(19) **RU** (11) **2 130 781** (13) **C1**

(51) МПК[6] **A 61 K 47/00, 9/14**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: **93046256/14, 30.06.1993**

(30) Приоритет: **01.07.1992 US 07/908,125**

(46) Дата публикации: **27.05.1999**

(56) Ссылки: **US 4826689 A, 1989.**

(98) Адрес для переписки:
**103735, Москва, ул.Ильинка 5/2, Союзпатент
Патентному поверенному г-же Лебедевой Н.Г.**

(71) Заявитель:
Наносистемс Л.Л.С. (US)

(72) Изобретатель: **Гари Дж. Лайверсидж (US), Илэйн Лайверсидж (US), Прамод Сарпотдар (US)**

(73) Патентообладатель:
Наносистемс Л.Л.С. (US)

(54) ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ С МОДИФИЦИРОВАННОЙ ПОВЕРХНОСТЬЮ И СОДЕРЖАЩАЯ ИХ КОМПОЗИЦИЯ

(57) Реферат:

Диспергируемые частицы состоят из кристаллического противоракового средства. На поверхности частиц адсорбирован модификатор поверхности в количестве 0,1 - 90 мас.%, достаточном для сохранения среднего эффективного размера частиц менее 1000 нм. Модификатор поверхности представляет собой поливиниловый спирт, тетрафункциональный блоксополимер, полученный в результате последовательного добавления этиленоксида и пропиленоксида к этилендиамину, аравийскую камедь, блоксополимер этиленоксида и пропиленоксида, сложный эфир полиоксиэтиленсорбитана и жирной кислоты и сложный эфир сорбитана и жирной кислоты. Противоопухолевые составы, включающие указанные наночастицы, проявляют сниженную токсичность и/или повышенную активность и могут назначаться внутривенно. 2 с. и 14 з.п. ф-лы, 9 табл.

RU 2130781 C1

RU 2130781 C1

(19) **RU** (11) **2 130 781** (13) **C1**

(51) Int. Cl.[6] **A 61 K 47/00, 9/14**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: 93046256/14, 30.06.1993

(30) Priority: 01.07.1992 US 07/908,125

(46) Date of publication: 27.05.1999

(98) Mail address:
103735, Moskva, ul.Il'inka 5/2, Sojuzpatent
Patentnomu poverennomu g-zhe Lebedevoj N.G.

(71) Applicant:
Nanosistems L.L.S. (US)

(72) Inventor: Gari Dzh. Lajversidzh (US),
Ilehjn Lajversidzh (US), Pramod Sarpotdar (US)

(73) Proprietor:
Nanosistems L.L.S. (US)

(54) ANTITUMOR NANOPARTICLES WITH MODIFIED SURFACE AND COMPOSITION CONTAINING THEREOF

(57) Abstract:

FIELD: pharmacology. SUBSTANCE: particles being dispersed consist of crystalline antitumor substances. Surface modifier is adsorbed on particle surface in amount 0.1 to 90 wt % that is high enough to retain average effective particle size below 1000 nm. Surface modifier represents polyvinyl alcohol, tetrafunctional block copolymer resulting from successive addition of ethylene oxide and propylene oxide to ethylenediamine, gum Arabic, ethylene oxide/propylene oxide block copolymer, fatty acid ester with polyoxyethylenesorbitan, and fatty acid ester with sorbitan. EFFECT: reduced toxicity and/or increased activity, and enabled intravenous administration. 16 cl, 23 ex

RU 2130781 C1

RU 2130781 C1

Изобретение касается противоопухолевых объектов в форме частиц, противоопухолевых составов, содержащих частицы, и способов использования этих частиц.

Терапевтический индекс является критерием отбора лекарственных препаратов, проявляющих желаемые эффекты, и может быть определен как отношение половины летальной дозы к половине эффективной дозы, т.е. как LD 50/ED 50 (см. Goodmab and Gilman "The Pharmacological Basis of Therapeuticus", Eighth Edition, p. 69). Фактически все противоопухолевые агенты имеют низкий терапевтический индекс, например ниже чем 1,0. Увеличение терапевтического индекса, например, снижением токсичности или повышением активности, предоставит врачам большую свободу в выборе дозировок противоопухолевых лекарств в случае необходимости их назначения. Следовательно, методы снижения токсичности и/или повышения активности противоопухолевых лекарственных препаратов и, таким образом, увеличение терапевтических индексов этих лекарственных препаратов должно иметь большое значение в лечении онкологических заболеваний.

Кроме того, плохо растворимые в воде лекарственные препараты, такие как плохо растворимые в воде противоопухолевые агенты, трудно вводить путем внутривенных инъекций. Создание инъекционных форм плохо растворимых лекарственных препаратов представляет значительную проблему. Было бы очень желательно иметь возможность получения плохо растворимых лекарственных препаратов, таких как плохо растворимые противоопухолевые агенты, в инъекционной форме, пригодной для внутривенного введения.

Заявитель обнаружил, что противоопухолевые составы, включающие противоопухолевые агенты в форме наночастиц с модифицированной поверхностью, проявляют пониженную токсичность и/или повышенную активность.

Более конкретно в соответствии с настоящим изобретением готовят частицы, состоящие по существу из кристаллического противоопухолевого агента и имеющие модификатор поверхности, адсорбированный на их поверхности в количестве, достаточном для сохранения эффективных средних размеров частиц менее чем приблизительно 1000 нм.

Кроме того, это изобретение касается противоопухолевых составов, содержащих вышеописанные частицы.

Другой аспект изобретения связан с использованием ранее описанных частиц или составов, содержащих эти частицы, для приготовления лекарственных средств для лечения онкологических заболеваний.

Существенное преимущество настоящего изобретения состоит в том, что противоопухолевые составы, полученные в соответствии с изобретением, проявляют сниженную токсичность и/или повышенную активность.

Другое преимущество настоящего изобретения состоит в том, что составы на основе плохо растворимых противоопухолевых агентов, полученные в соответствии с настоящим изобретением, могут назначаться внутривенно и могут длительное время после инъекции циркулировать в крови.

Настоящее изобретение частично основано на том открытии, что противоопухолевые наночастицы с модифицированной поверхностью проявляют сниженную токсичность и/или повышенную активность. Несмотря на то, что изобретение первоначально описывалось в связи с предпочтительным для его использования классом лекарственных препаратов, т.е. с противоопухолевыми агентами, включая иммуносупрессивные агенты, оно также может быть полезным в использовании по отношению к плохо растворимым в воде лекарственным препаратам, особенно с низким терапевтическим индексом, относящимся к другим классам лекарственных веществ.

Частицы по настоящему изобретению включают противоопухолевый агент. Противоопухолевый агент может представлять собою одну или несколько отдельных кристаллических фаз. Кристаллическая фаза отличается от аморфной, т.е. некристаллической фазы, которую получают традиционными приемами осаждения растворителем при приготовлении частиц субмикронного размера, как описано в патенте США 4826689.

Настоящее изобретение может быть использовано в отношении широкого круга противоопухолевых агентов. Однако противоопухолевые агенты должны быть плохо растворимы и диспергируемы по крайней мере в одной жидкой среде. Под "плохой растворимостью" понимается, что лекарственное вещество растворимо в липкой дисперсионной среде, например в воде менее чем приблизительно 10 мг/мл и, предпочтительно менее чем 1 мг/мл при данной температуре растворения, например при комнатной температуре. Предпочтительной жидкой дисперсионной средой является вода. Однако изобретение может быть реализовано и при использовании других жидких средств, в которых противоопухолевый агент диспергируется, включая, например, водные солевые растворы, сафлоровое масло и растворители, такие как этанол, трет-бутанол, гексан и этиленгликоль. Значение pH водной дисперсионной среды может корректироваться известным образом.

Противоопухолевый агент предпочтительно выбирают из алкилирующих агентов, антиметаболитов, природных продуктов, гормонов и их антагонистов и агентов с разносторонней активностью, таких как, например, радиосенсибилизаторы.

Примерами алкилирующих агентов являются алкилирующие агенты, имеющие бис-(2-хлорэтил) аминогруппу, такие как хлорметил, хлорамбуцил, мельфалан, урамустин, манномустин, мехлорэтаминоксид, циклофосфамид, ифосфамид и трифосфамид; алкилирующие агенты, имеющие замещенную азиридиновую группу, такие как третамин, тиотепа, триазикон и митомицин, алкилирующие агенты типа алкилсульфоната, такие как бисульфан, пипосульфан и пипосульфам; алкилирующие производные N-алкил-N-нитрозомочевины,

RU 2130781 C1

RU 2130781 C1

такие как кармустин, ломустин, семустин или стрептозотоцин; алкилирующие агенты типа митобронитола, декарбазина и прокарбазина.

Примерами антиметаболитов являются аналоги фолевой кислоты, такие как метотрексат; аналоги пиримидина, такие как фторурацил, флоксуридин, тегафур, цитарабин, идоксуридин и флуцитозин; производные пурина, такие как меркаптопурин, тиогуанин, азатиоприн, тиамиприн, видарабин, пентостатин и пуромицин.

Примерами природных продуктов являются алкалоиды барвинка, такие как винбластин и винкристин: эпиподофилотоксины, такие как этопозид и тенипозид; антибиотики такие, как адриамицин, дауномицин, доктиномицин, даунорубицин, доксорубицин, митрамицин, блеомицин и митомицин; ферменты, такие как L-аспарагиназа, биологические модуляторы, такие как альфа-интерферон; камптотецин, таксол; ретиноиды, такие как ретинойная кислота.

Примерами гормонов и их антагонистов являются адренокортикостероиды, такие как преднизон; прогестины, такие как гидроксипрогестерон капроат, медроксипрогестерон ацетат и мегестрол ацетат; эстрогены, такие как диэтилстильбестрол и этинил эстрадиол; антиэстрогены, такие как тамоксифен; андрогены, такие как тестостерон пропионат и флуоксиместерон; антиандрогены, такие как флутамид; аналоги гонадотропин-освобождающих гормонов, такие как леупролид.

Примерами агентов с разносторонней активностью являются радиосенсибилизаторы, такие как 1,2,4-бензотриазин-3-амино 1,4-диоксид и 1,2,4-бензотриазин-7-амино 1,4-диоксид; координационные комплексы платины, такие как цисплатин и карбоплатин; антрацендионы, такие как митоксантрон; замещенные мочевины, такие как гидроксимочевина; адренокортикальные супрессоры, такие как митотан и аминоглютетимид.

Кроме того, противоопухолевыми агентами могут являться иммуносупрессивные лекарственные препараты, такие как циклоспорин, азатиоприн, сульфасалазин, метоксален и талидомид.

Противоопухолевые агенты, которые могут быть использованы в соответствии с данным изобретением, являются известными соединениями и/или могут быть получены известным образом.

Противоопухолевые агенты могут быть использованы как таковые или в комбинации с одним или несколькими другими противоопухолевыми агентами.

Частицы по настоящему изобретению содержат противоопухолевый агент, тлеющий, как описано выше, модификатор поверхности, адсорбированный на поверхности частиц. Пригодные модификаторы поверхности включают те, которые физически связываются с поверхностью противоопухолевого агента, но не образуют с противоопухолевыми агентом химической связи.

Желательные модификаторы поверхности предпочтительно могут быть выбраны из известных органических и неорганических связующих, применяемых в фармации. Такие связующие включают различные полимеры, олигомеры низкого молекулярного веса, природные продукты и поверхностно-активные вещества. Предпочтительными модификаторами поверхности являются неионные и анионные поверхностно-активные вещества. Типичными представителями связующих являются желатин; казеин, лецитин (фосфатиды); аравийская каммедь; холестерин; трагакант; стеариновая кислота; бензалконий хлорид; стеарат кальция; моностеарат глицерина; цетостеариловый спирт; цетомакрогол; эфиры сорбитана; алкильные эфиры полиоксиэтилена, например эфиры макрогола, такие как цетомакрогол 1000; производные полиоксиэтилена и касторового масла; эфиры полиоксиэтиленсорбитана и жирных кислот, например коммерчески доступные Твины; полиоксиэтиленгликоли; полиоксиэтиленстеараты; коллоидная двуокись кремния; фосфаты; додецилсульфат натрия; кальций карбоксиметилцеллюлоза; натрий карбоксиметилцеллюлоза; метилцеллюлоза; гидроксиэтилцеллюлоза; гидроксипропилцеллюлоза; фталат гидроксипропилметилцеллюлозы; некристаллическая целлюлоза; магний-аллюминий силикат; триэтаноламин; поливиниловый спирт и поливинилпирролидон. Большинство из этих связующих детально описаны в "Handbook of Pharmaceutical Excipients", совместно опубликованной Американской Фармацевтической Ассоциацией и Фармацевтическим обществом Великобритания. Pharmaceutical Press, 1986. Модификаторы поверхности коммерчески доступны и/или могут быть приготовлены известным образом. Два или более модификаторов поверхности могут быть использованы в комбинации.

Особенно предпочтительными модификаторами поверхности являются поливинилпирролидон, тилоксапол, полаксомеры, такие как Плюроник F68, F107 и F127, которые представляют собою блоксополимеры этиленоксида и пропиленоксида, производимые фирмой BASF; полоксамины, такие как Тетроник 908 (T908), которые представляют собою тетрафункциональные блоксополимеры, получаемые в результате последовательного присоединения этиленоксида и пропиленоксида к этилендиамину, производимые фирмой BASF; декстран, лецитин; Аэрозол OT (AOT), который представляет собою диоктиловый эфир натриевой соли сульфоянтарной кислоты, производимый фирмой American Cyanamid Дупонол 3, который представляет собою натриевую соль лаурилсульфата, производимый фирмой DuPont; Тритон X-200, который представляет собою алкиларилполиэфир сульфонат, производимый фирмой Rohm and Haas; Твины 20, 40, 60 и 80, которые представляют собою эфиры полиоксиэтиленсорбитана и жирных кислот, производимые фирмой ICI Speciality Chemicals; Спаны 20, 40, 60 и 80, которые представляют собою эфиры сорбитана и жирных кислот; Арлацелы 20, 40, 60 и 80, которые представляют собою эфиры

RU 2130781 C1

RU 2130781 C1

сорбитана и жирных кислот, производимые фирмой Hercules Inc; Карбоваксы 3550 и 934, которые представляют собою полиэтиленгликоль, производимые фирмой Union Carbide; Кродеста F-110, представляющий собою смесь стеарата сахарозы и дистеарата сахарозы, производимый фирмой Croda Inc; Кродеста SL - 40, производимый фирмой Croda Inc; гексилдецилтриметил аммоний хлорид; бычий альбумин SA90HCO, который представляет собою C H CH (CON(CH)CH(CHOH)CHOH). Было найдено, что из модификаторов 18 372 32 422 поверхности особенно пригодными являются поливинилпирролидон, Плюроник F-108, поливиниловый спирт и аравийская камедь.

Модификаторы поверхности адсорбируются на поверхности противоопухолевых частиц в количествах, достаточных для того, чтобы сохранить эффективные средние размеры частиц менее чем приблизительно 1000 нм. Модификаторы поверхности химически не взаимодействуют с противоопухолевыми агентами или между собою. Независимо адсорбировавшиеся молекулы модификатора поверхности остаются по существу свободными или образуют межмолекулярные поперечные связи.

В данном случае понятие размера частиц связано с числом частиц среднего размера, определенного традиционными методами измерения размеров частиц, известными в этой области знаний, такими, как седиментационное фракционирование, фотон-корреляционная спектроскопия или дисковое центрифугирование. Выражение "эффективный средний размер частиц менее, чем приблизительно 1000 нм" понимается в том смысле, что по крайней мере 90% частиц имеют средний размер менее чем приблизительно 1000 нм, когда он измерен ранее упомянутыми методами. В особо предпочтительных вариантах осуществления изобретения эффективный средний размер частиц составляет менее чем приблизительно 400 нм. В некоторых вариантах изобретения эффективный средний размер частиц устанавливается менее, чем приблизительно 300 нм. При ссылке на эффективный средний размер частиц предпочтительно, чтобы по крайней мере 95%, а более предпочтительно, чтобы по крайней мере 99% частиц имели размеры менее, чем эффективный средний размер, например 1000 нм. Особенно предпочтительно осуществление изобретения, когда фактически все частицы имеют размеры менее 1000 нм.

Мотояма и др. (патент США 4540602) открыли, что твердые лекарственные препараты могут быть превращены в порошок в водном растворе водорастворимого высокомолекулярного вещества и в результате такого мокрого помола лекарственный препарат превращается в мелкодисперсные частицы от 0,5 мкм или менее 5 мкм в диаметре. Однако не было указаний на то, что могут быть получены частицы, имеющие средний размер менее приблизительно 1 мкм. Попытки воспроизвести процесс, описанный Мотоямой и др. привели к тому, что были получены частицы, имеющие средний размер много более 1 мкм.

Частицы по настоящему изобретению могут быть получены методом, включающим этапы диспергирования противоопухолевого агента в жидкой дисперсионной среде и применения механических средств в присутствии измельчающего материала для снижения размеров частиц противоопухолевого агента до эффективного среднего размера менее чем приблизительно 1000 нм. Частицы могут быть уменьшены в размерах в присутствии модификатора поверхности. Альтернативно частицы могут быть подвергнуты контакту с модификатором поверхности после измельчения частиц истиранием.

Основные методики получения частиц по настоящему изобретению приводятся далее. Требуемый противоопухолевый агент приобретают в готовом виде и/или получают известным образом в грубодисперсной форме. Предпочтительно, но не обязательно, чтобы размер таких грубодисперсных частиц противоопухолевого агента был менее, чем приблизительно 100 мкм, что определяется ситовым анализом. Если размеры грубодисперсных частиц противоопухолевого агента превышают 100 мкм, предпочтительно, чтобы частицы были измельчены до размеров менее 100 мкм, используя традиционные методы измельчения, такие как газоструйный метод или метод дробления.

Грубодисперсный требуемый противоопухолевый агент может быть добавлен к жидкой среде, в которой он фактически не растворим с образованием исходной смеси. Концентрация противоопухолевого агента в жидкой среде может варьировать от приблизительно 0,1 по 60%, но предпочтительно от 5 до 30% (вес/вес). Предпочтительно, но не обязательно, чтобы модификатор поверхности присутствовал в исходной смеси. Концентрация модификатора поверхности может быть от приблизительно 0,1 до приблизительно 90%, предпочтительно от 1 до 75%, наиболее предпочтительно от 20 по 60% по весу от общего веса лекарственного вещества и модификатора поверхности. Кажущаяся вязкость исходной суспензии предпочтительно должна быть менее приблизительно 100 сП.

Исходная смесь может быть использована непосредственно, будучи подвергнута механической обработке для снижения размеров частиц в дисперсии до величины менее 1000 нм. Предпочтительно, чтобы исходная смесь была использована непосредственно, когда для истирания частиц используется шаровая мельница. Также можно противоопухолевый агент и при желании модификатор поверхности диспергировать в жидкой среде, используя подходящий для смешивания аппарат, например вальцовую мельницу или смеситель типа Cowles, до получения гомогенной дисперсии, в которой отсутствуют крупные агломераты, видимые невооруженным глазом. Предпочтительно, чтобы исходная смесь подвергалась такому предварительному измельчению дисперсии, когда для истирания частиц используют мельницу с циркуляцией измельчающего материала.

Из механических средств, используемых для снижения размеров частиц

RU 2130781 C1

RU 2130781 C1

противоопухолевого агента, удобно воспользоваться дисперсионной мельницей. Подходящими дисперсионными мельницами могут быть шаровая мельница, жерновная мельница, вибрационная мельница, планетарная мельница, измельчающим материалом может служить песок или шарики. Предпочтительный измельчающий материал должен обеспечивать достижение ожидаемого результата, т.е. желаемого уменьшения размера частиц за относительно короткое время. В случае использования мельниц с измельчающим материалом кажущаяся вязкость исходной смеси предпочтительна в пределах от приблизительно 100 по приблизительно 1000 сП. В случае использования шаровой мельницы кажущаяся вязкость исходной смеси предпочтительна от приблизительно 1 до приблизительно 100 сП. В таких пределах обеспечивается оптимальное соотношение между эффективной фрагментацией частиц и износом измельчающего материала.

Измельчающий материал для этапа уменьшения размеров частиц может быть выбран из твердого материала предпочтительно сферической или особой формы, имеющего средние размеры менее приблизительно 3 мм, а более предпочтительно менее чем приблизительно 1 мм. Такой подходящий материал должен обеспечивать получение частиц по настоящему изобретению в возможно более короткое время и возможно меньше изнашивать используемое оборудование. Выбор измельчающего материала не считается критическим. Однако оксид циркония, такой как 95%-ный оксид циркония, стабилизированный магнезией, силикатом циркония и стеклом, используемый в качестве измельчающего материала, обеспечивает получение частиц, имеющих уровень загрязнения, который считается приемлемым для приготовления фармацевтических составов. Кроме того, другой материал, такой как нержавеющая сталь, титан, алюминий и 95%-ный оксид циркония, стабилизированный иттрием, также могут быть использованы. Предпочтительно, чтобы измельчающий материал имел плотность выше, чем приблизительно 2,5 г/куб.см.

Время истирания может колебаться в широких пределах и прежде всего зависит от особенностей примененных механических средств и выбранных условий осуществления процесса. При использовании шаровых мельниц деятельность процесса может составлять до 5 дней и более. С другой стороны, длительность процесса менее чем 1 день (от 1 мин до нескольких часов) обеспечивает желаемые результаты при использовании измельчающего материала, хорошо передающего срезающие усилия.

Частицы должны быть уменьшены в размерах при температуре, которая не приводит к значительному разложению противоопухолевого агента. Обычно предпочитается проводить процесс при температуре ниже приблизительно 30-40 градусов. Если желательно, производственное оборудование может быть охлаждено с использованием известных технических средств. Процесс традиционно осуществляется в условиях температуры окружающей среды и при давлении, которое безопасно и эффективно для процесса измельчения. Например, проведение процесса при нормальном давлении характерно при использовании шаровых мельниц, жерновных мельниц и вибрационных мельниц. Проведение процесса при давлении приблизительно 20 "пси" (1,4 кг/кв.см) характерно для измельчения с измельчающим материалом.

Модификатор поверхности, если он не добавлялся в исходную смесь, может быть добавлен к дисперсии после измельчения частиц в том же количестве, которое требовалось ввести в исходную смесь, как указывалось выше. После этого дисперсия должна быть перемещена, например, энергичными встряхиванием. При желании дисперсия может быть подвергнута этапу озвучивания, например, при использовании ультразвукового генератора. В частности, она может быть подвергнута ультразвуковой обработке с частотой 20-80 кГц в течение приблизительно 1-120 с.

Относительные количества противоопухолевого агента и модификатора поверхности могут находиться в широких пределах, а оптимальное количество модификатора поверхности может зависеть, например, от особенностей используемых противоопухолевого агента и модификатора поверхности критической концентрации мицелл модификатора поверхности, если он образует мицеллы, площади поверхности частиц противоопухолевого агента и т.д. Модификатор поверхности предпочтительно представлен в количестве приблизительно 0,1-10 мг/кв. м площади поверхности частиц противоопухолевого агента, модификатор поверхности может быть представлен в количестве 0,1-90%, предпочтительно 0,5-80%, но более предпочтительно 1-60% по весу от общего веса сухих частиц.

Несложен выбор технологического процесса, когда могут быть найдены совместимые модификаторы поверхности и противоопухолевые агенты, образующие стабильную дисперсию желаемых частиц. Сначала грубодисперсные частицы противоопухолевого агента диспергируют в жидкости, в которой противоопухолевый агент по существу не растворим, например, в воде, при концентрации 2% (вес/объем) и измельчают в течение 120 ч на вальцовой мельнице при следующих условиях размола:

Сосуд для измельчения - 8 унций (250 мл) стеклянная банка

Рабочий объем сосуда для измельчения - 250 мл

Объем измельчающего материала - 120 мл

Тип измельчающего материала - Предварительно промытые шарики оксида циркония (поставляемые фирмой размером 1 мм

Время измельчения - 120 ч

Объем продукта - 60 мл

Число оборотов в минуту - 92

Температура - комнатная

Суспензию мелкодисперсных частиц отделяют от измельчающего материала, например, декантацией или отбором пипеткой. Отделенную суспензию затем разделяют на части и модификаторы поверхности добавляют в концентрации от 2 до 50% по весу от общего веса

RU 2130781 C1

RU 2130781 C1

противоопухолевого агента и модификатора поверхности. Дисперсию затем озвучивают (1 мин, 20 кГц) или вносят в вихревой поток, используя многотрубный циклон, на 1 минуту, чтобы разрушить агломераты, и анализируют размер частиц, например, фотон-корреляционной спектроскопией и/или оптической микроскопией, (увеличение 1000х). Если получается стабильная дисперсия, процесс приготовления комбинации данного противоопухолевого агента и модификатора поверхности может быть затем оптимизирован таким путем, какой был указан ранее. Стабильной считается дисперсия, показывающая отсутствие флокуляции или агломерации частиц, видимых невооруженным глазом, а предпочтительно при использовании оптического микроскопа с увеличением 1000х, когда эти явления не наблюдаются по крайней мере через 15 мин, а предпочтительно по крайней мере через 2 дня и дольше после приготовления. Кроме того, желательно, чтобы частицы не флокулировали или не образовывали агломератов, когда они диспергированы в 0,1 н. HCl и/или в солевом фосфатном буфере с pH 7,4 или в плазме крови крыс.

Полученная дисперсия стабильна и состоит из жидкой дисперсионной среды и описанных выше частиц. Дисперсия противоопухолевых наночастиц с модифицированной поверхностью может быть нанесена распылением в кипящем слое на сахарные гранулы или на носитель, используемый в формации, выполненный известным образом.

Противоопухолевые фармацевтические составы в соответствии с настоящим изобретением включают частицы, описанные выше, и фармацевтически приемлемый носитель. Желаемые фармацевтически приемлемые носители хорошо известны специалистам в этой области. Они включают нетоксичные физиологически приемлемые носители, адъюванты или масла для парэнтеральных инъекций, для орального назначения в твердой или жидкой форме, для ректального назначения, для интраназального назначения, для внутримышечного введения, для подкожного введения и подобных целей.

Метод лечения млекопитающих описанными составами состоит в назначении млекопитающему при необходимости лечения эффективного количества описанного выше противоопухолевого состава. Выбранная для лечения дозировка противоопухолевого агента должна быть эффективной, чтобы получить желаемый терапевтический эффект при использовании конкретного состава и при конкретном характере его назначении. Выбор дозировки может быть легко сделан специалистом в данной области и зависит от особенностей противоопухолевого агента, желаемого терапевтического эффекта, пути введения, желаемой длительности лечения и от других факторов.

Особо значимая отличительная особенность противоопухолевых составов по настоящему изобретению проявляется в их сниженной токсичности и (или) повышенной активности, иллюстрирующими приводимыми далее примерами. Кроме того, частицы по настоящему изобретению показывают способность длительного циркулирования в крови.

Более того, противоопухолевые агенты, которые до настоящего времени не могли назначаться инъекционно, будучи приготовлены в виде наночастиц и превращены в противоопухолевые составы по настоящему изобретению, могут успешно назначаться в форме инъекций, например внутривенно.

Следующие примеры подробнее иллюстрируют изобретение, но не ограничивают его.

Примеры 1-4 касаются наночастиц липосульфана.

Пример 1. Липосульфан (приобретенный у фирмы Eastman Kodak) был измельчен в смеси 0,33% полиоксиэтиленсорбитан моноолеата. Твина 80 (ICI Amerikas Inc., Wilmingtan DE) и 0,67% сорбитан моноолеата Спана 80 (ICI) при помощи шариков оксида циркония размером 1 мм в течение около 96 ч до образования частиц, размером приблизительно 240 нм в диаметре. Конечная концентрация липосульфана в суспензии была 10 мг/мл. Частицы были стабильны к флокуляции/агрегации в плазме крови крыс.

Условия измельчения. Грубодисперсная суспензия липосульфана была приготовлена путем внесения 300 мг лекарственного препарата в емкость из желтого стекла объемом 4 унции (120 мл), которая была предварительно заполнена 60 мл заранее промытых шариков оксида циркония, размером 1 мм (Zircoa Inc., Solon OH) и 30 мл раствора 1% Твина 80 и Спана 80 (соотношение 1:2). Раствор поверхностно-активного вещества был приготовлен точным отвешиванием 333 мг Твина 80 и 667 мг Спана 80 в мерную колбу с последующим добавлением стерильной воды для инъекций до растворения/диспергирования поверхностно- активных веществ. Было добавлено достаточное количество воды, чтобы конечный объем составил 100 мл. Шарики оксида циркония были промыты сначала ополаскиванием в 1 н. серной кислоте, а затем несколькими порциями деионизированной воды. Измельчающий материал высушивали в вакууме при температуре около 100 градусов в течение ночи.

Закрытый сосуд был помещен во вторичный алюминиевый контейнер, который имеет мягкую прокладку, чтобы гарантировать их плотное прилегание. Измельчение проводили на вальцовой мельнице (US Stoneware, Mawah, NJ) при 144 оборотах в минуту в течение приблизительно 96 ч. Затем измельченные частицы были отделены от измельчающего материала и размер частиц был измерен на фотон-корреляционном спектрофотометре. Стабильность этих частиц в плазме крови крыс была оценена с помощью оптического микроскопа с увеличением 1000х. Конечное значение pH рецептуры было 6.

Контроль А (без измельчения). Грубодисперсная суспензия, содержащая 40 мг липосульфана была диспергирована в воде в присутствии 3% этанола и 1% Твина 80. Эта суспензия не могла вводиться внутривенно.

Активность полученного продукта была изучена на самках мышей (средний вес 22 г), которым на 0 день была имплантирована

RU 2130781 C1

RU 2130781 C1

аденокарцинома молочной железы # 16/с ранней стадии развития. Рецептура инъецировалась, начиная с 1 дня, в течение нескольких дней. Противоопухолевая активность оценивалась измерением веса опухоли при сравнении с контролем. Были получены следующие результаты (см. табл. 1 в конце описания)

По примеру 1 рецептура могла быть инъецирована непосредственно как суспензия с концентрацией 10 мг/мл. Не проявлялась острая токсичность после инъецирования разовой позы 78 мг/кг. T/C - отношение веса опухоли у леченных животных к весу опухоли у контрольных животных, выраженное в процентах. Более низкие величины соответствуют более высокой активности: 0% указывает на излечение, < 10% считается высокой активностью, от 10 до 42% считается средней активностью, > 42% означает отсутствие активности.

Логарифм гибели клеток = (T-C/ 3,32 (Td),

где T - время в днях, в течение которого половина опухоли достигает массы 1000 мг у леченных животных; C - время в днях, в течение которого половина опухоли достигает 1000 мг у контрольных животных; Td - время удвоения объема опухоли в днях.

Извлеченные животные (животные, свободные от опухоли) исключались из расчета величины (T-C).

Пример 1 показывает, что состав по настоящему изобретению проявляет сниженную токсичность и увеличенную активность по сравнению с ранее известными составами и может назначаться внутривенно.

Примеры 2-4. Процесс измельчения был осуществлен, как описано в примере 1, за исключением того, что соотношение Твина 80 и Спана 80 составляло 2:1. Средние размеры полученных частиц были 297 нм.

Процесс измельчения был осуществлен, как описано в примере 1, за исключением того, что соотношение Твина 80 и Спана 80 составляло 1:1. Средние размеры полученных частиц были 380 нм.

Процесс измельчения был осуществлен, как описано в примере 1, за исключением того, что в качестве модификаторов поверхности использовались Твин 60 и Спан 60 при их соотношении 1:1. Средние размеры полученных частиц были 301 нм.

Стабильные наночастицы пипосульфана были также приготовлены при использовании в качестве модификатора поверхности бычьего сывороточного альбумина.

Примеры 6-7 касаются наночастиц камптотецина.

Пример 5. Приблизительно 60 мл предварительно промытых шариков оксида циркония (1 мм) были помещены в широкогорлую круглую емкость из желтого стекла, объемом 120 мл. В нее было добавлено 0,35 г тетроника 908 (BASF, содержащего 0,35 г камптотецина (Sigma Chemicals, 95% чистоты). К этой смеси прибавили 35 мл воды для инъекций (Abbot). Емкость была закрыта и помещена в вальцовую мельницу. Измельчение осуществлялось за счет вращения емкости при 100 оборотах в минуту в течение 7 дней.

После измельчения часть смеси (100 мкл) была взята для измерения размера частиц с помощью Molvern Zetasiger. Средний размер частиц был равен 240 нм.

Пример 6. Процесс измельчения был осуществлен, как описано в примере 5, за исключением того, что вместо тетроника 908 был использован поливиниловый спирт (мол. веса от 30 до 70 кД). Размер полученных частиц равнялся 256 нм.

Пример 7. Процесс измельчения был осуществлен, как описано в примере 5, за исключением того, что вместо Тетроника 908 была использована аравийская камедь. Размер полученных частиц равнялся 298 нм.

Эффективность рецептур наночастиц камптотецина была оценена на двух моделях мышиных опухолей, т.е. на аденокарциноме молочной железы #16/C и на аденокарциноме протока поджелудочной железы #03. Противоопухолевая активность оценивалась измерением веса опухоли у экспериментальных и контрольных животных.

1. Изучение активности в отношении аденокарциномы протока поджелудочной железы #03 (см. табл. 2 в конце описания).

Контроль B рецептуры состоял из 1% грубодисперсного камптотецина в 3% этанола и 1% Твина 20. Контроль B мог назначаться лишь подкожно и даже при наименьшей подкожной дозе (18 мг/кг) был неактивен. Контроль B проявлял токсичность у 1/5 исследованных животных. Напротив, наночастицы рецептуры на основе камтотецина по настоящему изобретению при дозировках в пределах 24-93 мг/кг назначались внутривенно и показали безопасность и эффективность.

2. Изучение активности в отношении аденокарциномы молочной железы #16/C как модели мышиной опухоли (см. табл. 3 в конце описания).

Контроли T 908 и поливинилового спирта состоят из 1%-го водного раствора соответствующего модификатора поверхности. Контроль B вводился подкожно и был токсичен при всех исследовавшихся вавшихся дозировках. Рецептуры наночастиц камптотецина по настоящему изобретению назначались внутривенно.

3. Распределение между кровью и опухолью.

Для того чтобы определить, связано ли увеличение активности с изменением фармакокинетических характеристик, процесс распределения лекарственного препарата между кровью и опухолевой тканью был изучен на адренокарциноме молочной железы #16/C как модели мышиной опухоли.

Несущим опухоль мышам через хвостовую вену инъецировали 10 мг/мл камптотецина, приготовленного как описано в примерах 5 и 6, а в качестве контроля - 5 мг/мл камптотецина, солюбилизированного добавлением 0,1 н. гидроксида натрия. Через различные промежутки времени после инъекции, т.е. через 5, 30, 60 мин, 2, 4, 8, 16, 24 и 48 ч, животные были умерщвлены, пробы крови были отобраны и опухоль вырезана. Концентрации лекарственных препаратов были количественно определены методом жидкостной хроматографии высокого разрешения. Результаты показывают, что составы по настоящему изобретению влияют на распределение лекарства, между пулом циркулирующей крови и опухолью (см. табл. 4 в конце описания).

Когда использована композиция по настоящему изобретению, время

RU 2130781 C1

RU 2130781 C1

полувыведения и время нахождения камптотецина в опухолевой ткани значительно увеличивается. Можно было заключить, что фармакокинетические параметры рецептур наночастиц камптотецина прямо связаны с улучшением характеристик лекарственного препарата.

Примеры 8-10 касаются наночастиц этопозида.

Пример 8. Процесс измельчения был осуществлен, как описано в примере 5, за исключением того, что 1,7 г этопозида были комбинированы с 1,7 г поливинилового спирта и время измельчения составляло 14 дней. Размер полученных частиц равнялся 310 нм. Частицы были стабильны в кислоте и в плазме.

Пример 9. Процесс измельчения был осуществлен, как описано в примере 8, за исключением того, что вместо поливинилового спирта был использован плюроник F-108 (BASF). Размер полученных частиц равнялся 312 нм. Частицы были стабильны в кислоте и в плазме.

Пример 10. Этопозид (2%) измельчался в стерильной воде в течение 7 дней. Была приготовлена смесь (1:1) суспензии измельченных мелкодисперсных частиц с 2%-ным раствором Плюроника F127. Перед измерением размера частиц смесь была энергично перемешена. Размер полученных частиц равнялся 277 нм. Суспензия мелкодисперсных частиц была стабильна в имитаторе желудочного сока, в фосфатном солевом буфере (pH 7,4) и в плазме крови крыс.

Изучение активности.

Активность рецептур наночастиц этопозида оценивалась в двух отдельных экспериментах на аденокарциноме протока поджелудочной железы #03 (PANC #03). Контролем С служил 2%-ный водный раствор этопозида, приготовленный по прописи, указанной на стр. 741-743 46-го издания Physican's Desk Referense. Как уже указывалось, противоопухолевая активность оценивалась измерением веса опухоли у экспериментальных и опытных животных. Исследования показали, что составы на основе этопозида по настоящему изобретению обеспечивают возможность назначать высокие дозы лекарственного препарата без заметных серьезных токсических реакций.

1. Изучение активности наночастиц этопозида в отношении аденокарциномы протока поджелудочной железы #03 как модели мышиной опухоли (см. табл. 5 в конце описания).

Примеры 11-16 касаются наночастиц таксола.

Пример 11. Приблизительно 18 мл предварительно промытых шариков оксида циркония (1 мм) были внесены в банку желтого стекла объемом 30 мл, после чего в нее внесли 240 мг таксола (Sigma Chemicals) и 180 мг Твина 20. Затем было добавлено 12 мл воды для инъекций, банка была укупорена и помещена на 11 дней в вальцовую мельницу. Размер полученных частиц равнялся 327 нм. Рецептура была стабильна, когда помещалась в фосфатный солевой буфер (pH 7,4) и в плазму крови крыс.

Пример 12. Процесс измельчения был осуществлен, как описано в примере 11, за исключением того, что вместо Твина 20 использовали поливиниловый спирт (мол. вес от 30 до 70 кД). Размер полученных частиц равнялся 365 нм.

Активность полученных образцов оценивались в экспериментах на мышах, несущих адренокарциному молочной железы #16/С в ранней стадии. Противоопухолевая активность оценивалась путем сравнения веса опухоли у леченных таксолом животных и у нелеченных животных. Токсичность оценивалась по гибели животных и по снижению их веса в пределах дозировок, применявшихся в экспериментах. Все образцы назначались внутривенно (см. табл. 6 в конце описания).

Контрольный образец таксола (МС1) не был активен. Однако разовая доза рецептуры таксола в кремофоре EL вызывает немедленно гибель животных при общей позе 25 мг/кг. В то же время рецептуры таксола по настоящему изобретению могут инъецироваться в дозе 88 мг/кг и не показывают неблагоприятных эффектов.

Суспензия таксола, приготовленная так, как описано в примере 11, была обработана по отдельности несколькими модификаторами поверхности. После добавления модификатора поверхности смесь энергично перемешивалась и оценивались размеры частиц и ее стабильность. Все суспензии содержали 1% таксола и 0,75% Твина 20. Получены следующие результаты (см. табл. 7 в конце описания).

Примеры 17-18 касаются наночастиц 1,2,4-бензотриазин-7-амин- 1,4-диоксида.

Пример 17. Приблизительно 60 мл предварительно промытых шариков оксида циркония (1 мм) были внесены в банку желтого стекла объемом 4 унции. В нее было добавлено 1,5 г 1,2,4-бензотриазин-7-амино1,4- диоксида и 28,5 мл воды для инъекций. Банка была укупорена, помещена в вальцовую мельницу и встряхивалась при 95 оборотах в минуту в течение 48 ч. Размер частиц, установленный методом фотон-корреляционной спектроскопии, оказался равным 322 нм, однако, предполагалось присутствие частиц более крупного размера. Измельчение было продолжено в течение еще 5 дней.

Для последующего исследования было смешено 0,5 мл суспензии полученных мелкодисперсных частиц бензотриазинамино диоксида и 0,5 мл 6%-ного раствора модификатора поверхности. Конечная концентрация лекарственного вещества составляла 2,5% и концентрация модификатора поверхности - 3%. Стабилизированную суспензию наночастиц бензотриазинамино диоксида с модифицированной поверхностью затем обрабатывали фосфатным солевым буфером (pH 7,0) или 0,1 н. соляной кислотой (pH 1). Для определения стабильности жидкости ее исследовали с помощью оптического микроскопа, были получены следующие результаты (см. табл. 8 в конце описания).

Можно заключить, что стабильные наночастицы 1,2,4-бензотриазин- 7-амино 1,4-диоксида могут быть получены.

Примеры 19-22 касаются наночастиц 1,2,4-бензотриазин-3-амино- 1,4-диоксида.

7,5 мл предварительно промытых шариков оксида циркония (1 мм) были помещены в

RU 2130781 C1

RU 2130781 C1

банку желтого стекла объемом 15 мл вместе с 18,75 мг 1,2,4-бензотриазин-3-амино 1,4-диоксида и 3,75 мл воды. После 11 дней измельчения суспензия наночастиц была отделена от измельчающего материала. К каждой из частей суспензии в 100 мкл было добавлено по 100 мкл раствора (2%) поверхностно-активного вещества, в результате чего конечная концентрация лекарственного препарата составила 0,25%, а поверхностно-активного вещества - 1%. Смесь была энергично перемещена и был определен размер частиц. Стабильность жидкости оценивалась микроскопически при смешении 10 мкл суспензии с 90 мкл плазмы крови крыс. Были получены следующие результаты (см. табл. 9 в конце описания).

Пример 23. 30 мл предварительно промытых шариков оксида циркония были помещены в банку желтого стекла объемом 60 мл. В банку было добавлено 1 г транс-ретинойной кислоты (Sigma), 470 мг тилоксапола и 15 мл воды. Эта смесь была измельчена на вальцовой мельнице в течение 15 дней. Были получены частицы размером 140 нм. Суспензия наночастиц оставалась стабильной при контакте с плазмой крови крыс и с имитатором желудочного сока.

Формула изобретения:

1. Частицы, состоящие из кристаллического противоракового средства, отличающиеся тем, что они содержат модификатор поверхности, адсорбированный на поверхности частиц в количестве 0,1 - 90 мас.%, достаточном для сохранения среднего эффективного размера частиц менее 1000 нм, при этом противораковое средство выбрано из группы, включающей хлорметин, хлорамбуцил, урамустин, манномустин, мехлорэтаминоксид, циклофосфамид, изофосфамид, трифосфамид, третамин, тиотепа, триазикон, митомицин, бисульфан, кармустин, ломустин, семустин, стрептозотоцин, алкилирующие средства типа митобронитола, декарбазина и прокарбазина, фторурацил, флоксуридин, тегафур, цитарабин, идоксуридин, флуцитозин, меркаптопурин, азатиоприн, тиамиприн, видарабин, пентостатин, пуромицин, винбластин, винкристин, тенипозид, адриамицин, дауномицин, доктиномицин, митрамицин, блеомицин, митомицин, L-аспарагиназу, альфа-интерферон, таксол, ретиноевую кислоту, преднизон, гидроксипрогестерон капроат, медроксипрогестерон ацетат, мегестрол ацетат, диэтилстилбестрол, тестостерон пропионат, флуоксиместерон, флутамид, леупролид, 1,2,4-бензотриазин-3-амино 1,4-диоксид, 1,2,4-бензотриазино-7-амино 1,4-диоксид, цисплатин, карбоплатин, гидроксимочевина, митотан, аминоглютетимид, циклоспорин, азатиоприн, сульфасалазин, метоксален и талидомид.

2. Частицы по п.1, отличающиеся тем, что средний эффективный размер частиц составляет менее 400 нм.

3. Частицы по п.2, отличающиеся тем, что средний эффективный размер частиц составляет менее 300 нм.

4. Частицы по п.3, отличающиеся тем, что средний эффективный размер частиц составляет 240 нм.

5. Частицы по п.4, отличающиеся тем, что средний эффективный размер частиц составляет менее 130 нм.

6. Частицы по любому из пп.1 - 5, отличающиеся тем, что противораковое средство присутствует в комбинации с одним или несколькими другими противораковыми средствами.

7. Частицы по любому из пп.1 - 6, отличающиеся тем, что модификатор поверхности выбран из группы, состоящей из поливинилового спирта, тетрафункционального блоксополимера, полученного в результате последовательного добавления этиленоксида и пропиленоксида к этилендиамиду, аравийской камеди, блоксополимера этиленоксида и пропиленоксида, сложного эфира полиоксиэтиленсорбитана и жирной кислоты и сложного эфира сорбитана и жирной кислоты.

8. Частицы по любому из пп.1 - 7, отличающиеся тем, что противораковым средством является таксол.

9. Частицы по любому из пп.1 - 5, отличающиеся тем, что противораковым средством является 1,2,4-бензотриазин-3-амино 1,4-диоксид, 1,2,4-бензотриазин-7-амино 1,4-диоксид, или ретиноевая кислота.

10. Частицы по любому из пп.1 - 5, отличающиеся тем, что противораковым средством является 1,2,4-бензотриазин-3-амино 1,4-диоксид, а модификатором поверхности является поливинилпирролидон.

11. Частицы по любому из пп.1 - 5, отличающиеся тем, что противораковым средством является 1,2,4-бензотриазин-7-амино 1,4-диоксид, а модификатором поверхности является аравийская камедь.

12. Частицы по любому из пп.1 - 5, отличающиеся тем, что противораковым средством является 1,2,4-бензотриазин-7-амино 1,4-диоксид, а модификатором поверхности - поливинилпирролидон.

13. Частицы по любому из пп.1 - 5, отличающиеся тем, что противораковым средством является 1,2,4-бензотриазин-7-амино 1,4-диоксид, а модификатором поверхности тетрафункциональный блоксополимер, полученный в результате последовательного добавления этиленоксида и пропиленоксида к этилендиамину.

14. Частицы по любому из пп.1 - 5, отличающиеся тем, что противораковым средством является ретиноевая кислота, а модификатором поверхности - тилоксапол.

15. Противоопухолевая композиция, отличающаяся тем, что она включает частицы по любому из пп.1 - 14 и фармацевтически приемлемый носитель.

16. Противоопухолевая композиция по п.15, отличающаяся тем, что она предназначена дли инъекций.

RU 2130781 C1

RU 2130781 C1

Таблица 1

Лечение	Путь введения	Общая доза мг/кг	% потери веса	T/C %	Лог 10 гибели клеток
Контроль	-	-	+5,5	-	-
Пример 1	IV	356	-5,5	0	2,75
(243 нм)	IV	220	-5,5	2	2,75
	IV	137	-1,8	2	2,25
	IV	85	0	18	1,0
Контроль А	SC	800	-1008	0	2,1

Путь введения: IV - внутривенно; SC - подкожно

Таблица 2

Лечение	Путь введения	Доза мг/кг	% потери веса	Гибель от лекарства	T/C %
Контроль В	SC	60	-24,1	6/6	-
	SC	40,2	-21,8	5/5	-
	SC	26,7	-18,2	5/5	-
	SC	18	-10,9	1/5	62
	IV	83,1	-16,7	1/4	14
	IV	78,2	-14,6	1/4	55
	IV	48,6	-8,3	0/4	0
	IV	24,3	-4,2	0/4	18
Поливиниловый спирт Контроль	IV	-	+6,3	0/4	100
	IV	93,5	-16,7	1/4	7
	IV	46,8	-14,6	0/4	17
	IV	23,4	-8,3	0/4	11
Аравийская камедь Контроль	IV	-	0,0	0/4	60

Таблица 3

Пример	Путь введения	Доза мг/кг	% потери веса	Гибель от лекарства	T/C %
Контроль В	SC	60	-23,5	5/5	-
	SC	30	-20,9	5/5	-
	SC	15	-18,3	3/5	14**
	IV	65	-17,4	0/5	23
	IV	33	-18,7	1/5	33
	IV	16	-2,2	0/5	63
Т 908, Контроль	IV	-	+4,3	0/2	100
	IV	65	-21,7	5/5	-
	IV	33	-15,7	0/5	100
Поливиниловый спирт Контроль	IV	-	+4,3	0/2	100

** У контрольных животных % T/C был определен, исходя из числа (N) выживших в опыте животных. В данном частном случае N=2.

Таблица 4

Время полувыделения из крови и опухолевой ткани.

Композиция	Кровь	Опухоль
Пример 6	18 час.	48 час.
Пример 5	13 час.	48 час.
Контроль	1,8 час.	13,5 час.

Таблица 5

Пример	Путь введения	Доза мг/кг	% потери веса	Гибель от лекарства	T/C %
Контроль С	IV	120	-24,0	0/5	4,0
	IV	75	-4,2	0/5	20,0
	IV	160	-12,0	0/5	18,0
	IV	100	0,0	0/5	32,0
	IV	62	2,0	0/5	42,0
8	IV	160	-12,0	0/5	26,0
	IV	100	+2,0	0/5	35,0
	IV	62	+4,0	0/5	35,0
9	IV	170	-18,5	1/5	16
	IV	85	-2,0	0/5	35
	IV	43	+2,5	0/5	41

Таблица 6

Пример	Доза мг/кг	% потери веса	Погибло	Половина опухоли на 11 день	T/C %
Контроль	-	+6,1	-	1539 мг	-
Пример 11	108,5	-1,5	0/5	1528	13
Пример 12	106,5	-3,0	0,5	201	99

Таблица 7

Пример/ Модификатор поверхности	Концентрация %	Размер, нм	Стабильность жидкости	
			ФСБ	Плазма крови крыс
13 CTAC	0,25	364	OK	Флокуляция
14 AOT	0,25	322	SA*	SA
15 F68	0,5	297	SA/OR	SA/OR
16	0,5	313	SA/OR	SA/OR

SA* - слабая агрегация. ФСБ - фосфатный солевой буфер

Таблица 8

Пример	Модификатор поверхности	Стабильность		
		pH 1	pH	плазма человека
17	Поливинилпирролидон	Хорошая	Хорошая	Хорошая
18	Аравийская камедь	- " -	SA/OR	SA/OR

Таблица 9

Пример	Модификатор поверхности	Размер частиц, нм	Стабильность жидкости в плазме крови крыс
19	Поливинилпирролидон	134	Хорошая
20	Аравийская камедь	344	SA/OR
21	Твин 80	128	Хорошая
22	T908	130	Агрегирование

RU 2130781 C1

RU 2130781 C1