SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) **SK**

ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

281 608

(21) Číslo prihlášky: **681-93**

(22) Dátum podania prihlášky: **30. 6. 1993**

(24) Dátum nadobudnutia účinkov patentu: **10. 5. 2001**
Vestník ÚPV SR č.: **05/2001**

(31) Číslo prioritnej prihlášky: **07/908 125**

(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **1. 7. 1992**

(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **US**

(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **2. 2. 1994**
Vestník ÚPV SR č.: **2/94**

(47) Dátum udelenia a sprístupnenia patentu verejnosti: **7. 2. 2001**

(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:

(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT:

(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT:

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.[7] :

A61K 9/14
A61K 9/51

(73) Majiteľ: **Elan Pharma International, Ltd., Shannon, County Clare, IE;**

(72) Pôvodca: **Liversidge Gary G., West Chester, PA, US;**
Liversidge Elaine, West Chester, PA, US;
Sarpotdar Pramod, Malvern, PA, US;

(74) Zástupca: **Žovicová Viera, Mgr., Bratislava, SK;**

(54) Názov: **Povrchovo modifikované protirakovinové nanočastice, kompozície s ich obsahom a ich použitie**

(57) Anotácia:
Dispergovateľné častice pozostávajúce v podstate z kryštalického protirakovinového prostriedku, ktorý má na svojom povrchu adsorbovaný povrchový modifikátor v množstve postačujúcom na udržanie priemernej účinnej veľkosti častíc, ktorá je menšia ako približne 1000 nm. Protirakovinové kompozície, ktoré obsahujú tieto častice, majú znížený toxicitu a/alebo zvýšenú účinnosť a možno ich aplikovať intravenóznymi bolusovými injekciami.

SK 281608 B6

Oblasť techniky

Tento vynález sa týka protirakovinových prostriedkov, ktoré sú vo forme častíc, protirakovinových kompozícií, ktoré obsahujú tieto častice a ich použitia.

Doterajší stav techniky

Terapeutický index je ukazovateľ, ktorý vyjadruje, ako selektívna je liečivá látka pri dosahovaní svojich žiaducich účinkov. Môže sa vyjadriť ako pomer strednej letálnej dávky ku strednej účinnej dávke, to znamená ako LD_{50}/ED_{50} (pozri Goodman a Gilman, The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8. vyd., str. 68 a 69). Prakticky všetky protirakovinové prípravky majú nízky terapeutický index, napríklad menší než asi 1,0. Zvýšený terapeutický index, napríklad v dôsledku zníženia toxicity alebo zvýšenia účinnosti, by poskytol väčšiu voľnosť lekárom pri plnení ich úlohy podávať liečivé látky proti rakovine pacientovi, ktorý potrebuje takéto ošetrenie. Preto spôsoby znižovania toxicity a/alebo zvyšovania účinnosti liečiv proti rakovine, a tým zvyšovanie terapeutických indexov takýchto účinných látok, by mali veľký význam pri liečbe rôznych druhov rakoviny.

Okrem toho liečivé látky slabo rozpustné vo vode, ako napríklad protirakovinové prípravky slabo rozpustné vo vode, sa nezavádzajú ľahko injekčnou cestou ako intravenózne (IV) bolusové injekcie. Príprava injektovateľných foriem slabo rozpustných liečiv predstavuje veľmi nepríjemný problém. Bolo by veľmi želateľné dosiahnuť, aby sa slabo rozpustné liečivé látky, ako sú napríklad slabo rozpustné protirakovinové prípravky, získavali vo forme, ktorú je možné zaviesť ako intravenóznu bolusovú injekciu.

Podstata vynálezu

Autori tohto vynálezu objavili, že prostriedky účinné proti rakovine, ktoré obsahujú protirakovinové prípravky vo forme povrchovo modifikovaných nanočastíc, prejavujú zníženú toxicitu a/alebo zvýšenú účinnosť.

Vynález sa týka najmä častíc, ktoré pozostávajú v podstate z kryštalických prostriedkov účinných proti rakovine s povrchovým modifikátorom adsorbovaným na svojom povrchu v množstve, ktoré postačuje na udržanie strednej účinnej veľkosti častíc menšej než približne 1000 nm.

Vynález sa ďalej týka kompozície účinnej proti rakovine, ktorá obsahuje častice opísané.

Ďalším uskutočnením tohto vynálezu je použitie opísanej protirakovinovej kompozície na liečenie rakoviny, podaním účinného množstva kompozície cicavcovi.

Ďalším uskutočnením tohto vynálezu je použitie protirakovinového prostriedku na liečenie rakoviny, podaním účinného množstva protirakovinového prostriedku, pričom jeho účinnosť sa zvyšuje a/alebo toxicita protirakovinového prostriedku sa znižuje podaním tohto prostriedku vo forme častíc podľa vynálezu.

Výhodou tohto vynálezu je, že sa získavajú protirakovinové kompozície so zníženou toxicitou.

Ďalšou výhodnou vlastnosťou tohto vynálezu je, že sa získavajú protirakovinové kompozície so zlepšenou účinnosťou.

Ďalšou výhodnou vlastnosťou tohto vynálezu je, že sa získavajú kompozície so slabo rozpustnými protirakovinovými prostriedkami, ktoré možno podávať IV. bolusovou injekciou.

Ďalšou výhodnou vlastnosťou tohto vynálezu je, že sa získavajú kompozície obsahujúce slabo rozpustné protirakovinové prostriedky s predĺženou cirkuláciou v krvnom riečisku po IV. bolusovej injekcii.

Ďalšie výhodné vlastnosti budú zrejmé na základe nasledujúcich opisov výhodných uskutočnení.

Opis výhodných uskutočnení

Tento vynález je založený čiastočne na zistení, že povrchovo modifikované nanočastice látky účinnej proti rakovine prejavujú zníženú toxicitu a/alebo zvýšenú účinnosť. Aj keď je tu vynález opisovaný predovšetkým v súvislosti s výhodnou skupinou liečivých látok, to znamená prípravkov účinných proti rakovine vrátane prípravkov znižujúcich imunitu, je tiež vhodný v súvislosti s účinnými látkami slabo rozpustnými vo vode, najmä látkami s nízkymi terapeutickými indexmi z iných skupín liečivých látok.

Častice podľa tohto vynálezu zahŕňajú protirakovinové prípravky. Protirakovinový prípravok je prítomný v jednej alebo v niekoľkých oddelených kryštalických fázach. Kryštalické fázy sa odlišujú od amorfnej, to znamená nekryštalickej fázy, ktorá sa získava konvenčnými technikami zrážania z rozpúšťadla pri príprave častíc so submikrónovým rozmedzím veľkostí, ako je opísané napríklad v US patente č. 4,826,689.

Vynález sa môže vykonávať s rôznymi prípravkami účinnými proti rakovine, ale protirakovinový prípravok musí byť slabo rozpustný a dispergovateľný aspoň v jednom kvapalnom médiu. Výraz „slabo rozpustný" znamená, že liečivá látka má rozpustnosť v kvapalnom dispergačnom prostredí, napríklad vo vode menšiu ako asi 10 mg/ml a výhodne menej ako 1 mg/ml pri teplote spracovania, napríklad pri teplote miestnosti. Výhodným kvapalným dispergačným prostredím je voda. Tento vynález sa však môže vykonávať aj v iných kvapalných prostrediach, v ktorých je protirakovinový prípravok dispergovateľný vrátane napríklad vodných roztokov solí, saflorového oleja a rozpúšťadiel, ako je etanol, t-butanol, hexán a glykol. Hodnota pH vodného disperzného média sa môže upraviť technickými postupmi, ktoré sú známe v odbore.

Protirakovinový prípravok je vhodné voliť z alkylačných činidiel, antimetabolitov, prírodných produktov, hormónov, antagonistov a rôznych činidiel, napríklad rádiosenzibilizátorov.

Príkladom alkylačných činidiel sú alkylačné činidlá, ktoré obsahujú bis-(2-chóretyl)-aminoskupinu, ako je napríklad chlórmetín, chlorambucil, melfalan, uramustin, mannomustin, extramustinfosfát, mechloretaminoxid, cyklofosfamid, ifosfamid a trifosfamid;

alkylačné činidlá obsahujúce substituovanú aziridínovú skupinu, ako napríklad tretamín, tiotepa, triazichon a mitomycín;

alkylačné činidlá typu alkylsulfonátu, ako napríklad busulfan, piposulfán a piposulfám;

alkylačné deriváty N-alkyl-N-nitrózomočoviny, ako napríklad karmustín, lomustín, semustín alebo streptozotocín; a

alkylačné činidlá typu mitobronitolu, dakarbazínu a prokarbazínu.

Príkladmi antimetabolitov sú analógy kyseliny listovej, ako napríklad methotrexát,

pyrimidínové analógy, ako napríklad fluóruracil, floxuridín, tegafur, cytarabín, idoxuridín a flucytozín; a

purínové deriváty, ako napríklad merkaptopurín, tioguanín, azatioprín, tiamiprín, vidarabín, pentostatín a puromycín.

Príkladmi prírodných produktov sú alkaloidy zo zimozeleňa, ako napríklad vinblastin a vinkristin;
epipodofylotoxíny, ako napríklad etopozid a tenipozid,
antibiotiká, ako napríklad adriamycín, daunomycín, doktinomycín, daunorubicín, doxorubicín, mithramycín, bleomycín a mitomycín;
enzýmy, ako napríklad L-asparaginázа;
látky modifikujúce biologickú ozvu, ako napríklad α-interferón;
kamptotecín;
taxol; a
retinoidy, ako napríklad kyselina retinová.

Príkladmi hormónov a antagonistov sú adrenokortikosteroidy, ako napríklad prednison;
progestiny, ako napríklad hydroxyprogesterón-kaproát, medroxyprogesterón-acetát a megestrol-acetát;
estrogény, ako napríklad dietylstilbestrol a etinylestradiol;
antigestrogény, ako napríklad tamoxifén;
androgény, ako napríklad testosterón-propionát a fluoxymesterón;
antiandrogény, ako napríklad flutamid;
analógy hormónov uvoľňujúcich gonadotropín, ako napríklad leuprolid.

Príkladmi rôznych činidiel sú rádiosenzibilizátory, ako napríklad 1,2,4-benzotriazín-3-amín-1,4-dioxid (SR 4889) a 1,2,4-benzotriazín-7-amín-1,4-dioxid (WIN 59075);
platinové koordinačné komplexy, ako napríklad cis-platina a karboplatina;
antracéndióny, ako napríklad mitoxantrón;
substituované močoviny, ako napríklad hydroxymočovina;
a adrenokortikálne supresíva, ako napríklad mitotan a aminoglutetimid.

Okrem toho prípravkami účinnými proti rakovine môžu byť liečivé látky znižujúce imunitu, ako napríklad cyklosporín, azatioprin, sulfasalazin, metoxsalen a talidomid.

Protirakovinové prípravky, ktoré sú vhodné na realizáciu tohto vynálezu, sú známe zlúčeniny, alebo sa môžu vyrobiť technickými postupmi, ktoré sú známe v odbore.

Protirakovinový prípravok sa môže používať samostatne alebo v kombinácii s jedným alebo väčším počtom iných prípravkov účinných proti rakovine.

Častice podľa tohto vynálezu obsahujú protirakovinový prípravok, ktorý je opísaný a ktorý má na svojom povrchu adsorbovaný povrchový modifikátor. Za vhodné povrchové modifikátory sa pokladajú látky, ktoré sa fyzikálne zachytia na povrchu protirakovinového prípravku, ktoré sa ale na tento protirakovinový prípravok neviažu chemicky.

Vhodné povrchové modifikátory sa môžu vybrať spomedzi známych organických a anorganických farmaceuticky vhodných pomocných látok. Medzi takéto pomocné látky patria rôzne polyméry, oligoméry s nízkou molekulovou hmotnosťou, prírodné produkty a povrchovo aktívne látky. Výhodné povrchové modifikátory zahŕňajú neiónové a aniónové povrchovo aktívne látky. Reprezentatívne príklady pomocných látok zahŕňajú želatínu, kazeín, lecitín (fosfatidy), arabskú gumu, cholesterol, tragakant, kyselinu stearovú, benzalkóniumchlorid, stearan vápenatý, glycerylmonostearát, cetostearylalkohol, cetomakrogolový emulgačný vosk, estery sorbitanu, polyoxyetylénalkylétery, napríklad étery makrogolu, ako je cetomakrogol 1000, polyoxyetylénové deriváty ricínového oleja, sorbitanové polyoxyetylénestery mastných kyselín, napríklad obchodne dostupné Tweens™, polyetylénglykoly, polyoxyetylénstearáty, koloidný oxid kremičitý, fosfáty, dodecylsulfát sodný, vápenatú soľ karboxymetylcelulózy, nátriumkarboxymetylcelulózu, metylcelulózu, hydroxyetylcelulózu, hydroxypropylcelulózu, ftalát hydroxypropylmetylcelulózy, nekryštalickú celulózu, kremičitan horečnato-hlinitý, trietanolamín, polyvinylalkohol (PVA) a polyvinylpyrolidón (PVP). Väčšina týchto pomocných látok je podrobne opísaná v publikácii Handbook of Pharmaceutical Excipients, ktorú spoločne publikovali organizácie American Pharmaceutical Association a The Pharmaceutical Society of Great Britain, the Pharmaceutical Press (1986). Povrchové modifikátory sú obchodne dostupné alebo sa môžu vyrobiť technikami, ktoré sú známe v odbore. Môže sa tiež používať kombinácia dvoch alebo väčšieho počtu povrchových modifikátorov.

Medzi zvlášť výhodné povrchové modifikátory patrí polyvinylpyrolidón, tyloxapol, polaxoméry, napríklad Pluronic™ F68, F108 a F127, čo sú blokové kopolyméry etylénoxidu a propylénoxidu, dostupné od firmy BASF, a poloxamíny, ako napríklad Tetronic™ 908 (T908), čo je tetrafunkčný blokový kopolymér získaný sekvenčnou adíciou etylénoxidu a propylénoxidu na etyléndiamín, ktorý je dostupný od firmy BASF, dextrán, lecitín, Aerosol OT™ (AOT), čo je dioktylester sodnej soli kyseliny sulfojantárovej, ktorý je dostupný od firmy American Cyanamid, Duponol™ P, čo je laurylsulfát sodný dostupný od firmy DuPont, Triton™ X-200, čo je alkylarlypolyétersulfonát dostupný od firmy Rohm and Haas, Tween 20, 40, 60 a 80, čo sú sorbitanové polyoxyetylénestery mastných kyselín dostupné od firmy ICI Speciality Chemicals, Span 20, 40, 60 a 80, čo sú sorbitanové estery mastných kyselín, Arlacel 20, 40, 60 a 80, čo sú sorbitanestery mastných kyselín dostupné od firmy Hercules Inc., Carbowax™ 3550 a 934, čo sú polyetylénglykoly dostupné od firmy Union Carbide, Crodesta™ F-110, čo je zmes sacharózostearátu a sacharózodistearátu dostupná od firmy Croda Inc., Crodesta SL-40 dostupná od firmy Croda Inc., hexadecyltrimetylamóniumchlorid (CTAC), hovädzie albumínové sérum a SA90HCO, čo je zlúčenina vzorca $C_{18}H_{37}CH_2(CON(CH_3)CH_2(CHOH)_4CH_2OH)_2$. Medzi povrchové modifikátory považované za zvlášť vhodné patrí polyvinylpyrolidón, Pluronic F-108, polyvinylalkohol a arabská guma.

Povrchový modifikátor je adsorbovaný na povrchu protirakovinového prípravku v množstve, ktoré postačuje na udržanie strednej účinnej veľkosti častíc, ktorá je menšia ako asi 1000 nm. Povrchový modifikátor nereaguje chemicky s protirakovinovým prípravkom alebo sám so sebou. Okrem toho jednotlivé adsorbované molekuly povrchového modifikátoru v podstate neobsahujú medzimolekulové zosieťovacie väzby.

Výraz veľkosť častíc vo význame, v ktorom sa používa tu, predstavuje číselnú priemernú veľkosť častíc meranú konvenčnými technikami merania veľkosti častíc známymi odborníkom, ako je napríklad sedimentačná frakcionácia tokom v poli, fotónová korelačná spektroskopia alebo diskové centrifugovanie. Výraz „priemerná účinná veľkosť častíc menšia než približne 1000 nm" znamená, že aspoň 90 % častíc má číselnú priemernú veľkosť častíc menšiu ako 1000 nm, keď sa meranie vykonáva uvedenými technikami. Pri zvlášť výhodných uskutočneniach tohto vynálezu je priemerná účinná veľkosť častíc menšia ako približne 400 nm. Pri niektorých uskutočneniach tohto vynálezu je priemerná účinná veľkosť častíc menšia ako približne 300 nm. V súvislosti s priemernou veľkosťou častíc je výhodné, aby aspoň 95 % a s väčšou výhodou aspoň 99 % častíc malo veľkosť menšiu než je účinný priemer, napríklad 1000 nm. Pri zvlášť výhodnom uskutočnení majú v podstate všetky častice veľkosť menšiu ako 1000 nm.

Motoyama a kol. v US patente č. 4,540,602 uvádza, že pevná liečivá látka sa môže spracovať na prach vo vodnom

roztoku vysokomolekulárnej látky rozpustnej vo vode a že výsledkom takéhoto mokrého mletia je liečivá látka spracovaná na jemne rozomleté častice s priemerom od 0,5 µm alebo menej ako 5 µm. Nikde však nie je uvedené, že by bolo možné získať častice s priemernou veľkosťou menšou ako asi 1 µm. Pokusy reprodukovať spôsob mokrého mletia, ktoré opisuje Motoyama a kol., viedli k časticiam, ktorých priemerná veľkosť je oveľa väčšia ako 1 µm.

Častice podľa tohto vynálezu sa môžu pripravovať spôsobom, ktorý zahŕňa stupne rozptýlenia protirakovinového prípravku v kvapalnom prostredí a aplikáciu mechanického prostriedku v prítomnosti mlecieho prostredia, aby sa znížila veľkosť častíc protirakovinového prípravku na priemernú účinnú veľkosť častíc menšiu ako približne 1000 µm. Veľkosť častíc sa môže znížiť v prítomnosti povrchového modifikátora. Pri inej realizácii sa častice môžu uvádzať do styku s povrchovým modifikátorom po rozotretí.

Všeobecný spôsob prípravy častíc podľa tohto vynálezu sa uvádza ďalej. Zvolený protirakovinový prípravok sa získa v obchode alebo sa vyrobí technickými postupmi známymi v odbore v konvenčnej hrubej forme. Je výhodné, ale nie podstatné, aby veľkosť častíc zvoleného hrubého protirakovinového prípravku bola menšia ako približne 100 µm podľa stanovenia sitovou analýzou. Ak veľkosť častíc protirakovinového prípravku v surovom stave je väčšia ako zhruba 100 µm, potom je výhodné, aby sa znížila veľkosť častíc protirakovinového prípravku na menej ako 100 µm použitím obvyklého spôsobu mletia, ako napríklad vzdušnoprúdového alebo fragmentačného mletia.

Zvolený hrubý protirakovinový prípravok sa potom môže pridať do kvapaliny, v ktorej je v podstate nerozpustný, čím sa získa premix. Koncentrácia protirakovinového prípravku v kvapalnom prostredí sa môže meniť od približne 0,1 do zhruba 60 % hmotnostných, výhodne od 5 do 30 % hmotnostných. Je výhodné, ale nie podstatné, aby sa v premixe nachádzal povrchový modifikátor. Koncentrácia povrchového modifikátora sa môže meniť od približne 0,1 do zhruba 90 % hmotnostných, výhodne od 1 do 75 % hmotnostných, najlepšie od 20 do 60 % hmotnostných na základe celkovej kombinovanej hmotnosti liečivej látky a povrchového modifikátora. Výhodná viskozita premixovej suspenzie je menšia ako 1000 mPa.s.

Premix sa môže použiť priamo tak, že sa podrobí pôsobeniu mechanického zariadenia, ktorým sa zníži stredná veľkosť častíc v disperzii na menej než 1000 nm. Je výhodné, ak sa premix použije priamo, pokiaľ sa na roztieranie používa guľový mlyn. Alternatívne možno protirakovinový prípravok a prípadne povrchový modifikátor dispergovať v kvapalnom prostredí použitím vhodného miešania, pôsobením napríklad valcového mlyna alebo mixéru typu Cowles, kým sa nedosiahne homogénna disperzia, v ktorej nie sú voľným okom viditeľné žiadne veľké aglomeráty. Je výhodné, aby sa premix podrobil takému kroku dispergovania predmletím, keď sa na rozotieranie používa mlyn s recirkulačným prostredím.

Mechanickým prostriedkom, ktorý sa používa na zníženie veľkosti častíc protirakovinového prípravku, je výhodne dispergačný mlyn. Medzi vhodné dispergačné mlyny patrí guľový mlyn, rozotierací mlyn, vibračný mlyn, planétový mlyn, mlyny využívajúce médiá, ako je pieskový mlyn a perličkový mlyn. Mlyny využívajúce médiá sú výhodné pre relatívne kratší čas mletia potrebný na dosiahnutie zamýšľaného výsledku, teda na požadované zníženie veľkosti častíc. Pre mlyny využívajúce médiá je zdanlivá viskozita premixu výhodne od približne 100 do zhruba 1000 mPa.s. Pre guľové mlyny je zdanlivá viskozita premixu výhodne od približne 1 až do zhruba 100 mPa.s. Takéto rozmedzie väčšinou poskytuje optimálnu rovnováhu medzi účinnou fragmentáciou častíc a eróziou média.

Mlecie prostredie na krok znižovania veľkosti častíc možno vybrať z tuhých médií, výhodne guľovitej alebo časticovej formy, ktorá má priemernú veľkosť menšiu ako zhruba 3 mm a najlepšie menšiu ako približne 1 mm. Takýmto médiom možno získať vhodné častice podľa vynálezu za kratší čas spracovania a dochádza k menšiemu opotrebovaniu mlecieho zariadenia. Výber materiálu pre mlecie prostredie sa nezdá byť rozhodujúcim. Na prípravu farmaceutických prípravkov sa však považuje za prijateľné mlecie prostredie obsahujúce oxid zirkónatý, ako napríklad 95 % oxid zirkónatý stabilizovaný oxidom horečnatým, kremičitan zirkoničitý alebo sklo, ktoré poskytujú častice s nižšou úrovňou znečistenia. Ďalej sa predpokladá, že sú vhodné aj iné prostredia, ako je nehrdzavejúca oceľ, oxid titaničitý, oxid hlinitý a 95 % oxid zirkónatý stabilizovaný ytriom. Výhodné prostredie má hustotu väčšiu ako približne 2,5 g/cm^3.

Čas rozomieľania sa môže meniť a závisí predovšetkým od konkrétneho mechanického zariadenia a zvolených podmienok spracovania. Pri guľových mlynoch môže byť čas spracovania až 5 dní alebo dlhší. Oproti tomu čas spracovania kratší ako 1 deň (čas zotrvania 1 minúta až niekoľko hodín) poskytuje požadované výsledky použitím mlyna využívajúceho prostredie, ktoré má vysoký strih.

Častice sa musia podrobiť úprave vedúcej k zníženiu svojej veľkosti pri teplote, ktorá nespôsobuje významnú degradáciu protirakovinového prípravku. Obyčajne sú výhodné teploty pri spracovaní menšie ako približne 30 až 40 °C. Podľa potreby zariadenie na spracovanie môže byť chladené obvyklým chladiacim zariadením. Tento spôsob sa bežne realizuje pri teplote prostredia a pri prevádzkovom tlaku, ktorý je bezpečný a účinný na proces mletia. Napríklad prevádzkové tlaky zodpovedajúce tlaku v miestnosti sú obvyklé pre guľové mlyny, rozotieracie mlyny a mlyny vibračné. Prevádzkové tlaky pri spracovaní až do 1,4 kg/cm^2 sú typické na mletie pôsobením média.

Povrchové modifikátory, pokiaľ nie sú prítomné v premixe, sa musia pridať k disperzii po rozotrení v množstve, ktoré je uvedené pre premix. Potom sa disperzia môže miešať, napríklad intenzívnym trepaním. Podľa potreby sa disperzia môže podrobiť kroku sonifikácie, napríklad pôsobením zdroja ultrazvukovej energie. Disperzia sa môže napríklad podrobiť pôsobeniu ultrazvukovej energie s frekvenciou 20 až 80 kHz na približne 1 až 120 sekúnd.

Relatívne množstvo protirakovinového prípravku a povrchového modifikátora sa môže rôzne meniť. Optimálne množstvo povrchového modifikátora môže závisieť napríklad od jednotlivého protirakovinového prípravku a zvoleného povrchového modifikátora, kritickej micelárnej koncentrácie povrchového modifikátora, ak tvorí micely, plochy povrchu protirakovinového prípravku a podobne. Povrchový modifikátor je výhodne prítomný v množstve od 0,1 do 10 mg na štvorcový meter plochy povrchu protirakovinového prípravku. Povrchový modifikátor môže byť prítomný v množstve od 0,1 do 90 % hmotnostných, výhodne od 0,5 do 80 % hmotnostných a zvlášť výhodne od 1 do 60 % hmotnostných na základe celkovej hmotnosti suchých častíc.

Bol vyvinutý jednoduchý spôsob orientačnej skúšky, pri ktorej sa môžu vybrať kompatibilné povrchové modifikátory a protirakovinové prípravky, ktoré poskytujú stabilné disperzie požadovaných častíc. Najskôr sa hrubé častice protirakovinového prípravku dispergujú v kvapaline, v ktorej je protirakovinový prípravok prakticky nerozpustný, na-

príklad vo vode, na hmotnostno-objemovú koncentráciu 2 % a potom sa melú 120 hodín vo valcovom mlyne za nasledujúcich podmienok mletia:
Mlecia nádoba: 250 ml sklená nádoba
Využiteľný objem mlecej nádoby: 250 ml
Objem média: 120 ml
Typ média: 1,0 mm guľky vopred vyčisteného oxidu zirkónatého (distribuované firmou Zircoa Inc.)
Čas mletia: 120 hodín
Objem suspenzie: 60 ml
Frekvencia otáčok: 92 za minútu
Teplota: teplota v miestnosti

Suspenzia sa oddelí od mlecieho prostredia bežným spôsobom, napríklad vyliatím suspenzie z nádoby alebo použitím pipety. Oddelená suspenzia sa potom rozdelí na rovnaké diely a povrchový modifikátor sa pridáva v koncentrácii medzi 2 a 50 % hmotnostnými na základe celkovej hmotnosti kombinácie protirakovinového prípravku a povrchového modifikátora. Disperzia sa potom podrobí pôsobeniu ultrazvuku (1 minútu pri frekvencii 20 kHz) alebo vírivého pohybu použitím zariadenia s väčším počtom trubíc, vytvárajúceho vírivý pohyb počas 1 minúty, aby sa dispergovali aglomeráty, a potom sa stanoví veľkosť častíc, napríklad fotónovou korelačnou spektroskopiou (PCS) alebo vyšetrením použitím optického mikroskopu (zväčšujúceho 1000-krát). Ak je disperzia stabilná, potom sa spôsob prípravy kombinácie zvoleného protirakovinového prípravku a povrchového modifikátora môže optimalizovať podľa uvedených údajov. Výrazom stabilný sa vyjadruje, že disperzia neprejavuje flokuláciu alebo nenastáva aglomerácia častíc viditeľná voľným okom, a pri použití mikroskopu, ktorý zväčšuje aspoň 1000-krát, počas najmenej 15 minút a výhodne počas aspoň 2 dní alebo dlhšie po príprave. Okrem toho výhodné častice neprejavujú flokuláciu alebo aglomeráciu, pokiaľ sú rozptýlené v 0,1 N kyseline chlorovodíkovej a/alebo fyziologickom roztoku tlmenom fosfátom (PBS - phosphate buffered saline) s hodnotou pH 7,4, alebo v plazme potkanov.

Výsledná disperzia je stabilná a pozostáva z kvapalného média a opísaných častíc. Disperzia nanočastíc protirakovinového prípravku s modifikovaným povrchom môže byť nastriekaná ako povlak na guľovú plochu častíc cukru alebo na farmaceutické pomocné látky vo fluidnom rozprašovacom obaľovacom zariadení pomocou techník, ktoré sú dobre známe v odbore.

Protirakovinové farmaceutické kompozície podľa tohto vynálezu zahŕňajú častice opísané a ich farmaceuticky prijateľný nosič. Vhodné farmaceuticky prijateľné nosiče sú dobre známe odborníkom v odbore. Patria sem netoxické fyziologicky prijateľné nosiče, adjuvans alebo vehikulá na parenterálne injekcie, na orálne podanie v tuhej alebo kvapalnej forme, na rektálne podanie, nazálne podanie, intramuskulárne podanie, subkutánne podanie a podobne.

Spôsob ošetrovania cicavcov opísanými prostriedkami obsahuje krok, pri ktorom sa cicavcovi potrebujúcemu takéto ošetrenie podáva účinné množstvo opísanej protirakovinovej kompozície. Zvolená dávka protirakovinového prípravku je účinná na dosiahnutie požadovanej terapeutickej ozvy na konkrétny prostriedok a spôsob podania. Zvolenú dávku môže ľahko stanoviť odborník v odbore a závisí od konkrétneho protirakovinového prípravku, požadovaného terapeutického účinku, cesty podania, požadovanej dĺžky liečenia a ďalších faktorov.

Osobitne výhodným znakom je, že protirakovinové kompozície podľa tohto vynálezu prejavujú znížený toxicitu alebo zvýšenú účinnosť, ako je ilustrované na príkladoch, ktoré sa uvádzajú ďalej. Okrem toho častice podľa tohto vynálezu prejavujú predĺženú cirkuláciu v krvnom riečisku.

Okrem toho protirakovinové prípravky, ktoré sa dosiaľ nemohli podávať vo forme injekcií, keď sa pripravia ako nanočastice a spracujú sa na protirakovinové kompozície podľa tohto vynálezu, môžu sa účinne podávať injekciami, napríklad ako intravenózna bolusová injekcia.

Nasledujúce príklady ďalej ilustrujú tento vynález.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1 až 4: Nanočastice piposulfánu

Príklad 1

Piposulfán (kúpený od firmy Eastman Kodak) sa pomlel v zmesi 0,33 % polyoxyetylénsorbitan monooleátu, Tween 80 (ICI Americas Inc., Wilmington, Delaware, USA) a 0,67 % sorbitan monooleátu, Span 80 (ICI) s použitím guľôčok oxidu zirkónatého s priemerom 1 mm počas približne 96 hodín, čím sa získali častice s priemerom približne 240 nm. Konečná koncentrácia piposulfánu v suspenzii bola 10 mg/ml. Častice boli stabilné na flokuláciu alebo agregáciu v plazme potkanov.

Podmienky mletia:

Hrubá suspenzia piposulfánu sa pripravila pridaním 300 mg liečivej látky do jantárovej fľaše s objemom 120 ml, ktorá bola predtým naplnená 60 ml predčistených guľôčok oxidu zirkónatého s priemerom 1 mm (Zircoa Inc., Solon, Ohio, USA) a 30 ml 1 % roztoku Tween 80 a Span 80 (v pomere 1 : 2). Roztok povrchovo aktívnych látok sa pripravil presným navážením 333 mg Tween 80 a 667 mg Span 80 do volumetrickej nádoby a potom pridaním sterilnej vody na injekciu, aby sa rozpustili alebo dispergovali povrchovo aktívne látky. Potom sa pridalo dostatočné množstvo vody na dosiahnutie konečného objemu 100 ml. Guľky oxidu zirkónatého sa vyčistili najskôr opláchnutím 1 N kyselinou sírovou a potom niekoľkonásobným opláchnutím deionizovanou vodou. Médium sa vysušilo vo vákuovej peci pri teplote približne 100 °C cez noc.

Uzatvorený primárny zásobník sa vložil do sekundárneho hliníkového plášťa s výstelkou, aby sa zabezpečilo dobré tesnenie. Mletie prebiehalo vo valcovom mlyne (US Stoneware, Mawah, New Jersey, USA) pri 144 ot./min. počas približne 96 hodín. Na konci času mletia sa suspenzia oddelila od média a stanovila sa veľkosť častíc použitím prístroja pracujúceho na báze fotónovej korelačnej spektroskopie (PCS). Stabilita týchto častíc v plazme potkanov sa skúšala optickým mikroskopom pri 1000-násobnom zväčšení. Konečná hodnota pH prostriedku bola 6.

Kontrola A (nemletá), hrubá suspenzia obsahujúca 40 mg sypkého piposulfánu sa dispergovala vo vode v prítomnosti 3 % etanolu a 1 % Tween 80. Táto suspenzia sa nedala podávať intravenózne.

V príklade 1 sa uskutočnila štúdia účinnosti na samiciach myší (priemerná hmotnosť 22 g), ktorým bol v dni 0 implantovaný prsný adenokarcinóm č. 16/C v rannom štádiu. Prostriedok sa aplikoval injekčne od dňa 1 ďalších niekoľko dní. Protinádorový účinok sa hodnotil sledovaním hmotnosti nádoru a jeho porovnávaním s výsledkami u kontrolných zvierat. Výsledky boli nasledovné:

Liečba	Cesta podania*	Celková dávka (mg/kg)	% straty hmotnosti	T/C %	Log 10 úhynu buniek
Kontrola	-	-	+5,5	-	-
Príklad 1	IV	356	-5,5	0	2,75
(243 nm)	IV	220	-5,5	2	2,75
	IV	137	-1,8	2	2,25
	IV	85	0	18	1,0
Kontrola A	SC	800	-10,8	0	2,1

* Podanie: IV = intravenózne, SC = subkutánne

V príklade 1 sa aplikovala priamo suspenzia obsahujúca 10 mg/ml. V tomto prípade sa neprejavuje akútna toxicita po injekcii 78 mg/kg v jedinej dávke.

T/C = hmotnosť zhubného nádoru u kontrolných zvierat ako hodnota vyjadrená v percentách. Nižšie hodnoty naznačujú vyššiu účinnosť, hodnota 0 % svedčí o vyliečení. Prípravok s hodnotou menšou ako 10 % sa považuje za vysoko účinný, 10 až 42 % mierne účinný a nad 42 % neúčinný.

Log 10 úhynu buniek = (T-C)/3,32 (Td), kde T znamená čas v dňoch, za ktorý stredný zhubný nádor dosiahne u liečených zvierat hmotnosť 1000 mg, C znamená čas v dňoch, za ktorý stredný zhubný nádor dosiahne hmotnosť 1000 mg u kontrolných zvierat a Td znamená čas zdvojnásobenia objemu nádoru v dňoch. Uzdravené zvieratá (tie, ktoré sa zbavili zhubného nádoru) sú vylúčené z výpočtu (T - C).

Príklad 1 dokazuje, že kompozícia podľa tohto vynálezu mala znížený toxicitu a zvýšenú účinnosť v porovnaní s kompozíciou podľa doterajšieho stavu techniky a možno ju podávať intravenóznymi bolusovými injekciami.

Príklady 2 až 4

Spôsob mletia opísaný v príklade 1 sa opakoval s tým rozdielom, že pomer medzi Tween 80 a Span 80 bol 2 : 1. Výsledná priemerná veľkosť častíc bola 297 nm.

Spôsob mletia opísaný v príklade 1 sa opakoval s tým rozdielom, že pomer medzi Tween 80 a Span 80 bol 1 : 1. Výsledná priemerná veľkosť častíc bola 380 nm.

Spôsob mletia opísaný v príklade 1 sa opakoval s tým rozdielom, že povrchový modifikátor obsahoval Tween 80 a Span 60 v pomere 1 : 1. Výsledná stredná veľkosť častíc bola 301 nm.

Stabilné nanočastice piposulfánu sa tiež pripravili použitím hovädzieho albumínového séra ako povrchového modifikátora.

Príklady 5 až 7: Nanočastice kamptotecínu

Príklad 5

Približne 60 ml predčistených guliek oxidu zirkónatého (s priemerom 1 mm) sa umiestnilo do širokohrdlovej jantárovej nádoby s guľatým dnom. Pridalo sa 0,35 g Tetronic 908 (BASF) a potom 0,35 g kamptotecínu (Sigma Chemicals, čistota 95 %). K tejto zmesi sa pridalo 35 ml vody do injekcií (Abbott). Nádoba sa uzatvorila a umiestnila na valcový mlyn. Mletie sa vykonávalo rotáciou nádoby pri frekvencii 100 otáčok za minútu počas 7 dní.

Na konci mletia sa odobrala alikvotná časť (100 µl), ktorá sa použila na kontrolu veľkosti častíc na zariadení Malvern Zetasizer. Zistilo sa, že častice mali priemernú veľkosť 240 nm.

Príklad 6

Opakoval sa príklad 5 s tým rozdielom, že Tetronic 908 sa nahradil polyvinylalkoholom (molekulová hmotnosť 30 000 až 70 000). Konečná veľkosť častíc bola 256 nm.

Príklad 7

Opakoval sa príklad 5 s tým rozdielom, že Tetronic 908 sa nahradil arabskou gumou. Konečná veľkosť častíc bola 298 nm.

Účinnosť prípravkov obsahujúcich nanokamptotecín sa vyhodnotila na dvoch nádoroch myší, a to na prsnom adenokarcinóme č. 16/C a adenokarcinóme kanálika slinivky brušnej č. 03. Protinádorový účinok sa hodnotil sledovaním hmotnosti nádoru u experimentálnych a kontrolných zvierat.

1. Štúdie účinnosti na adenokarcinóme kanálika slinivky brušnej č. 03:

Príklad	Cesta podania	Dávka (mg/kg)	% straty hmotnosti	Uhynutia pri podávaní liečiva	T/C %
Kontrola B	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
6	IV	83,1	-16,7	1/4	14
	IV	76,2	-14,6	1/4	55
	IV	48,6	-8,3	0/4	0
	IV	24,3	-4,2	0/4	18
Kontrola s PVA	IV	-	+6,3	0/4	100
7	IV	93,5	-16,7	1/4	7
	IV	46,8	-14,6	0/4	17
	IV	23,4	-8,3	0/4	11
Kontrola s arabskou gumou	IV	-	0,0	0/4	60

Kontrolný prípravok B obsahuje 1 % surového kamptotecínu v 3 % etanole a 1 % Tween 20. Kontrolný prostriedok B sa dal podávať len subkutánne a aj pri najnižšej subkutánnej dávke (18 mg/kg) bol neúčinný. Kontrolný prípravok B bol toxický pre 1/5 testovaných zvierat. Naproti tomu dávky nanokamptotecínových prípravkov podľa tohto vynálezu v rozmedzí od 24 do 93 mg/kg sa podávali intravenózne a ukázalo sa, že sú bezpečné a účinné.

2. Štúdie účinnosti na modeli myšacieho nádoru - prsného adenokarcinómu č. 16/C

Príklad	Cesta podania	Dávka (mg/kg)	% straty hmotnosti	Uhynutia pri podávaní liečiva	T/C %
Kontrola B	SC	60	-23,5	5/5	-

Príklad	Cesta podania	Dávka (mg/kg)	% straty hmotnosti	Uhynutia pri podávaní liečiva	T/C %
	SC	30	-20,9	5/5	-
	SC	15	-18,3	3/5	14**
5	IV	65	-17,4	0/5	23
	IV	33	-18,7	1/5	33
	IV	16	-2,2	0/5	63
Kontrola s T908	IV	-	+4,3	0/2	100
6	IV	65	-21,7	5/5	-
	IV	33	-15,7	0/5	100
Kontrola s PVA	IV	-	+4,3	0/2	100

** % T/C pre kontrolné zvieratá sa určilo podľa zvierat, ktoré prežili, N = 2.

Kontroly s T908 a polyvinylalkoholom (PVA) pozostávali z 1 % vodných roztokov príslušných povrchových modifikátorov. Kontrolný prostriedok B sa injektoval subkutánne a bol toxický pri všetkých testovaných dávkach. Účinné dávky nanokamptotecínových prípravkov podľa tohto vynálezu sa podávali intravenózne.

3. Klírens krvi a zhubného nádoru

Aby sa určilo, či zvýšená účinnosť súvisela so zmenami farmakokinetických vlastností, študoval sa krvný klírens a distribúcia nádorov na modeli myšacieho nádoru - prsného adenokarcinómu č. 16/C.

Myšiam trpiacim zhubným nádorom sa do chvostovej žily podalo injekciou 10 mg/ml kamptotecínového prípravku podľa príkladov 5 a 6 a kontrola, ktorou bolo 5 mg/ml kamptotecínu solubilizovaného prídavkom 0,1 N roztoku hydroxidu sodného. Po rôznych časových obdobiach uplynutých od aplikácie injekcie, to znamená po 5 min., 30 min., 60 min, 2 h, 4 h, 8 h, 16 h, 24 h a 48 h, sa zvieratá eutanizovali, odobrala sa vzorka krvi a vybral sa zhubný nádor. Koncentrácie liečiv vo vzorke sa stanovili kvantitatívne pomocou HPLC. Výsledky ukazujú, že kompozície podľa tohto vynálezu ovplyvňujú klírens liečiva z krvného riečiska a nádoru.

T1/2 - krv a nádor		
Prípravok	Krv	Nádor
Príklad 6	18 h	> 48 h
Príklad 5	13 h	> 48 h
Kontrola	1,5 h	13,5 h

Keď sa kamptotecín spracuje podľa tohto vynálezu, polčas jeho vylúčenia z krvi a čas zotrvania kamptotecínu v zhubnom nádore sa významne predĺžili. Z toho sa dá vyvodiť záver, že farmakokinetické parametre nanočasticových prípravkov kamptotecínu sú v priamom vzťahu k zlepšenému účinku liečiva.

Príklady 8 až 10: Nanočastice etopozidu

Príklad 8

Opakoval sa príklad 5 s tým rozdielom, že 1,7 g etopozidu sa skombinovalo s 1,7 g PVA a čas mletia bol 14 dní. Konečná veľkosť častíc bola 310 nm. Častice boli stabilné v kyseline a v plazme.

Príklad 9

Opakoval sa príklad 8 s tým rozdielom, že PVA sa nahradil Pluronicom F-108 (BASF). Konečná veľkosť častíc bola 312 nm. Častice boli stabilné v kyseline a plazme.

Príklad 10

Etopozid (2 %) sa mlel v sterilnej vode počas 7 dní. Potom sa pripravila zmes v pomere 1 : 1 z pomletej suspenzie a 2 % roztoku Pluronicu F127. Zmes sa vystavila pôsobeniu vírivých síl a zmerala sa veľkosť častíc. Konečná veľkosť častíc bola 277 nm. Suspenzia bola stabilná v simulovanej žalúdočnej šťave, fyziologickom roztoku tlmenom fosfátom (pH 7,4) a plazme potkanov.

Štúdie účinnosti

Nanoetopozidové prípravky sa hodnotili v dvoch oddelených štúdiách účinnosti na adenokarcinóme kanálika slinivky brušnej č. 03 (PANC č. 03). Kontrolný prostriedok C je 2 % nevodný roztok etopozidu pripravený podľa predpisu opísaného v Physicians' Desk Reference, 46. vyd., str. 741 až 743. Ako je opísané, protinádorový účinok sa hodnotil sledovaním hmotnosti nádoru u experimentálnych a kontrolných zvierat. Tieto štúdie dokazujú, že etopozidové prípravky podľa tohto vynálezu poskytujú prostriedok na podávanie vysokých dávok liečiva bez príznakov ťažkej toxickej reakcie.

1. Štúdie účinnosti pre nanoetopozid na modeli myšacieho nádoru PANC č. 03

Príklad	Cesta podania	Dávka (mg/kg)	% straty hmotnosti	Uhynutia pri podávaní liečiva	T/C %
Kontrola C	IV	120	-24,0	0/5	4,0
	IV	75	-4,0	0/5	20,0
7	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	28,0
	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

Príklady 11 až 16: Nanočastice taxolu

Príklad 11

Do jantárovej nádoby s objemom 30 ml sa dalo približne 18 ml predčisteného oxidu zirkónatého (s priemerom častíc 1 mm). Potom sa pridalo 240 mg taxolu (Sigma Chemicals) a 180 mg Tween 20. Nakoniec sa do nádoby dalo 12 ml vody na injekcie, nádoba sa uzavrela a pripevnila na valcový mlyn na 11 dní. Konečná veľkosť častíc bola 327 nm. Prípravok bol stabilný pri pôsobení fyziologického roztoku tlmeného fosfátom (pH 7,4) a plazmy potkanov.

Príklad 12

Opakoval sa príklad 11 s tým rozdielom, že Tween 20 sa nahradil polyvinylalkoholom (molekulová hmotnosť 30 000 až 70 000). Konečná veľkosť častíc bola 365 nm.

Uvedené vzorky sa hodnotia štúdiami účinnosti na myšiach trpiacich prsným adenokarcinómom č. 16/C v rannom štádiu. Protinádorová účinnosť sa hodnotila porovnaním hmotnosti nádorov u zvierat liečených taxolom a hmotnosti nádorov neliečených zvierat. Toxicita sa hodnotila na základe štúdií s intervalmi dávok, pričom koncovými bodmi bolo uhynutie a strata hmotnosti. Všetky vzorky sa aplikovali intravenóznymi injekciami.

Príklad	Dávka (mg/kg)	% straty hmotnosti	Uhynutia pri podávaní liečiva	Stredná veľkosť nádoru v deň 11	T/C %
Kontrola D	-	+6,1	-	1538 mg	-
Príklad 11	108,5	-1,5	0/5	1528 mg	13
Príklad 12	108,5	-3,0	0/5	201 mg	99

Kontrolná vzorka taxolu (NCI) nebola k dispozícii. Ale jediná dávka taxolu formulovaného v Cremophore EL spôsobuje okamžité uhynutie pri celkovej dávke 25 mg/kg. Taxol formulovaný v kompozíciách podľa tohto vynálezu sa však dal injekčne aplikovať v dávke 88 mg/kg bez toho, aby sa prejavili nepriaznivé účinky.

Suspenzia taxolu, pripravená podobným spôsobom ako v príklade 11, sa spracovala oddelene s niekoľkými povrchovými modifikátormi. Po pridaní nového povrchového modifikátora sa zmes vystavila pôsobeniu vírivých síl a hodnotila sa veľkosť častíc a stabilita kvapaliny. Všetky suspenzie obsahovali 1 % taxolu a 0,75 % Tween 20. Výsledky boli nasledovné:

Príklad/povrchový modifikátor	Koncentrácia %	Veľkosť (nm)	Stabilita tekutiny	
			PBS	plazma potkana
13 CTAC	0,25	364	OK	flokulácia
14 AOT	0,25	322	SA*	SA
15 F68	0,5	297	SA/OK	SA/OK
16 T908	0,5	313	SA/OK	SA/OK

*SA = slabá agregácia

Príklady 17 a 18: Nanočastice WIN 59075

Približne 60 ml predčisteného oxidu zirkónatého (s veľkosťou častíc 1 mm) sa umiestnilo do jantárovej nádoby s objemom 120 ml. Potom sa pridalo 1,5 g WIN 59075 a 28,5 ml vody do injekcií. Nádoba sa uzavrela, umiestnila na valcový mlyn na 48 hodín pri 95 ot./min. Fotónovou korelačnou spektroskopickou analýzou sa určila veľkosť častíc 322 nm, našli sa však príznaky prítomnosti väčších častíc. Mletie pokračovalo ďalších 5 dní.

Štúdie sa uskutočnili zmiešaním 0,5 ml pripravenej suspenzie WIN 59075 s 0,5 ml 6 % roztoku povrchového modifikátora. Konečná koncentrácia liečiva bola 2,5 % a povrchového modifikátora 3 %. Na nanosuspenzie WIN 59075 stabilizované povrchovým modifikátorom sa potom pôsobilo buď fyziologickým roztokom tlmeným fosfátom (pH 7,0), alebo 0,1 N kyselinou chlorovodíkovou (pH 1). Optickým pozorovaním v mikroskope sa stanovila stabilita tekutiny. Výsledky sú nasledovné:

Príklad	Povrchový modifikátor	Stabilita		Ľudská plazma
		pH 1	pH 7	
17	PVP (12 000) (BASF)	dobrá	dobrá	dobrá
18	arabská guma (Aldrich)	-	SA/OK	SA/OK

Konštatovalo sa, že je možné pripraviť stabilné nanočastice WIN 59075.

Príklady 19 až 22: Nanočastice SR 4889

7,5 ml predčisteného média tvoreného oxidom zirkónatým (s časticami veľkosti 1 mm) sa vložilo do jantárovej nádoby s objemom 15 ml spolu s 18,75 mg SR 4889 a 3,75 ml vody. Po jedenásťdňovom mletí sa nanosuspenzia oddelila od média. Ku každému 100 µl dielu suspenzie sa pridalo 100 µl 2 % roztoku povrchovo aktívnej látky, čím sa dosiahla konečná koncentrácia 0,25 % liečiva a 1 % povrchovo aktívnej látky. Zmes sa vystavila pôsobeniu vírivých síl a analyzovala sa na veľkosť častíc. Stabilita tekutiny sa hodnotila mikroskopicky zmiešaním 10 µl suspenzie s 90 µl plazmy potkana. Výsledky sú nasledovné:

Príklad	Povrchový modifikátor	Veľkosť častíc (nm)	Stabilita tekutiny, plazma potkana
19	PVP (12 000)	134	dobrá
20	arabská guma	344	SA/OK
21	Tween 80	128	dobrá
22	T908	130	agregáty

Príklad 23: Nanočastice kyseliny retinovej

30 ml predčisteného média tvoreného oxidom zirkónatým sa vložilo do 60 ml jantárovej nádoby. Potom sa pridal 1 g kyseliny trans-retinovej (Sigma), 470 mg tyloxapolu a 15 ml vody. Zmes sa mlela vo valcovom mlyne 15 dní. Konečná veľkosť častíc bola 140 nm. Nanosuspenzia bola stabilná pri pôsobení plazmy potkana aj simulovanej žalúdočnej šťavy.

Vynález bol podrobne opísaný s konkrétnymi odkazmi na isté výhodné uskutočnenia, ale treba chápať, že možno uskutočniť variácie a modifikácie v duchu a v rámci rozsahu vynálezu.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Povrchovo modifikované protirakovinové nanočastice, **vyznačujúce sa tým**, že pozostávajú v podstate z kryštalického liečiva účinného pri liečbe rakoviny citlivej na liečbu týmto liečivom, pričom liečivo má rozpustnosť vo vode menšiu ako 10 mg/ml a má na svojom povrchu adsorbovaný nezosietený povrchový modifikátor v množstve 0,1 až 90 % hmotnostných dostačujúci na udržanie priemernej účinnej veľkosti častíc menšej ako asi 1000 nm, pričom liečivo je vybrané zo skupiny pozostávajúcej z alkylačných činidiel vybraných zo skupiny pozostávajúcej z alkylačných činidiel s bis-(2-chlóretyl)-aminoskupinou, alkylačných činidiel so substituovanou aziridínovou skupinou, alkylsulfonátov a N-alkyl-N-nitrózomočovín; antimetabolitov; prírodných produktov vybraných zo skupiny pozostávajúcej zo zimozeleňových alkaloidov, epipofylotoxínov, adriamycínu, daunomycínu, doktinomycínu, daunorubicínu, doxorubicínu, mitramycínu, bleomycínu, mitomycínu, enzýmov, modifikátorov biologickej ozvy, kamptotecínu, taxolu a retinoidov; hormónov a antagonistov; rádiosenzibilizátorov, platinových koordinačných komplexov; antracéndiónov; a adrenokortikálnych supresív.

2. Častice podľa nároku 1, **vyznačujúce sa tým**, že majú priemernú účinnú veľkosť menšiu ako 400 nm.

3. Častice podľa nároku 1, **vyznačujúce sa tým**, že majú priemernú účinnú veľkosť menšiu ako 300 nm.

4. Častice podľa nároku 1, **vyznačujúce sa tým**, že uvedený povrchový modifikátor je prítomný v množstve 1 až 75 % hmotnostných.

5. Častice podľa nároku 1, **vyznačujúce sa tým**, že uvedený protirakovinový prostriedok je vybraný zo skupiny pozostávajúcej z piposulfánu, piposulfámu, kamptotecínu, etopozidu, taxolu, 1,2,4-benzotriazín-3-amín-1,4-dioxidu, 1,2,4-benzotriazín-7-amín-1,4-dioxidu a kyseliny retinovej.

6. Častice podľa nároku 1, **vyznačujúce sa tým**, že uvedený povrchový modifikátor je vybraný zo skupiny pozostávajúcej z polyvinylalkoholu, tetrafunk-

čného blokového kopolyméru získaného sekvenčnou adíciou etylénoxidu a propylénoxidu na etyléndiamín, arabskej gumy, blokového kopolyméru etylénoxidu a propylénoxidu, sorbitanového polyetylénesteru mastnej kyseliny a sorbitanových esterov mastnej kyseliny.

7. Častice podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c e s a t ý m**, že uvedeným protirakovinovým prostriedkom je taxol a uvedený povrchový modifikátor obsahuje sorbitanový polyoxyetylénester mastnej kyseliny.

8. Protirakovinová kompozícia, **v y z n a č u j ú c a s a t ý m**, že obsahuje častice podľa nároku 1.

9. Použitie častíc podľa nároku 1 na výrobu protirakovinovej kompozície so zvýšenou účinnosťou a zníženou toxicitou na liečenie rakoviny.

10. Častice podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c e s a t ý m**, že uvedeným povrchovým modifikátorom je povrchovo aktívna látka.

11. Častice podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c e s a t ý m**, že modifikátorom je neiónová povrchovo aktívna látka.

12. Častice podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c e s a t ý m**, že uvedeným povrchovým modifikátorom je aniónová povrchovo aktívna látka.

13. Častice podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c e s a t ý m**, že uvedený povrchový modifikátor je vybraný zo skupiny pozostávajúcej zo želatíny, kazeínu, arabskej gumy, cholesterolu, tragakantu, kyseliny stearovej, benzalkónium chloridu, stearanu vápenatého, glycerylmonostearátu, cetostearylalkoholu, cetomakrogolového emulgačného vosku, sorbitanových esterov, polyoxyetylénalkyléterov, polyoxyetylénových derivátov ricínového oleja, sorbitanových polyoxyetylénesterov mastných kyselín, polyetylénglykolov, polyoxyetylénstearátov, koloidného oxidu kremičitého, fosfátov, dodecylsulfátu sodného, vápenatej soli karboxymetylcelulózy, sodnej soli karboxymetylcelulózy, metylcelulózy, hydroxyetylcelulózy, hydroxypropylcelulózy, hydroxypropylmetylcelulózoftalátu, nekryštalickej celulózy, kremičitanu horečnato-hlinitého, trietanolamínu, polyvinylalkoholu, polyvinylpyrolidónu, poloxomérov, tyloxapolu, poloxamínov, dextránu, dioktylesteru sodnej soli kyseliny sulfojantárovej, laurylsulfátu sodného, alkylarylpolyétersulfonátu, zmesi sacharózostearátu a sacharózodistearátu, hexadecyltrimetylamónium chloridu, hovädzieho sérového albumínu a $C_{18}H_{37}CH_2(CON(CH_3)CH_2(CHOH)_4CH_2OH)_2$.

14. Častice podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c e s a t ý m**, že uvedený povrchový modifikátor je prítomný v množstve 10 až 60 % hmotnostných na základe celkovej hmotnosti suchých častíc.

15. Častice podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c e s a t ý m**, že uvedený povrchový modifikátor je prítomný v množstve 10 až 30 % hmotnostných na základe celkovej hmotnosti suchých častíc.

Koniec dokumentu