



УКРАЇНА

(19) UA (11) 95088 (13) C2

(51) МПК (2011.01)

A61K 9/14 (2006.01)

A61K 31/337 (2006.01)

A61K 47/30 (2006.01)

A61P 35/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) КОМПОЗИЦІЯ, ЩО МІСТИТЬ НАНОЧАСТИНКИ ЗВ'ЯЗАНОГО З БІОСУМІСНИМ ПОЛІМЕРОМ ПРОТИРАКОВОГО АГЕНТА І ЗНИЖУЄ АЛОПЕЦІЮ ПРИ ХІМІОТЕРАПІЇ, СПОСІБ ЇЇ ОДЕРЖАННЯ

1

2

(21) а200806358

(22) 19.10.2006

(24) 11.07.2011

(86) PCT/IN2006/000427, 19.10.2006

(31) 1327/MUM/2005

(32) 21.10.2005

(33) IN

(31) 1081/MUM/2006

(32) 10.07.2006

(33) IN

(46) 11.07.2011, Бюл.№ 13, 2011 р.

(72) СІНГХ АМАРДЖІТ, IN, СІНГХ САРАБЖІТ, IN,
ГУПТА АДЖЕЙ К., IN, КУЛКАРНІ МАНГЕШ М., IN

(73) ПАНАСЕА БІОТЕК ЛТД., IN

(56) WO 00/71079 A, 30.11.2000

US 5 683 715 A, 04.11.1997

US 5 766 635 A, 16.06.1998

US 2004/0247660 A1, 09.12.2004

WEI JIA-SHEN ET AL: "Temperature- and Ph-
sensitive core-shell nanoparticles self-assembled
from poly(N-isopropylacrylamide-CO-acrylic acid-CO-
cholesteryl acrylate) for intracellular delivery of
anticancer drugs" FRONTIERS IN BIOSCIENCE, vol.
10, no. Suppl. S, September 2005 (2005-09), pages
3058-3067

OLIVIER ET AL: "Drug Transport to Brain with
Targeted Nanoparticles" JOURNAL OF THE
AMERICAN SOCIETY FOR
EXPERIMENTALNEUROTHEAPEUTICS, XX, XX,
vol. 2, no. 1, 1 January 2005 (2005-01-01), pages
108-119

KOO ET AL: "Role of nanotechnology in targeted
drug delivery and imaging: a concise review"
NANOMEDICINE: NANOTECHNOLOGY, BIOLOGY
AND MEDICINE, ELSEVIER, NL, vol. 1, no. 3, 1
September 2005 (2005-09-01), pages 193-212

(57) 1. Композиція для протиракової терапії зі зме-
ншеними викликами хіміотерапією побічними
ефектами, такими як алопеція, яка включає части-
нки:

а) принаймні одного протиракового медикаменту,
вибраного з-поміж паклітакселю та доцетакселю,
та

б) принаймні одного полімеру, який дозволяє кап-
сулювання, адсорбування або кон'югування меди-
каменту, вибраного з-поміж альбуміну та полі(d,l-
молочної кислоти-когліколевої кислоти) (PLGA),
причому вказані частинки мають мінімальний роз-
мір частинок принаймні 120 нм та максимальний
розмір принаймні 350 нм.

2. Композиція за п. 1, яка не містить вільного ме-
дикаменту, а медикамент повністю зв'язаний з
полімером(ами).

3. Композиція за п. 1, у якій частинки мають спів-
відношення гранулометричного складу D90/D10
менше за 4,0, бажано D90/D10 менше за 3,0, і
більш бажано D90/D10 менше за 2,0.

4. Композиція за п. 1, яка включає від приблизно
0,5 % до приблизно 99,5 % за масою протираково-
го медикаменту і від приблизно 2,0 % до прибли-
зно 99,0 % за масою полімеру(ів).

5. Композиція за п. 1, у якій протираковий меди-
камент являє собою паклітаксель та полімер являє
собою альбумін.

6. Композиція за п. 1, яка додатково включає чут-
ливий до температури та/або рН полімер, виба-
раний з групи, до якої входять: полі(N-
ацетилакриламід), полі(N-ізопропілакриламід),
полі(N-ізопропілакриламід-коакриламід), полівіні-
ловий спирт, поліетиленгліколь, поліакриламід,
полі(метакриламід) та подібні.

7. Композиція за п. 6, у якій чутливий до темпера-
тури та/або рН полімер являє собою полі(N-
ізопропілакриламід).

8. Композиція за п. 4, яка додатково включає чут-
ливий до температури та/або рН полімер у кілько-
сті від приблизно 0,5 % до приблизно 99,0 %, від
приблизно 1,0 % до приблизно 95,0 % або від при-
близно 2,0 % до приблизно 90,0 % за масою ком-
позиції.

9. Композиція за п. 1, яка являє собою колоїдну
систему доставляння.

10. Композиція за п. 9, де колоїдна система доста-
вляння є ліофілізованою.

(13) C2

(11) 95088

(19) UA

11. Композиція за п. 9, де колоїдна система доставляння є такою, що частинки суспендовані у біосумісній водній рідині.

12. Композиція за п. 1, яка включає паклітаксел у кількості від приблизно 0,5 % до приблизно 99,5 %, полі(d,l-молочну-когліколеву кислоту) у кількості від приблизно 2,0 % до приблизно 99,0 %, та, необов'язково, полі(N-ізопропілакриламід) у кількості від приблизно 2,0 % до приблизно 90,0 %, та один або кілька фармацевтично прийнятних носіїв або їх комбінації у кількості від приблизно 0,01 % до приблизно 99,9 % за масою композиції.

13. Композиція для протиракової терапії зі зменшеними викликаними хіміотерапією побічними ефектами, такими як алопеція, яка включає частинки:

а) принаймні одного протиракового медикаменту, вибраного з-поміж таксанів та їх похідних, 5-фтороурацилу, доксорубіцину, даунорубіцину, цисплатину, карбоплатину, оксаліплатину, та

б) принаймні одного полімеру, який дозволяє капсульвання, адсорбування або кон'югування медикаменту, вибраного з-поміж альбуміну, полі(d,l-молочної кислоти-когліколевої кислоти) (PLGA), полі(ε-капролактону), полі(β-гідроксибутирату), співполімерів полі(гідроксивалерату) та (β-гідроксибутиратогідроксивалерату), амфіфільних блок-полімерів полімолочної кислоти-поліетиленоксиду, поліангідридів, поліортоестерів, поліамінокислот, блок-співполімерів поліетиленоксиду-поліпропіленоксиду, поліакрилатів, де вказані частинки мають $D_{10} \geq 120$ нм, D_{50} приблизно 200 нм і $D_{90} \leq 350$ нм.

14. Композиція за п. 13, у якій частинки мають $D_{10} \geq 140$ нм, D_{50} приблизно 200 нм і $D_{90} \leq 260$ нм.

15. Композиція за п. 13, у якій протираковий медикамент являє собою таксани та їх похідні.

16. Композиція за п. 13, у якій таксан вибраний з паклітакселю та доцетакселю.

17. Композиція за п. 13, у якій полімер являє собою альбумін.

18. Композиція за п. 13, у якій протираковий медикамент являє собою паклітаксель та полімер являє собою альбумін.

19. Композиція за п. 13, яка включає паклітаксел у кількості від приблизно 0,5 % до приблизно 99,5 %, альбумін у кількості від приблизно 2,0 % до приблизно 99,0 %, та, необов'язково, полі(N-ізопропілакриламід) у кількості від приблизно 2,0 % до приблизно 90,0 %, та один або кілька фармацевтично прийнятних носіїв або їх комбінації у кількості від приблизно 0,01 % до приблизно 99,9 % за масою композиції.

20. Спосіб одержання композиції для протиракової терапії за п. 1 або п. 13, який включає етапи

(i) змішування принаймні одного протиракового медикаменту з принаймні одним полімером у розчиннику;

(ii) необов'язково здійснення етапу (i) у присутності одного або кількох фармацевтично прийнятних носіїв;

(iii) одержання наночастинок шляхом видалення розчинника.

21. Композиція за п. 1 або п. 13 для застосування у лікуванні ссавця протираковою терапією, яке включає етап введення ссавцеві терапевтично ефективної кількості зазначеної композиції, у якій не міститься вільного медикаменту, а медикамент практично зв'язаний з полімером(ами).

22. Композиція за п. 1 або п. 13 для застосування у зменшенні викликані хіміотерапією алопеції в результаті протиракової терапії у ссавця, якого піддають лікуванню протираковими медикаментами, що передбачає введення ссавцеві терапевтично ефективної кількості композиції, у якій не міститься вільного медикаменту, а медикамент повністю зв'язаний з полімером(ами).

Даний винахід стосується нових і поліпшених композицій протиракових медикаментів. Він стосується нових і поліпшених композицій для протиракової терапії, які мають значно знижені викликані хіміотерапією побічні ефекти.

Даний винахід стосується нових і поліпшених композицій протиракових медикаментів, які включають, крім інших, алкілюючі агенти, антиметаболіти, антибіотичні протиракові агенти, рослинні алкалоїди, антрацендіони, природні продукти, гормони, антагоністи гормонів, різні агенти, радіосенсибілізуючі засоби, платинові координаційні комплекси, адренкортикальні супресанти, імунодепресивний агент, функціональні терапевтичні агенти, генні терапевтичні агенти, антисмисловий терапевтичний агент, інгібітор тирозинкінази, моноклональне антитіло, імунотоксин, радіоімунокон'югат, протиракова вакцина, інтерферон, інтерлейкін, заміщені сечовини, таксани та інгібітори COX-2.

Даний винахід стосується нових і поліпшених композицій протиракових медикаментів, в оптима-

льному варіанті - таксанів, таких, як паклітаксел та доцетаксел, їх похідних та аналогів, способів одержання цих композицій та способів лікування онкохворих пацієнтів з застосуванням цих композицій.

Даний винахід стосується нових і поліпшених композицій протиракових медикаментів, в оптимальному варіанті - таксанів, таких, як паклітаксел та доцетаксел, їх похідних та аналогів, способів одержання цих композицій та способів фракціонування частинок у конкретному гранулометричному діапазоні та способів лікування онкохворих пацієнтів з застосуванням цих композицій, які забезпечують зменшення викликаних хіміотерапією побічних ефектів, зокрема, зменшення викликані хіміотерапією алопеції. Композиція є такою, що практично не містить не зв'язаного з білками плазми крові медикаменту.

Нові й поліпшені композиції протиракових медикаментів, в оптимальному варіанті - таксанів таких, як паклітаксел та доцетаксел, їх похідних та аналогів, є колоїдними системами доставлення

для протиракової терапії з радикальним зниженням викликаної хіміотерапією алопеції, приготовленими у заданому діапазоні гранулометричного складу, практично без зв'язаного з білками плазми крові медикаменту у складі.

Рівень техніки

На даний час було розроблено багато різних протиракових агентів для лікування від різних типів раку у ссавців, і дедалі новіші агенти розробляються як хіміотерапевтичні засоби, причому дослідження спрямовуються на розробку пухлиноспецифічних протиракових агентів при підвищенні ефективності проти резистентних до медикаментів пухлин. Новітні клінічні протоколи включають комбінування протиракових медикаментів для забезпечення підвищеної терапевтичної ефективності. Продовжуються нові відкриття, але на даний час хіміотерапевтичні агенти, такі, як 5-Fluороурацил (5FU), доксорубіцин та таксани, є головними засобами терапії для пацієнтів з різними видами раку, включаючи рак яєчника, молочної залози, легенів, товстої кишки, передміхурової залози, голови та шиї, шийки матки, головного мозку та інші.

Однак застосування цих та інших медикаментів обмежується через пов'язану з ними токсичність, що викликає нудоту, мієлосупресію, алопецію, блювоту та стоматит, а також кардіотоксичність.

З-поміж усіх цих вищезгаданих проявів токсичності алопеція (або облісіння) через хіміотерапію є одним з найбільш згубних і травматичним побічних ефектів для онкохворих пацієнтів, оскільки вона викликає депресію, втрату впевненості в собі та відчуття приниження у чоловіків та жінок будь-якого віку. Деякі пацієнти відмовляються проходити лікування через фізичні та емоційні побоювання у зв'язку з пов'язаною з лікуванням алопецією. Облісіння має значний вплив на психологічний стан пацієнта і є серйозною проблемою, яка впливає на якість життя пацієнта. Існує нагальна потреба у забезпеченні типу протиракового лікування з радикальним зниженням викликаної хіміотерапією алопеції.

Таксани є протираковими цитотоксичними засобами, які стабілізують клітинні мікроканальці. До таксанових сполук, які застосовують у композиціях та способах, описаних авторами, належать паклітаксел та доцетаксел, а також їх природні та синтетичні аналоги, які мають протиракову або протангіогенну активність. Паклітаксел та доцетаксел мають суттєву активність, і один або обидва з цих агентів широко застосовують як компоненти терапії при поширених карциномах молочної залози, легенів та яєчника.

Доцетаксел є протипухлинним агентом, який належить до родини таксоїдів. Його одержують шляхом напівсинтезу, з вихідного прекурсора, екстрагованого з відновлюваної біомаси хвої тису. Taxotere® є стерильним концентратом доцетакселу для ін'єкцій, який випускається в однодозових флаконах, які містять доцетаксел та полісорбат 80 для внутрішньовенного введення після розведення розріджувачем, таким, як етанол у воді для ін'єкцій, і призначається для лікування пацієнтів з міс-

цево поширеним або метастатичним раком молочної залози після невдалої попередньої хіміотерапії. TAXOTERE у комбінації з доксорубіцином та циклофосфамідом є показаним для ад'ювантного лікування пацієнтів з операбельним раком молочної залози з регіонарними метастазами.

Паклітаксел, який належить до класу таксанів серед хіміотерапевтичних агентів, широко застосовується протягом багатьох років у внутрішньовенних формах для лікування від раку молочної залози та яєчника або недрібноклітинної карциноми легенів (NSCLC). Крім величезного потенціалу, який паклітаксел продемонстрував як протипухлинний медикамент, клінічні проблеми з розчинністю, токсичністю, низькою біодоступністю та виробленням резистентності до ліків є достатньо серйозними, тому дуже чітко постає потреба у композиціях похідних або аналогів паклітакселу з кращою терапевтичною ефективністю та меншою токсичністю.

Паклітаксел (Taxol®) виробляється у формі розчину для внутрішньовенної інфузії у носії, який складається з Cremophor® EL, який викликає токсичні ефекти, такі, як небезпечна для життя анафілаксія. Ця композиція паклітакселу у Cremophor/етанолі осаджується після розведення інфузійною рідиною, і в деяких композиціях утворюються волокнисті осадки під час зберігання протягом тривалого періоду часу. Додаткову інформацію стосовно композицій паклітакселу у Cremophor можна знайти у публікації Agharkar et al., Патент США № 5,504,102.

Нещодавно запроваджений Abraxane® являє собою зв'язані білком частинки паклітакселу для суспензії для ін'єкцій. Він є зв'язаною альбуміном формою паклітакселу, яка швидко розпадається у печінці для вивільнення незв'язаного медикаменту, який потім циркулює у крові для викликання первісної терапевтичної реакції, однак він також виявляє токсичні побічні ефекти, такі, як повне облісіння, інфекції через низьке число лейкоцитів, стомлюваність, слабкість та запалення і т. ін. Повне облісіння або алопеція майже завжди відбувається при цих дозованих формах паклітакселу. Воно зазвичай включає втрату брів, вій, лобкового волосся, а також волоссяного покриву голови.

У багатьох патентах США згадується цей продукт Abraxane®, включаючи патенти США №№ 5,439,686; 5,498,421; 5,560,933; 5,665,382; 6,096,331; 6,506,405; 6,537,579; 6,749,868 та 6,753,006.

Згідно з винаходом, у вищезгаданих патентах пропонуються композиції та способи, які можуть бути застосовані для *in vivo* доставлення нерозчинних у воді фармакологічно активних агентів (таких, як протираковий медикамент паклітаксел), у яких активний агент доставляється у формі суспендованих частинок, зв'язаних або вкритих білком (який діє як стабілізуючий агент). У цих винаходах робилися спроби забезпечення поліпшених лікарських білкових мікросфер для доставлення практично нерозчинних у воді активних агентів у водних суспензіях для парентерального введення, які не викликають алергічних реакцій, які викликаються через присутність емульгаторів та солюбілі-

затворів, таких, як Cremophor, які застосовують у таксол.

У Патенті США № 5,439,686 винахідниками було виявлено, що практично нерозчинні у воді фармакологічно активні агенти можуть доставлятися у формі мікрочастинок, які є придатними для парентерального введення у водній суспензії. Композиції згідно з винаходом включають практично нерозчинні у воді активні агенти (як тверду речовину або рідину), які містяться у полімерній оболонці, полімерна оболонка є біосумісним полімером, зшитим через наявність дисульфідних зв'язків.

У Патенті США № 5,560,933 заявляється спосіб одержання вищезгаданої композиції згідно з винаходом, у формулі вказується "Спосіб одержання практично нерозчинного у воді фармакологічно активного агента для *in vivo* доставлення, вищезгаданий спосіб включає піддавання суміші, яка включає диспергатор, який містить диспергований у ньому вищезгаданий фармакологічно активний агент, та водне середовище, яке містить біосумісний полімер, який може бути зшитий дисульфідними зв'язками, обробці ультразвуком протягом часу, достатнього для сприяння зшиванню вищезгаданого біосумісного полімеру дисульфідними зв'язками для створення полімерної оболонки, яка містить фармакологічно активний агент".

У Патенті США № 6,506,405 заявляється композиція паклітакселу для лікування первинних пухлин у суб'єкта, яка досягає високої місцевої концентрації вищезгаданого паклітакселу у місці пухлини, причому композиція є практично вільною від кремофору. За словами авторів винаходу '405, їх композиція, що містить альбумін і є вільною від кремофору, має знижену церебральну або неврологічну токсичність порівняно з композицією таксолу серійного виробництва, яка містить кремофор.

Патент США № 6,749,868 пропонує систему доставлення ліків, в якій частина молекул фармакологічно активного агента є зв'язаною з білком (наприклад, альбумін людської сироватки) і, таким чином, є біодоступною безпосередньо після введення ссавцеві, а інша частина фармакологічно активного агента міститься у наночастинках, вкритих білком. Вкриті білком наночастинки медикаменту виготовляють, застосовуючи високе зсувне зусилля за відсутності традиційних поверхнево-активних речовин для одержання частинок з діаметром, меншим за приблизно 1 мікрон, які потім фільтрують у стерильних умовах для забезпечення стерильних твердих композицій, придатних для внутрішньовенної ін'єкції.

У вищезгаданих патентах, які стосуються Abрахане®, пропонується спосіб введення паклітакселу, вкритого білком (на зразок альбуміну), причому вищезгадане білкове покриття також містить вільний асоційований білок, таким чином, щоб частина активного агента містилась у білковому покритті, а частина активного агента була асоційована з вільним білком для того, що бути доступною безпосередньо після введення. Середній діаметр вищезгаданих частинок, описаних у вищезгаданих заявках існуючого рівня техніки, є не більшим за

приблизно 1 мікрон, причому композиція складається з частинок з розміром 10-200 нм, які одержують при фільтрації цих дрібних частинок у стерильних умовах крізь 0,22-мікронний фільтр. Насамперед застосуванням зв'язаних з альбуміном частинок медикаменту (альбумін є біосумісним матеріалом) винахідники пояснюють зниження токсичності, такої, як мієлосупресія та/або нейротоксичність фармакологічно активного агента, такого, як паклітаксел, порівняно з існуючим таксолем, який включає кремофор і є пов'язаним з алергічними реакціями та іншими видами токсичності.

Але в жодному з вищезгаданих патентів не описується й не забезпечується спосіб одержання композиції паклітакселу, причому композиція має вузький діапазон розмірів і практично не містить незв'язаного медикаменту, для забезпечення протиракової терапії з радикально зниженою викликовою хіміотерапією алопецією, яка є одним з найважливіших побічних ефектів, від яких страждають онкохворі пацієнти. Вищезгадані патенти, які стосуються продукту Abрахане® серійного виробництва, пропонують продукт, який дозволяє уникати викликання алергічних реакцій через уникнення необхідності в емульгаторах, таких, як кремофор, і забезпечують стійкі, стерилізовані мікрочастинкові або наночастинкові системи доставлення для практично нерозчинного у воді активного агента, такого, як паклітаксел, але не забезпечують композицію паклітакселу, яка не призводить або майже не призводить до побічних ефектів, таких, як алопеція або облисіння. У вкладиші до Abрахане® під пунктом "ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ ПАЦІЄНТА" вказується на облисіння як один із суттєвих побічних ефектів, які спостерігаються в дослідженнях пацієнтів, які приймають Abрахане®. Вказується, що повне облисіння або алопеція майже завжди трапляється при прийманні Abрахане®.

Існує публікація, яка стосується дослідження чутливих до температури та pH наночастинок паклітакселу ядра та оболонки для внутрішньоклітинного доставлення, Yang et al., Front Biosci. 2005 Sep 1; 10:3058-67, у якій описується інкапсуляція паклітакселу чутливим до температури та pH амфіфільним полімерним полі(N-ізопропілакриламід-ко-акрилової кислоти-ко-холестерил акрилатом) (P(NIPAAm-ко-AA-ко-CHA)) для утворення наночастинок. Однак у цій публікації про дослідження не обговорюються і не згадуються способи одержання цих порошкоподібних композицій та фракціонування частинок у конкретному гранулометричному діапазоні і практично без незв'язаного медикаменту, які були б прийнятними для забезпечення композиції з радикальним зниженням викликової хіміотерапією алопеції у онкохворих пацієнтів.

Патент США № 5,399,363 стосується поверхнево-модифікованих протиракових наночастинок, причому частинки складаються здебільшого з кристалічного протиракового агента, який має модифікатор поверхні, які в оптимальному варіанті є неіонною або аніонною поверхнево-активною речовиною, адсорбованою у поверхню для підтримання ефективного середнього розміру частинок, меншого, ніж приблизно 1000 нм. Застосування

поверхнево-активних речовин саме по собі збільшує токсичність композиції. Застосування конкретного діапазону гранулометричного складу композиції наночастинок паклітакселу, яка містить біодеградовані полімери для досягнення зниження конкретних викликаних хіміотерапією побічних ефектів, наприклад, зменшення алопеції, у винаході '363 не демонструється і не передбачається. Винахід '363 конкретно стосується незшитих модифікаторів поверхні, абсорбованих у поверхню кристалічних протиракових медикаментів.

У Патенті США № 6,136,846 заявляється композиція для доставлення паклітакселу *in vivo*, яка включає паклітаксел, розчинник, такий, як етанол або пропіленгліколь, та змішуваний з водою солюбілізатор, такий, як естерифікований d- α -токоферол сукцинат кислоти. Оскільки дослідження до винаходу '846 були спрямовані на рецептування нерозчинних медикаментів, таких, як паклітаксел, з застосуванням 50% кремофору та 50% дегідратованого спирту, і ці композиції осаджуються після розведення інфузійною рідиною, є нестійкими при зберіганні і викликають несприятливі реакції, тому винахід '846 було спрямовано на забезпечення поліпшеної композиції паклітакселу з застосуванням змішуваних з водою солюбілізаторів, відмінних від кремофору, для забезпечення композицій з поліпшеною довготривалою стійкістю та безпечністю.

Публікація РСТ WO 2004/084871 стосується наночастинок полі(молочної-ко-гліколевої кислоти) та полі(молочної кислоти) (PLA), які інкапсулюють низькомолекулярний і водорозчинний медикамент і доставляють медикамент до заданих місць, де частинки поступово вивільнюють медикамент протягом тривалого періоду часу. По суті винахід WO '487 стосується перетворення низькомолекулярного, водорозчинного і непептидного медикаменту на гідрофобний медикамент через його взаємодію з іоном металу з наступною інкапсуляцією гідрофобізованого медикаменту у наночастинки PLGA або PLA та адсорбцією поверхнево-активної речовини у поверхню частинок. Цей патент не стосується, і в ньому не згадується про протиракові медикаменти, такі, як паклітаксел та інші, і він не забезпечує композицію, яка має зменшені викликані хіміотерапією побічні ефекти.

Публікація про дослідження Fonseca et al. у "Journal of Controlled Release 83 (2002) 273-286" стосується розробки полімерної системи доставлення ліків для паклітакселу, такої, як завантажені паклітакселем наночастинки полі(молочної-ко-гліколевої кислоти) для внутрішньовенного доставлення, яка здатна поліпшувати терапевтичний індекс медикаменту і є позбавленою побічних ефектів, викликаних через Cremophor EL. У цій публікації та у більшості інших попередніх описів отримані частинки мають розмір, менший за 200 нм. Автори не пропонують композицію, яка не містить незв'язаного медикаменту і має конкретний визначений діапазон гранулометричного складу, що має своєрідну несподівану перевагу з точки зору авторів даного винаходу.

У Заявці США № 20060041019 заявлено агент для інгібування облісіння, викликаного протипух-

линним агентом, причому агент є сумішшю циклічних та/або лінійних полімолочних кислот, які мають ступінь конденсації від 3 до 20. В оптимальному варіанті суміш циклічних та/або лінійних полімолочних кислот, з точки зору авторів заявки '019, є сумішшю полімолочних кислот, яку утворюють шляхом полімеризації лактиду у присутності сполуки, представленої формулою (3): Me-N(R.sup.1) (R.sup.2), де Me представляє лужний метал, і кожен з R.sup.1 та R.sup.2 незалежно представляє аліфатичну групу або ароматичну групу.

Таким чином, виявляється, що в жодному з джерел існуючого рівня техніки не пропонується композиція та спосіб одержання таких композицій протиракових медикаментів, таких, як паклітаксел, доцетаксел та інші, з суттєвим зниженням пов'язаних з алопецією побічних ефектів. Незважаючи на різні спроби, які робилися раніше для забезпечення протиракових композицій з поліпшеною ефективністю, жодна з цих композицій не демонструє зниження клінічних побічних ефектів, зокрема, ніде не пропонуються способи зниження особливо згубних побічних ефектів алопеції або облісіння.

Таким чином, існує потреба у нових і поліпшених композиціях, які включають протиракові медикаменти, та способах лікування з застосуванням цих композицій для подолання проблем зі стійкістю та послаблення різних клінічних побічних ефектів реалізованих у даний час на ринку композицій, насамперед, зменшення пов'язаної з лікуванням алопеції або облісіння, та способах їх одержання. Така потреба існує, наприклад, для таких медикаментів, як 5-фтороурацил, доксорубіцин, доцетаксел, паклітаксел, його похідні та/або його аналоги.

Цілі винаходу

Цілями винаходу є:

1. Забезпечення нових і поліпшених композицій для протиракової терапії які мають значно знижені викликані хіміотерапією побічні ефекти, такі, як алопеція.

2. Забезпечення нових і поліпшених композицій для протиракової терапії, які включають частинки принаймні одного протиракового медикаменту та принаймні один полімер, причому, завдяки частинкам, присутнім у визначеному діапазоні гранулометричного складу частинок, композиція створює суттєво зменшені викликані хіміотерапією побічні ефекти, такі, як алопеція.

3. Забезпечення нових і поліпшених композицій для протиракової терапії, як описано вище, причому композиція також практично не містить незв'язаного медикаменту; медикамент практично повністю є зв'язаним з полімером(ами).

4. Забезпечення нових і поліпшених композицій для протиракової терапії, які містять частинки принаймні одного протиракового медикаменту та принаймні один полімер; причому частинки мають $D_{10} \geq 80$ нм, D_{50} приблизно 200 нм і $D_{90} \leq 450$ нм; композиція є такою, що забезпечує зменшення викликаних хіміотерапією побічних ефектів, таких, як алопеція.

5. Забезпечення нових і поліпшених композицій для протиракової терапії, як описано вище у п.

4, причому частинки мають $D_{10} \geq 120$ нм, D_{50} приблизно 200 нм і $D_{90} \leq 350$ нм.

6. Забезпечення нових і поліпшених композицій для протиракової терапії, як описано вище у п. 5, причому частинки мають $D_{10} \geq 140$ нм, D_{50} приблизно 200 нм і $D_{90} \leq 260$ нм.

7. Забезпечення нових і поліпшених композицій для протиракової терапії, як описано вище, причому протираковий медикамент вибирають з групи, яка складається з алкілюючих агентів, анти-метаболітів, антибіотичних протиракових агентів, рослинних алкалоїдів, антрацендіонів, природних продуктів, гормонів, антагоністів гормонів, різних агентів, радіосенсибілізуючих засобів, платинових координаційних комплексів, адренокортикальних супресантів, імунодепресивного агента, функціональних терапевтичних агентів, генних терапевтичних агентів, антисмислового терапевтичного агента, інгібітора тирозинкінази, моноклонального антитіла, імунотоксину, радіоімунокон'югату, протиракової вакцини, інтерферону, інтерлейкіну, заміщених сечовин, таксанів та інгібіторів COX-2.

8. Забезпечення нових і поліпшених композицій для протиракової терапії, як описано вище у п. 7, причому протираковий медикамент в оптимальному варіанті вибирають з-поміж похідних таксанів (таких, як паклітаксел, доцетаксел), 5-фтороурацил та доксорубіцин.

9. Забезпечення нових і поліпшених композицій для протиракової терапії, як описано вище, причому протираковим медикаментом є паклітаксел, присутній у кількості від приблизно 0,5% до приблизно 99,5% за масою композиції і містить від приблизно 2,0% до приблизно 99,0% за масою полімеру(ів).

10. Забезпечення нових і поліпшених композицій для протиракової терапії, як описано вище, причому полімер є біодеградованим полімером, таким, як альбумін людської сироватки, полі(d,l-молочно-ко-гліколева кислота) і т. ін., присутнім у кількості від приблизно 2,0% до приблизно 99,0% за масою композиції.

11. Додаткове забезпечення вищезгаданих нових і поліпшених композицій для протиракової терапії з вторинним полімером, вибраним з групи, яка складається з чутливих до температури та/або рН полімерів, таких, як полі(N-ацетилакриламід), полі(N-ізопропілакриламід), полі(N-ізопропілакриламід-ко-акриламід), полівініловий спирт, поліетиленгліколь, поліакриламід, полі(метакриламід) і т. ін. та їх похідних.

12. Забезпечення нової й поліпшеної композиції для протиракової терапії, як описано вище у п. 11, причому вторинний полімер є полі(N-ізопропілакриламідом), який застосовують у кількості вибраній з групи, яка включає: від приблизно 0,5% до приблизно 99,0% за масою, від приблизно 1,0% до приблизно 95,0% і від приблизно 2,0% до приблизно 90,0% за масою композиції.

13. Забезпечення нових і поліпшених композицій для протиракової терапії, як описано вище у п. 11, причому у присутності вторинного полімеру частинка композиції після введення ссавцеві збільшується у розмірі до приблизно вдвічі більшого за її первісний розмір у плазмі і до приблизно в

десять разів більшого за її первісний розмір у місці пухлини, таким чином, забезпечуючи спрямованість та суттєве зменшення викликаних хіміотерапією побічних ефектів, таких, як алопеція.

14. Забезпечення нових і поліпшених композицій для протиракової терапії, як описано вище у п. 1, причому композиція включає паклітаксел у кількості від приблизно 0,5% до приблизно 99,5% полі(d,l-молочної-ко-гліколевої кислоти) у кількості від приблизно 2,0% до приблизно 99,0% та, необов'язково, полі(N-ізопропілакриламід) у кількості від приблизно 2,0% до приблизно 90,0%, і один або кілька фармацевтично прийнятних наповнювачів, носіїв або їх комбінації від приблизно 0,01% до приблизно 99,9% за масою композиції.

15. Забезпечення нових і поліпшених композицій для протиракової терапії, як описано вище у п. 1, причому композиція включає паклітаксел у кількості від приблизно 0,5% до приблизно 99,5%, альбумін у кількості від приблизно 2,0% до приблизно 99,0% та, необов'язково, полі(N-ізопропілакриламід) у кількості від приблизно 2,0% до приблизно 90,0%, і один або кілька фармацевтично прийнятних наповнювачів, носіїв або їх комбінації від приблизно 0,01% до приблизно 99,9% за масою композиції.

16. Забезпечення способу одержання нової й поліпшеної композиції, як описано вище, який включає етапи (i) змішування принаймні одного протиракового медикаменту з принаймні одним полімером у розчиннику, (ii) необов'язково здійснення етапу (i) у присутності одного або кількох фармацевтично прийнятних носіїв, (iii) одержання наночастинок шляхом видалення розчинника та (iii) піддавання наночастинок фракціонуванню за розміром (iv) з видаленням з композиції незв'язаного медикаменту; причому композиція є такою, що забезпечує суттєве зменшення викликаних хіміотерапією побічних ефектів, таких, як алопеція.

17. Забезпечення способу лікування ссавця з застосуванням протиракової терапії, яка включає етап введення ссавцеві терапевтично ефективної кількості вищезгаданих нових і поліпшених композицій, які включають частинки принаймні одного протиракового медикаменту та принаймні один полімер, причому частинки мають $D_{10} \geq 80$ нм, D_{50} приблизно 200 нм і $D_{90} \leq 450$ нм, і композиція є такою, що практично не містить незв'язаного медикаменту і забезпечує суттєве зменшення викликаних хіміотерапією побічних ефектів, таких, як алопеція.

18. Забезпечення способу зменшення викликаних хіміотерапією побічних ефектів протиракової терапії, таких, як алопеція, у ссавця, який піддається лікуванню протираковими медикаментами, вищезгаданий спосіб включає введення терапевтично ефективної кількості вищезгаданих нових і поліпшених композицій, які включають частинки принаймні одного протиракового медикаменту та принаймні один полімер, причому частинки мають $D_{10} \geq 80$ нм, D_{50} приблизно 200 нм і $D_{90} \leq 450$ нм, і композиція є такою, що практично не містить незв'язаного медикаменту

Короткий опис винаходу

Даний винахід стосується нових і поліпшених композицій для протиракової терапії, які мають значно знижені викликані хіміотерапією побічні ефекти.

Даний винахід стосується нових і поліпшених композицій протиракових медикаментів, в оптимальному варіанті - малорозчинних протиракових медикаментів, способу їх одержання та способів лікування онкохворих пацієнтів з застосуванням цих композицій, які забезпечують зменшення викликаних хіміотерапією побічних ефектів, таких, як алопеція.

Важливий аспект винаходу стосується забезпечення колоїдних систем доставлення, таких, як наночастинкові композиції протиракових медикаментів, таких, як таксани (наприклад, паклітаксел або доцетаксел) та принаймні одного біодеградуваного полімеру, таким чином, щоб композиція мала визначений діапазон гранулометричного складу частинок, причому частинки мають D10, який є більшим або дорівнює 80 нм, D50 приблизно 200 нм і D90, який є меншим або дорівнює 450 нм. Такий визначений конкретний ефективний діапазон гранулометричного складу частинок забезпечує композицію, яка при введенні пацієнтам з метою лікування шляхом протиракової терапії забезпечує суттєве зменшення викликаних хіміотерапією побічних ефектів, таких, як алопеція. Композиція в оптимальному варіанті є такою, що практично не містить незв'язаного медикаменту; медикамент є практично повністю зв'язаним з полімером.

Інший аспект винаходу стосується забезпечення такої наночастинкової композиції, яка також включає вторинний полімер, який є чутливим до температури та pH, та, необов'язково, інші фармацевтично прийнятні носії, а також будь-які інші потрібні наповнювачі. Такі композиції забезпечують частинку, яка після введення ссавцеві збільшується у розмірі до приблизно вдвічі більшого за її первісний розмір у плазмі і до приблизно у десять разів більшого за її первісний розмір у місці пухлини, таким чином, забезпечуючи спрямованість у місці пухлини та суттєве зменшення викликаних хіміотерапією побічних ефектів, таких, як алопеція.

У цьому винаході також описується спосіб одержання такої наночастинкової композиції, який включає етапи змішування принаймні одного протиракового медикаменту з принаймні одним полімером у присутності розчинника, який необов'язково має один або кілька фармацевтично прийнятних носіїв, а також будь-які потрібні наповнювачі, для забезпечення наночастинок, видалення розчинника та фракціонування частинок за розміром для одержання частинок, які мають заданий розмір, такий, як $D10 \geq 80$ нм, D50 приблизно 200 нм і $D90 \leq 450$ нм. Утворені таким чином наночастинки заданого діапазону гранулометричного складу частинок далі піддають видаленню будь-якого незв'язаного медикаменту. Така композиція при введенні пацієнтам забезпечує суттєве зменшення викликаних хіміотерапією побічних ефектів, таких, як алопеція.

Таким чином, даний винахід стосується забезпечення способу лікування, який включає введення ссавцеві, який цього потребує, терапевтично ефективної кількості наночастинкової композиції згідно з винаходом, яка забезпечує суттєве зменшення викликаних хіміотерапією побічних ефектів, таких, як алопеція. Він забезпечує спосіб зменшення викликаних хіміотерапією побічних ефектів, таких, як алопеція в результаті протиракової терапії у ссавця, який піддається лікуванню з застосуванням протиракових медикаментів, шляхом введення вищезгаданої терапевтично ефективної наночастинкової композиції згідно з даним винаходом.

І попередній загальний опис, і представлений нижче детальний опис подаються для прикладу та пояснення і призначаються для подальшого пояснення заявленого винаходу. Інші цілі, переваги та нові особливості стануть зрозумілими спеціалістам у даній галузі по ознайомленню з представленим нижче детальним описом винаходу.

Детальний опис винаходу

Даний винахід забезпечує нові й поліпшені композиції для протиракової терапії.

Розробляється багато нових протиракових агентів для лікування пухлин у ссавців, але головний недолік протиракових або протипухлинних агентів полягає в тому, що вони не забезпечують специфічного й вибіркового впливу на пухлинні клітини; вони також впливають на нормальні клітини, а отже, створюють побічні ефекти.

Робляться спроби у галузі доставлення медикаментів з метою спрямування дедалі більшої кількості цих протиракових медикаментів до місця дії для поліпшення ефективності, а також робляться спроби для забезпечення багатокomпонентної терапії для підвищення ефективності протиракових медикаментів. Однак проблема побічних ефектів залишається основною проблемою, яку донині ще повністю не подолано, і одним з головних побічних ефектів хіміотерапії є алопеція або облісіння.

Облісіння або алопеція є згубним побічним ефектом для осіб, які піддаються хіміотерапії. Більшість підданих хіміотерапії пацієнтів страждають від високого ступеня алопеції. Відновлення волосся після хіміотерапії потребує від 3 до 6 місяців, і певний відсоток пацієнтів втрачає волосся назавжди. Викликана хіміотерапією алопеція є особливо пригнічуючою через те, що вона є явною ознакою прихованої в інших відношеннях хвороби, через що деякі пацієнти відмовляються від проходження системної хіміотерапії.

Таким чином, згідно з оптимальним аспектом даного винаходу, пропонуються нові й поліпшені композиції для протиракової терапії зі значно зниженими побічними ефектами. Побічні ефекти зазвичай є викликаними хіміотерапією, такими, як алопеція. Композиція згідно з даним винаходом включає принаймні один протираковий медикамент та принаймні один полімер.

Протиракові медикаменти, які застосовують згідно з даним винаходом для протиракової терапії, є вибраними з групи, яка складається з алкілюючих агентів, антиметаболітів, антибіотичних про-

тиракових агентів, рослинних алкалоїдів, антрацендіонів, природних продуктів, гормонів, антагоністів гормонів, різних агентів, радіосенсибілізуючих засобів, платинових координаційних комплексів, адренкортикальних супресантів, імунодепресивного агента, функціональних терапевтичних агентів, генних терапевтичних агентів, антисмислового терапевтичного агента, інгібітора тирозинкінази, моноклонального антитіла, імунотоксину, радіоімунокон'югату, протиракової вакцини, інтерферону, інтерлейкіну, заміщених сечовин, таксанів та інгібіторів COX-2.

Описана вище група включає: алкілюючі агенти, включаючи: алкілсульфонати, такі, як бусульфат, похідні етиленіміну, такі, як тіотепа, азотні гірчиці, такі, як хлорамбуцил, циклофосфамід, естрамустин, іфосфамід, меклоретамін, мелфалан та урамустин, нітрозосечовини, такі, як кармустин, ломустин та стрептозоцин, триазоли, такі, як дакарбазин, прокарбазин та темозоламід та платинові сполуки, такі, як цисплатин, карбоплатин, оксаліплатин, сатраплатин та (SP-4-3)-(цис)-аміндихлоро-[2-метилпіридин]платина(II); антиметаболіти, включаючи антифолати, такі, як метотрексат, перметрексед, ралітрексед та триметрексат, аналоги пурину, такі, як кладрибін, хлордезоксіденозин, клофарабін, флударабін, меркаптопурин, пентостатин та тіогуанін, аналоги піримідину, такі, як азацитидин, капецитабін, цитарабін, едатрексат, флорсуридин, фтороурацил, гемцитабін та троксацитабін; природні продукти, включаючи: протипухлинні антибіотики, такі, як блеоміцин, дактиноміцин, мітраміцин, мітоміцин, мітоксантрон, порфіроміцин, та антрацикліни, такі, як даунорубіцин (включаючи ліпосомальний даунорубіцин), доксорубіцин (включаючи ліпосомальний доксорубіцин), епірубіцин, ідарубіцин та валрубіцин, ферменти, такі, як L-аспарагіназа та PEG-L-аспарагіназа, полімерні стабілізатори мікроканалів, такі, як таксани, паклітаксел та доцетаксел, мітотичні інгібітори, такі, як алкалоїди барвінку вінбластин, вінкрисдин, віндезин та вінорелбін, інгібітори топоізомерази I, такі, як камфотецини, іринотекан та топотекан, та інгібітори топоізомерази II, такі, як амаксакрин, етопозид та теніпозид; гормони та антагоністи гормонів, включаючи: андрогени, такі, як флуоксиместерон та тестостерон, анти андрогени, такі, як бікалутамід, ципротерон, флутамід та нілутамід, інгібітори ароматази, такі, як аміноглутетимід, анастрозол, екземестан, форместан та летрозол, кортикостероїди, такі, як дексаметазон та преднізон, естрогени, такі, як діетилстильбестрол, антиестрогени, такі, як фульвестрант, ралоксифен, тамоксифен та тореміфін, агоністи та антагоністи LHRH, такі, як бузерелін, гозерелін, лейпролід та трипторелін, прогестини, такі, як медроксипрогестерон ацетат та мегестрол ацетат, та гормони щитовидної залози, такі, як левотироксин та ліотиронін; та різні агенти, включаючи альтретамін, триоксид миш'яку, нітрат галію, гідроксисечовина, левамизол, мітотан, октреотид, прокарбазин, сурамін, талідомід, фотодинамічні сполуки, такі, як метокскален та порфімер натрію, та інгібітори протеасоми, такі, як бортезоміб. До агентів цілеспрямованої молекулярної

терапії належать: функціональні терапевтичні агенти, включаючи: засоби генної терапії, засоби анти смислової терапії, інгібітори тирозинкінази, такі, як ерлотиніб гідрохлорид, гефітиніб, іматиніб мезилат та семаксаніб, і модулятори експресії генів, такі, як ретиноїди та рексінноїди, наприклад, адапален, бексаротен, транс-ретиноєва кислота, 9-цис-ретиноєва кислота та N-(4-гідроксифеніл)ретинамід; фенотипічно спрямовані терапевтичні засоби, включаючи: моноклональні антитіла, такі, як алемтузумаб, бевацизумаб, цетуксимаб, ірбітумомнаб тіуксетан, ритуксимаб та трастузумаб, імунотоксини, такі, як гемтузумаб озогаміцин, радіоімунокон'югати, такі, як ¹³¹I-тозитумомаб, та протиракові вакцини. До біологічних терапевтичних засобів належать: інтерферони, такі, як інтерферон- α_{2a} та інтерферон- α_{2b} , та інтерлейкіни, такі, як альдезлейкін, денілейкін дифтитокс та опрелвекін. Крім цих агентів, призначених для дії проти ракових клітин, протиракова терапія передбачає застосування захисних або додаткових агентів, включаючи: цитопротекторні агенти, такі, як аміфостин, декстразонксан та месна, фосфонати, такі, як памідронат та золедроновіа кислота, і стимулюючі фактори, такі, як епоетин, дарбеопетин, філграстим, PEG-філграстим та сарграмостин. В оптимальному варіанті протираковий медикамент є малорозчинним протираковим медикаментом.

До протиракових медикаментів, які застосовують у даному винаході, належать таксани та їх похідні (наприклад, паклітаксел, доцетаксел, та їх похідні і т. ін.), але не виключаються інші протиракові медикаменти (наприклад, доксорубіцин, метотрексат, цисплатин, даунорубіцин, адриаміцин, циклофосфамід, актиноміцин, блеоміцин, епірубіцин, мітоміцин, метотрексат, 5-фтороурацил, карбоплатин, кармустин (BCNU), метил-CCNU, цисплатин, етопозид, інтерферони, камфотецин, фенестерин, тамоксифен, піпосульфат та їх похідні і т. ін.). Оптимальними протираковими агентами є агенти, вибрані з-поміж таксанів, 5-фтороурацилу та доксорубіцину, причому найбільшу перевагу віддають таксанам.

Вжитий авторами термін "таксан" включає хіміотерапевтичні агенти таксол (загальна назва: паклітаксел; хімічна назва: 5.бета.,20-ерокси-1,2a,4,7.бета.,10.бета.,13a-h-екзагідрокситахс-11-ен-9-он, 4,10-діацетат 2-бензоат 13-естер з (2R,3S)-N-бензоїл-3-фенілізосерином) та Такотер (загальна назва: доцетаксел), таксани другого покоління, такі, як Ортатаксел та інші напівсинтетичні похідні таксанів. Таксол, протираковий медикамент, також описаний у публікаціях існуючого рівня техніки, який має загальну назву "паклітаксел" та зареєстровану товарну назву "Taxol.RTM." (від Bristol-Myers Squibb Company), є складним поліоксигенованим дитерпеном, первісно виділеним з кори тихоокеанського тису (*Taxus brevifolia*). Він є затвердженням FDA для лікування раку молочної залози, яєчника та легень, а також пов'язаної зі СНІД саркомою Капоші. Taxotere-R (Доцетаксел), речовина, подібна до паклітакселу, яка також походить із хвої тису, є затвердженням FDA для лікування поширеного раку молочної залози та недрі-

бноклітинного раку легенів, які не реагують на інші протиракові медикаменти. Паклітаксел та доцетаксел вводять внутрішньовенно. Але і паклітаксел, і доцетаксел мають побічні ефекти, які можуть бути серйозними. Паклітаксел, який є нерозчинним у воді, рецептували у таксолі, застосовуючи Cremophor EL (поліетоксильовану рицинову олію) та етанол як наповнювачі, що викликає серйозні побічні ефекти. Таксол є пов'язаним з високою частотою анафілактичних реакцій та інших реакцій гіперчутливості. Нещодавно було запроваджено нову наночастинкову суспензію зв'язаного з білком паклітакселу для ін'єкцій під торговою назвою Abрахане®, в якій не застосовується кремофор і яка є вільною від розчинників, таким чином, не викликаючи пов'язаних з кремофором та розчинником негативних ефектів. Але навіть ця композиція виявляє інші викликані хіміотерапією побічні ефекти, один з яких є найбільш травматичним побічним ефектом - алопеція або облісіння. Таким чином, незважаючи на добру клінічну ефективність паклітакселу та його визнання як одного з найбільших досягнень в онкологічній медицині, все ж залишається зростаюча потреба у забезпеченні композиції паклітакселу зі значно кращою безпекою та фармакокінетичним профілем для пацієнтів при уникненні найбільш травматичних побічних ефектів, таких, як алопеція.

Найбільш прийнятним таксаном, вибраним для даного дослідження, є паклітаксел, хоча слід розуміти, що таке дослідження може поширюватися й на інші протиракові медикаменти, деталі яких вказуються авторами. Паклітаксел є присутнім у композиції згідно з даним винаходом у кількості від приблизно 0,5% до приблизно 99,5% за масою, в оптимальному варіанті - у кількості від приблизно 2,0% до приблизно 95,0% і в найкращому варіанті - у кількості від приблизно 5,0% до приблизно 90,0% за масою композиції.

Протиракові агенти можуть застосовуватись окремо або у комбінації з одним або кількома іншими агентами згідно з даним винаходом. Вони можуть бути аморфними, кристалічними або їх сумішами, в оптимальному варіанті агент є здебільшого аморфним.

Даний винахід описується авторами з використанням певних визначень, які вживаються в усьому тексті заявки.

Вжите авторами визначення "фармацевтично прийнятний" стосується сполук, матеріалів, композицій та/або дозованих форм, які охоплюються обсягом належної медичної практики, прийнятною для застосування у контакт з тканинами людини та тварин без надмірної токсичності, подразнення, алергічної реакції або інших проблем або ускладнень, що відповідає розумному співвідношенню користі/ризиків.

"Терапевтична ефективна кількість" стосується кількості, яка є ефективною для досягнення потрібного терапевтичного результату.

Вжитий авторами термін "полімер" стосується молекули, яка містить певну кількість ковалентно зв'язаних мономерних одиниць і включає розгалужені, декдимерні та зірчасті полімери, а також лінійні полімери. Термін також включає гомополі-

мери та співполімери, наприклад, випадкові співполімери, блок-співполімери та прищеплені співполімери, а також незшиті полімери та злегка, помірно або суттєво зшиті полімери.

Термін "біодеградований полімер" означає, що полімер має розпадатися через процеси в організмі на продукти, які легко виводяться організмом і не накопичуються в організмі, а термін "біосумісний" означає речовину, яка не зазнає помітних змін і не має негативного впливу на біологічну систему, до якої її введено.

Вжите авторами визначення "малорозчинний" означає, що активний агент має розчинність у воді, меншу, ніж приблизно 10 мг/мл, в оптимальному варіанті - меншу, ніж 1 мг/мл при кімнатній температурі.

Вжитий авторами термін "розмір частинки" стосується розміру частинок у композиції у діаметрі, який вимірюють шляхом традиційних аналізів розміру частинок, загальновідомих серед спеціалістів у даній галузі, таких, як фракціонування з осадженням у потоці за наявності поля, фотонна кореляційна спектроскопія, розсіювання лазерних променів або динамічне розсіювання світла, і з застосуванням просвічувального електронного мікроскопа (TEM) або скануючого електронного мікроскопа (SEM). Для традиційного автоматичного способу світлорозсіювання застосовують аналізатор розміру частинок за допомогою розсіювання лазерних променів від Horiba LA або подібний пристрій. Такий аналіз зазвичай представляє відносний об'єм, нормалізований за частотою, конкретних розмірів частинок, включаючи первинні частинки, агрегати та агломерати. У даному описі характеристики розміру частинок часто стосуються позначень типу D_n, де n є числом від 1 до 99; це позначення представляє сукупний розподіл розміру частинок, таким чином, щоб n % (за об'ємом) частинок були меншими або дорівнювали вищезгаданому розмірові. Зазвичай розмір частинок виражають у показниках D₁₀, D₅₀ (середній) та D₉₀ у нм. Співвідношення D₉₀/D₁₀ є зручною характеристикою для визначення ширини кривої гранулометричного складу. У різних аспектах цього винаходу гранулометричний склад є вузьким, в оптимальному варіанті - має співвідношення D₉₀/D₁₀ менше за 4, у ще кращому варіанті - менше за 3, і у ще кращому варіанті - менше за 2,0.

Вжитий авторами термін "нм" стосується нанометра, розміру, меншого за 1 мікрон, причому мікрон є одиницею, що дорівнює одній тисячній частці міліметра.

Вжите авторами визначення "приблизно" є зрозумілим спеціалістам у даній галузі і передбачає певне варіювання у контексті, в якому його вжито. Якщо вживаються терміни, які є незрозумілими для спеціалістів у даній галузі у контексті, в якому їх вжито, визначення "приблизно" означає плюс або мінус 10% відносно зазначеного терміну. Це значення застосовується до вжиття визначення "приблизно" у контексті цієї заявки, якщо воно вживається для опису % або кількості протиракових медикаментів, носіїв, наповнювачів та інших компонентів, за винятком випадків опису розміру

частинок згідно з даним винаходом, причому слово "приблизно" стосується значення плюс або мінус 25% відносно зазначеного терміну. Це означає, що D50 приблизно 200 нм стосується діапазону гранулометричного складу частинок від 150 нм до 250 нм.

Вжитий авторами термін "викликані хіміотерапією побічні ефекти" стосується несприятливих симптомів, які виникають у ссавців через введення протиракових медикаментів. Їх прикладами є облісіння, міелосупресія, блювота, розлади травного тракту, печінкова токсичність, ниркова токсичність, церебральна токсичність, серцева токсичність, легенева токсичність, стоматит, дерматопатія та нейротоксичність. Нова й поліпшена композиція згідно з даним винаходом в оптимальному варіанті забезпечується для інгібування або зменшення облісіння (або алопеції), серед вищезгаданих побічних ефектів.

"Алопеція" або облісіння у контексті даного опису стосується викликаного медикаментом алопеції, яка пошкоджує фолікули волосся в організмі. Слід розуміти, що фолікули волосся на голові мають найбільшу швидкість росту, і період їх росту є тривалим, і через вищу біологічну активність волосяного органу на шкірі голови порівняно з волоссяними органами в інших місцях організму волоссяний орган на шкірі голови є сприйнятливим до протиракових медикаментів, що в результаті призводить до пошкодження матричних клітин волосся у фолікулах волосся. Таким чином, пошкоджується функція росту матричних клітин волосся, або волосяний орган швидко переходить до інтерфази, і волосся випадає у формі атрофічного волосся.

Здійснювані раніше спроби інгібування облісіння, спричиненого хіміотерапією, включали введення комбінації протиракових медикаментів з антагоністом, блокування потоку крові до шкіри голови, внутрішньоартеріальне введення та інше, але жоден з цих заходів до цього часу не забезпечував будь-якого суттєвого ефекту. Згідно з даним винаходом, було здійснено спробу досягнення цієї мети через безпечний, ефективний, простий і новий спосіб.

Систематичне й детальне дослідження різних композицій, які включають протираковий медикамент та принаймні один полімер у формі частинок несподівано виявило дуже корисний факт, що фізико-хімічні чинники, такі, як геометрична форма частинок відіграє важливу роль у забезпеченні композиції для протиракової терапії зі зниженими побічними ефектами, такими, як алопеція. До них належать розмір частинки, форма, структура, характеристики поверхні, такі, як поверхневий заряд, гідрофобність поверхні, маса, молекулярна маса, об'єм, частка, будь-яка морфологія і т. ін., серед яких у даному винаході детально досліджувався розмір частинки у діаметрі як один з найважливіших чинників. Коли композицію, яка включає частинки заданого діапазону гранулометричного складу частинок, вводять ссавцеві як спосіб лікування для протиракової терапії, вищезгадана композиція зазнає вибіркового біорозподілу таким чином, що забезпечується більша спрямованість

до місця дії з суттєвим зменшенням побічних ефектів, таких, як алопеція.

Відомо, що частинки у нанометричному діапазоні гранулометричного складу перебувають у системі циркуляції крові після введення і утримуються в епітеліальних клітинах пухлини через проникність судин, які досягають пухлинних клітин, але в літературі також повідомляється, що частинки, більші за 200 нм у діаметрі, вибірково розпізнаються ретикулоендотеліальними системами (RES) клітин, а отже, спрямовуються на органи, такі, як печінка, легені, селезінка, лімфатична система і т. ін., і видаляються з системи кровообігу. Основна частина (90%) наносистем, які вводяться внутрішньовенно, зазвичай втрачається для ретикулоендотеліальної системи, головним чином, фіксовані макрофаги у печінці та селезінці після опсонізації білками, присутніми у кровотоці. Таким чином, опсонізація або видалення носія наночастинкового медикаменту з організму мононуклеарною фагоцитарною системою (MPS), також відомою як ретикулоендотеліальна система (RES), вважається головною перешкодою у спрямуванні медикаменту. В одній статті (Current Nanoscience, 2005, 1, 47-64) згадується, що частинки <100 нм з гідрофільними поверхнями зазнають відносно низької опсонізації та кліренсу через поглинання RES. Таким чином, більшість раніше здійснюваних спроб одержання кращих і ефективніших протиракових композицій було зосереджено на композиціях з частинками, меншими за 1 мікрон, в оптимальному варіанті - меншими за 200 нм або 100 нм, для збереження частинок у системі кровообігу, уникнення поглинання RES та спрямування до місця пухлини. Але у більшості з цих композицій існуючого рівня техніки частинки мають розмір, менший за 1 мікрон, в оптимальному варіанті - менший за 200 нм у діаметрі, що також може включати частинки, менші за приблизно 70 нм у діаметрі. У жодній з цих раніше здійснюваних спроб не визнавалося, що частинки, менші за приблизно 70 нм, проникають через нормальні кровоносні капіляри до шкіри та коренів волосся і, таким чином, такий протираковий медикамент, який містить частинки, спричинює викликані хіміотерапією побічні ефекти, такі, як алопеція, при застосуванні для лікування ссавців як протиракової терапії. Мікросудини пухлин є переривчастими і дуже проникними, і в середньому ендотеліальні пори мають 108 ± 32 нм у внутрішньому діаметрі для пухлини і, таким чином, є суттєво більшими й нерівномірнішими за розміром, ніж капілярні кавеоли, внутрішній діаметр яких становить 58 ± 9 нм. Таким чином, частинки, більші за 70 нм, не можуть проникати через нормальні кровоносні капіляри і значною мірою зменшують втрату волосся.

У даному винаході було здійснено успішну спробу забезпечення нових і поліпшених композицій для протиракової терапії, які містять частинки принаймні одного протиракового медикаменту та принаймні один полімер; причому частинки мають розмір, менший за 1 мікрон у діаметрі. В оптимальному варіанті частинки мають $D_{10} \geq 80$ нм, D_{50} приблизно 200 нм і $D_{90} \leq 450$ нм, тобто, частинки мають такий діапазон гранулометричного складу,

що 90% частинок мають розмір частинки, менший за 450 нм, і лише 10% частинок мають розмір частинки, менший за 80 нм або менше, причому 50% частинок мають розмір приблизно 200 нм. У ще кращому варіанті частинки мають $D_{10} \geq 120$ нм, D_{50} приблизно 200 нм і $D_{90} \leq 350$ нм, і в найкращому варіанті частинки мають $D_{10} \geq 140$ нм, D_{50} приблизно 200 нм і $D_{90} \leq 260$ нм. Було несподівано виявлено, що частинки розміром до приблизно 220 нм не поглинаються ретикулоендотеліальною системою і є доступними для циркуляції з метою спрямування до місця пухлини, а частинки, які не належать до діапазону гранулометричного складу, меншого за 70 нм, перешкоджають їх проникненню до фолікули волосся, таким чином, забезпечуючи суттєве зменшення викликаних хіміотерапією побічних ефектів, таких, як алопеція. Несподівано було виявлено, що частинки згідно з даним винаходом накопичуються у тканинах, відмінних від тих, що містять RES, таких, як передміхурова залоза, підшлункова залоза, яєчка, молочна залоза, сім'яні канальці, кістки і т. ін., на суттєво вищому рівні і забезпечують зниження алопеції, таким чином, вказуючи на зменшення накопичення в таких місцях, як шкіра та фолікули волосся.

Слід розуміти, що кожна фолікула волосся безперервно проходить через три стадії: анаген (ріст), катаген (інволюція) та телоген (спокій). Після анагену йде катаген, і зрештою фолікула волосся входить у фазу телогену, коли волоссяний стержень визріває у зрілу волосину, яка потім випадає з фолікули. У будь-який момент більшість фолікул волосся перебуває у фазі анагену з лише незначним відсотком у фазі телогену і лише кількома у фазі катагену. Протиракові медикаменти перешкоджають цій швидкій проліферації матричних клітин цибулини під час стадії анагену. В результаті продукування волосся припиняється, і волоссяний стержень стає вужчим, після чого відбувається ламання та випадіння волосся. У даному винаході композиція протиракового медикаменту є такою, що перешкоджає проникненню медикаменту до фолікули волосся і, таким чином, запобігається випадіння волосся.

В оптимальних аспектах винаходу композиція, яка включає протираковий медикамент та принаймні полімер, є колоїдною системою доставлення, яка включає ліпосоми, мікроемульсії, міцели, кон'югати полімеру-медикаменту, нанокапсули, наво-сфери, мікрочастинки та наночастинки, наночастинки твердих ліпідів. Ці системи доставлення забезпечують переваги спрямування, модулювання розподілу та гнучкої композиції і мають полімерну структуру, яка може бути спланована й утворена у спосіб, пристосований до потрібної мети. Композиції можуть доставлятися будь-яким шляхом введення, як описано авторами, таким, як пероральний, внутрішньовенний, підшкірний, внутрішньочеревинний, інтратекальний, внутрішньом'язовий, внутрішньочерепний, інгаляційний, місцевий, кризьшкірний, ректальний, вагінальний, внутрішньослизовий і т. ін., і можуть вивільнювати медикамент відразу або вивільнювати його протягом певного періоду часу шляхом модулювання, підтримки, пульсації, затримки або конт-

ролювання його вивільнення з системи доставлення шляхом пристосування різних відомих способів, усі з яких охоплюються обсягом цього винаходу. Колоїдна система доставлення може бути монолітною, в якій полімер є диспергованим разом з медикаментом, або може бути вкритою, в якій полімер вкриває медикамент або інкапсулює медикамент. Оптимальною системою є наносистема, яка включає наночастинки, а також більш нові наносистеми, які розробляються, включаючи нанолітки, наногелі, нановолокна, нанооболонки, нанострижні, наноконтейнери і т. ін.

Оптимальною системою доставлення є наночастинкова композиція протиракового медикаменту, яка може забезпечувати багато переваг, включаючи придатність для парентерального введення, і яку рецептують у висушеній формі, яка може легко редиспергуватися, забезпечує високу здатність до редиспергування частинок активного агента, присутніх у наночастинковій композиції, поліпшену спрямованість до місця дії, підвищену біодоступність, зниження дозування, поліпшений фармакокінетичний профіль та зменшення побічних ефектів. Оптимальними наночастинками є субмікронні полімерні колоїдні частинки з протираковим медикаментом, інкапсульованим у полімерний матрикс або адсорбовані або кон'юговані у поверхню. Вона також дозволяє контролювати характер вивільнення медикаменту та підтримувати рівень медикаменту протягом тривалого часу шляхом належного вибору полімерних матеріалів.

Згідно з варіантами втілення даного винаходу, забезпечуються поліпшені композиції протиракових медикаментів, причому композиція є наночастинковою композицією протиракового медикаменту та полімеру як колоїдна система доставлення, що має конкретний діапазон гранулометричного складу частинок, як визначено авторами, причому частинки є корисними для лікування первинних та метастазованих пухлин, включаючи рак передміхурової залози, яєчок, молочної залози, легенів, нирок, підшлункової залози, кісток, селезінки, печінки, мозку і т. ін., зі значним зниженням побічних ефектів, зокрема, викликані хіміотерапією алопеції. В оптимальному варіанті композиція включає принаймні один протираковий медикамент у кількості від приблизно 0,5% до приблизно 99,5% за масою та принаймні один полімер від приблизно 2,0% до приблизно 99,0% за масою композиції. В оптимальних варіантах втілення протираковим медикаментом є паклітаксел, присутній як наночастинкова композиція, яка включає принаймні полімер у кількості від приблизно 2,0% до приблизно 99,0% за масою композиції.

Біодеградовані полімери, які застосовують згідно з даним винаходом, включають природні, синтетичні та напівсинтетичні матеріали.

Прикладами природних полімерів є білки, пептиди, поліпептиди, олігопептиди, полінуклеїнові кислоти, полісахариди (наприклад, крохмаль, целюлоза, декстрини, альгірати, хітозан, пектин, гіалуронова кислота і т. ін.), жирні кислоти, естери жирних кислот, гліцериди, жири, ліпіди, фосфоліпіди, протеоглікани, ліпопротеїни і т. ін., та їх модифікації. До білків належать альбуміни, імуногло-

буліни, казеїни, інсуліни, гемоглобіни, лізозими, α -2-макроглобулін, фібронектини, вітронектини, фібриногени, ліпази і т. ін. Білки, пептиди, ферменти, антитіла та їх комбінації також можуть застосовуватись як стабілізатори згідно з даним винаходом, якщо потрібно поліпшити стабілізацію. Оптимальним білком є альбумін, в оптимальному варіанті - такий, що застосовується у кількості від приблизно 2,0% до 99,0% за масою, у ще кращому варіанті - від 5,0% до 95,0%, і в найкращому варіанті - від приблизно 10,0% до приблизно 90,0% за масою композиції.

До синтетичних полімерів належать поліаміно-кислоти, такі, як желатин, полівініловий спирт, поліакрилова кислота, полівінілацетат, поліестери, поліакрилати, полівінілпіролідон, поліетоксизолін, поліакриламід, полівінілпіролідон, поліалкіленгліколи, полілактиди, полігліколиди, полікапролактони або їх співполімери і т. ін., та прийнятні комбінації двох або більшої кількості цих сполук, зокрема, α -гідроксикарбонові кислоти, співполімери полігідроксиетилметакрилат, полі (ϵ -капролактон), полі (β -гідроксибутират), полі(гідроксивалерат) та (β -гідроксибутират-гідроксивалерат), поліяблучна кислота, полі(молочна кислота), полі(гліколева кислота), полі(d,l-молочн-ко-гліколева кислота), амфифільні блок-полімери полімолочної кислоти-поліетиленоксиду, поліалкіленгліколь, поліетиленоксиди, блок-співполімери поліетиленоксиду-поліпропіленоксиду, поліангідриди, поліортоестери, поліфосфазани, пулунан.

В оптимальному варіанті у системах доставлення згідно з винаходом застосовують біодеградовані/біосумісні полімери для інкапсуляції протиракового медикаменту. Ці біодеградовані первинні полімери можуть бути такими, що вивільнюють відразу після введення, або такими, що затримують вивільнення протиракового активного агента і утримують наночастинкову композицію у заданому місці протягом тривалого періоду часу для терапевтичної ефективності. Оптимальним первинним полімером є полі(d,l-молочн-ко-гліколева кислота) або PLGA, яка є біодеградованим полімером, який допускається для рецептування галенових композицій з модифікованим вивільненням. PLGA є гідрофобним співполімером, розпад якого, викликаний реакцією гідролізу, утворює два нормальні біологічні субстрати, молочну кислоту та гліколеву кислоту, які метаболізуються наприкінці аеробного гліколізу до CO_2 та H_2O . Швидкість біодеградації PLGA залежить від відповідних пропорцій молочної кислоти та гліколевої кислоти, причому перевагу віддають співвідношенню 50:50. PLGA є повністю біосумісною і викликає помірну реакцію на сторонні тіла. PLGA, яку застосовують у даному винаході, в оптимальному варіанті - у кількості від приблизно 2,0% до 99,0% за масою, у ще кращому варіанті - від 5,0% до 95,0%, і в найкращому варіанті - від приблизно 10,0% до приблизно 90,0% за масою композиції.

Згідно з ще одним аспектом цього винаходу, він включає спрямування протиракового медикаменту до місця дії різними способами, включаючи, крім інших, інші способи, кон'югацію спрямовуючих

лігандів з медикаментами або наночастинкових композицій, які містять медикаменти, для їх спрямування до заданих місць, або вкривання/зв'язування композиції з чутливими до температури та/або pH полімерами.

Згідно з описаним вище аспектом, для досягнення заданого вивільнення активного інгредієнта у місці пухлини чутливі до температури і поверхнево-модифіковані наночастинки одержують шляхом застосування чутливого до температури інтерполімерного комплексу, здатного виявляти реакцію на температуру у водному розчині, такого, як полі(N-ацетилакриламід), полі(N-ізопропілакриламід), полі(N-ізопротлакриламід-ко-акриламід), полівініловий спирт, поліетиленгліколь, поліакриламід, полі(метакриламід), до наночастинок, які інкапсулюють протираковий медикамент, такий, як паклітаксел. Такі наночастинки з гідрофільними поверхнями циркулюють у крові протягом довшого періоду часу, і через температурну чутливість частинок, тобто, виявлення верхньої критичної температури розчинення (UCST) або нижньої критичної температури розчинення (LCST) у водному розчині, розмір частинки збільшується при ін'єкції *in vivo* при 37°C; розмір частинки додатково збільшується у кілька разів, коли частинки накопичуються у пухлині, через різницю у фізіологічних умовах у мікросередовищі пухлини, і інкапсульований активний медикамент вивільнюється у місці пухлини. До чутливих до pH полімерів, які можуть бути застосовані, належать поліакрилати, ацетат фталати целюлози і т. ін.

Інкапсульовані наночастинки згідно з даним винаходом піддають інженерії таким чином, щоб в *in vitro* умовах при кімнатній температурі частинки мали $D_{10} \geq 80$ нм, D_{50} приблизно 200 нм і $D_{90} \leq 450$ нм, в оптимальному варіанті - $D_{10} \geq 120$ нм, D_{50} приблизно 200 нм і $D_{90} \leq 350$ нм, у ще кращому варіанті - $D_{10} \geq 140$ нм, D_{50} приблизно 200 нм і $D_{90} \leq 260$ нм, але цікавим є те, що через чутливість частинок до температури, коли ці частинки вводять шляхом ін'єкції *in vivo*, розмір частинки збільшується приблизно до розміру, що вдвічі перевищує первісний розмір у плазмі. Таким чином, навіть якщо під час збільшення масштабів виробництва до промислових кілька частинок композиції, які включають медикамент та полімер, можуть не досягати визначеного діапазону гранулометричного складу частинок, *in vivo* частинки завжди перебуватимуть у діапазоні розмірів частинок, який перешкоджає проникненню з нормальних кровоносних капілярів до шкіри, а отже, й до коренів волосся, і залишатимуться у системі кровообігу протягом довшого періоду часу для остаточного спрямування до місця дії. Коли ці частинки досягають пухлини, вони збільшуються у розмірі до приблизно у десять разів більшого за їх первісний розмір у місці пухлини і також проникають через проникні та надпроникні мікросудини пухлин, де частинки утримуються (так званий ефект підвищеної проникності та утримання), і медикамент вивільнюється. Це зрештою забезпечує зменшення алопеції, коли такі композиції вводять для лікування різних типів раку. Композиції мають майже нульовий вміст незв'язаного медикаменту, що забез-

печує додаткову перевагу у зменшенні пов'язаних з алопецією побічних ефектів. Оптимальним вторинним полімером, який застосовують у композиції згідно з даним винаходом, є чутливий до температури та/або pH полімер, такий, як полі(N-ізопропілакриламід), який застосовують у кількості від приблизно 0,5% до приблизно 99,0%, в оптимальному варіанті - від приблизно 1,0% до приблизно 95,0%, і в найкращому варіанті - від приблизно 2,0% до приблизно 90,0% за масою вищезгаданої композиції.

Таким чином, згідно з оптимальними варіантами втілення даного винаходу, забезпечуються способи одержання таких чутливих до температури і поверхнево-модифікованих наночастинок, які інкапсулюють протираковий медикамент, такий, як паклітаксел, для негайного або контрольованого і сайт-специфічного доставлення у місці пухлини, що, таким чином, забезпечує максимальний терапевтичний ефект медикаменту з мінімальними негативними ефектами при нижчій дозі активного інгредієнта.

До фармацевтичних композицій протиракових медикаментів, таких, як паклітаксел, згідно з цим винаходом належать описані вище наночастинові композиції, які включають медикамент та його фармацевтично прийнятні носії. Придатні фармацевтично прийнятні носії є відомими спеціалістам у даній галузі. До них належать нетоксичні фізіологічно прийнятні носії, наповнювачі або ад'юванти або розчинники для парентеральної ін'єкції, для перорального введення у твердій або рідкій формі, для ректального введення, назального введення, внутрішньом'язового введення, підшкірного введення і т. ін. В оптимальному варіанті композиція є композицією для парентеральної ін'єкції, яку вводять як внутрішньовенну болюсну ін'єкцію, або підшкірним або внутрішньом'язовим шляхом.

Композиції, прийнятні для парентеральної ін'єкції, можуть включати фізіологічно прийнятні стерильні водні або неводні дисперсії, суспензії або емульсії та стерильні порошки для відновлення волого вмісту у стерильні придатні для ін'єкцій дисперсії або суспензії. Прикладами придатних водних та неводних носіїв, розріджувачів або розчинників є вода, аліфатичні або ароматичні спирти, такі, як абсолютний етанол, октанол, октил- або арилгаліди, такі, як дихлорометан, кетони, такі, як ацетон, аліфатичні, циклоаліфатичні або ароматичні вуглеводні, такі, як гексан, циклогексан, толуол, бензол, та поліоли (пропіленгліколь, поліетиленгліколь, гліцерин і т. ін.), N-гідроксисукцинімід, карбодіімід, їх прийнятні суміші, рослинні олії (наприклад, соєва олія, мінеральна олія, кукурудзяна олія, рапсова олія, кокосова олія, оливкова олія, соняшникова олія, бавовняна олія і т. ін.) та придатні для ін'єкцій органічні естери, такі, як етилолеат, алкілові, арилові або циклічні етери, такі, як діетиловий етер, тетрагідрофуран, ацетонітрил та водні буферні розчини, хлороформ і т. ін. Належна текучість може підтримуватися, наприклад, шляхом застосування покриття, такого, як лецитин, шляхом підтримання потрібного розміру частинок у разі дисперсій або

суспензій та шляхом застосування поверхнево-активних речовин.

Наночастинові фармацевтичні композиції також можуть містити, додатково до активних агентів та розчинників, наповнювачі або ад'юванти, такі, як консерванти, зволожувачі, емульгатори, поверхневі стабілізатори, поверхнево-активні речовини та диспергатори, які є відомими спеціалістам, у даній галузі і охоплюються обсягом цього винаходу. Запобігання ростові мікроорганізмів може забезпечуватися різними протибактеріальними та протигрибковими агентами, такими, як парабени, хлоробутанол, фенол, сорбінова кислота, і т. ін., у відповідних випадках. Також може бути бажаним включення ізотонічних агентів, таких, як цукри, хлорид натрію, і т. ін., буферних агентів, таких, як фосфат, фталат, ацетат, цитрат, борат і т. ін.

Наночастинові композиції згідно з винаходом можуть піддаватися фільтруванню в стерильних умовах або виготовлятися в стерильних умовах на кожному етапі виробництва. Це дозволяє уникнути необхідності у тепловій стерилізації, яка може зашкодити або зруйнувати активний агент, а також призвести до росту кристалів та агрегації частинок активного агента. Композиція як колоїдна система доставлення може мати остаточну форму ліофілізованого порошку або суспензії, суспендованої у біосумісній водній рідині. Біосумісну рідину вибирають з-поміж води, буферних водних середовищ, сольового розчину, буферного сольового розчину, буферних розчинів амінокислот, білків, цукрів, вуглеводів, вітамінів або синтетичних полімерів, ліпідних емульсій і т. ін.

У важливому аспекті цього винаходу пропонуються наночастинові композиції, які інкапсулюють протираковий медикамент, такий, як паклітаксел, його похідні або його аналоги, та способи одержання наночастинок, які інкапсулюють паклітаксел, його похідні або аналоги, для досягнення максимальної ефективності інкапсуляції, таким чином, щоб наночастинова композиція практично не містила незв'язаного медикаменту. Таким чином, метою цього винаходу є забезпечення способу фракціонування наночастинок, які інкапсулюють паклітаксел, його похідні або аналоги, до конкретного визначеного діапазону гранулометричного складу частинок та забезпечення способу піддавання наночастинок процесові видалення будь-якого незв'язаного медикаменту в композиції, коли більшість медикаменту є зв'язаною з полімером, таким чином, щоб композиція при введенні свавцям з метою лікування спорювала значно менше побічних ефектів, таких, як алопеція або облісіння.

Композиції згідно з даним винаходом, які включають мікрочастинові, ліпосомні, налікопсули, наносфери та наночастинові та інші описані вище компоненти, одержують стандартними традиційними способами, які застосовують у галузі, але з додатковим етапом фракціонування частинок до визначеного потрібного діапазону гранулометричного складу частинок та піддавання частинок обробці для повного видалення незв'язаного медикаменту, не інкапсульованого або не зв'язаного з полімером, як детально зазначено в описаних ав-

торами прикладах варіантів втілення. Спосіб одержання наночастинкових фармацевтичних композицій згідно з даним винаходом включає всі технології одержання мікрочастинкових/наночастинкових композицій. В оптимальному аспекті винаходу спосіб включає етапи розведення та/або диспергування медикаменту та полімеру(ів) у водному розчині та/або розчинниках або суміші розчинників, змішування двох розчинів при перемішуванні для утворення емульсії або осадження, необов'язкове змішування у присутності додаткових фармацевтично прийнятних носіїв або наповнювачів, їх гомогенізації під низьким або високим тиском для одержання наночастинок потрібного розміру частинки, видалення розчинника будь-яким способом, одним з яких є застосування зниженого тиску, піддавання наночастинок фракціонуванню за розміром у разі необхідності для досягнення визначеного діапазону гранулометричного складу частинок згідно з даним винаходом, ультрафільтрації наносуспензії крізь мембрану 30 кілодальтон для повного видалення незв'язаного медикаменту та ліофілізації у флаконах та зберігання до подальших досліджень.

Спосіб лікування ссавців згідно з цим винаходом включає етап введення ссавцеві, який потребує лікування, ефективної кількості вищезгаданих нових і поліпшених композицій вищеописаних протиракових медикаментів та полімерів, що має забезпечувати суттєве зменшення викликаного хіміотерапією алопеції.

Таким чином, згідно з особливо оптимальним аспектом даного винаходу, забезпечується спосіб зменшення викликаних хіміотерапією побічних ефектів, таких, як алопеція, в результаті протиракової терапії у ссавця, який піддається лікуванню протираковими агентами, вищезгаданий спосіб включає введення терапевтично ефективної кількості вищезгаданих нових і поліпшених композицій, які включають частинки принаймні одного протиракового медикаменту та принаймні один полімер, як описано авторами. Композиція є такою, що містить частинки у визначеному діапазоні гранулометричного складу частинок, як описано у даному винаході, і практично не містить незв'язаного медикаменту.

Приклади

Приклад 1: Синтез наночастинок PLGA, які інкапсулюють паклітаксел:

Наночастинки з полі(d,l-молочної-ко-гліколевої кислоти) (PLGA) синтезували, застосовуючи спосіб подвійної емульсії через подвійну емульсію "вода-в-олії-у-воді". У типовому експерименті 100 мг PLGA розчиняли у 2 мл дихлорометану і 10 мг паклітакселу розчиняли у 1,0 мл абсолютного етанолу. Обидва розчини повільно змішували при перемішуванні. Первинну емульсію "вода-в-олії" одержували шляхом емульгування 500 мкл фосфатно-буферного розчину у вищезгаданому розчині. Первинну емульсію "вода-в-олії" піддавали подальшому емульгуванню у розчині полі(N-ацетилакриламід) для утворення емульсії "вода-в-олії-у-воді". Одержану таким чином емульсію "вода-в-олії-у-воді" гомогенізували для утворення завантажених паклітакселем наночастинок після

випарювання розчинників. Потім розчин центрифугували і наночастинки у потрібному діапазоні гранулометричного складу вибірково відокремлювали. Після цього наночастинки диспергували у стерильній воді і відразу ліофілізували для подальшого використання.

Приклад 2: PLGA, ковалентно зв'язана з міцелярними нанометричними агрегатами пулулану та завантаження паклітакселу:

PLGA ковалентно зв'язували з пулуланом шляхом активації PLGA N-гідроксисукцинімідом. Комплекс пулулан-PLGA очищали з застосуванням гель-фільтрації і характеризували за допомогою FTIR, Н-ЯМР та мас-спектроскопії. Гідрофобізований розчин пулулану ліофілізували і тримали глибоко замороженим для подальшого використання.

100 мг гідрофобізованого пулулану розчиняли у 10 мл води і розчин піддавали вихровому перемішуванню для утворення міцел. Розчин паклітакселу, приготовлений в етанолі, повільно додавали до міцелярного розчину і розчиняли, доки розчин не ставав прозорим, що вказувало на інкапсуляцію медикаменту у міцелярній композиції. Завантажені медикаментом частинки у потрібному діапазоні вибірково відокремлювали і розчин ліофілізували.

Ефективність інкапсуляції або ступінь наповнення та характер вивільнення паклітакселу з наночастинок визначали стандартними способами з застосуванням HPLC, а розмір частинки визначали за допомогою традиційного аналізатора розміру частинок.

Вкривання наночастинок термочутливими полімерами:

Завантажені медикаментом наночастинки суспендували у водному буфері (pH 4-5). До цього розчину додавали розчин карбодіміду й утворений в результаті розчин піддавали вихровому перемішуванню і безперервно перемішували при кімнатній температурі протягом 4 годин. Потім наночастинки відокремлювали шляхом центрифугування (або шляхом фільтрації або діалізу). До суспензії наночастинок по краплях додавали водний розчин полімеру полі(N-ацетилакриламід) і суміш піддавали вихровому перемішуванню. Потім розчин піддавали подальшому перемішуванню, частинки очищали і ліофілізували для подальшого використання.

Фракціонування наночастинок у конкретному діапазоні гранулометричного складу:

10,0 мг ліофілізованого порошку завантажених паклітакселем наночастинок суспендували у водному буфері за допомогою ультразвуку. Розчин фільтрували крізь фільтр 0,2 мкм Millipore і фільтрат піддавали фракціонуванню у потоці за наявності асиметричного поля з застосуванням стандартного протоколу виробника для фракціонування частинок за допомогою цього способу. Різні фракції збирали й піддавали аналізу розміру частинок за допомогою стандартних способів визначення розміру частинок та гранулометричного складу.

Приклад 3: Одержання наночастинок паклітакселу - альбуміну людської сироватки:

1800 мг альбуміну людської сироватки розчиняли у стерильній воді для ін'єкцій. 200 мг пакліта-

кселу окремо розчиняли в етанолі. Етанольний розчин при перемішуванні з високою швидкістю повільно додавали до водного розчину альбуміну людської сироватки. Утворену емульсію пропускали через гомогенізатор високого тиску протягом часу, достатнього для досягнення потрібного розміру наночастинок. Етанол видаляли з наночастинок під зниженим тиском, після чого їх піддавали сортуванню за розміром шляхом пропущення крізь фільтр 0,2 мікрона, а потім 0,1 мікрона. Фракціоновані наночастинок фільтрували у стерильних умовах крізь фільтр 0,2 мікрона, піддавали ультрафільтрації і ліофілізували у флаконах. Частинок випробували на різні параметри.

Таблиця 1

№	Випробування	Результати
1	Вміст паклітакселу	1 мг/10 мг ліофілізованого порошку
2	pH суспензії	6,8
3	Вміст незв'язаного медикаменту	-
4	Сукупний об'ємний розподіл наночастинок	D10-70,8 нм D50-97,9 нм D90-99,8 нм

Приклад 4: Одержання наночастинок паклітакселу - альбуміну людської сироватки:

675 мг альбуміну людської сироватки розчиняли у стерильній воді для ін'єкцій. 75 мг паклітакселу окремо розчиняли в етанолі. Етанольний розчин додавали при перемішуванні до водного розчину альбуміну людської сироватки. Утворену емульсію пропускали через гомогенізатор при низькому тиску протягом часу, достатнього для досягнення потрібного розміру наночастинок. Етанол видаляли з наночастинок під зниженим тиском,

після чого їх піддавали ультрафільтрації крізь мембрану 30 кілодальтон для видалення незв'язаного медикаменту, а потім ліофілізували у флаконах. Одержані частинки випробували на різні параметри.

Таблиця 2

№	Випробування	Результати
1	Вміст паклітакселу	1 мг/10 мг ліофілізованого порошку
2	pH суспензії	6,8
3	Вміст незв'язаного медикаменту	-
4	Сукупний об'ємний розподіл наночастинок	D10-143,4 нм D50-178,5 нм D90-285,9 нм

Приклад 5: Одержання наночастинок паклітакселу - альбуміну людської сироватки з полімером LCST:

1800 мг альбуміну людської сироватки та 200 мг полі(N-ізогіропілакриламід) (полімер LCST) розчиняли у стерильній воді для ін'єкцій. 200 мг паклітакселу окремо розчиняли в етанолі. Подальші етапи були подібними до представлених вище у Прикладі 3.

Частинок, одержані в експериментах з полімером LCST, фракціонували для одержання частинок потрібного діапазону. В одному такому експерименті одержані частинки досліджували на зміну розміру частинок у різних температурних умовах, і результати представлено нижче у Таблиці 3 як приклад для демонстрації збільшення у розмірі частинок з підвищенням температури.

Таблиця 3

Температура	25°C	30°C	35°C	37°C	38°C
Середній розмір частинки	90,0 нм	92,8 нм	98 нм	130 нм	<1000 нм

Результати показують, що частинки, які включають паклітаксел та альбумін, у присутності вторинного полімеру, такого, як полімер LCST, у разі поміщення в різні температурні умови демонструють збільшення розміру частинки; при температурі 37 градусів (наприклад, температурі плазми) частинки збільшуються в розмірі до розміру, що приблизно вдвічі перевищує їх первісний розмір, а при температурі 38 градусів (наприклад, температурі пухлини) частинки збільшуються у розмірі до розміру, що приблизно в десять разів перевищує їх первісний розмір.

Приклад 6: Одержання наночастинок PLGA-паклітакселу - полімеру LCST:

Паклітаксел та полі(d,l-молочну-ко-гліколеву кислоту) (PLGA) розчиняли в ацетоні. Полі(N-ізопропілакриламід) розчиняли у воді для ін'єкцій з наступним додаванням полівінілового спирту до цієї водної фази. До водної фази повільно при перемішуванні додавали розчин паклітакселу-

PLGA. Ацетон видаляли з цієї емульсії під зниженим тиском. Одержані таким чином наночастинок піддавали сортуванню за розміром, процесові видалення незв'язаного медикаменту та ліофілізації, відповідно.

Приклад 7: Одержання наночастинок паклітакселу - PLGA - альбуміну людської сироватки:

900 мг альбуміну людської сироватки розчиняли у стерильній воді для ін'єкцій. По 100 мг паклітакселу та PLGA окремо розчиняли у хлороформі. Розчин паклітакселу-PLGA при перемішуванні додавали до водного розчину альбуміну людської сироватки при змішуванні з високою швидкістю для утворення емульсії "олія-у-воді". Утворену емульсію пропускали через гомогенізатор при низькому тиску протягом часу, достатнього для досягнення потрібного розміру наночастинок. Залишковий етанол видаляли з наночастинок під зниженим тиском, після чого їх піддавали ультрафільтрації крізь мембрану 30 кілодальтон для ви-

далення незв'язаного медикаменту і ліофілізували. Одержані частинки випробували на різні параметри.

Таблиця 2

№	Випробування	Результати
1	Вміст паклітакселу	1 мг/10 мг ліофілізованого порошку
2	pH суспензії	6,9
3	Вміст незв'язаного медикаменту	-
4	Сукупний об'ємний розподіл наночастинок	D10-176,6 нм D50-233,8 нм D90-318,4 нм

Приклад 8: Вплив хіміотерапії на характер росту шерсті у мишей

Самців мишей BALB/c семитижневого віку, яких використовували для дослідження, поміщали у клітки і надавали вільний доступ до їжі та води. Тримали у стандартних умовах (25°C кімнатна температура, цикл 12 год світла і 12 год темряви).

Зразками, які шляхом ін'єкції вводили для дослідження, були еталонний: (суспензія зв'язаного з альбуміном паклітакселу для ін'єкцій серійного виробництва), випробуваний: (зразок, одержаний за Прикладом 3) та контрольний: сольовий розчин (носії).

Розробляли мишачу модель для дослідження викликаной хіміотерапією алопеції. Під анестезією у мишей у стадії телогену, які пройшли кілька постнатальних циклів росту шерсті, викликали анаген

шляхом депіляції всіх волосяних стержнів у стадії телогену. Це здійснювали шляхом застосування електричної машинки для підстригання з наступним нанесенням крему для депіляції серійного виробництва на шкіру спини. Через застосування цього способу всі депільовані фолікули у стадії телогену відразу починали перетворюватися на фолікули у стадії анагену (етапи з I по VI) (див. Paus et al., American Journal of Pathology, 144, 719-734 (1994)). Вищезазначені етапи здійснювали для викликання фази розвитку високосинхронізованого анагену у мишей на відміну від фази розвитку спонтанної анагену. У VI фазі анагену (9-й день після депіляції) випробували та еталонні зразки (20 мг/кг) та рівноцінну кількість контрольного зразка внутрішньовенно вводили трьом групам мишей, по чотири миші в кожній, для дослідження.

Після лікування всіх мишей візуально спостерігали на ріст шерсті та ознаки алопеції й піддавали цифровому фотографуванню для запису. Записи, які визначають характер росту шерсті, з різними інтервалами часу після хіміотерапії та введення носія здійснювали на основі описаного нижче індексу росту шерсті:

Градація індексу росту шерсті

0 = Відсутність росту шерсті

1 = Слабкий ріст шерсті з сильною алопецією.

2 = Помірний ріст шерсті з розсіяною алопецією.

3 = Добрий і рівномірний ріст шерсті без ознак алопеції.

Показники індексу росту шерсті для кожного режиму лікування представлено нижче у таблиці 4.

Таблиця 4

Групи	Показник індексу росту шерсті (сер.±SEM)	
	День 1	День 10
Контроль(сольовий розчин внутрішньовенно)	0,00	3,00±0,00
Випробувана сполука (20 мг/кг внутрішньовенно)	0,00	2,66±0,33
Еталон (20 мг/кг внутрішньовенно)	0,00	2,0±0,57

Вищий показник індексу росту шерсті означає кращий ріст шерсті.

Вищенаведені дані вказують, що миші, які отримували випробуваний зразок, демонструють кращий ріст шерсті порівняно з еталонною групою, і показники, наближені до показників контрольної групи.

Приклад 9: Вплив хіміотерапії на характер росту шерсті у мишей

Таке саме дослідження, як описано вище, здійснювали з іншим випробуваним зразком, одержаним за Прикладом 4.

Зразками, які шляхом ін'єкції вводили для дослідження, були еталонний: (суспензія зв'язаного з альбуміном паклітакселу для ін'єкцій серійного виробництва), випробуваний: (зразок, одержаний за Прикладом 4) та контрольний: сольовий розчин (носії).

Показники індексу росту шерсті для кожного режиму лікування в цьому дослідженні представлено нижче у таблиці 5.

Таблиця 5

Групи	Показник індексу росту шерсті (сер.±SEM)	
	День 1	День 10
Контроль (сольовий розчин внутрішньовенно)	0,00	2,25±0,25
Випробувана сполука (20 мг/кг внутрішньовенно)	0,00	2,00±0,00
Еталон (20 мг/кг внутрішньовенно)	0,00	1,50±0,28

Вищенаведені дані вказують, що миші, які отримували випробуваний зразок, демонструють кращий ріст шерсті порівняно з еталонною групою, і показники, наближені до показників контрольної групи, миші, які отримували еталонний зразок, мали найнижчий індекс росту шерсті. Існує статистично значуща різниця у показниках індексу росту шерсті між контрольною та еталонною групами ($p < 0,05$; $t = 1,964$, $df = 6$, $n = 4$). Ці дані також вказують, що випробуваний зразок демонструє зменшення викликаних хіміотерапією побічних ефектів, таких, як алопеція.

Приклад 10: Дослідження на мишах, які мають пухлини

Зразками, які було взято для цього дослідження, були: (а) еталонний (суспензія зв'язаного з альбуміном паклітакселу для ін'єкцій серійного виробництва) (b) Випробуваний зразок I (зразок, одержаний за Прикладом 4), (c) Випробуваний зразок II (зразок, одержаний за Прикладом 5).

Метою цього експерименту було дослідження утримування у пухлині та проникності наночастинок згідно з даним винаходом (Випробувані зразки) порівняно з Еталонним зразком. Для дослідження брали мишей ICRC з пухлинами (спонтанними пухлинами молочної залози), яких

розділяли на три групи ($n = 5$) на основі середнього розміру пухлин і вводили дози ($0,06 \text{ мг}/100 \text{ мм}^3$) Еталонного та Випробуваного зразків шляхом введення у пухлину. Після заданого інтервалу часу у 8 год мишей умертвляли, пухлини та плазму збирали й піддавали аналізу на паклітаксел.

Розраховували співвідношення пухлини-плазми для паклітакселу у випробуваному та еталонному зразках, і воно становило 71,61 у прикладі 4 та 355,7 у прикладі 5 і 19,96 в Еталонному зразку. Ці дані вказують, що утримування паклітакселу становило 3,58 разу для Випробуваного зразка за прикладом 4 і 17,80 разу для Випробуваного зразка за прикладом 5 порівняно з Еталонним зразком. Це також вказує на меншу проникність випробуваних зразків порівняно з еталонним зразком і підтверджує зменшення побічних ефектів, таких, як алопеція, як видно у Випробуваному зразку за прикладом 4. Випробуваний зразок з додатковими чутливими до температури полімерами у складі, представлений у прикладі 5, забезпечував значно краще утримування завдяки набухання частинок до розміру, визначеного згідно з винаходом, а отже, має значно нижчу проникність, що в результаті може забезпечувати суттєве зменшення побічних ефектів, таких, як алопеція.