

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(51) МПК

A61K 9/14 (2006.01)

A61K 31/5377 (2006.01)

A61K 31/409 (2006.01)

A61K 47/10 (2006.01)

A61K 47/24 (2006.01)

A61K 47/32 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

B82B 1/00 (2006.01)

B82Y 5/00 (2011.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 9/14 (2025.01); A61K 31/5377 (2025.01); A61K 31/409 (2025.01); A61K 47/10 (2025.01); A61K 47/24 (2025.01); A61K 47/32 (2025.01); A61K 2121/00 (2025.01); A61P 35/00 (2025.01); B82B 1/00 (2025.01); B82Y 5/00 (2025.01)

(21)(22) Заявка: 2024127548, 18.09.2024

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
18.09.2024Дата регистрации:
09.06.2025

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 18.09.2024

(45) Опубликовано: 09.06.2025 Бюл. № 16

Адрес для переписки:

115522, Москва, Каширское ш., 24, ФГБУ
"Национальный медицинский
исследовательский центр онкологии имени
Н.Н. Блохина" Минздрава РФ, отдел
патентной и изобретательской работы

(72) Автор(ы):

Николаева Людмила Леонидовна (RU),
Санарова Екатерина Викторовна (RU),
Ланцова Анна Владимировна (RU),
Орлова Ольга Львовна (RU),
Барышникова Мария Анатольевна (RU),
Рудакова Анна Андреевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
учреждение "Национальный медицинский
исследовательский центр онкологии имени
Н.Н. Блохина" Министерства
здравоохранения Российской Федерации
(ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н.
Блохина" Минздрава России) (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: Санарова Е.В. и др. Создание
модели комплексной наносистемы доставки,
содержащей ингибитор тирозинкиназ и
фотосенсибилизатор / Химико-
фармацевтический журнал, 2023, Т. 57, N. 7, с.
43-46. Sujit Nayek et al. Development of novel S
PC-3 gefitinib lipid nanoparticles for effective
drug delivery in breast cancer. Tissue distribution
studies and cell (см. прод.)

(54) Комбинированная наноконструкция для терапии рака легкого

(57) Реферат:

Изобретение относится к химии и
фармацевтике, а именно к комбинированному
средству для терапии рака легкого в виде
наночастиц. Предложенное средство содержит
гефитиниб, алюминий 1,8,15,22-тетрааксис
(фенилсульфанил)-29Н,31Н-фталоцианин
гидроксид в качестве фотосенсибилизатора,
полоксамер 188, соевый фосфатидилхолин и
поливинилпирролидон в качестве криопротекторапри массовых соотношениях указанных
компонентов соответственно 1-1,2;0,5-0,6:100-120:
10-12;150-180. Изобретение обеспечивает состав,
предназначенный для парентерального введения
и обладающий стабильностью,
стимулчувствительным высвобождением
гефитиниба под воздействием облучения и
высокой цитотоксической активностью. 3 ил., 3
пр.

(56) (продолжение):
cytotoxicity analysis / Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2021, V. 61, pp. 102073(1-12). Николаева Л.Л. и др. Гефитиниб: комбинированная терапия и комплексные системы доставки (обзор) / Разработка и регистрация лекарственных средств, 2024, Т. 13, N. 1, с. 26-33. US 20180000827 A1, 04.01.2018. WO 2020160397 A1, 06.08.2020.

R U 2 8 4 1 5 4 7 C 1

R U 2 8 4 1 5 4 7 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

A61K 9/14 (2006.01)*A61K 31/5377* (2006.01)*A61K 31/409* (2006.01)*A61K 47/10* (2006.01)*A61K 47/24* (2006.01)*A61K 47/32* (2006.01)*A61P 35/00* (2006.01)*B82B 1/00* (2006.01)*B82Y 5/00* (2011.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A61K 9/14 (2025.01); *A61K 31/5377* (2025.01); *A61K 31/409* (2025.01); *A61K 47/10* (2025.01); *A61K 47/24* (2025.01); *A61K 47/32* (2025.01); *A61K 2121/00* (2025.01); *A61P 35/00* (2025.01); *B82B 1/00* (2025.01); *B82Y 5/00* (2025.01)

(21)(22) Application: **2024127548, 18.09.2024**(24) Effective date for property rights:
18.09.2024Registration date:
09.06.2025

Priority:

(22) Date of filing: **18.09.2024**(45) Date of publication: **09.06.2025** Bull. № 16

Mail address:

115522, Moskva, Kashirskoe sh., 24, FGBU
"Natsionalnyj meditsinskij issledovatel'skij tsentr
onkologii imeni N.N. Blokhina" Minzdrava RF,
otdel patentnoj i izobretatel'skoj raboty

(72) Inventor(s):

Nikolaeva Lyudmila Leonidovna (RU),
Sanarova Ekaterina Viktorovna (RU),
Lantsova Anna Vladimirovna (RU),
Orlova Olga Lvovna (RU),
Baryshnikova Mariya Anatolevna (RU),
Rudakova Anna Andreevna (RU)

(73) Proprietor(s):

Federalnoe gosudarstvennoe byudzhethoe
uchrezhdenie "Natsionalnyj meditsinskij
issledovatel'skij tsentr onkologii imeni N.N.
Blokhina" Ministerstva zdravookhraneniya
Rossijskoj Federatsii (FGBU "NMITS onkologii
im. N.N. Blokhina" Minzdrava Rossii) (RU)

(54) COMBINED NANOSTRUCTURE FOR LUNG CANCER THERAPY

(57) Abstract:

FIELD: chemistry; pharmaceuticals.

SUBSTANCE: invention refers to chemistry and pharmaceuticals, namely to a combined agent for lung cancer therapy in the form of nanoparticles. Proposed agent contains gefitinib, aluminium 1,8,15,22-tetrakis (phenylsulfanyl)-29H,31H-phthalocyanine hydroxide as a photosensitizer, poloxamer 188, soya phosphatidylcholine and polyvinylpyrrolidone as a

cryoprotector with weight ratios of said components, respectively 1-1.2:0.5-0.6:100-120:10-12:150-180.

EFFECT: invention provides a formulation for parenteral administration and having stability, stimulus-sensitive gefitinib release under the effect of radiation and high cytotoxic activity.

1 cl, 3 dwg, 3 ex

Изобретение относится к медицине, а именно к фармацевтической технологии, и касается комбинированной наноконструкции на основе gefitinib (ГФТ) и фотосенсибилизатора (ФС) для лечения немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) и/или других видов рака.

ГФТ является первым агентом, нацеленным на рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), зарегистрированным в качестве противоопухолевого препарата в Японии, Австралии и США для лечения химиорезистентного НМРЛ. В доклинических исследованиях ГФТ продемонстрировал противоопухолевую активность в отношении различных линий опухолевых клеток человека, экспрессирующих EGFR, включая рак легких, яичников, молочных желез и толстой кишки [Rahman A.F.M.M., Korashy H.M., Kassem M.G. Chapter Five - Gefitinib. Editor: Harry G. Brittain. Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology, Academic Press, 2014;39: 239-264. DOI 10.1016/B978-0-12-800173-8.00005-2]. Субстанция ГФТ обладает высокой липофильностью (logP 3,2), нерастворима в диметилформамиде, малорастворима в этаноле и метаноле, практически нерастворима в воде, ее растворимость снижается с увеличением pH [Rohilla S., Awasthi R., Mehta M. et al. Preparation and Evaluation of Gefitinib Containing Nanoliposomal Formulation for Lung Cancer Therapy. BioNanoSci. 2022;12:241-255. DOI 10.1007/s12668-022-00938-6]. В связи с этим, препарат выпускается в форме таблеток, покрытых пленочной оболочкой, содержащих 250 мг действующего вещества, но их применение ограничено низкой биодоступностью (59%) и быстроразвивающейся резистентностью.

Для преодоления данных отрицательных свойств проводятся большое количество исследований [Николаева Л.Л., Санарова Е.В., Ланцова А.В. Gefitinib: комбинированная терапия и комплексные системы доставки (обзор). Разработка и регистрация лекарственных средств. 2024; 13(1):26-33. DOI 10.33380/2305-2066-2024-13-1-1615] по разработке лекарственных форм с повышенной биодоступностью на основе ГФТ, в том числе в комплексе с другими химиотерапевтическими агентами и/или в сочетании с другими видами терапии. Среди новых разработок особый интерес представляют стимулчувствительные формы, высвобождение действующих веществ из которых происходит контролируемо под действием определенного стимула.

Данное изобретение решает задачу получения комбинированной наноконструкции на основе ГФТ с фотоиндуцированным высвобождением, за счет введения в модельный состав ФС из группы фталоцианина (ФЦ). Выбор этого соединения в качестве ФС для настоящего изобретения связан с тем, что фталоцианиновые красители особенно выделяются среди фототермических красителей благодаря своим уникальным физико-химическим свойствам, таким как поглощение света в окне прозрачности биологических тканей, термическая стабильность, позволяющая проводить многократное облучение, и низкое поглощение в диапазоне 400-600 нм, что снижает токсичность, индуцированную солнцем [Kovalenko V.L., Kolesnikova O.A., Nikitin M.P. et al. Surface Characteristics Affect the Properties of PLGA Nanoparticles as Photothermal Agents. Micromachines. 2023;14(8): 1647. DOI 10.3390/mi14081647],

В экспериментальных исследованиях липосомальной композиции на основе ФЦ был продемонстрирован широкий спектр противоопухолевой активности данного ФС на нескольких моделях в опытах in vivo (эпидермоидная карцинома легкого Льюиса LLC, саркома S37, АКАТОЛ) [Ланцова А.В., Борисова Л.М., Меерович Г.А. и др. Изучение противоопухолевой активности липосомального фотосенсибилизатора липофталоциана. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2019; 168(9):332-337].

В настоящее время ведутся исследования по получению различных наноструктур на основе совместного применения ГФТ и ФЦ в одной системе. В нашей работе

[Николаева Л.Л., Ланцова А.В., Санарова Е.В. Полилактидные частицы комбинированного действия на основе противоопухолевого агента и фотосенсибилизатора // Сборник тезисов XXXI Российского национального конгресса «Человек и лекарство». 15-18 апреля 2024 г. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2024; 23(S6): 146-147] методом одностадийного диспергирования с последующим удалением органического растворителя были получены полилактидные частицы на основе сополимера молочной и гликолевой кислот в соотношении ГФТ:ФЦ: сополимер: хитозан 1,0:0,2:30:0,4. Недостатком данной композиции является необходимость длительного эмульгирования (16-24 ч) водной и органической фазы в процессе получения.

Также нами получена композиция в виде твердых липидных частиц, включающая в качестве вспомогательных веществ стеариновую кислоту, кунжутное масло и твин 80 в соотношении 1,2:1:3,7 [Николаева Л.Л., Санарова Е.В., Ланцова А.В. Получение комбинированных систем доставки на основе гевитиниба и фотосенсибилизатора методом горячей гомогенизации. Сборник тезисов XI Международного молодежного медицинского форума Белые цветы посвященный 150-летию Н.А. Семашко. 2024:1603].

Композицию получали методом горячей гомогенизации, при которой действующие вещества растворяли не в органическом растворителе, а в расплавленной стеариновой кислоте. Недостатком данной композиции была высокая темновая цитотоксичность, превышающая более чем в 2 раза цитотоксичность субстанции ГФТ, что указывало на довольно высокую токсичность вспомогательных компонентов.

В другой работе [Санарова Е.В., Ланцова А.В., Николаева Л.Л., Оборотова Н.А., Литвиненко Я.Е., Соловьева Н.Л. Создание модели комплексной наносистемы доставки, содержащей ингибитор тирозинкиназ и фотосенсибилизатор И Химико-фармацевтический журнал. 2023; 57(7): 43-46. DOI 10.30906/0023-1134-2023-57-7-43-46] мы получили две модельные композиции: 1) липосомы на основе яичного фосфатидилхолина (ФХ), ПЭГелированного ФХ, холестерина и сахарозы; 2) смешанные мицеллы на основе соевого фосфатидилхолина (СФХ) и различных поверхностно-активных веществ (ПАВ). Недостатком первой липосомальной модели оказалась низкая цитотоксическая активность и отсутствие фотоиндуцированного высвобождения в предварительных *in vitro* исследованиях при облучении в дозе 33 Дж/см². Так, гибель клеток на модели рака легкого A549 в дозе 80 мкг/мл составляла только 20-25%. Вторая композиция, в виде мицеллярной формы, принята за прототип, включающий ГФТ и ФЦ, а также вспомогательные вещества: СФХ, Kolliphor ELP, полоксамер 188 и сахарозу в соотношениях 1:0,25:7:40:15:45.

Выбранный прототип имеет следующие недостатки:

1. Содержание в составе композиции вспомогательного вещества - Kolliphor ELP на масляной основе с высокой солюбилизующей активностью увеличивает длительность технологического процесса сублимационного высушивания (до 48 ч), а также в процессе первичной сушки возникает повышенный риск возникновения брака за счет явления «коллапса», вследствие превышения температуры на границе раздела фаз, что способствует эвтектическому расплавлению лиофилизата [Алексеев К.В., Блынская Е.В., Тишков С. В. Теоретические и практические основы лиофилизации лекарственных препаратов. Москва, 2019.]. При применении Kolliphor ELP в клинической практике часто возникают реакции гиперчувствительности, гиперлипидемии и др. [Szymczyk K., Szaniawska M., Krawczyk J. Temperature Effect on the Adsorption and Volumetric Properties of Aqueous Solutions of Kolliphor ELP. Molecules. 2020; 25(3):743. DOI 10.3390/molecules25030743].

2. При разработке режима облучения на клетках рака легкого A549 было показано, что прототип имеет менее выраженное фотоиндуцированное высвобождение активных фармацевтических субстанций под воздействием света в ближнем инфракрасном диапазоне, а соответственно менее эффективен и избирателен. Задачей представленного изобретения является устранение описанных недостатков и создание комбинированной наноконструкции на основе ГФТ и ФЦ, с последующим индуцированным высвобождением их под воздействием света в ближнем инфракрасном диапазоне с низкой интенсивностью, приводящей к высокой синергической гибели опухолевых клеток по сравнению с прототипом на клетках рака легкого A549 и обладающей низкой темновой цитотоксичностью.

Поставленная задача достигается за счет исключения из состава прототипа следующих вспомогательных веществ - Kolliphor ELP и сахарозы и введения в состав заявляемой наноконструкции поливинилпирролидона (ПВП), с сохранением в составе в качестве активных веществ - ГФТ и ФЦ, а в качестве структурообразующих - полоксамер 188 и СФХ с увеличением их количеств.

Технический результат изобретения - создана новая комбинированная наноконструкция для терапии рака легкого, которая содержит химиотерапевтический агент - гефитиниб (ГФТ), фотосенсибилизатор - алюминий 1,8,15,22 - тетрааксис (фенилсульфанил)-29Н,31Н-фталочианингидроксид (ФЦ) в качестве действующих веществ и полоксамер 188, соевый фосфатидилхолин (СФХ) и поливинилпирролидон (ПВП) в качестве вспомогательных веществ в следующих массовых соотношениях компонентов:

Вещество	Масс.соотн
гефитиниб	1-1,2
алюминий 1,8,15,22-тетрааксис(фенилсульфанил)-29Н,31Н-фталочианингидроксид	0,5-0,6
полоксамер 188	100-120
соевый фосфатидилхолин	10-12
поливинилпирролидон(молекулярная масса 7000-11000)	150-180

Заявляемое средство получают по следующей методике:

Точные навески ГФТ, ФЦ и СФХ растворяют в хлороформе с использованием ультразвука. Одновременно при равномерном перемешивании (со скоростью вращения 100 об/мин) готовят 2% водный раствор полоксамера 188. Далее под равномерным потоком инертного газа, при непрерывном нагревании (60°C) и перемешивании на пропеллерной мешалке (100 об/мин) к водному раствору полоксамера медленно добавляют, тщательно перемешивая хлороформный раствор ГФТ, ФЦ и СФХ. Длительность процесса эмульгирования водной и органической фазы не превышает 1 ч. После удаления хлороформа наблюдают образование однородной эмульсии светлого-зеленого цвета, которую измельчают с помощью погружного гомогенизатора (5000 об/мин, 60 мин) и ультразвукового диспергатора (5 мин, 60%). В готовой эмульсии при равномерном перемешивании (100 об/мин) растворяют требуемое количество ПВП. Полученную эмульсию фильтруют/стерилизуют путем мембранной фильтрации через полиэфирсульфоновые мембранные фильтры с диаметром пор 0,22 мкм.

Полученная эмульсия стабильна в течение 60 суток при температуре 2-8°C. При

более длительном хранении наблюдается укрупнение частиц, снижение pH и выпадение осадка. Данный недостаток препятствует осуществлению серийного производства данной наноконструкции. Для повышения ее устойчивости в процессе хранения и продления срока годности предложена ее стабилизация посредством сублимационной сушки. Лиофилизация позволяет увеличить срок годности до 2 лет. Прототип обладает менее длительной стабильностью (около 30 суток), а наличие в составе большого количества Kolliphor ELP, обладающего масляной природой, не позволяет провести его качественную лиофилизацию.

Эмульсию разливают механическим дозатором по 2,0 мл во флаконы вместимостью 10 мл и лиофилизируют согласно следующему режиму:

Этап	Описание этапа
1	Охлаждение от первоначальной температуры (+20/+25°C) до -5/-10 °C и выдерживание при данной температуре в течение 30 мин
2	Охлаждение до -18/-20 °C и выдерживание при данной температуре в течение 30 мин
3	Охлаждение до -40/-45 °C и выдерживание при данной температуре в течение 3-5 ч
4	Откачка воздуха, включение вакуума, выдерживание при температуре -40/-45 °C в течение 3-5 ч
5	Нагрев полок до температуры -25/-20 °C со скоростью 1,5-2 °C/ч и выдерживание при данной температуре в течение 2-3 ч
6	Нагрев полок до температуры -8/-5 °C со скоростью 2-3 °C/ч
7	Нагрев полок до температуры +20/+22 °C со скоростью 5-8 °C/ч
8	Досушивание при температуре +20/+22 °C в течение 2-3 ч

По окончании процесса сушки вакуум в сублимационной камере гасят чистым профильтрованным стерильным воздухом, пропущенным через патрон с безводным силикагелем и стерильным воздушным фильтром с размером пор 0,22 мкм. По окончании лиофилизации флаконы закрывают пробками и укупоривают алюминиевыми колпачками.

Ниже приведены конкретные примеры заявляемого средства.

Пример 1:

Вещество	Масс.соотн
гепитиниб	1,0
алюминий 1,8,15,22-тетраксис(фенилсульфанил)-29Н,31Н-фталоцианин гидроксид	0,5
полоксамер 188	100
соевый фосфатидилхолин	10
поливинилпирролидон (молекулярная масса 7000-11000)	150

Пример 2:

Вещество	Масс.соотн
гепитиниб	1,1
алюминий 1,8,15,22-тетраксис(фенилсульфанил)-29Н,31Н-фталоцианин гидроксид	0,55
полоксамер 188	110
соевый фосфатидилхолин	11
поливинилпирролидон(молекулярная масса 7000-11000)	165

Пример 3:

Вещество	Масс.соотн
гепитиниб	1,2
алюминий 1,8,15,22-тетраксис(фенилсульфанил)-29Н,31Н-фталоцианин гидроксид	0,6
полоксамер 188	120
соевый фосфатидилхолин	12
поливинилпирролидон (молекулярная масса 7000-11000)	180

Так как структура наноконструкций оказывает существенное влияние на профиль высвобождения действующих веществ из них была проведена оценка профиля высвобождения ГФТ из прототипа и заявляемого средства с целью дальнейшего планирования эксперимента на клеточных линиях. Профили высвобождения сравнивали только по ГФТ, т.к. субстанция ФЦ в водной среде агрегирует, и оценить ее выход не представляется возможным.

Высвобождение ГФТ из частиц изучали *in vitro*-. 2 мл дисперсии/раствора вносили в диализную вставку (100 KD) центрифужной пробирки на 15 мл и погружали ее в раствор фосфатно-солевого буфера (pH 7,4), содержащий 2% полисорбата 80. Затем пробирку помещали на орбитальную водяную баню и встряхивали при температуре 37°C.

Отбираемую на анализ среду заменяли свежей средой через определенные промежутки времени. Скорость высвобождения ГФТ в данную среду из прототипа и заявляемого средства определяли с помощью метода спектрофотометрии. На спектрофотометре Сагу 100 (Agilent) регистрировали электронные спектры поглощения спиртовых растворов в диапазоне длин волн 200-1000 нм. Определение проводили с использованием раствора стандартного образца (РСО). По значениям интенсивности поглощения растворов при длинах волн 250 и 717 нм, определяли концентрацию ГФТ. Каждый эксперимент повторялся не менее трех раз, результаты представляли как среднее $\pm$

стандартное отклонение.

Изобретение иллюстрируется фигурами 1-3.

На фигурах 1 и 2 приведены профили высвобождения ГФТ из наноконструкций без облучения и после облучения соответственно.

На фигуре 3 - темновая и фотоиндуцированная цитотоксичность прототипа и заявляемого средства на линии клеток A549.

Проведенные исследования продемонстрировали, что без облучения высвобождение ГФТ и в прототипе, и в заявляемом средстве происходит достаточно равномерно, за первые 12 ч высвобождается около 40%, а к 25 ч высвобождается остальные 60%.

Под воздействием облучения профиль высвобождения ГФТ меняется и наблюдается его «взрывное высвобождение» из заявляемого средства по сравнению с менее выраженным высвобождением из прототипа. Проведенные нами исследования продемонстрировали, что наиболее оптимальное время инкубации клеток с наноконструкциями до проведения облучения составляет 4 ч.

Цитотоксическая активность

Заявляемое средство и прототип сравнивали по темновой и фотоиндуцированной цитотоксической активности в опытах *in vitro* с использованием МТТ-теста на моделях рака легкого A549, полученной из Банка клеточных линий ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Клеточные линии культивировали по стандартной методике [Ionov N.S., Baryshnikova M.A., Bocharov E.V. et al. Possibilities of *in Silico* Estimations for the Development of the Pharmaceutical Composition Phytoladaptogene Cytotoxic for Bladder Cancer Cells. *Biochem. Moscow Suppl. Ser. B.* 2021;15:290-300. DOI 10.1134/S1990750821040041]. МТТ-тест проводили рутинным методом [Khusnutdinova E.F., Petrova A.V., Kazakova O.B. et al. Synthesis and Cytotoxicity of Triterpenic Acids Modified at C3 and C28 Positions. *Russ J Bioorg Chem.* 2019;45:552-557. DOI: 10.1134/S1068162019050042], облучение проводили через 4 ч после добавления препарата светодиодным источником с длиной волны 730 нм, с использованием терапевтического лазера ЛФД-01/730-Биоспек (БИОСПЕК), с дозой облучения 28 Дж/см², которую контролировали с помощью прибора РМ160Т (Thorlabs GmbH), далее клетки инкубировали еще в течение 24 ч. При исследовании темновой и фотоиндуцированной цитотоксичности заявляемое средство и прототип вносили в лунки планшета с клетками в концентрациях по ГФТ 1,25-25 мкг/мл.

Определяли процент погибших клеток, характеризующий цитотоксичность (Ц, %) по формуле:

$$Ц = (1 - (О_0 / О_к)) * 100\%,$$

где O_k - оптическая плотность в контрольных лунках,

O_0 - оптическая плотность в опытных лунках.

Соединение считают цитотоксичным, если оно вызывает гибель 50% клеток (ИК50) в концентрации 100 мкМ.

Статистический анализ проводили с использованием пакетов программ Microsoft Excel и GraphPad Prism (GraphPad Software Inc.). Каждый эксперимент повторялся не менее трех раз, результаты представляли как среднее $\pm$ стандартное отклонение.

На фиг.3 продемонстрирована темновая и фотоиндуцированная цитотоксичность заявляемого средства по сравнению с прототипом и субстанцией. Темновую цитотоксичность определяли через 28 ч после инкубации с клетками, при этом уменьшение числа живых клеток с увеличением концентрации подтверждает дозозависимую активность изучаемых наноконструкций. После облучения с плотностью фотовоздействия ~ 28 Дж/см² под действием заявляемого средства наблюдается более

сильное «взрывное» стимулчувствительное высвобождение ГФТ до 60%, в результате разрыва наноструктуры, которое достигает максимума к 24 ч, что подтверждается гибелью 90% опухолевых клеток, при этом ИК50 (по ГФТ) для заявляемого средства составило около $1,0 \pm 0,3$ мкг/мл, а для прототипа ИК50 - $5,0 \pm 0,2$ мкг/мл.

Преимущества заявляемого изобретения:

1. Входящие в состав заявляемого средства вспомогательные вещества биоразлагаемы и позволяют получить после лиофилизации регидратируемую эмульсию с наноразмером частиц до 200 нм, при достаточно узком распределении по размерам (индекс полидисперсности PDI менее 0,3), поверхностный заряд частиц слабо отрицательный, а pH нейтральный.

Полученный состав и способ получения заявляемого средства позволили разработать модель лекарственной формы для парентерального применения с хорошей растворимостью и стабильностью в связи с возможностью ее качественной лиофилизации.

На клетках рака легкого A549 в *in vitro* исследованиях с облучением цитотоксическая активность заявляемого средства достигает 90% (в дозе 8 мкг/мл), а разность в показателе цитотоксичности до и после облучения составляет более 50%.

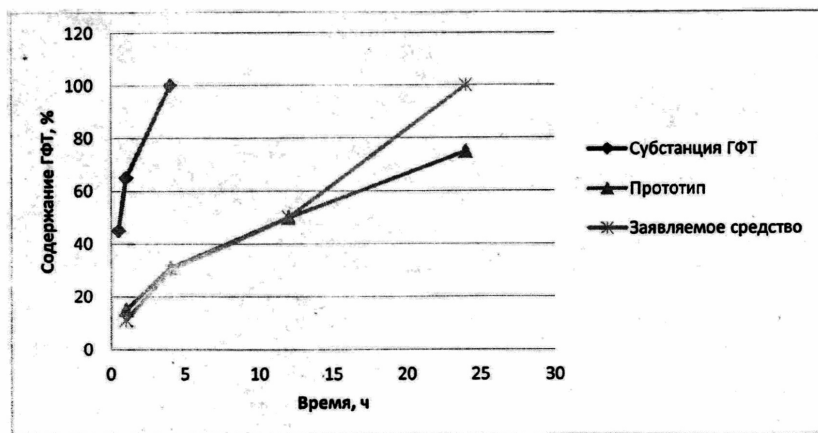
Исследования, проведенные на клетках рака легкого A549, подтверждают идею стимулчувствительного высвобождения ГФТ под воздействием облучения, которое целесообразно проводить через 4 ч после инкубации препарата с клетками.

(57) Формула изобретения

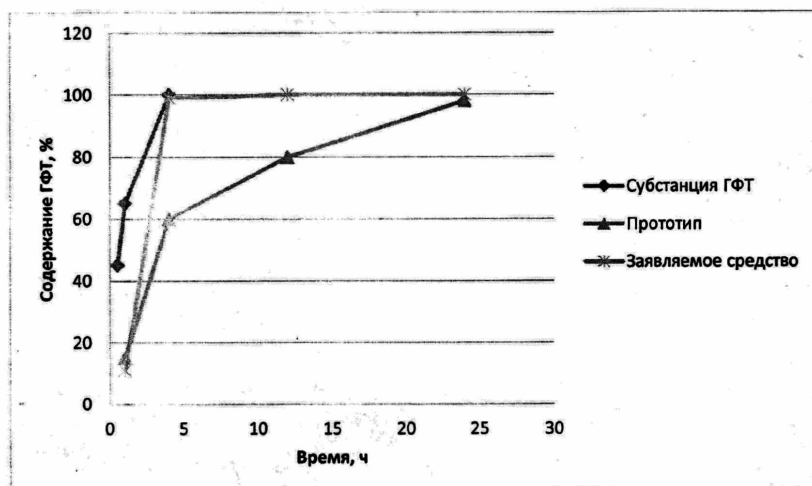
Комбинированное средство для терапии рака легкого в виде наночастиц, содержащее gefitinib, фотосенсибилизатор – алюминий 1,8,15,22-тетраксис (фенилсульфанил)-29Н,31Н-фталотианин гидроксид, полксамер 188, соевый фосфатидилхолин, отличающееся тем, что содержит поливинилпирролидон в качестве криопротектора в следующих массовых соотношениях компонентов:

gefitinib	1-1,2
алюминий 1,8,15,22-тетраксис (фенилсульфанил)-29Н,31Н-фталотианин гидроксид	0,5-0,6
полксамер 188	100-120
соевый фосфатидилхолин	10-12
поливинилпирролидон	150-180

1

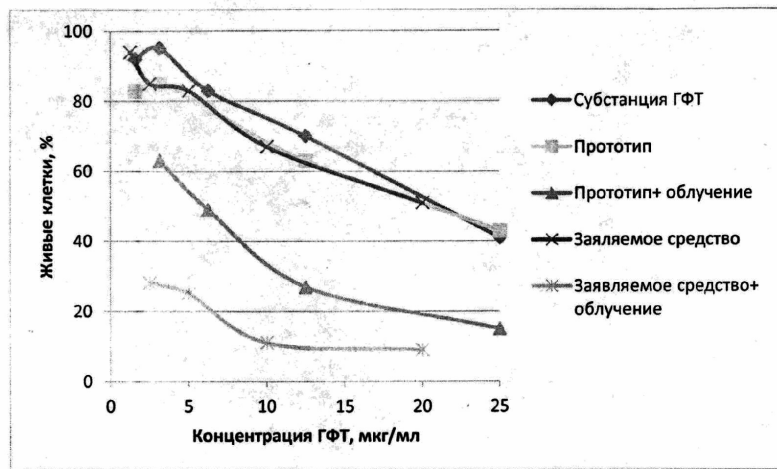


Фиг. 1



Фиг. 2

2



Фиг. 3