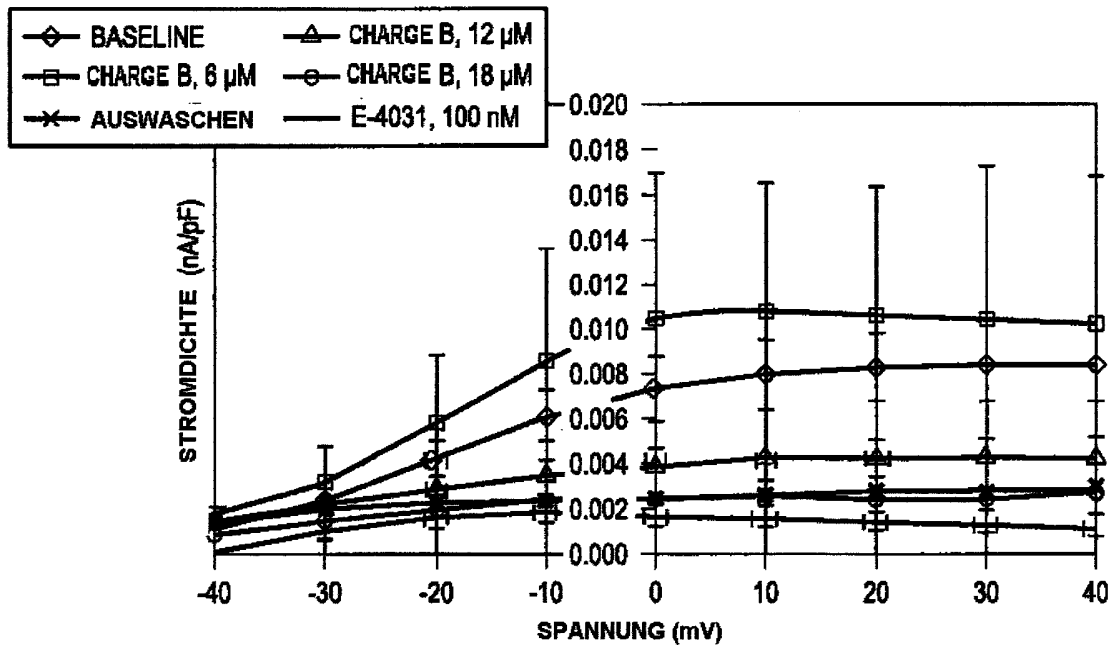


FIG. 17



12/17

FIG. 18

	NORMALISIERTE STROMDICHTE	BERICHTIGTE NORMALISIERTE STROMDICHTE	SEM	p-Wert	n=
BASELINE	1.000	1.000	N/A	N/A	3
CHARGE C, 6 μM	0.746	0.780*	0.039	0.029	3
CHARGE C, 12 μM	0.754	0.787*	0.030	0.019	3
CHARGE C, 18 μM	0.715	0.748*	0.045	0.031	3
AUSWASCHEN	0.470	0.503	0.057	0.053	2

FIG. 19

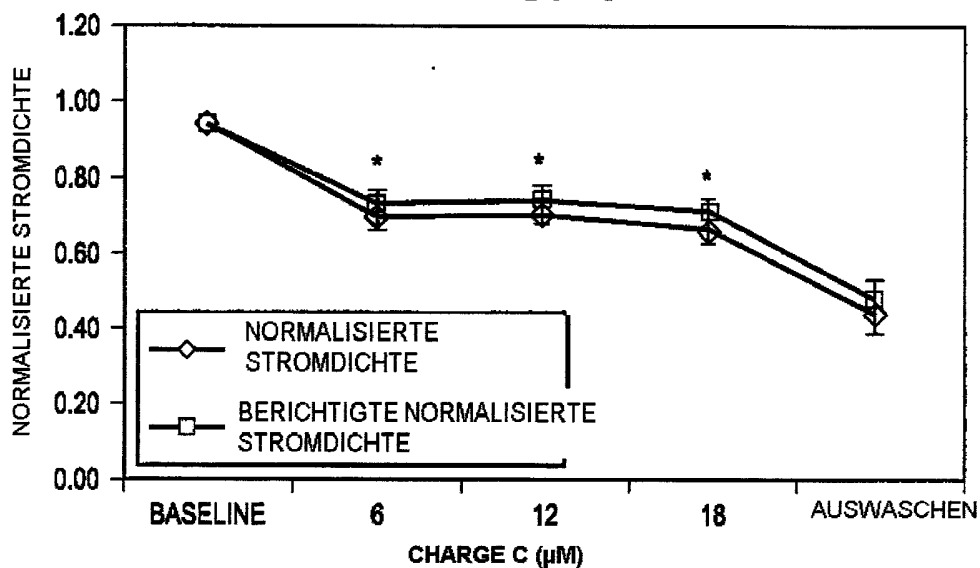


FIG. 20

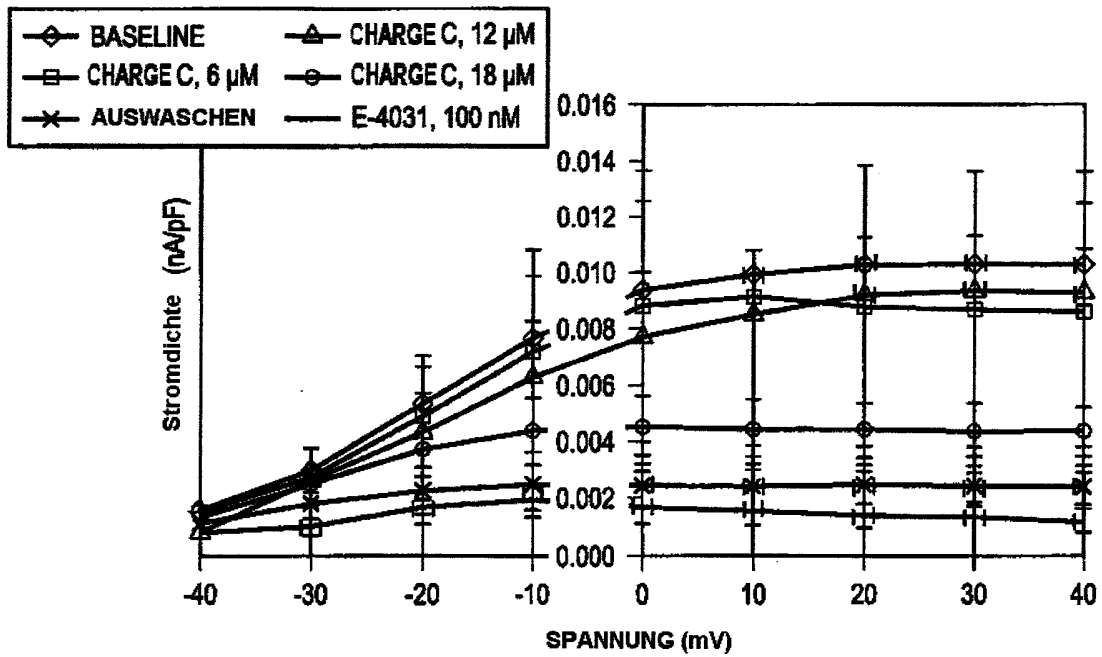


FIG. 21

	NORMALISIERTE STROMDICHTE	BERICHTIGTE NORMALISIERTE STROMDICHTE	SEM	p-Wert	n=
BASELINE	1.000	1.000	N/A	N/A	3
CHARGE D, 6 μM	0.566	0.664	0.094	0.070	3
CHARGE D, 12 μM	0.255	0.354*	0.046	0.005	3
CHARGE D, 18 μM	0.124	0.222*	0.012	0.000	3
AUSWASCHEN	0.277	0.376	0.131	0.485	2

001444

14/17

FIG. 22

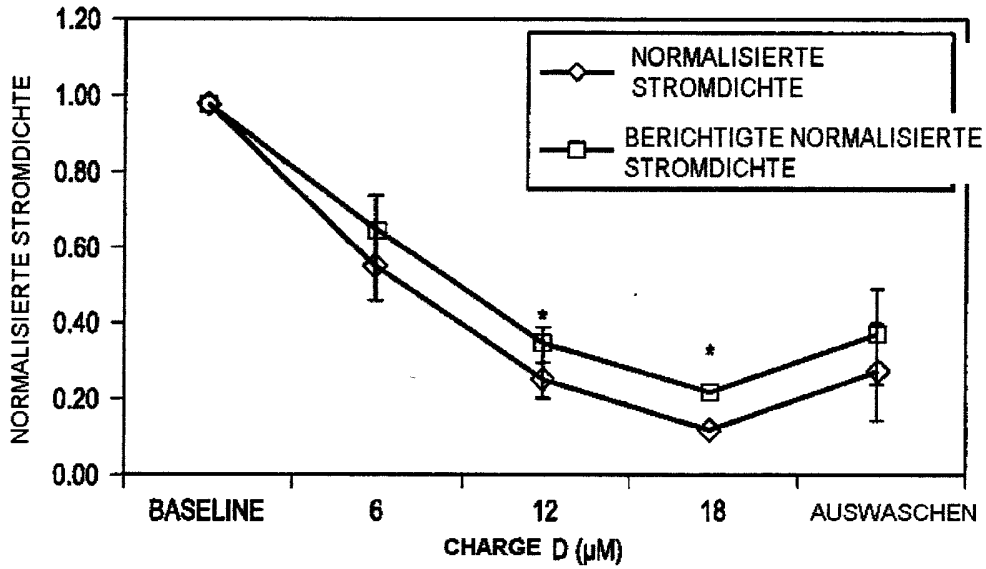
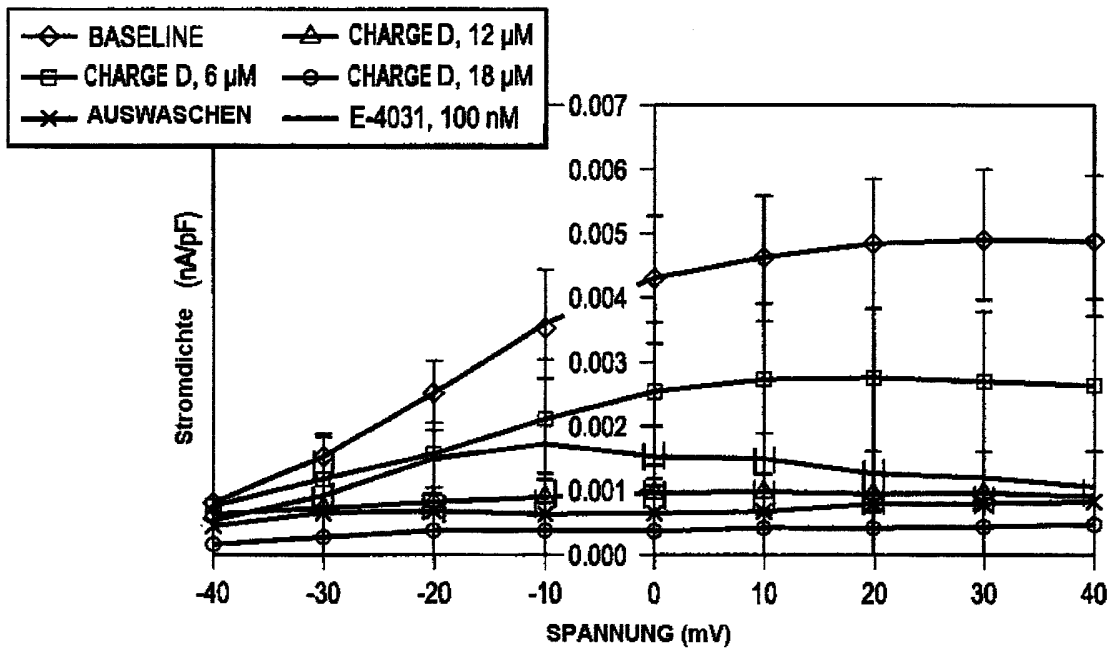
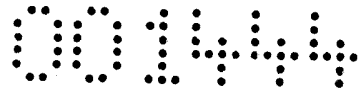


FIG. 23





15/17

FIG. 24

	NORMALISIERTE STROMDICHTE	BERICHTIGTE NORMALISIERTE STROMDICHTE	SEM	p-Wert	n=
BASELINE	1.000	1.000	N/A	N/A	3
CHARGE E, 6 μM	0.666	0.700*	0.041	0.018	3
CHARGE E, 12 μM	0.810	0.844	0.049	0.087	3
CHARGE E, 18 μM	0.813	0.847	0.070	0.161	3
AUSWASCHEN	0.628	0.662	0.181	0.275	2

FIG. 25

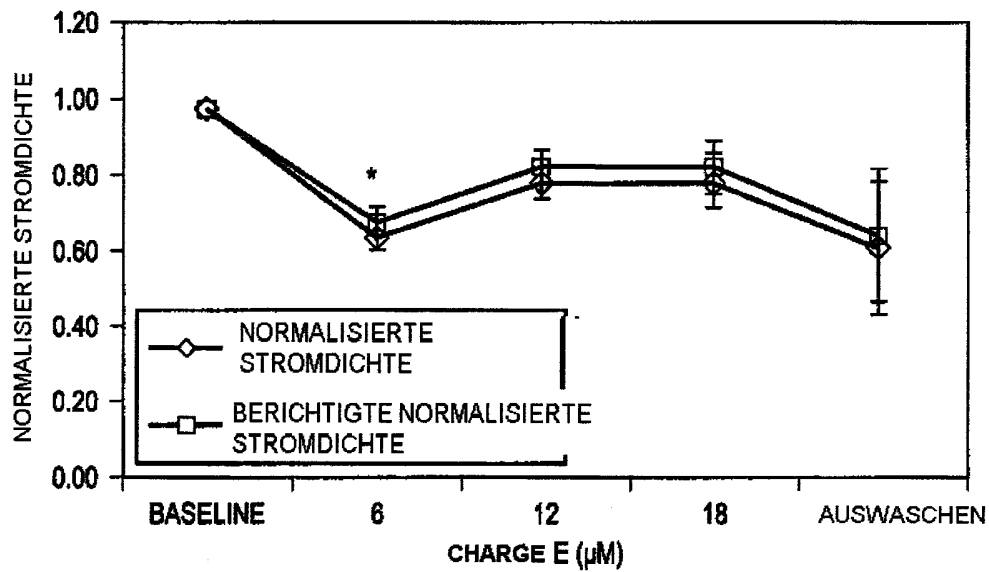


FIG. 26

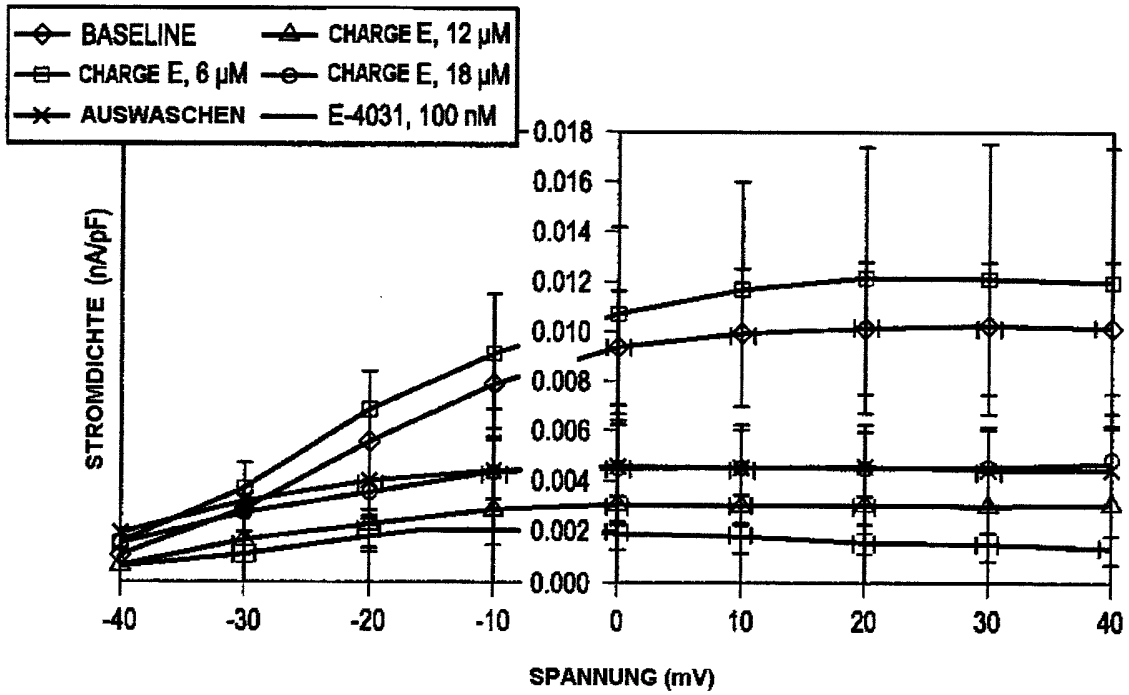


FIG. 27

GETESTETE VERBINDUNG	STATISTISCH SIGNIFIKANTE HEMMUNG AB (μM)	MAXIMALE HEMMUNG (%)	STATISTISCH SIGNIFIKANTE REVERSIBILITÄT DES AUSWASCHENS	BERECHNETER IC_{50} (μM)	SPANNUNGS-ABHÄNGIG
CHARGE A	18	24.8	NEIN	N/A	JA
CHARGE B	6	40.2	NEIN	N/A	JA
CHARGE C	6	25.2	NEIN	N/A	JA
CHARGE D	12	77.8	NEIN	8.5	JA
CHARGE E	NUR 6	30.0	NEIN	N/A	NEIN

17/17

WIRKSAMKEIT VON CURCUMIN-NANOFORMULIERUNGEN
BEI EINEM LUNGENKREBS(H460)-XENOTRANSPLANTAT-
MODELL

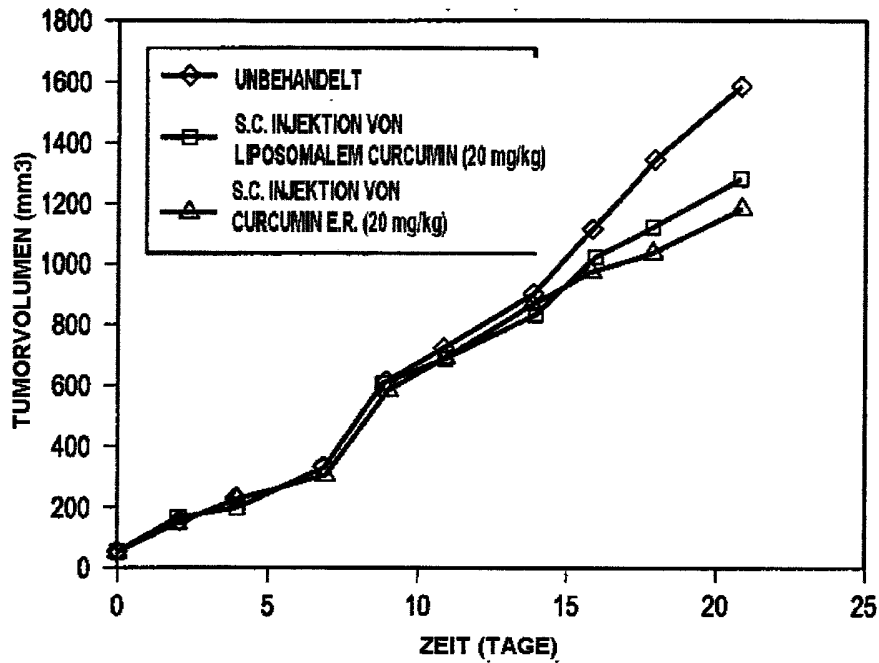


FIG. 28

WIRKSAMKEIT VON CURCUMIN-NANOFORMULIERUNGEN
BEI EINEM LUNGENKREBS(A549)-
XENOTRANSPLANTATMODELL

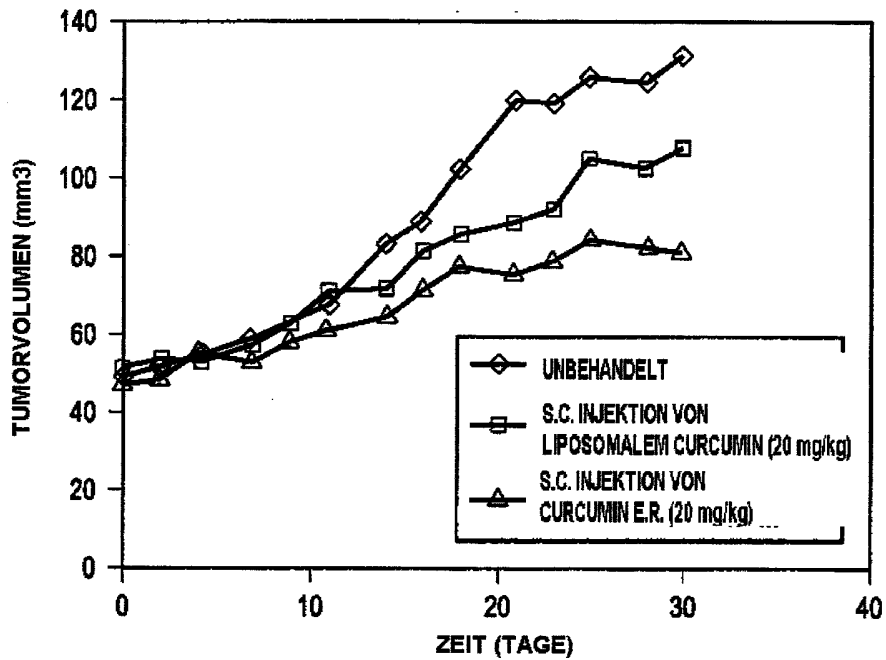


FIG. 29