

ÖZET**TERAPÖTİK PARTİKÜLLERİN LİYOFİLİZE EDİLMESİNE**
YONELİK STABİL FORMULASYONLAR

5

Mevcut açıklama genel olarak yeniden oluşturulma sonrasında 10 mikronun üzerindeki ebatlara sahip partiküllere düşük düzeylerde sahip olan polimerik nanopartiküller içeren, liyofilize edilmiş farmasötik kompozisyonlar ile ilgilidir. Buluşun diğer yönleri, bu

10 nanopartikülleri yapma yöntemlerini içerir.

15

20

25

İSTEMLER

1. Liyofilizasyon için uygun bir kompozisyon olup aşağıdakileri içerir:
 - 5 nanopartiküller;
 - ağırlık olarak %2 ila %15 sukroz; ve
 - ağırlık olarak %5 ila %20 hidroksipropil- β -siklodekstrin;
 - burada nanopartiküller şunları içerir:
 - ağırlık yüzde 0.2 ila 35 bir terapötik ajan; adı geçen terapötik ajan bir
 - 10 taksandır;
 - ağırlık yüzde 10 ila 99 poli(laktik) asit-blok-poli(etilen)glikol kopolimer veya poli(laktik)-ko-poli(glikolik) asit-blok-poli(etilen)glikol kopolimer; ve
 - ağırlık yüzde 0 ila 50 poli(laktik) asit veya poli(laktik) asit-ko-
 - 15 poli(glikolik) asit.
2. İstem 1'e göre bir kompozisyon olup, burada nanopartiküller, ağırlık yüzde %10 ila 30 terapötik ajan içerir.
- 20 3. İstem 1 veya istem 2'ye göre bir kompozisyon olup, burada taksan, dosetakseldir.
4. İstem 1'e göre bir kompozisyon olup, PLA-PEG'ye ve bir aktif ajana sahip nanopartiküller içerir.
- 25 5. İstem 1'e göre bir kompozisyon olup, ağırlık olarak %4 ila %6 sukroz içerir.

6. İstem 5'e göre bir kompozisyon olup, ağırlık olarak %5 sukroz içerir.

7. İstem 1'e göre bir bir kompozisyon olup, ağırlık olarak %7 ila %12
5 hidroksipropil- β -siklodekstrin içerir.

8. İstem 7'ye göre bir kompozisyon olup, ağırlık olarak %10 hidroksipropil- β -siklodekstrin içerir.

10 9. İstem 1 ila 8'den herhangi birine göre kompozisyonun liyofilizasyonu yoluyla elde edilen bir kompozisyon.

15

20

25

25294

TARİFNAME**TERAPÖTİK PARTİKÜLLERİN LİYOFİLİZE EDİLMESİNE**

5

YONELİK STABİL FORMULASYONLAR**ARKA PLAN**

10 Bir hastaya bazı ilaçlar veren (örn. belirli bir doku veya hücre tipine hedeflenmiş veya spesifik hastalıklı bir dokuya hedeflenmiş, ancak normal dokuya hedeflenmemiş) veya ilaç salımını kontrol eden sistemler uzun zamandır faydalı kabul edilmektedir.

15 Örneğin bir aktif ilaç içeren ve örn. belirli bir doku veya hücre tipine hedeflenmiş veya spesifik hastalıklı bir dokuya hedeflenmiş, ancak normal dokuya hedeflenmemiş terapötikler, tedavi gerektirmeyen vücut dokularında ilaç miktarını azaltabilir. İlacın bir sitotoksik dozunun, çevredeki kansersiz dokuyu öldürmeden kanser hücrelerine verilmesinin arzu edildiği, kanser gibi bir durumu tedavi ederken bu 20 özellikle önemlidir. Ek olarak bu terapötikler, anti-kanser terapisinde yaygın olan, arzu edilmeyen ve bazen yaşamı tehdit eden yan etkileri azaltabilir. Ek olarak bu terapötikler, ilaçların başka şekilde ulaşamayacakları bazı dokulara ulaşmalarını sağlayabilir.

25 Terapötik nanopartiküllerin verilmesi, nanopartiküllerin yeniden oluşturulmuş bir süspansiyonunun parenteral enjeksiyonu yoluyla gerçekleştirilebilir. Orijinal nanopartikül süspansiyonu, yeniden

oluşturma öncesinde saklanmak üzere liyofilize edilir, yani dondurularak kurutulur. Bir nanopartikül süspansiyonunun dondurularak kurutulması potansiyel olarak bunun dondurulmuş süspansiyon emsalinden çok daha üstün saklama stabilitesine sahip, 5 yeniden oluşturulacak bir ürün yaratır. Ek olarak dondurarak kurutma, sabit, çok düşük sıcaklıklar gerektirmeyebilecek, daha kolay saklama sağlayabilir. Bununla birlikte yeniden oluşturulmuş liyofilizat, asıl süspansiyona denk veya bundan üstün fiziko-kimyasal ve performans özelliklerine sahip olmalıdır. Mikro-agregasyona veya disperse 10 olmamış partiküllere bağlı olarak eser partiklatlar olmadan aynı ebattaki partiküller halinde yeniden disperse etmek, nanopartikül süspansiyon liyofilizasyonunun en zorlu tarafıdır.

Buna göre kanser gibi hastalıkları tedavi etmek için terapötik 15 düzeylerde ilaç verebilen ve üstün saklama yeterliliklerine sahip olan nanopartikül teraptiklerine ve bu nanopartikülleri yapma yöntemlerine ihtiyaç vardır.

WO-2009/084801, taksanlar ihtiva eden amfifilik blok kopolimer 20 miselleri açıklar.

Musumeci ve arkadaşları, J. Nanoscience and Nanotechnology, 2006, 6, 1-8, paklitaksel ihtiva eden nanosfer formülasyonlarının preparasyonunu ve karakterizasyonunu açıklar.

25

Musumeci ve arkadaşları, Int. J. Pharmaceutics, 2006, 325, 172-179, dosetakselin intravenöz uygulanması için sürekli salım sistemleri olarak nanosfer kolodyal süspansiyonların kullanılmasını açıklar.

Avgoustakis, Current Drug Delivery, 2004, 1, 321-333, biyo-uyumlu ve biyo-degrade olabilen PLA-PEG ve PLGA-PEG nanopartiküllerinin preparasyonunu, özelliklerini ve ilaç keşfinde potansiyel uygulamalarını açıklar.

5

Jeong ve arkadaşları, J. Microencapsulation, 2005, 22(6), 593-601, surfektan içermeyen PLGA nanopartiküllerini yeniden oluşturmak için karyo-koruyucuların kullanılmasını açıklar.

- 10 Abdelwahed ve arkadaşları, Adv. Drug Delivery Reviews, 2006, 58, 1688-1713, nanopartiküllerin dondurularak kurutulmasını inceler.

WO-2001/45742, implant ihtiva eden, fizyolojik açıdan aktif bir maddeyi, bir canlı vücuduna enjekte edildiğinde oluşturabilen bir sıvı
15 polimerik kompozisyon açıklar.

OZET

- Bir yönde buluş, liyofilizasyon için uygun, aşağıdakileri içeren bir
20 kompozisyon sunar:
nanopartiküller;
ağırlık olarak %2 ila %15 sukroz; ve
ağırlık olarak %5 ila %20 hidroksipropil- β -siklodekstrin;
burada nanopartiküller şunları içerir:
25 ağırlık yüzde 0.2 ila 35 bir terapötik ajan; adı geçen terapötik ajan bir taksandır;

ağırlık yüzde 10 ila 99 poli(laktik) asit-blok-poli(etilen)glolik kopolimer veya poli(laktik)-ko-poli(glikolik) asit-blok-poli(etilen)glolik kopolimer; ve
 5 ağırlık yüzde 0 ila 50 poli(laktik) asit veya poli(laktik) asit-ko-poli(glikolik) asit.

Nanopartikül, bir taksan olan bir terapötik ajan içerir. Örnek taksanlar arasında dosetaksel bulunur ve nanopartiküller, ağırlık yaklaşık yüzde 10 ila yaklaşık 30 taksan ajanı içerebilir.

10

Örneğin kopolimerin poli(laktik) asit kısmı, yaklaşık 16 kDa'lık bir ağırlık ortalamalı moleküler ağırlığa sahip olabilir ve kopolimerin poli(etilen)glolik kısmı, yaklaşık 5 kDa'lık bir ağırlık ortalamalı moleküler ağırlığa sahip olabilir.

15

Bir nanopartikül süspansiyonu içindeki mikropartiküllerin sayısı, ışık engellemesi ile partikül sayım testi yoluyla USP 32 <788>, mikroskopik partikül sayım testi ile USP 32 <788>, lazer difraksiyonu ve/veya tek partikül optik algılama gibi vasıtalarla belirlenebilir.

20

Liyofilize edilmiş kompozisyon, yaklaşık 40 mg/mL'nin üzerinde bir terapötik partikül konsantrasyonuna sahip olabilir. Parenteral uygulama için uygun formülasyon, 10 mL'lik bir doz içinde ebadı 10 mikronun üzerinde olan yaklaşık 600'den az partiküle sahip olabilir.

25

Liyofilizasyon adımı, kompozisyonun yaklaşık -40 °C'nin üzerindeki bir sıcaklıkta veya -30 °C'nin altında, örn. yaklaşık -40 °C ila yaklaşık -30 °C veya yaklaşık -40 °C ila yaklaşık -25 °C'lik bir sıcaklıkta

dondurularak dondurulmuş bir kompozisyon oluşturulmasını; ve dondurulmuş kompozisyonun örn. sublimasyon yoluyla kurutularak liyofilize edilmiş kompozisyonun oluşturulmasını içerebilir.

5 ŞEKİLLERE DAİR KISA AÇIKLAMALAR

Şekil 1, açıklanan nanopartiküllerin oluşturulmasına yönelik bir emülsiyon prosesinin akış şemasıdır.

Şekil 2, açıklanan emülsiyon prosesine ait bir akış diyagramıdır.

- 10 Şekil 3, tuz konsantrasyonunun ve sukrozun, yeniden oluşturulmuş nanopartikül süspansiyonunda partikül ebadı üzerindeki etkisini gösterir.

Şekil 4, çeşitli liyofilizasyon formülasyonları için sıcaklık döngülemesini gösterir.

- 15 Şekil 5, dinamik ışık saçılımı (DLS) yoluyla, burada açıklanan yeniden oluşturulmuş çeşitli nanopartikül süspansiyonlarının ebatlarını gösterir.

Şekil 6, burada açıklanan yeniden oluşturulmuş çeşitli nanopartikül süspansiyonlarının partikül sayılarını gösterir.

- 20 Şekil 7, çeşitli liyofilizasyon formülasyonları için sıcaklık döngülemesini gösterir.

Şekil 8, burada açıklanan yeniden oluşturulmuş çeşitli nanopartikül süspansiyonlarının nanopartikül ebatlarını (DLS kullanılarak ölçülmüştür) gösterir.

- 25 Şekil 9, burada açıklanan yeniden oluşturulmuş çeşitli nanopartikül süspansiyonlarının partikül sayılarını gösterir.

Şekil 10, burada açıklanan yeniden oluşturulmuş çeşitli nanopartikül süspansiyonlarının partikül sayılarını gösterir.

Şekil 11, burada açıklanan yeniden oluşturulmuş çeşitli nanopartikül süspansiyonlarının partikül sayılarını gösterir.

Şekil 12, burada açıklanan çeşitli nanopartikül süspansiyonlarının in vitro dosetaksel salımını gösterir.

- 5 Şekil 13, %5 trehaloz ve %10 hidroksipropilsiklodekstrine sahip nanopartikül süspansiyonlarının diferansiyel tarama kalorimetrisi (DSC) ile ölçümünü gösterir.

Şekil 14, %10 trehaloz ve %10 hidroksipropilsiklodekstrine sahip nanopartikül süspansiyonlarının DSC özelliklerini gösterir.

- 10 Şekil 15, %20 trehaloz ve %15 hidroksipropilsiklodekstrine sahip nanopartikül süspansiyonlarının DSC özelliklerini gösterir.

Şekil 16, %10 sukroz ve %10 hidroksipropilsiklodekstrine sahip nanopartikül süspansiyonlarının DSC özelliklerini gösterir.

15 **AYRINTILI TARİFNAME**

- Mevcut buluş genel olarak liyofilize edilmiş polimerik nanopartikül kompozisyonları ve bu terapötik kompozisyonları yapma ve kullanma yöntemleri ile ilgilidir. Bu kompozisyonlar, liyofilize edilmiş bir kompozisyondan yeniden oluşturulabilir ve nanopartiküllerin ve/veya diğer materyallerin minimum miktarda büyük agregasyona içerebilir. Bu nedenle açıklanan kompozisyonlar parenteral kullanım için uygun olabilir.

25 **Nanopartiküller**

Genel olarak kompozisyonlar, bir aktif ajan içeren nanopartiküller içerebilir. Burada açıklandığı gibi "nanopartikül", çapı 1000 nm'nin

altında, örn. yaklaşık 10 nm ile yaklaşık 200 nm olan bir partiküle karşılık gelir. Açıklanan terapötik nanopartiküller, çapı yaklaşık 60 nm ile yaklaşık 120 nm veya yaklaşık 70 nm ile yaklaşık 130 nm veya yaklaşık 60 nm ile yaklaşık 140 nm olan nanopartiküller içerebilir.

5

Açıklanan nanopartiküller, ağırlık yüzde yaklaşık 0.2 ile yaklaşık 35, ağırlık yüzde yaklaşık 3 ile yaklaşık 40, ağırlık yüzde yaklaşık 5 ile yaklaşık 30, ağırlık yüzde yaklaşık 10 ile yaklaşık 30, ağırlık yüzde yaklaşık 15 ile 25 veya hatta ağırlık yüzde yaklaşık 4 ile yaklaşık 25 bir taksan ajanı (örneğin dosetaksel) içerebilir.

10

Burada açıklanan nanopartiküller, bir, iki, üç veya daha fazla biyoyumlu ve/veya biyo-degrade olabilen polimer içerir.

15

Örnek terapötik nanopartiküller, ağırlık yüzde yaklaşık 40 ile yaklaşık 90 poli(laktik) asit-poli(etilen)glikol kopolimer veya ağırlık yüzde yaklaşık 40 ile yaklaşık 80 poli(laktik) asit-poli(etilen)glikol kopolimer içerebilir. Bu poli(laktik) asit- blok - poli(etilen)glikol kopolimer, sayısal ortalamalı moleküler ağırlığı yaklaşık 15 ile 20 kDa (veya örneğin yaklaşık 15 ile yaklaşık 100 kDa, örn., yaklaşık 15 ile yaklaşık 80 kDa) olan poli(laktik asit) ve sayısal ortalamalı moleküler ağırlığı yaklaşık 2 ile yaklaşık 10 kDa, örneğin yaklaşık 4 ile yaklaşık 6 kDa olan poli(etilen)glikol içerebilir. Örneğin açıklanan bir terapötik nanopartikül, ağırlık yüzde yaklaşık 70 ile yaklaşık 95 PLA-PEG ve ağırlık yüzde yaklaşık 5 ile yaklaşık 25 dosetaksel içerebilir. Başka bir örnekte açıklanan bir terapötik nanopartikül, ağırlık yüzde yaklaşık 30 ile yaklaşık 50 PLA-PEG, ağırlık yüzde yaklaşık 30 ile yaklaşık 50 PLA veya PLGA ve ağırlık yüzde yaklaşık 5 ile yaklaşık 25

25

dosetaksel içerebilir. Bu PLA'nın ((poli)laktik asit) sayısal ortalamalı moleküler ağırlığı yaklaşık 5 ila yaklaşık 10 kDa olabilir. Bu PLGA'nın (poli laktik -ko-glikolik asit) sayısal ortalamalı moleküler ağırlığı yaklaşık 8 ila yaklaşık 12 kDa olabilir.

5

Bir düzenekte açıklanan terapötik nanopartiküller, bir hedefleme ligandı, örn. buna ihtiyaç duyan bir süjude prostat kanseri gibi bir hastalığın veya bozukluğun tedavisinde etkili, düşük moleküler ağırlıklı bir PSMA ligandı içerebilir. Bazı düzeneklerde düşük
10 moleküler ağırlıklı ligand, bir polimere konjüğe edilir ve nanopartikül, ligand-konjüğe edilmiş polimerin (örn, PLA-PEG-Ligandının) fonksiyonelleştirilmemiş polimere (örn, PLA-PEG veya PLGA-PEG) belirli bir oranını içerir. Nanopartikül, bu iki polimerin optimize edilmiş bir oranına sahip olabilir, böylelikle ligandın etkili bir miktarı,
15 kanser gibi bir hastalığın veya bozukluğun tedavisi amacıyla nanopartikül ile birleştirilir.

Bazı düzeneklerde açıklanan nanopartiküller ayrıca ağırlık yüzde yaklaşık 0.2 ila yaklaşık 10 bir hedefleme ligandı ile
20 fonksiyonelleştirilmiş PLA-PEG içerebilir ve/veya ağırlık yüzde yaklaşık 0.2 ila yaklaşık 10 bir hedefleme ligandı ile fonksiyonelleştirilmiş poli (laktik) asit -ko poli (glikolik) asit blok - PEG içerebilir. Böyle bir hedefleme ligandı, bazı düzeneklerde, PEG'ye kovalent şekilde bağlanabilir, örneğin PEG'ye bir alkilen
25 bağlayıcı aracılığıyla bağlanabilir, örn. PLA-PEG- alkilen- GL2. Örneğin açıklanan bir nanopartikül, mol yüzde yaklaşık 0.2 ila yaklaşık 10 PLA-PEG-GL2 veya poli (laktik) asit -ko poli (glikolik) asit-PEG-GL2 içerebilir. PLA-PEG-GL2'ye veya PLGA-PEG-GL2'ye

referansın, PEG'yi GL2'ye bağlayan bir alkilen bağlayıcı (örn. C₁-C₂₀, örn. (CH₂)₅) içerebilen yarımlara karşılık geldiği anlaşılr.

Bir düzenekte bir terapötik nanopartikül, ağırlık yüzde 0.2 ila 35 bir
 5 terapötik ajan; ağırlık yüzde 30 ila 99 poli(laktik) asit-
 poli(etilen)glolik kopolimer veya poli(laktik)-ko-poli (glolik) asit-
 poli(etilen)glolik kopolimer; ağırlık yüzde 0 ila 50 poli(laktik) asit
 veya poli(laktik) asit-ko-poli (glolik) asit; ve ağırlık yüzde 0.2 ila 10
 veya ağırlık yüzde 0.2 ila 30 PLA-PEG-GL2 veya poli (laktik) asit -
 10 ko poli (glolik) asit- PEG-GL2 içerebilir. Örneğin PLA-PEG-GL2,
 sayısal ortalamalı moleküler ağırlığı yaklaşık 10,000 Da ila yaklaşık
 20,000 Da olan poli(laktik asit) ve sayısal ortalamalı moleküler
 ağırlığı yaklaşık 4,000 ila yaklaşık 8,000 olan poli(etilen)glolik
 içerebilir.

15

Polimerler

Buluşa ait nanopartiküller, bir polimer matrisi ve bir terapötik ajan
 içerir. Bazı düzeneklerde bir terapötik ajan ve/veya hedefleme yarımı
 20 (yani düşük moleküler ağırlıklı PSMA ligandı), polimerik matrisin en
 azından bir kısmı ile birleştirilebilir. Örneğin bazı düzeneklerde bir
 hedefleme yarımı (örn. ligandı), bir polimerik matrisin yüzeyi ile
 kovalent şekilde birleştirilebilir. Bazı düzeneklerde kovalent
 birleşmeye bir bağlayıcı aracılık eder. Terapötik ajan, polimerik
 25 matrisin yüzeyi ile birleştirilebilir, bunun içinde kapsül haline
 getirilebilir, bununla kuşatılabilir ve/veya buna disperse edilebilir.

Çok çeşitli polimerler ve bunlardan partikül oluşturma yöntemleri, ilaç

verme tekniğinde bilinmektedir. Bazı düzeneklerde açıklama, en az iki makromoleküle sahip nanopartiküllere yöneliktir, burada birinci makromolekül, düşük moleküler ağırlıklı bir liganda (örn. hedefleme yarımına) bağlanmış bir birinci polimer içerir; ve ikinci
 5 makromolekül, bir hedefleme yarımına bağlanmamış bir ikinci polimer içerir. Nanopartikül isteğe bağlı olarak bir veya daha fazla ilave, fonksiyonelleştirilmemiş polimer içerebilir.

Burada kullanıldığı gibi "polimer" terimi, teknikte kullanılan sıradan
 10 anlamına sahiptir, yani kovalent bağlarla bağlanmış bir veya daha fazla ünite (monomer) içeren moleküler bir yapı. Tekrar üniteleri aynı olabilir veya bazı durumlarda polimer içinde birden fazla tipte tekrar ünitesi olabilir. Bazı durumlarda polimer, biyolojik türevli, yani bir biyo-polimer olabilir. Sınırlayıcı olmayan örnekler arasında peptitler
 15 veya proteinler bulunur. Bazı durumlarda polimer içinde ilave yarımalar, örneğin aşağıda tarif edilenler gibi biyolojik yarımalar bulunabilir. Polimer içinde birden fazla tipte tekrar ünitesi varsa polimerin, bir "kopolimer" olduğu söylenir. Bir polimerin kullanıldığı bir düzenekte kullanılan polimerin bazı durumlarda bir kopolimer
 20 olabileceği anlaşılabacaktır. Kopolimeri oluşturan tekrar üniteleri, herhangi bir tarzda düzenlenebilir. Örneğin tekrar üniteleri, rastgele sırada, dönüşümlü sırada veya bir blok kopolimer halinde, yani her biri bir birinci tekrar ünitesi içeren bir veya daha fazla bölge (örn. bir birinci blok) ve her biri bir ikinci tekrar ünitesi içeren bir veya daha
 25 fazla bölge (örn. bir ikinci blok), vb. içerecek şekilde düzenlenebilir. Blok kopolimerler, iki (bir diblok kopolimer), üç (bir triblok kopolimer) veya daha fazla sayıda ayrı bloğa sahip olabilir.

Bir kopolimer, birlikte konjüge edilerek bir blok kopolimer oluşturan bir birinci polimer ve bir ikinci polimer içerebilir, burada birinci polimer, blok kopolimerin bir birinci bloğu olabilir ve ikinci polimer, blok kopolimerin bir ikinci bloğu olabilir. Şüphesiz teknikte sıradan bilgiye sahip kişiler, bir blok kopolimerin bazı durumlarda birçok polimer bloğu ihtiva edebileceğini ve burada kullanıldığı gibi bir "blok kopolimerin", sadece tek bir birinci bloğa ve tek bir ikinci bloğa sahip blok kopolimerlerle sınırlı olmadığını anlayacaklardır. Örneğin bir blok kopolimer, bir birinci polimer içeren bir birinci blok, bir ikinci polimer içeren bir ikinci blok ve bir üçüncü polimer veya birinci polimer içeren bir üçüncü blok, vb. içerebilir. Bazı durumlarda blok kopolimerler, herhangi bir sayıda bir birinci polimerin birinci bloğunu ve bir ikinci polimerin ikinci bloğunu (ve belirli durumlarda üçüncü bloklar, dördüncü bloklar, vb.) ihtiva edebilir. Ek olarak blok kopolimerlerin ayrıca bazı durumlarda başka blok kopolimerlerden oluşturulabileceği belirtilmelidir. Örneğin bir birinci blok kopolimer, başka bir polimere (ki bu bir homopolimer, bir biyopolimer, başka bir blok kopolimer, vb. olabilir) konjüge edilerek birçok tipte blok ihtiva eden yeni bir blok kopolimer oluşturulabilir ve/veya başka yarımlara (örn. polimerik olmayan yarımlara) konjüge edilebilir.

Bir polimer (örn. kopolimer, örn. blok kopolimer), amfifilik olabilir, yani bir hidrofilik kısma ve bir hidrofobik kısma veya nispeten hidrofilik bir kısma ve nispeten hidrofobik bir kısma sahip olabilir. Bir hidrofilik polimer genellikle su çeken olabilir ve bir hidrofobik polimer genellikle su iten olabilir. Bir hidrofilik veya bir hidrofobik polimer, örneğin polimerin bir örneğinin hazırlanması ve bunun su ile temas açısının ölçülmesi suretiyle tanımlanabilir (tipik olarak polimer,

60°'nin altında bir temas açısına sahip olacakken bir hidrofobik polimer, yaklaşık 60°'den fazla bir temas açısına sahip olacaktır). Bazı durumlarda iki veya daha fazla polimerin hidrofilitiği, birbirlerine göre ölçülebilir, yani bir birinci polimer, bir ikinci polimerden daha
5 hidrofilitik olabilir. Örneğin birinci polimer, ikinci polimerden daha küçük bir temas açısına sahip olabilir.

Burada öngörülen bir polimer (örn. kopolimer, örn. blok kopolimer), bir biyo-uyumlu polimer, yani tipik olarak bir canlı süjeye
10 konulduğunda veya enjekte edildiğinde olumsuz bir tepkiye neden olmayan, örneğin anlamlı enflamasyon ve/veya polimerin immün sistem tarafından, örneğin bir T hücresi tepkisi aracılığıyla akut reddine neden olmayan polimer içerir. Buna göre burada öngörülen terapötik partiküller, immünojenik olmayabilir. Burada kullanıldığı
15 gibi immünojenik olmama terimi, sirküle olan antikorları, T hücrelerini veya reaktif immün hücrelerini normalde hiç uyandırmayan veya ancak minimal düzeylerde uyandıran ve kişide kendisine karşı bir immün tepkisini normalde uyandırmayan, kendi doğal halindeki endojen büyüme faktörüne karşılık gelir.

20

Biyo-uyumluluk tipik olarak materyalin, immün sisteminin en azından bir kısmı tarafından akut reddine karşılık gelir, yani bir süjeye implante edilen, biyo-uyumlu olmayan bir materyal, süjede materyalin immün sistem tarafından reddi yeterince kontrol edilemeyecek kadar
25 şiddetli olabilen bir immün tepkisi uyandırır ve sıklıkla bu, materyalin süjeden çıkarılmasını gerektirecek derecededir. Biyo-uyumluluğu belirlemeye yönelik basit bir test, bir polimeri in vitro hücrelere maruz bırakmaktır; biyo-uyumlu polimerler, tipik olarak mutedil koşullarda,

örn. 50 mikrogram/ 10^6 hücrelik konsantrasyonlarda anlamlı hücre ölümü ile sonuçlanmayacak polimerlerdir. Örneğin bir biyo-uyumlu polimer, fibroblastlar veya epiteliyel hücreler gibi hücrelere maruz kaldığında, bu hücreler tarafından fagositoza uğrasa veya başka
 5 şekilde alınsa bile, yaklaşık %20'den az hücre ölümüne neden olabilir. Mevcut buluşun çeşitli düzeneklerinde faydalı olabilecek biyo-uyumlu polimerlerin sınırlayıcı olmayan örnekleri arasında polidioksanon (PDO), polihidroksialkanoat, polihidroksibutirat, poli(gliseryl sebakat), poliglikolid, polilaktid, PLGA, polikaprolakton veya bunları
 10 ve/veya başka polimerleri içeren kopolimerler veya türevler bulunur.

Biyo-uyumlu polimerler, biyo-degrade olabilir, yani polimer, fizyolojik bir ortamda, örneğin vücut içinde kimyasal ve/veya biyolojik olarak degrade olabilir. Burada kullanıldığı gibi "biyo-degrade olabilen"
 15 polimerler, hücrelere konulduğunda hücre mekanizması tarafından (biyolojik olarak degrade olabilen) ve/veya hidroliz gibi kimyasal bir prosesle (kimyasal olarak degrade olabilen) bileşenler halinde parçalanan, bunların da ya hücreler tarafından yeniden kullanılabildiği ya da hücreler üzerinde anlamlı toksik etki
 20 olmadan atılabildiği polimerlerdir. Bir düzenekte biyo-degrade olabilen polimer ve bunun degradasyon yan ürünleri, biyo-uyumlu olabilir.

Örneğin bir polimer, suya maruz kaldığında (örn. süje içinde) spontan
 25 şekilde hidrolize olan polimer olabilir; polimer, ısıya maruz kaldığında (örn. yaklaşık 37°C 'lik sıcaklıklarda) degrade olabilir. Bir polimerin degradasyonu, kullanılan polimere veya kopolimere bağlı olarak değişken hızlarda meydana gelebilir. Örneğin polimerin yarı

ömrü (polimerin %50'sinin monomerler ve/veya başka polimerik olmayan yarımlar halinde degrade olabildiği zaman), polimere bağlı olarak günler, haftalar, aylar veya yıllar düzeyinde olabilir. Polimerler, örn. enzimatik aktivite veya hücre mekanizması tarafından, bazı 5 durumlarda örneğin bir lizozime (örn. nispeten düşük pH'a sahip) maruz kalma yoluyla biyolojik olarak degrade olabilir. Bazı durumlarda polimerler, hücrelerin yeniden kullanabileceği ya da hücreler üzerinde anlamlı toksik etki olmadan atabileceği monomerler ve/veya başka polimerik olmayan yarımlar halinde parçalanabilir 10 (örneğin polilaktid hidrolize olarak laktik asit oluşturabilir; poliglikolid, hidrolize olarak glikolik asit oluşturabilir, vb.).

Polimerler, polyesterler örneğin laktik asit ve glikolik asit üniteleri içeren kopolimerler, örneğin burada bütün halinde "PLGA" olarak 15 adlandırılan poli(laktik asit-ko-glikolik asit) ve poli(laktid-ko-glikolid); ve burada bütün halinde "PGA" olarak adlandırılan glikolik asit üniteleri ve laktik asit üniteleri, örneğin burada bütün halinde "PLA" olarak adlandırılan poli-L-laktik asit, poli-D-laktik asit, poli-D,L-laktik asit, poli-L-laktid, poli-D-laktid ve poli-D,L-laktid içeren 20 homopolimerler olabilir. Örnek polyesterler arasında örneğin polihidroksiasitler; PEGile edilmiş polimerler ve laktid ve glikolid kopolimerleri (örn., PEGile edilmiş PLA, PEGile edilmiş PGA, PEGile edilmiş PLGA ve bunların türevleri bulunur. Bazı düzeneklerde polyesterler arasında örneğin polianhidridler, poli(orto ester) PEGile edilmiş poli(orto ester), poli(kaprolakton), PEGile edilmiş poli(kaprolakton), polilizin, PEGile edilmiş polilizin, poli(etilen imin), PEGile edilmiş poli(etilen imin), poli(L-laktid-ko-L-

lizin), poli(serin ester), poli(4-hidroksi-L-prolin ester), poli[a-(4-aminobutil)-L-glikolik asit]ve bunların türevleri bulunur.

PLGA, laktik asit ve glikolik asidin biyo-uyumlu ve biyo-degrade
 5 olabilen bir ko-polimeridir ve çeşitli PLGA formları, laktik asit:
 glikolik asit oranı ile karakterize edilebilir. Laktik asit, L-laktik asit,
 D-laktik asit veya D,L-laktik asit olabilir. PLGA'nın degradasyon
 oranı, laktik asit-glikolik asit oranı değiştirilerek ayarlanabilir. Bazı
 düzeneklerde mevcut buluşa göre kullanılacak PLGA, yaklaşık olarak
 10 85:15, yaklaşık olarak 75:25, yaklaşık olarak 60:40, yaklaşık olarak
 50:50, yaklaşık olarak 40:60, yaklaşık olarak 25:75 veya yaklaşık
 olarak 15:85 laktik asit:glikolik asit oranı ile karakterize edilebilir.
 Bazı düzeneklerde partikül polimerinde (örn. PLGA blok kopolimeri
 veya PLGA-PEG blok kopolimeri) laktik asidin glikolik asit
 15 monomerlerine oranı, su alımı, terapötik ajan salımı gibi çeşitli
 parametreleri optimize etmek üzere seçilebilir ve/veya polimer
 degradasyon kinetikleri optimize edilebilir.

Polimerler, akrilik polimerler olabilir. Akrilik polimerler arasında
 20 örneğin akrilik asit ve metakrilik asit kopolimerler, metil metakrilat
 kopolimerler, etoksietil metakrilatlar, siyanoetil metakrilat, amino
 alkil metakrilat kopolimer, poli(akrilik asit), poli(metakrilik asit),
 metakrilik asit alkilamid kopolimer, poli(metil metakrilat),
 poli(metakrilik asit poliakrilamid, amino alkil metakrilat kopolimer,
 25 glisidil metakrilat kopolimerler, polisiyanoakrilatlar ve yukarıdaki
 polimerlerin birini veya daha fazlasını içeren kombinasyonlar bulunur.
 Akrilik polimer, düşük bir katernar amonyum grubu içeriğine sahip,

akrilik ve metakrilik asit esterlerin tamamen polimerize edilmiş kopolimerlerini içerebilir.

Polimerler, katyonik polimerler olabilir. Genel olarak katyonik polimerler, nükleik asitlerin negatif yüklü iplikçiklerini (örn. DNA, RNA veya bunların türevleri) yoğunlaştırabilir ve/veya koruyabilir. Amin ihtiva eden polimerler örneğin poli(lizin), polietilen imin (PEI) ve poli(amidoamin) dendrimerler, bazı düzeneklerde açıklanan bir partikül içinde kullanılmak üzere öngörülür.

10

Polimerler, katyonik yan zincirler taşıyan, degrade olabilen polyesterler olabilir. Bu polyesterlerin örnekleri arasında poli(L-laktid-ko-L-lizin), poli(serin ester), poli(4-hidroksi-L-prolin ester) bulunur.

15

Burada açıklanan partiküller, PEG ihtiva eder. Poli(etilen glikol) tekrar üniteleri ihtiva eden bir polimer (örn. kopolimer, örn. blok kopolimer) ayrıca "PEGile edilmiş" bir polimer olarak adlandırılabilir.

Örneğin PEG bir liganda konjüge edilmediğinde PEG'nin sonlandırılabilmesi ve bir uç grup içerebilmesi öngörülür. Örneğin PEG, bir hidroksil, bir metoksi veya başka alkoksil grubu, bir metil veya başka alkil grubu, bir aril grubu, bir karboksilik asit, bir amin, bir amid, bir asetil grubu, bir guanidino grubu veya bir imidazol içinde sonlanabilir. Öngörülen diğer uç gruplar arasında azid, alkin, maleimid, aldehid, hidrazid, hidroksilamin, alkoksiamin veya tiyol yarımları bulunur.

25

Teknikte sıradan bilgiye sahip kişiler, halka açma polimerizasyon teknikleri (ROMP) ile veya benzeri yollarla bir polimeri bir aminde sonlanan bir PEG grubuna reakte etmek için örneğin EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) karbodiimid hidroklorid) ve NHS (N-hidroksisukinimid) kullanarak bir polimeri PEGile etmeye yönelik yöntemleri ve teknikleri bileceklerdir.

Bir düzenekte polimerlerin moleküler ağırlığı, burada açıklandığı gibi etkili tedavi için optimize edilebilir. Örneğin bir polimerin moleküler ağırlığı, partikül degradasyon hızını (örneğin biyo-degrade olabilen bir polimerin moleküler ağırlığı ayarlanabilir olduğunda), çözünürlüğü, su alımını ve ilaç salım kinetiklerini etkileyebilir. Örneğin polimerin moleküler ağırlığı, tedavi edilmekte olan süjede partikül, makul bir süre içinde (birkaç saat ile 1-2 hafta, 3-4 hafta, 5-6 hafta, 7-8 hafta, vb. arasında değişir) biyo-degrade olacak şekilde ayarlanabilir. Açıklanan bir partikül örneğin PEG ve PL(G)A'nın bir diblok kopolimerini içerebilir, burada örneğin PEG kısmı, yaklaşık 1,000-20,000, örn. yaklaşık 2,000-20,000, örn. yaklaşık 2 ile yaklaşık 10,000'lik bir sayısal ortalamalı moleküler ağırlığa sahip olabilir ve PL(G)A kısmı, yaklaşık 5,000 ile yaklaşık 20,000 veya yaklaşık 5,000-100,000, örn. yaklaşık 20,000-70,000, örn. yaklaşık 15,000-50,000'lik bir sayısal ortalamalı moleküler ağırlığa sahip olabilir.

Burada ağırlık yüzde yaklaşık 10 ile yaklaşık 99 poli(laktik) asit-poli(etilen)glikol kopolimer veya poli(laktik)-ko-poli (glikolik) asit-poli(etilen)glikol kopolimer veya ağırlık yüzde yaklaşık 20 ile yaklaşık 80, ağırlık yüzde yaklaşık 40 ile yaklaşık 80 veya ağırlık yüzde yaklaşık 30 ile yaklaşık 50 veya ağırlık yüzde yaklaşık 70 ile

- yaklaşık 90 poli(laktik) asit-poli(etilen)glikol kopolimer veya poli(laktik)-ko-poli (glikolik) asit-poli(etilen)glikol kopolimer içeren örnek bir terapötik nanopartikül açıklanır. Örnek poli(laktik) asit-poli(etilen)glikol kopolimerler, sayısal ortalamalı moleküler ağırlığı
- 5 yaklaşık 15 ila yaklaşık 20 kDa veya yaklaşık 10 ila yaklaşık 25 kDa olan poli(laktik asit) ve sayısal ortalamalı moleküler ağırlığı yaklaşık 4 ila yaklaşık 6 veya yaklaşık 2 kDa ila yaklaşık 10 kDa olan poli(etilen)glikol içerebilir.
- 10 Açıklanan nanopartiküller isteğe bağlı olarak ağırlık yüzde yaklaşık 1 ila yaklaşık 50 poli(laktik) asit veya poli(laktik) asit-ko-poli (glikolik) asit (PEG içermez) içerebilir veya isteğe bağlı olarak ağırlık yüzde yaklaşık 1 ila yaklaşık 50 veya ağırlık yüzde yaklaşık 10 ila yaklaşık 50 veya ağırlık yüzde yaklaşık 30 ila yaklaşık 50 poli(laktik) asit veya
- 15 poli(laktik) asit-ko-poli (glikolik) asit içerebilir. Örneğin poli(laktik) veya poli(laktik)-ko-poli(glikolik) asidin sayısal ortalamalı moleküler ağırlığı yaklaşık 5 ila yaklaşık 15 kDa veya yaklaşık 5 ila yaklaşık 12 kDa olabilir. Örnek PLA'nın sayısal ortalamalı moleküler ağırlığı yaklaşık 5 ila yaklaşık 10 kDa olabilir. Örnek PLGA'nın sayısal
- 20 ortalamalı moleküler ağırlığı yaklaşık 8 ila yaklaşık 12 kDa olabilir.

Bazı düzeneklerde nanopartiküllerin polimerleri, bir lipide konjüge edilebilir. Polimer örneğin lipitle sonlanan bir PEG olabilir. Aşağıda tarif edildiği gibi polimerin lipit kısmı, başka bir polimer ile

25 kendiliğinden birleşme için kullanılabilir, bu da bir nanopartikül oluşumunu kolaylaştırır. Örneğin bir hidrofilik polimer, bir hidrofobik polimer ile kendiliğinden birleşecek bir lipide konjüge edilebilir.

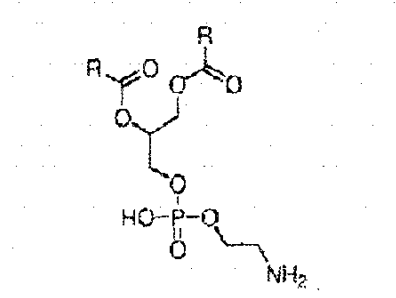
Bazı düzeneklerde lipitler, yağlardır. Genel olarak teknikte bilinen herhangi bir yağ, buluşta kullanılan polimerlere konjüge edilebilir. Bazı düzeneklerde bir yağ, bir veya daha fazla yağ asidi grubu veya bunların tuzlarını içerebilir. Bazı düzeneklerde bir yağ asidi grubu, 5 sindirilebilen, uzun zincirli (örn. C_8 - C_{50}), ikame edilmiş veya ikame edilmemiş hidrokarbonlar içerebilir. Bazı düzeneklerde bir yağ asidi grubu, bir C_{10} - C_{20} yağ asidi veya bunun bir tuzu olabilir. Bazı düzeneklerde bir yağ asidi grubu, bir C_{15} - C_{20} yağ asidi veya bunun bir tuzu olabilir. Bazı düzeneklerde bir yağ asidi grubu, doymamış 10 olabilir. Bazı düzeneklerde bir yağ asidi grubu, mono-doymamış olabilir. Bazı düzeneklerde bir yağ asidi grubu, poli-doymamış olabilir. Bazı düzeneklerde doymamış bir yağ asidi grubunun ikili bağı, cis konformasyonunda olabilir. Bazı düzeneklerde doymamış bir yağ asidinin ikili bağı, trans konformasyonunda olabilir.

15

Bazı düzeneklerde bir yağ asidi grubu, bir veya daha fazla butirik, kaproik, kaprilik, kaprik, laurik, miristik, palmitik, stearik, arakidik, behenik veya lignoserik asit olabilir. Bazı düzeneklerde bir yağ asidi grubu, bir veya daha fazla palmitoleik, oleik, vassenik, linoleik, alfa- 20 linolenik, gamma-linoleik, arakidonik, gadoleik, arakidonik, eikosapentaenoik, dokosaheksaenoik veya erusik asit olabilir.

Bir düzenekte isteğe bağlı küçük moleküllü hedefleme yarımları, nanopartikülün lipit bileşenine bağlanır, örn. kovalent şekilde 25 bağlanır. Örneğin burada bir terapötik ajan, fonksiyonelleştirilmiş ve fonksiyonelleştirilmemiş polimerler içeren bir polimerik matris, bir lipit ve düşük moleküler ağırlıklı bir PSMA hedefleme ligandı içeren bir nanopartikül sunulur, burada hedefleme ligandı, nanopartikülün

lipit bileşenine bağlanır, örn. kovalent şekilde bağlanır. Bir düzenekte düşük moleküler ağırlıklı hedefleme yarımına bağlanan lipit bileşeni, aşağıdaki Formül V'e aittir:



5

ve bunun tuzları, burada her R birbirinden bağımsız olarak C_{1-30} alkildir. Formül V'in bir düzeneğinde lipit, 1,2 distearoil-sn-glisero-3-fosfoetanolin (DSPE) ve bunun tuzları, örn. sodyum tuzu olabilir.

- 10 Başka bir düzenekte buluş, bir terapötik ajan, bir polimerik matris, DSPE ve düşük moleküler ağırlıklı bir PSMA hedefleme ligandı içeren, hedefe spesifik bir nanopartikül sunar, burada ligand, DSPE'ye bağlanır, örn. kovalent şekilde bağlanır. Örneğin buluşa ait nanopartikül, PLGA-DSPE-PEG-Ligand içeren bir polimerik matris
- 15 içerebilir.

Tasarlanan bir nanopartikülde ligand bağlı polimerin fonksiyonelleştirilmemiş polimere oranı, prostat kanserinin tedavisi için etkili olabilir, burada hidrofilik, ligand bağlı polimer, hidrofobik

20 polimer ile kendiliğinden birleşecek bir lipide konjüge edilir, böylelikle nanopartikülü oluşturan hidrofobik ve hidrofilik polimerler kovalent şekilde bağlanmaz.

"Kendiliğinden birleşme", daha yüksek sıralı bir yapının spontan birleşmesine yönelik, daha yüksek sıralı yapının bileşenlerinin (örn.

moleküllerin) doğal çekimine dayanan bir prosese karşılık gelir. Bu tipik olarak moleküllerin rastgele hareketleri ve ebat, şekil, kompozisyon ve kimyasal özelliklere göre bağ oluşumu yoluyla meydana gelir. Örneğin böyle bir yöntem, bir lipit ile reaksiyona girerek bir polimer/lipit konjüгатı oluşturan bir birinci polimerin sağlanmasını içerir. Polimer/lipit konjüгатı daha sonra düşük moleküler ağırlıklı ligand ile reaksiyona sokularak ligand bağlı bir polimer/lipit konjüгатı hazırlanır ve ligand bağlı bir polimer/lipit konjüгатı bir ikinci, fonksiyonelleştirilmemiş polimer ve terapötik ajan ile karıştırılır, bu şekilde nanopartikül oluşturulur. Bazı düzeneklerde birinci polimer, PEG'dir, böylelikle lipit sonlanmalı bir PEG oluşturulur. Bir düzenekte lipit, Formül V'e aittir, yani 2 distearoil-sn-glisero-3-fosfoetanolamin (DSPE) ve bunun tuzları, örn. sodyum tuzudur. Lipit sonlanmalı PEG ise daha sonra örneğin PLGA ile karıştırılarak bir nanopartikül oluşturulur.

Hedefleme Yarımları

Burada isteğe bağlı bir hedefleme yarımı, yani bir biyolojik öge, örneğin bir membran bileşeni, bir hücre yüzeyi reseptörü, prostata spesifik membran antijeni veya benzerlerine bağlanabilen veya bunlarla başka şekilde birleşebilen bir yarım içerebilen nanopartiküller sunulur. Partikül yüzeyi üzerinde bulunan bir hedefleme yarımı, partikülün belirli bir hedefleme sahasına, örneğin bir tümör, bir hastalık sahası, bir doku, bir organ, bir hücre tipi, vb.ye konumlanmasına izin verebilir. Bu şekilde nanopartikül, "hedefe spesifik" olabilir. İlaç veya başka bir faydalı yük ise bazı durumlarda

partikülden salınabilir ve belirli hedefleme sahası ile lokal şekilde etkileşime girmesine izin verilebilir.

Belirli bir düzenekte ilaç veya başka bir faydalı yük, partikülden
 5 kontrollü salım tarzında salınabilir ve belirli hedefleme sahası (örn. bir
 tümör) ile lokal şekilde etkileşime girmesine izin verilebilir. Burada
 (örn. "kontrollü salım sistemi" bağlamında) kullanıldığı gibi
 "kontrollü salım" terimi (ve bu terimin varyantları) genel olarak bir
 maddenin (örn. bir ilacın) seçili bir sahada veya başka şekilde kontrol
 10 edilebilir bir hızda, aralıkta ve/veya miktarda salınmasını kapsama
 amaçlıdır. Kontrollü salım, önemli ölçüde sürekli vermeyi, şablonlu
 vermeyi (örn. düzenli veya düzensiz zaman aralıkları ile kesilen bir
 süre boyunca aralıklı verme) ve seçilen bir maddenin bir bolusunun
 (örn. bir maddenin önceden belirlenmiş ayrı bir miktarı halinde
 15 nispeten kısa bir süre (örn. birkaç saniye veya dakika) boyunca)
 verilmesini kapsar, ancak mutlaka bunlarla sınırlı değildir.

Bir düzenekte açıklanan bir nanopartikül, düşük moleküler ağırlıklı bir
 ligand, örn. düşük moleküler ağırlıklı bir PSMA ligandı olan bir
 20 hedefleme yarımı içerir. Burada kullanıldığı gibi "bağlama" veya
 "bağlanma" terimi, bunlarla sınırlı olmamakla birlikte biyokimyasal,
 fizyolojik ve/veya kimyasal etkileşimler dahil olmak üzere spesifik
 veya spesifik olmayan bağlanmaya veya etkileşime bağlı olarak
 karşılıklı afinite veya bağlanma kapasitesi sergileyen, karşılık gelen
 25 bir çift molekül veya kısım arasındaki etkileşim anlamına gelir.
 "Biyolojik bağlanma", proteinler, nükleik asitler, glikoproteinler,
 karbohidratlar, hormonlar veya benzeri dahil molekül çiftleri arasında
 meydana gelen bir etkileşim tipini tanımlar. "Bağlanma ortağı" terimi,

belirli bir molekül ile bağlanmaya uğrayabilen bir moleküle karşılık gelir. "Spesifik bağlanma", bir bağlanma ortağına (veya sınırlı sayıda bağlanma ortağına), diğer benzeri biyolojik öğelerden önemli ölçüde daha yüksek bir dereceye kadar bağlanabilen veya bunu tanıyabilen, polinükleotitler gibi moleküllere karşılık gelir. Bir dizi düzenekte hedefleme yarımı, yaklaşık 1 mikromoların altında, en az yaklaşık 10 mikromolar veya en az yaklaşık 100 mikromolarlık bir afiniteye sahiptir (bir ayrılma sabiti aracılığıyla ölçülür).

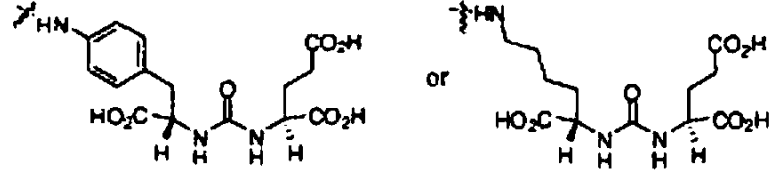
- 10 Orneğin bir hedefleme kısmı, partiküllerin kullanılan hedefleme yarımına bağlı olarak bir süjenin vücudu içindeki bir tümöre (örn. bir katı tümör), bir hastalık sahasına, bir dokuya, bir organa, bir hücre tipine, vb. konumlu hale gelmesini sağlayabilir. Orneğin düşük moleküler ağırlıklı bir PSMA ligandı, bir katı tümöre, örn. göğüs veya
- 15 prostat tümörlerine veya kanser hücrelerine konumlu hale gelebilir. Süje, bir insan veya insan dışı bir hayvan olabilir. Süje örnekleri arasında, bunlarla sınırlı olmamakla birlikte bir memeli örneğin bir köpek, bir kedi, bir at, bir eşek, bir tavşan, bir inek, bir domuz, bir koyun, bir keçi, bir sıçan, bir fare, bir kobay, bir hamstır, bir primat,
- 20 bir insan veya benzeri bulunur.

Orneğin bir hedefleme yarımı, küçük hedef prostat kanseri tümörleri olabilir, örneğin bir hedefleme yarımı, PSMA peptidaz inhibitörü olabilir. Bu yarımalar ayrıca burada "düşük moleküler ağırlıklı PSMA ligandları" olarak anılır. Normal dokularda ekspresyon ile kıyaslandığında prostata spesifik membran antijeninin (PSMA) ekspresyonu, malignan prostatta, normal dokuya göre en az 10 kat aşırı eksprese edilir ve PSMA ekspresyon düzeyi, hastalık, metastatik

fazlara ilerledikçe daha da yukarı regüle edilir (Silver ve arkadaşları, 1997, Clin. Cancer Res., 3:81).

Örneğin düşük moleküler ağırlıklı PSMA ligandı,

5

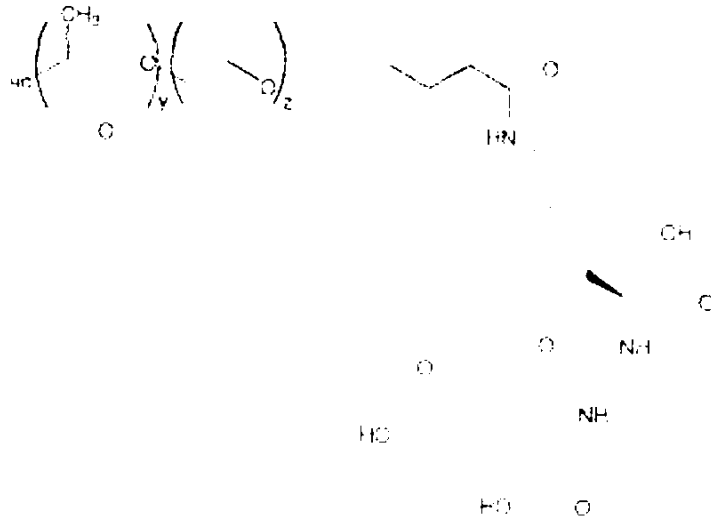


ve bunun enantiyomerleri, stereoizomerleri, rotamerleri, tautomerleri, diastereomerleri veya rasematlarıdır. Özellikle butil-amin bileşiği, özellikle benzer halkası taşımadığından sentez kolaylığı avantajına sahiptir.

10

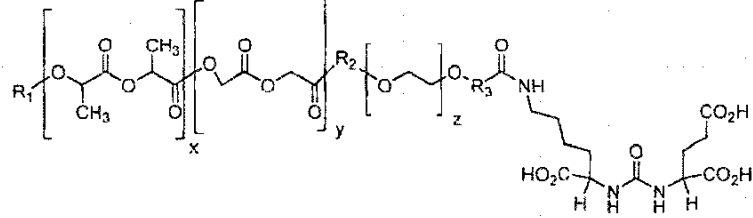
Örneğin açıklanan bir nanopartikül, aşağıdaki ile temsil edilen bir konjugat içerebilir:

15



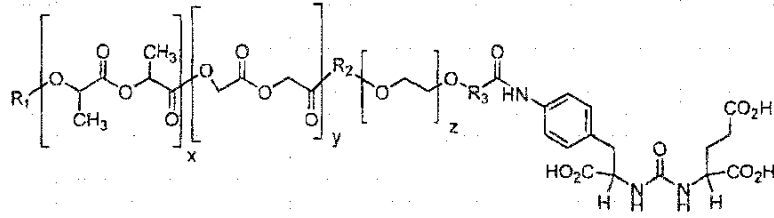
burada y, yaklaşık 222'dir ve z, yaklaşık 114'tür.

Örneğin açıklanan bir nanopartikül, aşağıdakiler arasından seçilen bir polimerik bileşik içerir:



5

ve



- 10 burada R_1 , H ve isteğe bağlı olarak halojen ile ikame edilmiş bir C_1 - C_{20} alkil grubu arasından seçilir;
- R_2 , bir bağ, bir ester bağı veya amid bağıdır;
- R_3 , bir C_1 - C_{10} alkilen veya bir bağıdır;
- x, 50 ila yaklaşık 1500, örneğin yaklaşık 170 ila yaklaşık 260'tır;
- 15 y, 0 ila yaklaşık 50'dir, örneğin y, 0'dır; ve
- z, yaklaşık 30 ila yaklaşık 456 veya yaklaşık 30 ila yaklaşık 200'dür, örneğin z, yaklaşık 80 ila yaklaşık 130'dur.

Terapötik Ajanlar

20

Aktif ajan, bir taksandır (örn. paklitaksel veya bunun türevleri örneğin DHA-paklitaksel veya PG-paklitaksel veya dosetaksel).

Bir düzenekte terapötik ajan, açıklanan bir nanopartikülün bir parçasını oluşturan, örn. açıklanan bir polimere konjüge edilebilir (veya edilmeyebilir), örn. bir aktif ajan, PLA'ya veya PGLA'ya ya da
 5 bir kopolimerin bir PLA veya PLGA kısmına, örneğin PLA-PEG veya PLGA-PEG'ye konjüge edilebilir (örn. kovalent şekilde, örn. direkt olarak veya bir bağlama yarımı aracılığıyla bağlanabilir).

Nanopartiküllerin Preparasyonu

10

Bu açıklamanın bir diğer yönü, açıklanan nanopartikülleri yapmaya yönelik sistemlere ve yöntemlere yöneliktir. Bazı düzeneklerde iki veya daha fazla farklı polimer (örn. kopolimerler, örn. blok kopolimerler) farklı oranlarda kullanılarak ve polimerlerden (örn.
 15 kopolimerlerden, örn. blok kopolimerlerden) partiküller üretilerek partiküllerin özellikleri kontrol edilir. Örneğin bir polimer (örn. kopolimer, örn. blok kopolimer), düşük moleküler ağırlıklı bir PSMA ligandı içerebilirken bir başka polimer (örn. kopolimer, örn. blok kopolimer), biyo-uyumluluğu ve/veya ortaya çıkan partikülün
 20 immünojenikliğini kontrol edebilmesi açılarından seçilebilir.

Bir dizi düzenekte bir veya daha fazla polimer içeren bir çözeltinin sağlanması ve çözelti, bir polimer nonsolvent ile temas ettirilerek partikül üretilmesi suretiyle partiküller oluşturulur. Çözelti, polimer
 25 nonsolvent ile karışabilir veya karışamaz. Örneğin suyla karışabilen bir sıvı, örneğin asetonitril, polimerleri ihtiva edebilir ve asetonitril, bir polimer nonsolvent olan suyla, örn. asetonitrilin su içine kontrollü bir hızda dökülmesi suretiyle temas ettirildiğinde partiküller oluşur.

Çözelti içinde bulunan polimer, polimer nonsolvent ile temas ettiğinde çökerek nanopartiküller gibi partiküller oluşturabilir. İki sıvıdan biri, ortam sıcaklığında ve basıncında ağırlık olarak en az %10 düzeyine kadar diğeri içinde çözülmediğinde bu iki sıvının "karışamaz" olduğu veya birbirleriyle karışmadığı söylenir. Tipik olarak bir organik çözelti (örn. diklorometan, asetonitril, kloroform, tetrahidrofuran, aseton, formamid, dimetilformamid, piridinler, dioksan, dimetilsülfoksit, vb.) ve bir sulu sıvı (örn. su veya çözölmüş tuzlar veya başka türler ihtiva eden su, hücre veya biyolojik ortam, etanol, vb.), birbirlerine göre karışamazdır. Örneğin birinci çözelti, ikinci çözelti içine (uygun bir oranda veya hızda) dökülebilir. Bazı durumlarda nanopartiküller gibi partiküller, birinci çözelti karışmayan ikinci sıvı ile temas ettiğinde oluşabilir, örn. temas üzerine polimerin çökmesi, polimerin nanopartiküller oluşturmasını sağlarken birinci çözelti, ikinci sıvı içine dökölür ve bazı durumlarda örneğin sokma hızı, dikkatle kontrol edildiğinde ve nispeten yavaş bir hızda tutulduğunda nanopartiküller oluşabilir. Bu partiköl oluşumunun kontrolü, sadece rutin deneyler kullanılarak teknikte sıradan bilgiye sahip kişilerce kolaylıkla optimize edilebilir.

20

Başka bir düzenekte Şekil 1 ve 2'de sunulan proses gibi bir nano-emülsiyon prosesi sunulur. Örneğin bir terapötik ajan, bir birinci polimer (örneğin PLA-PEG veya PLGA-PEG gibi bir diblok kopolimer, bunların herhangi biri isteğe bağılı olarak bir liganda, örn., GL2'ye bağlanabilir) ve isteğe bağılı bir ikinci polimer (örn., (PL(G)A-PEG veya PLA), bir organik çözelti ile bir birinci organik faz oluşturabilir. Bu birinci faz, ağırlık yaklaşık %5 ila yaklaşık 50 katı, örn. yaklaşık %5 ila yaklaşık %40 katı veya yaklaşık %10 ila yaklaşık

25

%30 katı içerebilir. Birinci organik faz, bir birinci sulu çözelti ile birleştirilerek bir ikinci faz oluşturulabilir. Organik çözelti örneğin tolüen, metil etil keton, asetonitril, tetrahidrofuran, etil asetat, izopropil alkol, izopropil asetat, dimetilformamid, metilen klorid, diklorometan, kloroform, aseton, benzil alkol, Tween 80, Span 80 veya benzerlerini ve bunların kombinasyonlarını içerebilir. Bir düzenekte organik faz, benzil alkol, etil asetat ve bunların kombinasyonlarını içerebilir. İkinci faz, ağırlık yüzde yaklaşık 1 ile 50 arasında, örn. ağırlık yüzde yaklaşık 5-40 katı olabilir. Sulu çözelti, isteğe bağlı olarak bir veya daha fazla sodyum kolat, etil asetat, polivinil asetat ve benzil alkol ile kombinasyon halinde su olabilir.

Örneğin yağ veya organik faz, nonsolvent (su) ile ancak kısmen karışabilen solvent kullanabilir. Bu nedenle yeterince düşük bir oranda karıştırıldığında ve/veya organik solventler ile önceden doyurulmuş su kullanıldığında yağ fazı, sıvı kalır. Yağ fazı, bir sulu çözelti halinde emülsife edilebilir ve sıvı damlaları olarak, örneğin yüksek enerjili dispersiyon sistemleri, örneğin homojenleştiriciler veya sonikatörler kullanılarak nanopartiküller halinde kesilebilir. Emülsiyonun ayrıca "su fazı" olarak bilinen sulu kısmı, sodyum kolattan oluşan ve etil asetat ve benzil alkol ile önceden doyurulmuş bir surfaktan çözeltisi olabilir.

Bir emülsiyon fazı oluşturmak üzere ikinci fazın emülsife edilmesi, bir veya iki emülsifikasyon adımıyla gerçekleştirilebilir. Örneğin bir birincil emülsiyon hazırlanabilir ve sonra ince bir emülsiyon oluşturmak üzere emülsifiye edilebilir. Birincil emülsiyon, örneğin basit karıştırma, yüksek basınçlı bir homojenleştirici, sondalı

sonikatör, karıştırma çubuğu veya rotor statorlu bir homojenleştirici kullanılarak oluşturulabilir. Birincil emülsiyon, örn. sondalı sonikatör veya yüksek basınçlı bir homojenleştirici kullanılarak, örn. homojenleştirici içinden 1, 2, 3 veya daha fazla geçiş yapılarak ince
 5 bir emülsiyon halinde oluşturulabilir. Örneğin yüksek basınçlı bir homojenleştirici kullanıldığında kullanılan basınç, yaklaşık 1000 ila yaklaşık 8000 psi, yaklaşık 2000 ila yaklaşık 4000 psi, 4000 ila yaklaşık 8000 psi veya yaklaşık 4000 ila yaklaşık 5000 psi, örn. yaklaşık 2000, 2500, 4000 veya 5000 psi olabilir.

10

Solventin özümlemesini tamamlamak ve partikülleri katılaştırmak için solvent buharlaştırması veya seyreltme gerekebilir. Özümleme kinetikleri üzerinde daha iyi bir kontrol ve daha fazla ölçeklenebilen bir proses sağlamak için sulu söndürme aracılığıyla solvent seyreltme
 15 kullanılabilir. Örneğin emülsiyon, söndürülmüş bir faz oluşturmak amacıyla organik solventin tamamını çözmek için yeterli bir konsantrasyona kadar soğuk su içine seyretililebilir. Söndürme, en azından kısmen yaklaşık 5°C veya daha düşük bir sıcaklıkta yapılabilir. Örneğin söndürmede kullanılan su, oda sıcaklığından
 20 düşük bir sıcaklıkta (örn. yaklaşık 0 ila yaklaşık 10°C veya yaklaşık 0 ila yaklaşık 5°C'de) olabilir.

Bazı düzeneklerde terapötik ajanın (örn. dosetaksel) tamamı, bu aşamada partiküller içinde kapsül haline getirilmez ve
 25 çözünürleştirilmiş bir faz oluşturmak amacıyla söndürülmüş faza bir ilaç çözünürleştirici ilave edilir. İlaç çözünürleştirici, örneğin Tween 80, Tween 20, polivinil pirolidon, siklodekstran, sodyum dodesil sülfat veya sodyum kolat olabilir. Örneğin serbest ilacı

çözünürleştirmek ve ilaç kristallerinin oluşmasını önlemek için söndürülmüş nanopartikül süspansiyonuna Tween-80 ilave edilebilir. Bazı düzeneklerde ilaç çözünürleştiricinin terapötik ajana (örn. dosetaksel) oranı, yaklaşık 100:1 ila yaklaşık 10:1'dir.

5

Nanopartikülleri geri kazanmak için çözünürleştirilmiş faz filtre edilebilir. Örneğin ultra-filtreleme membranları, nanopartikül süspansiyonunu konsantre etmek ve organik solventi, serbest ilacı ve diğer proses yardımcılarını (surfektanları) önemli ölçüde temizlemek için kullanılabilir. Örnek filtreleme, bir tanjant akışlı filtreleme sistemi kullanılarak yapılabilir. Örneğin solütlerin, misellerin ve organik solventin geçmesine izin verirken nanopartikülleri tutmak için uygun bir gözenek ebadına sahip bir membran kullanarak nanopartiküller seçici şekilde ayrılabilir. Moleküler ağırlık kesmeleri 300-500 kDa (~5-25 nm) olan örnek membranlar kullanılabilir.

Diya-filtreleme, bir sabit hacim yaklaşımı kullanılarak yapılabilir, yani diya-filtrat (soğuk deiyonize edilmiş su, örn. yaklaşık 0 ila yaklaşık 5°C veya 0 ila yaklaşık 10°C), besleme süspansiyonuna, filtratın süspansiyondan çıkarılması ile aynı hızda ilave edilebilir. Bazı düzeneklerde filtreleme, yaklaşık 0 ila yaklaşık 5°C ya da 0 ila yaklaşık 10°C'lik bir birinci sıcaklık ve yaklaşık 20 ila yaklaşık 30°C ya da 15 ila yaklaşık 35°C'lik bir ikinci sıcaklık kullanılan bir birinci filtreleme içerebilir. Örneğin filtreleme, yaklaşık 0 ila yaklaşık 5°C'de yaklaşık 1 ila yaklaşık 6 diya-hacmin işlenmesini ve yaklaşık 20 ila yaklaşık 30°C'de en az bir diya-hacmin (örn. yaklaşık 1 ila yaklaşık 3 veya yaklaşık 1-2 diya-hacmin) işlenmesini içerebilir.

Nanopartikül süspansiyonunun saflaştırılmasından ve konsantre edilmesinden sonra partiküller, örneğin $\sim 0.2 \mu\text{m}$ 'lik derinlik ön filtresi kullanılarak bir, iki veya daha fazla sterilize edici ve/veya derinlik filtrelerinden geçirilebilir.

5

Nanopartiküllerin hazırlandığı başka bir düzenekte bir terapötik ajan, örn. dosetaksel ve polimer (homopolimer, ko-polimer ve ligand ile ko-polimer) karışımından oluşan bir organik faz oluşturulur. Organik faz, yaklaşık olarak 1:5 oranında (yağ fazı:sulu faz) bir sulu faz ile
10 karıştırılır, burada sulu faz, bir surfektandan ve bir miktar çözülmüş solventten oluşur. Birincil emülsiyon, basit karıştırma altında veya rotor statorlu bir homojenleştirici kullanılarak iki fazın birleştirilmesi suretiyle oluşturulur. Birincil emülsiyon daha sonra yüksek basınçlı bir homojenleştirici kullanılarak ince bir emülsiyon halinde
15 oluşturulur. Daha sonra ince emülsiyon, karıştırma altında deiyonize edilmiş suya ilave edilerek söndürülür. Söndürme:emülsiyon oranı yaklaşık olarak 8.5:1'dir. Sonra bir Tween çözeltisi (örn. Tween 80), genel olarak yaklaşık %2 Tween sağlamak üzere söndürmeye ilave edilir. Bu, kapsül içine alınmamış, serbest ilacı çözmeye yarar. Daha
20 sonra nanopartiküller, santrifüjleme veya ultra-filtreleme/diya-filtreleme yoluyla izole edilir.

Formülasyonun hazırlanmasında kullanılan polimer ve terapötik veya aktif ajan miktarlarının nihai formülasyona göre farklılık
25 gösterebileceği takdir edilecektir. Örneğin bir miktar aktif ajan, bir nanopartikül içine tamamen dahil edilemeyebilir ve bu serbest terapötik ajan, örn. filtre edilerek çıkarılabilir. Örneğin bir düzenekte ağırlık yüzde yaklaşık 20 aktif ajan (örn. dosetaksel) ve ağırlık yüzde

yaklaşık 80 polimer (örn. polimer, mol yüzde yaklaşık 2.5 PLA-PEG-GL2 ve mol yüzde yaklaşık 97.5 PLA-PEG içerebilir), bir formülasyonun hazırlanmasında kullanılabilir ve bu da örn. nihai nanopartikülün ağırlık yüzde yaklaşık 10 aktif ajan (örn. dosetaksel) ve ağırlık yüzde yaklaşık 90 polimer içermesi ile sonuçlanır (burada polimer, mol yüzde yaklaşık 1.25 PLA-PEG-GL2 ve mol yüzde yaklaşık 98.75 PLA-PEG içerebilir). Bu prosesler, bir hastaya uygulanmaya uygun, ağırlık olarak yaklaşık yüzde 2 ila yaklaşık 20 terapötik ajan, örn. ağırlık olarak yaklaşık yüzde 5, yaklaşık 8, yaklaşık 10, yaklaşık 15 terapötik ajan içeren nihai nanopartiküller sağlayabilir.

Liyofilize Edilmiş Farmasötik Kompozisyonlar

Burada açıklanan nanopartiküller, farmasötik açıdan kabul edilebilir taşıyıcılar ile birleştirilerek bir farmasötik kompozisyon oluşturulabilir. Teknikte uzman kişilerce takdir edileceği gibi taşıyıcılar, aşağıda tarif edildiği gibi uygulama yoluna, hedef konumuna, verilmekte olan ilaca, ilacın verilmesine yönelik zaman akışına, vb. göre seçilebilir.

Farmasötik kompozisyonlar, oral ve parenteral yollar dahil olmak üzere, teknikte bilinen bir vasıta ile hastaya uygulanabilir. Burada kullanıldığı gibi "hasta" terimi, insanların yanı sıra örneğin memeliler, kuşlar, sürüngenler, amfibiyenler ve balıklar dahil insan olmayanlara karşılık gelir. Örneğin insan olmayanlar, memeliler (örn. bir kemirgen, bir fare, bir sıçan, bir tavşan, bir maymun, bir köpek, bir kedi, bir primat veya bir domuz) olabilir. Bazı düzeneklerde parenteral yollar

arzu edilir, çünkü bunlar besin kanalında bulunan sindirim enzimleri ile teması önler. Bu düzeneklere göre buluşa ait kompozisyonlar, enjeksiyon (örn. intravenöz, subkütan veya intramüsküler, intraperitoneal enjeksiyon) yoluyla, rektal, vajinal, topik yoldan (tozlar, kremler, merhemler veya damlalar olarak) veya inhalasyon yoluyla (spreyler olarak) uygulanabilir.

Nanopartiküller, buna ihtiyaç duyan bir süjeye sistemik örn. parenteral yoldan ya da intravenöz infüzyon veya enjeksiyon yoluyla uygulanabilir.

Mevcut buluşa göre dondurulmaya uygun bir kompozisyon öngörülmekte olup, burada açıklanan nanopartikülleri içerir ve dondurulma için uygun bir çözelti, yani bir şeker (sukroz) ve bir siklodekstrin çözeltisi, nanopartikül süspansiyonuna ilave edilir. Şeker (sukroz), partiküllerin dondurulma üzerine agrege olmasını önlemek için örn. bir karyo-koruyucu görevi görebilir. Öngörülen formülasyonlar, birçok açıklanan nanopartikül (örn. PLA-PEG'ye ve bir aktif ajana sahip nanopartiküller) ve ağırlık yaklaşık %2 ila yaklaşık %15 (veya ağırlık yaklaşık %4 ila yaklaşık %6, örn. ağırlık yaklaşık %5) sukroz ve ağırlık yaklaşık %5 ila yaklaşık %20 (örn. ağırlık yaklaşık %7 ila ağırlık yaklaşık %12, örn. ağırlık yaklaşık %10) HPbCD) içerir.

Mevcut açıklama, kısmen, yeniden oluşturulduğunda minimum miktarda büyük agregatlara sahip olan, liyofilize edilmiş farmasötik kompozisyonlar ile ilgilidir. Bu büyük agregatların ebatları, yaklaşık 0.5 µm'nin üzerinde, yaklaşık 1 µm'nin üzerinde veya yaklaşık 10 µm'nin üzerinde olabilir ve yeniden oluşturulmuş bir çözelti içinde

arzu edilmeyebilir. Agregat ebatları, bu suretle referans olarak dahil edilen ABD Farmakpedi, 32 <788>'de belirtilenler dahil olmak üzere çeşitli teknikler kullanılarak ölçülebilir. USP 32 <788>'de belirtilen testler, bir ışık engellemesi ile partikül sayım testi, mikroskopik partikül sayım testi, lazer difraksiyonu ve tek partikül optik algılama içerir. Bir düzenekte belirli bir örnek içinde partikül ebadı, lazer difraksiyonu ve/veya tek partikül optik algılama kullanılarak ölçülür.

Işık engellemesi ile partikül sayım testi yoluyla USP 32 <788>, bir süspansiyon içindeki partikül ebatlarının örneklenmesine yönelik kılavuz bilgiler verir. 100 mL'den az veya buna eşit çözeltiler için var olan partiküllerin ortalama sayısı, >10 µm olan kap başına 6000'i ve >25 µm olan kap başına 600'ü aşmazsa preparasyon, teste uygundur.

USP 32 <788>'de belirtildiği gibi mikroskopik partikül sayım testi, 100 +/- 10x büyötmeye ayarlanmış, bir oküler mikrometreye sahip bir dürbünlü mikroskop kullanılarak partikül miktarlarının belirlenmesine yönelik kılavuz bilgiler verir. Bir oküler mikrometre, 100x büyötmeye bakıldığında 10 µm ve 25 µm'yi gösteren siyah referans dairelerine sahip çeyreklere bölünmüş bir daireden oluşan, dairesel çaplı bir ağıdır. Ağı altında lineer bir skala bulunur. 10 µm ve 25 µm'ye istinaden partikül sayısı görsel olarak sayılır. 100 mL'den az veya buna eşit çözeltiler için var olan partiküllerin ortalama sayısı, >10 µm olan kap başına 3000'i ve >25 µm olan kap başına 300'ü aşmazsa preparasyon, teste uygundur.

Bazı düzeneklerde yeniden oluşturulma sonrasında açıklanan bir kompozisyonun 10 mL'lik bir sulu örneğinde, ml başına 600'den az

partikül, 10 mikrona eşit veya bundan büyük bir ebada sahiptir; ve/veya ml başına 60'dan az partikül, 25 mikrona eşit veya büyük bir ebada sahiptir.

- 5 Dinamik ışık saçılımı (DLS), partikül ebadını ölçmek için kullanılabilir, ancak bu, Brownian devinimine dayanır, bu nedenle teknik, bazı daha büyük partikülleri saptamayabilir. Lazer difraksiyonu, partikül ile süspansiyon ortamı arasında refraksiyon endeksindeki farklara dayanır. Teknik, mikron altı ila milimetre
- 10 aralığındaki partikülleri saptayabilir. Nispeten düşük (örn., ağırlık yaklaşık %1-5) miktarlarda daha büyük partiküller, nanopartikül süspansiyonlarında belirlenebilir. Tek partikül optik algılama (SPOS), yaklaşık 0.5 µm'lik tek tek partikülleri saymak için seyrek süspansiyonların ışık engellemesini kullanır. Ölçülen örneğin partikül
- 15 konsantrasyonunu bilerek agregatların ağırlık yüzdesi veya agregat konsantrasyonu (partikül/mL) hesaplanabilir.

- Agregatların oluşumu, partiküllerin yüzey dehidrasyonuna bağlı olarak liyofilizasyon sırasında meydana gelebilir. Bu dehidrasyon,
- 20 liyofilizasyondan önce süspansiyon içinde disakaritler gibi liyo-koruyucular kullanarak önlenabilir. Uygun disakaritler arasında sukroz, laktuloz, laktoz, maltoz, trehaloz veya sellobioz ve/veya bunların karışımları bulunur. Öngörülen diğer disakaritler arasında kojibioz, nigeroz, izomaltoz, β,β-trehaloz, α,β-trehaloz, soforoz,
 - 25 laminaribioz, gentiobioz, turanoz, maltuloz, palatinoz, gentiobiuloz, mannobiaz, melibioz, melibiuloz, rutinoz, rutinuloz ve ksilobioz bulunur. Yeniden oluşturma, başlangıç süspansiyonu ile karşılaştırıldığında denk DLS ebat dağılımları gösterir. Bununla

birlikte lazer difraksiyonu, yeniden oluşturulmuş bazı çözeltilerde > 10 µm ebadındaki partikülleri saptayabilir. Ek olarak SPOS ayrıca FDA kılavuzlarının üzerindeki konsantrasyonda >10 µm ebadındaki partikülleri saptayabilir (>10 µm partiküller için 10^4 - 10^5 partikül/mL).

5

Mevcut buluş kısmen bir veya daha fazla iyonik halid tuzunun, sukroz ve siklodekstrine ilave liyo-koruyucu olarak kullanılması ile ilgilidir.

Uygun iyonik halid tuzları arasında sodyum klorid, kalsiyum klorid, 10 çinko klorid veya bunların karışımları bulunabilir. Uygun ilave iyonik halid tuzları arasında potasyum klorid, magnezyum klorid, amonyum klorid, sodyum bromid, kalsiyum bromid, çinko bromid, potasyum bromid, magnezyum bromid, amonyum bromid, sodyum iyodid, kalsiyum iyodid, çinko iyodid, potasyum iyodid, magnezyum iyodid 15 veya amonyum iyodid ve/veya bunların karışımları bulunur. Bir düzenekte liyofilize edilmiş farmasötik kompozisyon, yaklaşık 10 ila yaklaşık 100 mM sodyum klorid içerebilir. Başka bir düzenekte liyofilize edilmiş farmasötik kompozisyon, yaklaşık 100 ila yaklaşık 500 mM divalent iyonik klorid tuzu, örneğin sodyum klorid veya 20 çinko klorid içerebilir.

Liyofilizasyon adımı, kompozisyonun yaklaşık -40 °C'nin üzerinde veya örn. -30 °C'nin altında bir sıcaklıkta dondurularak dondurulmuş bir kompozisyon oluşturulmasını; ve dondurulmuş kompozisyon 25 kurutularak liyofilize edilmiş kompozisyonun oluşturulmasını içerebilir. Kurutma adımı, yaklaşık 50 mTorr'da yaklaşık -25 ila yaklaşık -34 °C veya yaklaşık -30 ila yaklaşık -34 °C sıcaklıkta meydana gelebilir.

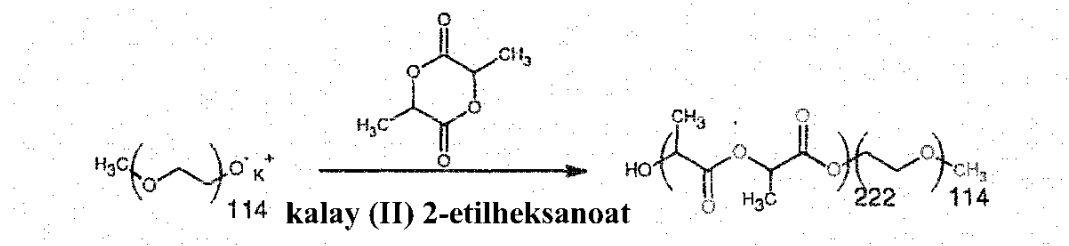
ORNEKLER

- Artık genel olarak tarif edilen buluş, aşağıdaki örneklere istinaden daha kolay bir şekilde anlaşılacak olup, bu örnekler sadece mevcut
- 5 buluşun bazı yönlerinin ve düzeneklerinin açıklanması amacıyla dahil edilmiştir ve buluşu bir şekilde sınırlama amacı taşımaz.

ORNEK 1: PLA-PEG'nin Preparasyonu

- 10 Sentez, d,l-laktidin, makro-başlatıcı olarak α -hidroksi- ω -metoksipoli(etilen glikol) ile halka açma polimerizasyonu yoluyla gerçekleştirilir ve aşağıda gösterildiği gibi katalizör olarak Kalay (II) 2-Etil heksanoat kullanılarak yükseltilmiş bir sıcaklıkta yapılır (PEG $M_n \sim 5,000$ Da; PLA $M_n \sim 16,000$ Da; PEG-PLA $M_n \sim 21,000$ Da).

15



- Polimer, polimerin diklorometan içinde çözülmesi ve bir heksan ve dietil eter karışımı içinde çöktürülmesi suretiyle saflaştırılır. Bu
- 20 adımdan kazanılan polimer, bir fırın içinde kurutulur.

ORNEK 2: Örnek Nanopartikül Preparasyonu- Emülsiyon Prosesi

- 25 Dosetaksel (DTXL) ve polimer (homopolimer, ko-polimer ve ligand

ile ko-polimer) karışımından oluşan bir organik faz oluşturulur. Organik faz, yaklaşık olarak 1:2 oranında (yağ fazı:sulu faz) bir sulu faz ile karıştırılır, burada sulu faz, bir surfektandan (%0.25 sodyum kolat) ve bir miktar çözülmüş solventten (%4 etil asetat, %2 benzil 5 alkol) oluşur. Yüksek ilaç yüküne ulaşmak için organik fazda yaklaşık %30 katı kullanılır.

Birincil, kaba emülsiyon, basit karıştırma altında veya rotor statorlu bir homojenleştirici kullanılarak iki fazın birleştirilmesi suretiyle 10 oluşturulur. Rotor/stator, homojen, sütümsü bir çözelti verirken karıştırma çubuğu, gözle görülür şekilde daha büyük kaba bir emülsiyon verir. Karıştırma çubuğu yönteminin, anlamlı yağ fazı damlalarının besleme kabının yanlarına yapışması ile sonuçlandığı gözlemlendi, bu ise kaba emülsiyon ebadı, kalite açısından kritik bir 15 proses parametresi değilken verim kaybını veya faz ayrılmasını önlemek için bunun uygun şekilde ince yapılması gerektiğini ortaya koydu. Bu nedenle rotor stator, standart kaba emülsiyon oluşturma yöntemi olarak kullanılmakla birlikte yüksek hızlı bir mikser, daha büyük bir ölçekte uygun olabilir.

20

Birincil emülsiyon daha sonra yüksek basınçlı bir homojenleştirici kullanılarak ince bir emülsiyon halinde oluşturulur. Kaba emülsiyon ebadı, homojenleştirici içinden arka arkaya geçişler (103) sonrasında partikül ebadını anlamlı düzeyde etkilemez.

25

2-3 geçişten sonra partikül ebadı anlamlı şekilde azalmaz ve arka arkaya geçişler, partikül ebadında bir artışa bile neden olabilir. Organik faz, standart sulu faz ile emülsife edilmiş 5:1 O:W'dir ve

birçok ayrı geçiş yapılarak her geçişten sonra emülsiyonun küçük bir kısmı söndürülür. Gösterilen skala, formülasyonun toplam katılarını temsil eder.

- 5 Skalanın partikül ebadı üzerindeki etkisi, skalaya bağımlılık gösterir. Trend, 2-10g parti ebadı aralığında daha büyük partilerin daha küçük partiküller ürettiğini gösterir. Bu skala bağımlılığının, 10g'ın üzerindeki skala partileri ele alındığında ortadan kalktığı gösterildi. Yağ fazında kullanılan katı miktarı, yaklaşık %30'dur.

10

Tablo A, emülsifikasyon prosesi parametrelerini özetler.

Tablo A

Parametre	Değer
Kaba emülsiyon oluşumu	Yüksek kesmeli mikser
Homojenleştirici besleme basıncı	bölme başına 2500 psi
Etkileşim bölme(ler)i	4x200 µm Z bölmesi
Homojenleştiriciden geçiş sayısı	1 geçiş
Su fazı [sodyum kolat]	%0.25-0.35
W:O oranı	2:1
[Katılar] yağ fazında	%30

15

Daha sonra ince emülsiyon, verilen sıcaklıkta karıştırma altında deiyonize edilmiş suya ilave edilerek söndürülür. Söndürme birim işleminde emülsiyon, çalkalama altında soğuk sulu bir söndürmeye ilave edilir. Bu, nanopartikülleri aşağı akış filtrelemesi için etkili şekilde sertleştirerek yağ fazındaki solventlerin önemli bir kısmını 20 özümlemeye yarar. Söndürmenin soğutulması, ilaç kapsül oluşturmayı anlamlı düzeyde geliştirir. Söndürme:emülsiyon oranı yaklaşık olarak 5:1'dir.

%35'lik (ağr.%) bir Tween 80 çözeltisi, yaklaşık %4'lük genel Tween 80 elde edecek şekilde söndürmeye ilave edilir. Emülsiyon söndürüldükten sonra ilaç çözünürleştirici görevi gören bir Tween-80 çözeltisi ilave edilerek filtreleme sırasında kapsül haline getirilmemiş ilacın etkin çıkarılması sağlanır. Tablo B, söndürme prosesi parametrelerinin her birini gösterir.

Tablo B: Özet söndürme prosesi parametreleri.

Parametre	Değer
İlk söndürme sıcaklığı	$< 5^{\circ}\text{C}$
[Tween-80] çözeltisi	%35
Tween-80:ilaç oranı	25:1
Q:E oranı	10: 1
Söndürme tutma/proses sıcaklığı	$\leq 5^{\circ}\text{C}$ (geçerli 5:1 Q:E oranı, 25:1 Tween-80:ilaç oranı ile)

Sıcaklık, yeterince seyrek bir süspansiyon (solventlerin yeterince düşük konsantrasyonu) ile partiküllerin T_g 'sinin altında kalmak için yeterince soğuk kalmalıdır. Q:E oranı yeterince yüksek değilse daha yüksek solvent konsantrasyonu, partikülleri plastikleştirir ve ilacın sızmasına neden olur. Buna karşılık daha soğuk sıcaklıklar, düşük Q:E oranında ($\sim 3:1$ 'e) yüksek ilaç kapsülleştirmesine izin vererek prosenin daha verimli yürütülmesini mümkün kılar.

Ardından nanopartiküller, bir tanjant akışlı filtreleme prosesi ile izole edilerek nanopartikül süspansiyonu konsantre edilir ve solventler, serbest ilaç ve ilaç çözünürleştiricide söndürme çözeltisinden suya tampon değişikliği yapılır. Moleküler ağırlık kesmeleri (MWCO) 300 olan, bir rejenere selüloz membran kullanılır.

Söndürme solventlerini, serbest ilacı ve Tween-80'i çıkarmak için

sabit hacimli diya-filtreleme (DF) yapılır. Sabit hacimli DF yapmak için tutuntu kabına filtratın çıkarılması ile aynı hızda tampon ilave edilir. TFF işlemlerine yönelik proses parametreleri, Tablo C'de özetlenmiştir. Çapraz akış hızı, besleme kanallarının içinden ve membranın üzerinden çözeltinin akma hızına karşılık gelir. Bu akış, membranı kirletebilen ve filtrat akışını kısıtlayabilen molekülleri temizleme kuvveti sağlar. Transmembran basıncı, geçişken molekülleri membran içinden iten kuvvettir.

10

Tablo C: TFF Parametreleri

Parametre	Optimize edilmiş değer
Membran Materyali	Rejenere selüloz- Kaba Elek Membranı
Moleküler Ağırlık Kesmesi	300 kDa
Çapraz Akış Hızı	3.7-10L/dak/m ²
Transmembran Basıncı	~5psid
Diya-filtreleme için Nanopartikül Süspansiyonu Konsantrasyonu	30-50 mg/ml
Diya-hacim Sayısı	20)
Membran Alanı	5 m ² /kg

15

20

Filtre edilmiş nanopartikül bulamacı daha sonra geliştirme sırasında yükseltilmiş bir sıcaklığa termal döngülenir. Kapsül içine alınmış ilacın küçük bir bölümü (tipik olarak %5-10'u), 25°C'ye ilk maruz kalmadan sonra çok hızlı bir şekilde nanopartiküllerden salınır. Bu olgu nedeniyle tüm geliştirme sırasında soğuk tutulan partiler, verme veya dondurulmadan saklamanın herhangi bir kısmı sırasında serbest ilaç veya ilaç kristalleri oluşumuna yatkındır. Nanopartikül bulamacının geliştirme sırasında yükseltilmiş sıcaklığına maruz bırakılması suretiyle bu 'gevşek şekilde kapsül içine alınmış' ilaç çıkarılabilir ve ilaç yükünde küçük bir düşme pahasına ürün stabilitesi geliştirilebilir. Tablo D, 25°C'de prosesin iki örneğini özetler. Diğer

deneyler, ürünün ~2-4 diya-hacim sonrasında, kapsül içine alınmış ilacın büyük kısmını kaybetmeden 25°C'ye maruz bırakılmak için yeterince stabil olduğunu gösterdi. 25°C işleminden önce soğuk proses için miktar olarak 5 diya-hacim kullanılır.

5

Tablo D

		A Partileri	B Partileri
İlaç Yüğü	Soğuk geliştirme	%11.3	%9.7
	25°C geliştirme ¹	%8.7-9.1	%9.0-9.9
Stabilite ²	Soğuk geliştirme	< 1 gün	< 1 gün
	25°C geliştirme ¹	5-7 gün	2-7 gün
İn vitro patlama ³	Soğuk geliştirme	~%10	Yapılmadı
	25°C geliştirme ¹	~%2	

¹25°C geliştirme alt partileri, en az 5 diya-hacimden sonra çeşitli sürelerle 25°C'ye maruz bırakıldı. Aralıklar bildirilmiştir, çünkü 25°C'ye maruz bırakılan birçok alt parti vardı.

²Stabilite verileri, bulamaç içinde kristaller oluşmadan (mikroskop ile görülebilir) nihai ürünün, 10-50 mg/ml nanopartikül konsantrasyonlarında 25°C'de tutulabileceği süreyi temsil eder

³In vitro patlama, birinci zaman noktasında (esasen hemen) salınan ilacı temsil eder

Filtreleme prosesinden sonra nanopartikül süspansiyonu, sterilize etme dereceli bir filtreden (0.2 µm mutlak) geçirilir. Proses için makul bir filtreleme alanı/süresi kullanmak amacıyla sterilize etme dereceli filtreyi korumak için ön filtreler kullanılır. Değerler, Tablo E'de özetlendiği gibidir.

Tablo E

Parametre	O Değeri	Etki
Nanopartikül Süspansiyonu Konsantrasyonu	50 mg/ml	Verim kayıpları, daha yüksek [NP]'de daha yüksektir, ancak 50 mg/ml'de filtreleyebilme, filtreleme sonrasında aseptik konsantrasyon yapma ihtiyacını ortadan kaldırır
Filtreleme akış hızı	~1.3 l/dak/m ²	Akış hızı arttıkça filtre edilebilirlik azalır

15

On filtre, Pall SUPRAcap veya Stax filtre kartuşlarında Seitz PDD1 derinlik filtresi ortamlarına sahiptir. Derinlik filtreleri için kg nanopartikül başına 0.2 m² filtreleme yüzeyi alanı ve sterilize etme dereceli filtreler için kg nanopartikül başına 1.3 m² filtreleme yüzeyi alanı kullanılabilir.

Referans ORNEK 3: Şeker ve Tuz ile Liyofilize Edilmiş Kompozisyon

Şekil 3'te gösterildiği gibi >40 mg/mL nanopartikül konsantrasyonlarına sahip nanopartikül süspansiyonları (polimer olarak 16/5 PLA-PEG ile Örnek 2'deki gibi oluşturulan nanopartiküllere sahiptir), %10 sukroz ve bir katkı maddesi: NaCl, CaCl₂ veya PBS varlığında liyofilize edilir. Bu deney, yüksek (>40 mg/ml) nanopartikül konsantrasyonlarında olup mikro-agregasyon olmadan yeniden oluşturulabilen nanopartikül süspansiyonlarını formüle eder. Uç CaCl₂ formülasyonunun tamamı, çöken bir liyofilizat üretmiş orta (150 mM) ve yüksek (200 mM) konsantrasyon aralıklarında bile <100 partikül/ml'li (10 µm+) yeniden oluşturulmuş kekler üretir.

Düşük tuz konsantrasyonları, tuz olmayan duruma benzer davranış gösterir. Yüksek tuz konsantrasyonları genel olarak çok daha yüksek partikül konsantrasyonları gösterir.

Referans ORNEK 4: Şeker ve/veya Tuz ve/veya Siklodekstrin ile Liyofilize Edilmiş Kompozisyon

Nanopartikül süspansiyonu, bir şeker (örn. sukroz veya trehaloz), tuz (örn. NaCl veya CaCl₂) ve/veya siklodekstrin (örn. hidroksipropil beta siklodekstrin - HPbCD) varlığında liyofilize edilir. Örneğin formülasyonlar, 250 mM veya 500 mM NaCl veya CaCl₂ ile; ve/veya 5 ağırlık olarak %15, %20 veya %25 sukroz veya trehaloz, örneğin ağırlık olarak %20 trehaloz, 500mM CaCl₂, %5 HPbCd ile hazırlanır. Temsilci formülasyonlar, Tablo F'de gösterilmiştir.

Tablo F, geniş bir ebat aralığında bir seferde bir adet olmak üzere bir 10 AccuSizer ile sayılan ve ebatlandırılan partikülleri gösterir ve formülasyon içinde var olan agregatları bulmak için daha büyük ebatlı partikül sayıları sayılmıştır. Tablo F, damıtılmış su kullanılarak çözeltinin liyofilize edilmiş kekler halinde yeniden oluşturulması sonrasında partikül sayısını gösterir. Tablo F'de F/T örnekleri, 15 kurutma olmadan sadece dondurma ve eritmeden gelirken 1 ila 4 numaralı şişeler ve ayrıca uzun şişe 1 ve 2, liyofilize edilmiş örneklerden gelir. %15 Trehaloğlu, CaCl₂ 500mM haricinde formülasyonların çoğunluğu, az sayıda partikül agregatı gösterdi ve formülasyonları optimize etmek için takip eden testler yapıldı.

20

25

Tablo F

Formülasyon	Yeniden Oluşturma	Partikül Sayısı/ml, (10 µm'nin üzerinde)						
		F/T kontrol	1	2	3	4	Uzun şişe 1	Uzun Şişe 2
CaCl ₂ +%15 sukroz	İyi	282	527	333	940	396	1110	430
CaCl ₂ +%15 trehaloz	Hemen çözöldü	310	17600	548	Şişe kırıldı	1160000	1190	442
CaCl ₂ +%20 trehaloz +%5HPbCD	hızlı	945	446	670	486	3500	384	71,3
%20 trehaloz +%10HPbCD	hızlı	392	28300	4210	899	2790	239	75,5

Referans ORNEK 5: Şeker ve/veya Tuz ve/veya Siklodekstrin ile Liyofilize Edilmiş Kompozisyon

5

Nanopartikül süspansiyonu, bir şeker (örn. trehaloz), siklodekstrin (örn. hidroksipropil beta siklodekstrin - HPbCD) ve/veya tuz (örn. CaCl₂) varlığında liyofilize edilir. Eksipiyen ve Deney Tasarımı (DOE) kullanılarak formülasyonları tarama düzeyi, aşağıda Tablo

10 G'de sıralanmıştır. Uzun şişeler, 5 mL dolum hacimli tüm formülasyonlar için kullanılır (formülasyon başına n=5-6 şişe). Birincil kurutma, -37°C raf sıcaklığında yapılır.

Tablo G

Eksipiyen	Düzy 1	Düzy 2	Düzy 3	Düzy 4
HPbCD	%5	%10	N/A	N/A
Trehaloz	%10	%20	N/A	N/A
CaCl ₂	0 mM	100 mM	250 mM	500 mM

15

Liyofilize edilmiş formülasyonların görünüşü ve bunların yeniden oluşturulma özellikleri, aşağıda Tablo H'de sıralanmıştır. Test edilen

tüm formülasyonlarda formülasyonların görünüşü en azından kısmen erimiştir.

Tablo H

Formülasyon	Liyofilizasyon sonrası görünüş	Yeniden Oluşturma
%5 HPbCD	kısmen geri eridi	OK, çok bulanık
%10 HPbCD	kısmen geri eridi	OK
%10 Trehaloz + %10 HPbCD	kısmen geri eridi	Birçok vorteksleme gerektirdi
%10 Trehaloz + %5 HPbCD	kısmen geri eridi	Birçok vorteksleme gerektirdi
%20 Trehaloz + %10 HPbCD	kısmen geri eridi	Birçok vorteksleme gerektirdi
%20 Trehaloz + %5 HPbCD	kısmen geri eridi	Hayır, küçük topaklar kaldı
CaCl ₂ 100mM+ %10 Trehaloz + %10 HPbCD	kısmen geri eridi	Birçok vorteksleme gerektirdi
CaCl ₂ 100mM+ %10 Trehaloz + %5 HPbCD	kısmen geri eridi	Birçok vorteksleme gerektirdi
CaCl ₂ 100mM+ %20 Trehaloz + %10 HPbCD	kısmen geri eridi	Tonlarca vorteksleme gerektirdi
CaCl ₂ 100mM+ %20 Trehaloz + %5 HPbCD	B&E tamamen çöktü; A/C/D kısmen	Hayır, büyük topaklar kaldı
CaCl ₂ 250mM+ %10 Trehaloz + %10 HPbCD	kısmen geri eridi	Birçok vorteksleme gerektirdi
CaCl ₂ 250mM+ %10 Trehaloz + %5 HPbCD	A çöktü; diğerleri kısmen geri eridi	Evet, karıştırmaz
CaCl ₂ 250mM+ %20 Trehaloz + %10 HPbCD	kısmen geri eridi	Birçok vorteksleme gerektirdi
CaCl ₂ 250mM+ %20 Trehaloz + %5 HPbCD	kısmen geri eridi	Tonlarca vorteksleme gerektirdi
CaCl ₂ 500mM+ %10 Trehaloz + %10 HPbCD	kısmen geri eridi	Tonlarca vorteksleme gerektirdi
CaCl ₂ 500mM+ %10 Trehaloz + %5 HPbCD	Çoğunlukla çöktü	Hayır- Tonlarca vorteksleme ve zaman gerektirdi
CaCl ₂ 500mM+ %20 Trehaloz + %10 HPbCD	Çoğunlukla çöktü	Tonlarca vorteksleme gerektirdi
CaCl ₂ 500mM+ %20 Trehaloz + %5 HPbCD	Çoğunlukla çöktü ve kısmen şişti	Tonlarca vorteksleme ve zaman gerektirdi

Döngü verileri Şekil 4'te gösterilmiştir ve şu liyofilizasyon proses parametreleri gösterilir: raf sıcaklığı, ürün sıcaklığı, bölme basıncı ve süre. Bu proses parametreleri, ürünün yükleme sırasında liyofilize edici raflarına ilk konulduğu andan ürün çıkarılana kadar kontrol edilir. Şemada yansıtılan koşullar, HPbCD konsantrasyonunu taramak için ilgili lyo çalıştırmasından birine ait proses I parametrelerini gösterir.

Liyofilize edilmiş çeşitli formülasyonlarda partikül ebatları, dinamik ışık saçılımı (DLS) ile ölçülür ve Şekil 5'te gösterilmiştir. Test edilen formülasyonlarda nanopartikül ebadı, dondurma öncesi örneklerle kıyaslandığında dondurma/eritme ve liyofilizasyon sonrasında arttı.

Çeşitli formülasyonlarda 10 µm'nin üzerindeki mikro-partiküllerin sayısı, mikroskopik partikül sayım testi ile ölçülür ve Şekil 6'da gösterilmiştir. Genel olarak daha yüksek konsantrasyonlarda siklodekstrin içeren formülasyonlar, daha iyi partikülat sayıları sergiler.

ORNEK 5: Şeker ve Siklodekstrin ile Liyofilize Edilmiş Kompozisyon

Nanopartikül süspansiyonu, bir şeker (örn. trehaloz veya sukroz) ve siklodekstrin (örn. hidroksipropil beta siklodekstrin - HPbCD) varlığında liyofilize edilir. Test edilen formülasyonlar, aşağıda Tablo H'de sıralanmıştır. Uzun şişeler, 5 mL dolum hacimli tüm formülasyonlar için kullanılır (formülasyon başına n=10 şişe).

Tablo H

Eksipiyen	Düzey 1	Düzey 2	Düzey 3	Düzey 4
HPbCD	%10	%15	%20	NA
Trehaloz	%0	%5	%10	%20
Değişken	Alternatif Düzeyler	Formülasyon(lar)		
Şeker Tipi	Sukroz	1) %10 HPbCD, %10 Sukroz		
		2) %10 HPbCD, %5 Sukroz		

- Liyofilize edilmiş formülasyonların görünüşü ve bunların yeniden oluşturulma özellikleri, aşağıda Tablo I'da sıralanmıştır. Arttırılmış trehaloz ve siklodekstrin konsantrasyonunun, daha kötü yeniden oluşturma özellikleri ile sonuçlandığı görünür. Test edilen tüm formülasyonlarda DLS ebatları, dondurma/eritme sonrasında arttı, ancak liyofilizasyon sonrasında azaldı.

10 Tablo I

Formülasyon	DXTL Kons. (mg/mL)	Liyofilizasyon sonrası görünüş	Yeniden Oluşturma
%0 Trehaloz, %10 HPbCD	4.803	kısmen geri eridi	ok – elle karıştırma gerekti (< 1 dak)
%0 Trehaloz, %15 HPbCD	4.711	kısmen geri eridi	ok – elle karıştırma gerekti (< 1 ea) – disperse edilecek bazı lg topakları
%0 Trehaloz, %20 HPbCD	4.736	kısmen geri eridi	Çok fazla elle karıştırma gerekti (birkaç dakika)
%5 Trehaloz, %10 HPbCD	4.328	kısmen geri eridi	Büyük kısmı hemen yeniden oluştu ancak bazı küçük topaklar ilave karıştırma gerektirdi
%5 Trehaloz, %15 HPbCD	4.674	kısmen geri eridi	Büyük kısmı hemen yeniden oluştu ancak ilave karıştırma gerektiren, -4'ten daha fazla topak vardı
%5 Trehaloz, %20 HPbCD	4.23	kısmen geri eridi	Büyük kısmı hemen yeniden oluştu ancak bazı küçük topaklar ilave karıştırma gerektirdi

%10 Trehaloz, %10 HPbCD	4,28	kısmen geri eridi	Büyük kısmı hemen yeniden oluştu ancak bir parça ekstra karıştırma gerekti
%10 Trehaloz, %15 HPbCD	4.637	kısmen geri eridi	Büyük kısmı hemen yeniden oluştu ancak bir parça ekstra karıştırma gerekti
%10 Trehaloz, %20 HPbCD	4.158	kısmen geri eridi	Bazıları hızla yeniden oluştu ancak toprakları almak için ekstra karıştırma gerekti
%20 Trehaloz, %10 HPbCD	3.655	kısmen geri eridi	Topaklar vardı, ancak çalkalama ile yeniden oluştu
%20 Trehaloz, %15 HPbCD	3.397	kısmen geri eridi	Topaklar vardı, ancak 1.5 dak. çalkalama ile yeniden oluştu
%20 Trehaloz, %20 HPbCD	4.392	kısmen geri eridi	Topaklar vardı, ancak 2 dak. çalkalama ile yeniden oluştu
%5 Sukroz, %10 HPbCD	4.614	kısmen geri eridi	½ dak. çalkalamada (belki de daha kısa) yeniden oluştu, ok
%10 Sukroz. %10 HPbCD	4.686	kısmen geri eridi	½ dak. çalkalamada (belki de daha kısa) yeniden oluştu, ok

Döngü verileri Şekil 7'de gösterilir. Liyofilize edilmiş çeşitli formülasyonlarda partikül ebadı, dinamik ışık saçılımı (DLS) ile ölçülür ve Şekil 8'de gösterilmiştir.

5

Çeşitli formülasyonlarda 10 µm'nin üzerindeki mikro-partiküllerin ml başına sayısı, mikroskopik partikül sayım testi ile ölçülür ve Şekil 9'da gösterilmiştir. Test edilen formülasyonların hemen hemen tamamı, USP 32 <788> limitinin altındadır. Çeşitli formülasyonlarda 1 µm'nin

10 üzerindeki mikro-partiküllerin sayısı, Şekil 10 ve 11'de gösterilmiştir. Formülasyonların çoğunda 1 µm'nin üzerindeki mikro-partiküllerin

sayısı, dondurma öncesi veya dondurma/eritme örnekleri ile karşılaştırıldığında liyofilize edilmiş örneklerde artar.

Şeker ve siklodekstrin varlığında liyofilize edilmiş dosetaksiel
5 nanopartikülleri üzerinde in vitro salım testi yapılır. Sonuçlar, Şekil 12’de gösterilmiştir.

Ayrıca diferansiyel tarama kalorimetrisi, Şekil 13-16’da gösterildiği gibi çeşitli nanopartikül formülasyonları üzerinde yapılır.

10

15

20

25

TARİFNAME İÇERİSİNDE ATIF YAPILAN REFERANSLAR

Başvuru sahibi tarafından atıf yapılan referanslara ilişkin bu liste, yalnızca okuyucunun yardımı içindir ve Avrupa Patent Belgesinin bir kısmını oluşturmaz. Her ne kadar referansların derlenmesine büyük önem verilmiş olsa da, hatalar veya eksiklikler engellenememektedir ve EPO bu bağlamda hiçbir sorumluluk kabul etmemektedir.

Tarifname içerisinde atıfta bulunulan patent dökümanları:

- WO 2009084801 A [0005]
- WO 200145742 A [0011]

Tarifnamede belirtilen patentleştirilmemiş literatür:

10

- **MUSUMECI et al.** J. Nanoscience and Nanotechnology, 2006, vol. 6, 1-8 [0006]
- **MUSUMECI et al.** Int. J. Pharmaceutics, 2006, vol. 325, 172-179 [0007]
- **AVGOUSTAKIS.** Current Drug Delivery, 2004, vol. 1, 321-333 [0008]
- **JEONG et al.** J. Microencapsulation, 2005, vol. 22 (6), 593-601 [0009]
- **ABDELWAHED et al.** Adv. Drug Delivery Reviews, 2006, vol. 58, 1688-1713 [0010]
- **SILVER et al.** Clin. Cancer Res., 1997, vol. 3, 81 [0056]

15

ŞEKİLLERDEKİ YAZILARIN ANLAMLARI

- A = SUREKLİ FAZ
 B = SU
 5 C = SODYUM KOLAK
 D = ETİL ASETAT
 E = BENZİL ALKOL
 F = DESPERSE FAZ
 G = POLİMERLER
 10 H = DOSETAKSEL
 I = NİHAİ FORMULASYON
 J = NİHAİ PARTİKUL SUSPANSİYONU
 K = ÇÖZELTİ PREPARASYON
 L = POLİMERLER, PLGA-PEG, PLGA, PLA-PEG, PLA VE PLA-
 15 PEG-LİGAND İÇERİR.
 M = KABA EMULSİYON
 N = YUKSEK ENERJİLİ EMULSİFİKASYON (YUKSEK
 BASINÇLI HOMOJENLEŞTİRİCİ)
 O = EMULSİFİKASYON
 20 P = İNCE EMULSİYON
 R = SONDURME ÇÖZELTİSİ
 S = SOĞUK SU
 T = TWEEN 80
 U = PARTİKUL SONDURME
 25 V = SONDURME
 Y = SERTLEŞTİRİLMİŞ PARTİKULLER
 Z = DONDURMA VEYA LİYOFİLİZASYON İÇİN ŞİŞELER
 A1 = TANJANT AKIŞLI FİLTRELEME

B1 = ULTRA - FİLTRELEME / DİYA- FİLTRELEME

C1 = SAFLAŞTIRILMIŞ PARTİKULLER

D1 = STERİL FİLTRELEME

E1 = FİLTRELEME

5 F1 = STERİL PARTİKULLER

G1 = SU SÜKROZ

ŞEKİL 2A

H1 = SÜLU FAZ

10 I1 = ORGANİK FAZ

J1 = SU FAZINI İLAVE EDİN VE ÇALKALAMAYA BAŞLAYIN

K1 = YÜKSEK KESMELİ MİKSER

L1 = YÜKSEK KESMELİ ÇALKALAMA ALTINDA YAĞ FAZINI İLAVE EDİN

15 M1 = KABA EMÜLSİYON KABI

N1 = İNCE EMÜLSİYON YARATIN

O1 = YÜKSEK BASINÇLI HOMOJENLEŞTİRİCİ

P1 = SONDURME KABINA TRANSFER EDİN

R1 = İLAÇ ÇÖZÜNÜRLEŞTİRİCİ EKLEYİN

20 S1 = CEKET ÇIKIŞI

T1 = CEKET GİRİŞİ

U1 = SONDURME TANKI

V1 = AŞAĞI AKIŞ PROSESİNE

25 **ŞEKİL 2B**

Y1 = DİYA-FİLTRAT (Dİ-SU)

Z1 = POMPA

A2 = TUTUNTU

B2 = FİLTRELEME TRENİNE

C2 = FİLTRAT ATIĞA

D2 = ~10'DAN ~30 mg/ml'YE KONSANTRE EDİN

E2 = 5X SOĞUK DİYA-FİLTRELEME (SOLUTLERDE %99

5 AZALMA)

F2 = 25C'YE ISITIN VE İLAVE İLAÇ ÇÖZÜNÜRLEŞTİRİCİ
EKLEYİN

G2 = İLAVE 15X DİYA-FİLTRELEME (SOLUTLERDE %99.99
AZALMA)

10 H2 = ~30 mg/ml'DEN ~100 mg/ml'YE KONSANTRE EDİN

I2 = NİHAİ KONSANTRE BULAMACI TOPLAYIN

ŞEKİL 3

J2 = SÜKROZ

15 K2 = PARTİKULLER

L2 = YOK

M2 = KEK ÇÖKER ANCAK HALA

N2 = DÜŞÜK

O2 = ORTA

20 P2 = YÜKSEK

R2 = [TUZ]

ŞEKİL 4

S2 = Döngü Trendi

25 T2 = SICAKLIK (C DERECE)

U2 = VAKUM

V2 = SÜRE (SAAT)

Y2 = YOĞUŞTURUCU

Z2 = RAF

A3 = AYAR

B3 = HAVA

C3 = ALT RAF

5 D3 = UST RAF

ŞEKİL 5

E3 = 93- 30 DLS F/T Öncesi ve Sonrası ve Lyo Sonrası Ortalama

F3 = DLS EBAT - nm

10 G3 = Trehaloz

H3 = Dondurma / Eritme Öncesi

I3 = Dondurma / Eritme Sonrası

J3 = Lyo sonrası ortalama (n=4 şişe)

15 ŞEKİL 6

K3 = Partikül Sayımları

L3 = Dondurma öncesi

M3 = F/T Sonrası

N3 = >10 um ortalama partikül sayımı (n=4-5)

20

ŞEKİL 7

O3 = Sukroz

ŞEKİL 8

25 P3 = PARTİKUL EBADI

R3 = Ortalama Lyo (n=2)

ŞEKİL 9

S3 = LİYOFİLİZASYONDAN SONRA ORTALAMA (n=5)

ŞEKİL 10

T3 = LİYOFİLİZASYON SONRASI ORTALAMA (n=5)

5

ŞEKİL 12

U3 = Formülasyonu İn Vitro Salım

V3 = %KUM DTXL SALIM

Y3 = KONTROL

10

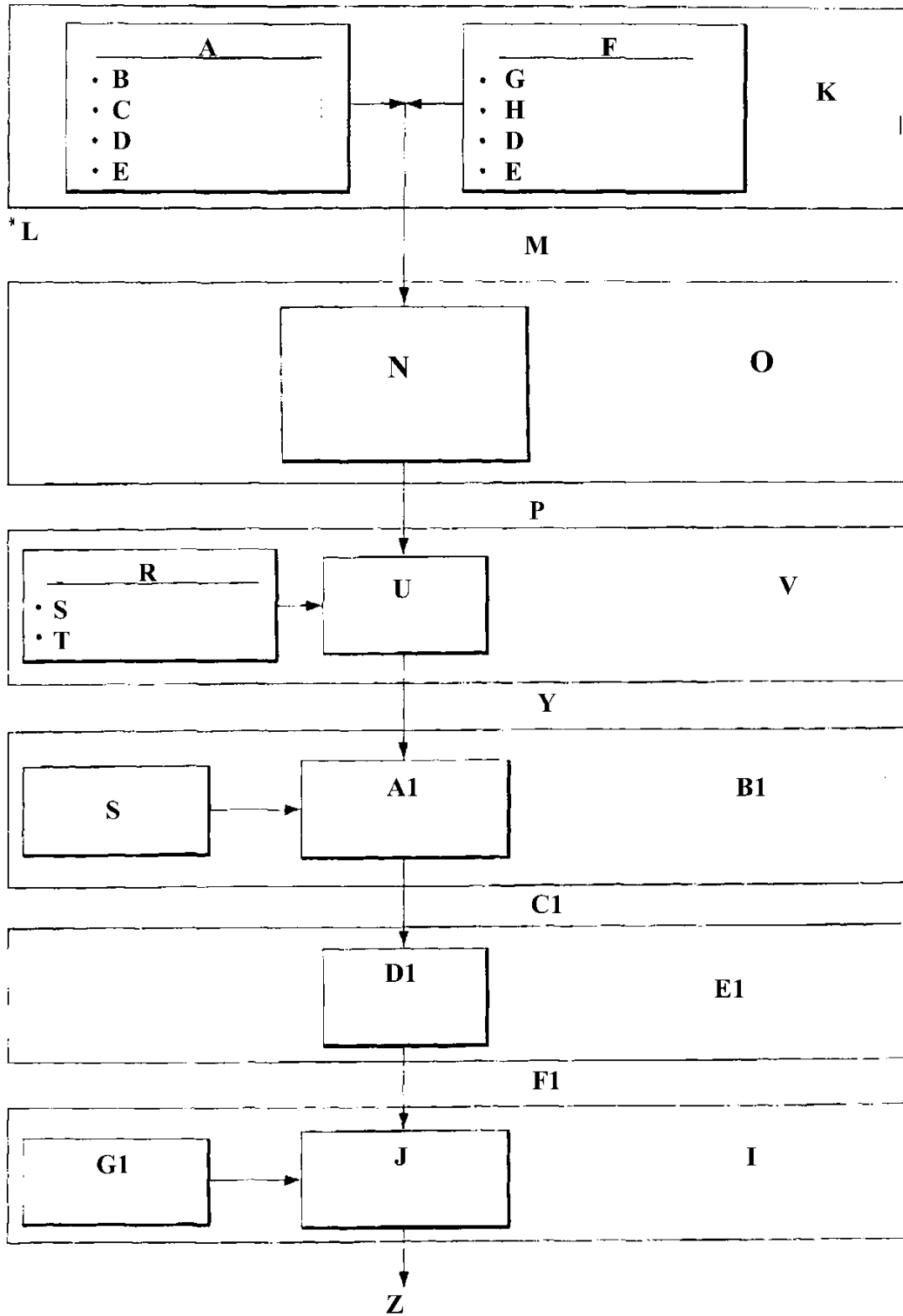
ŞEKİL 13

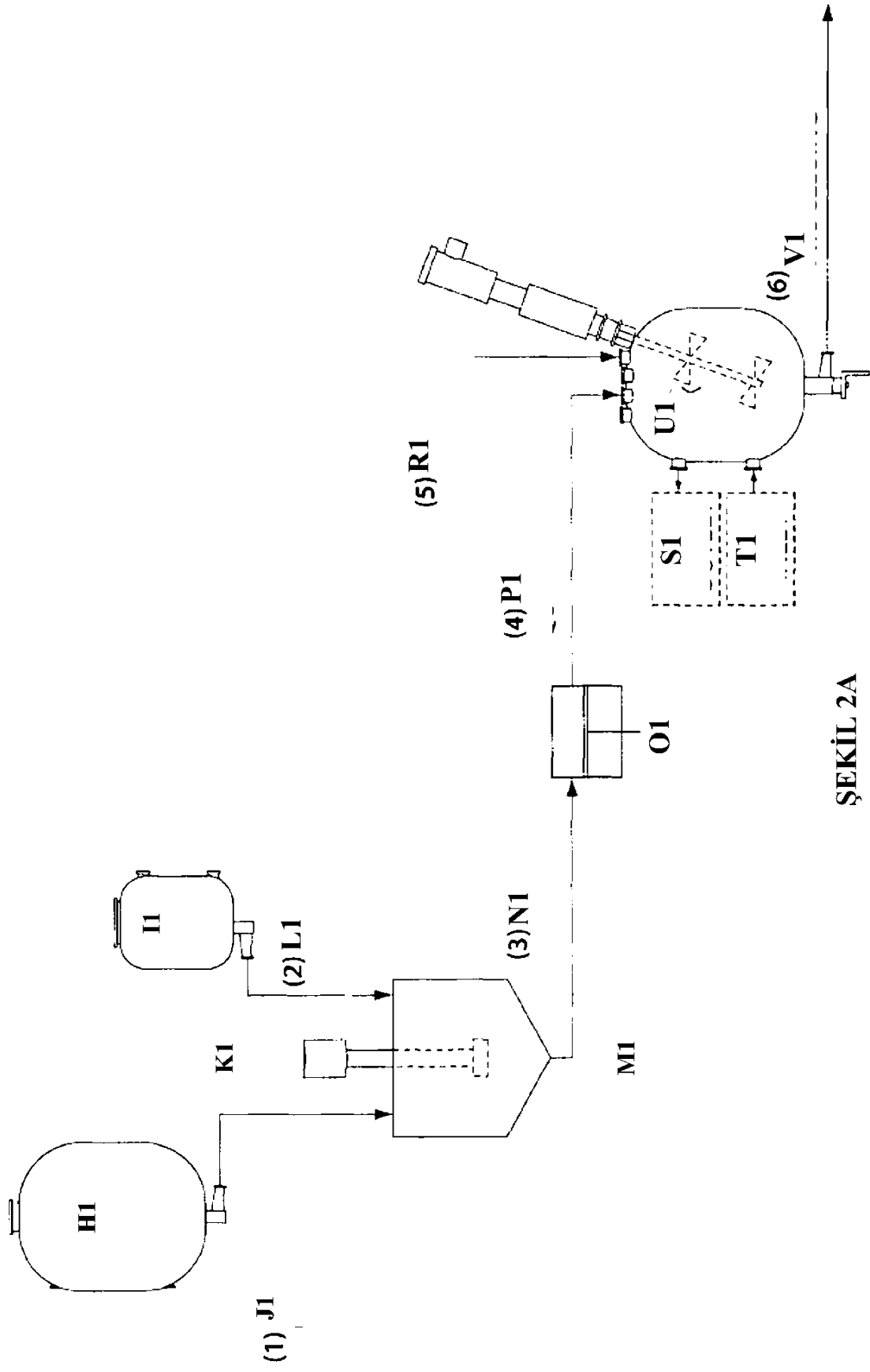
Z3 = ISI AKIŞI

15

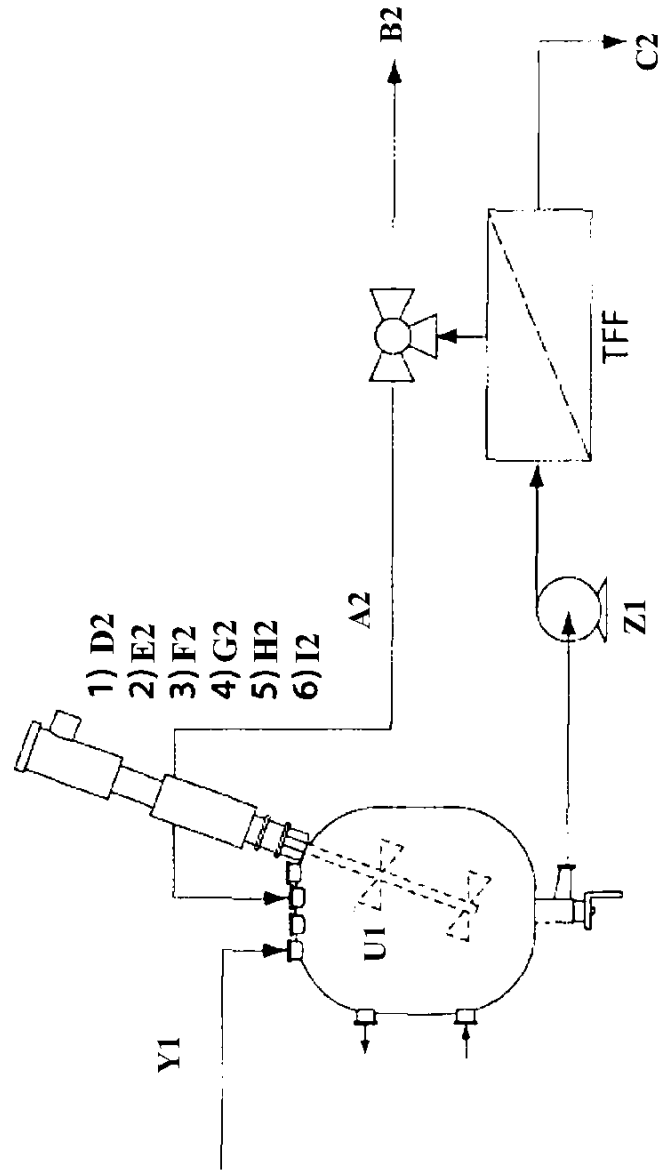
20

25

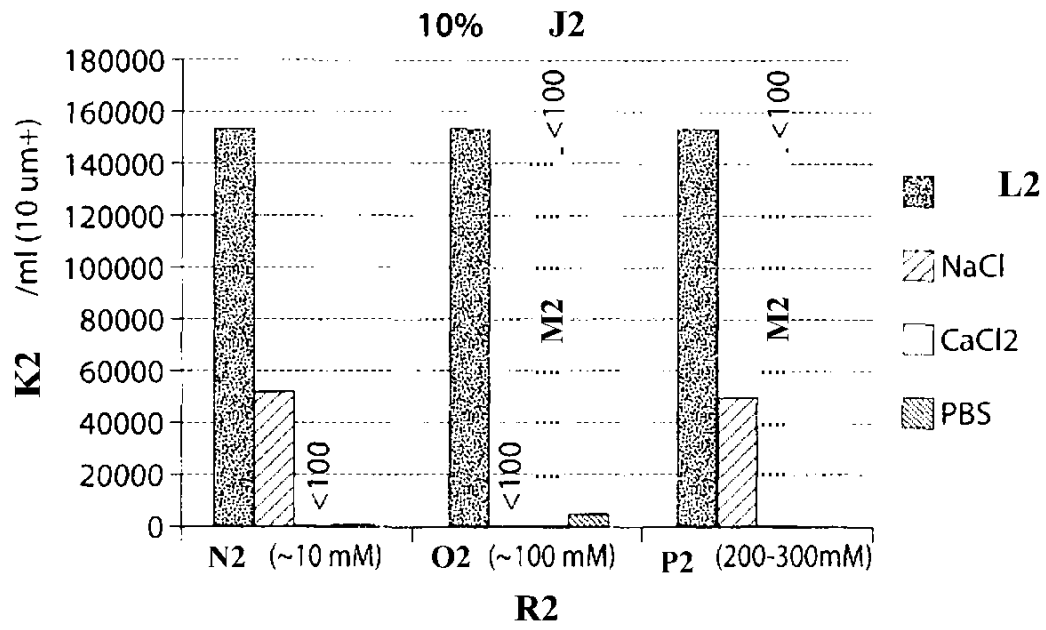




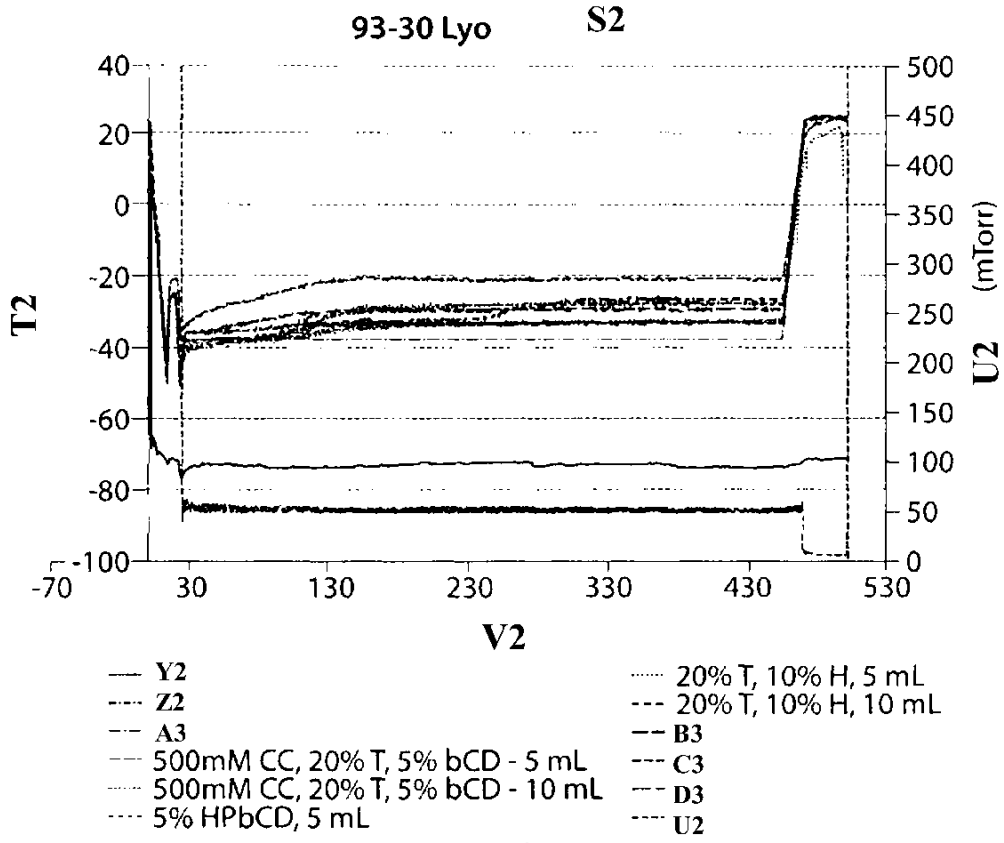
ŞEKİL 2A



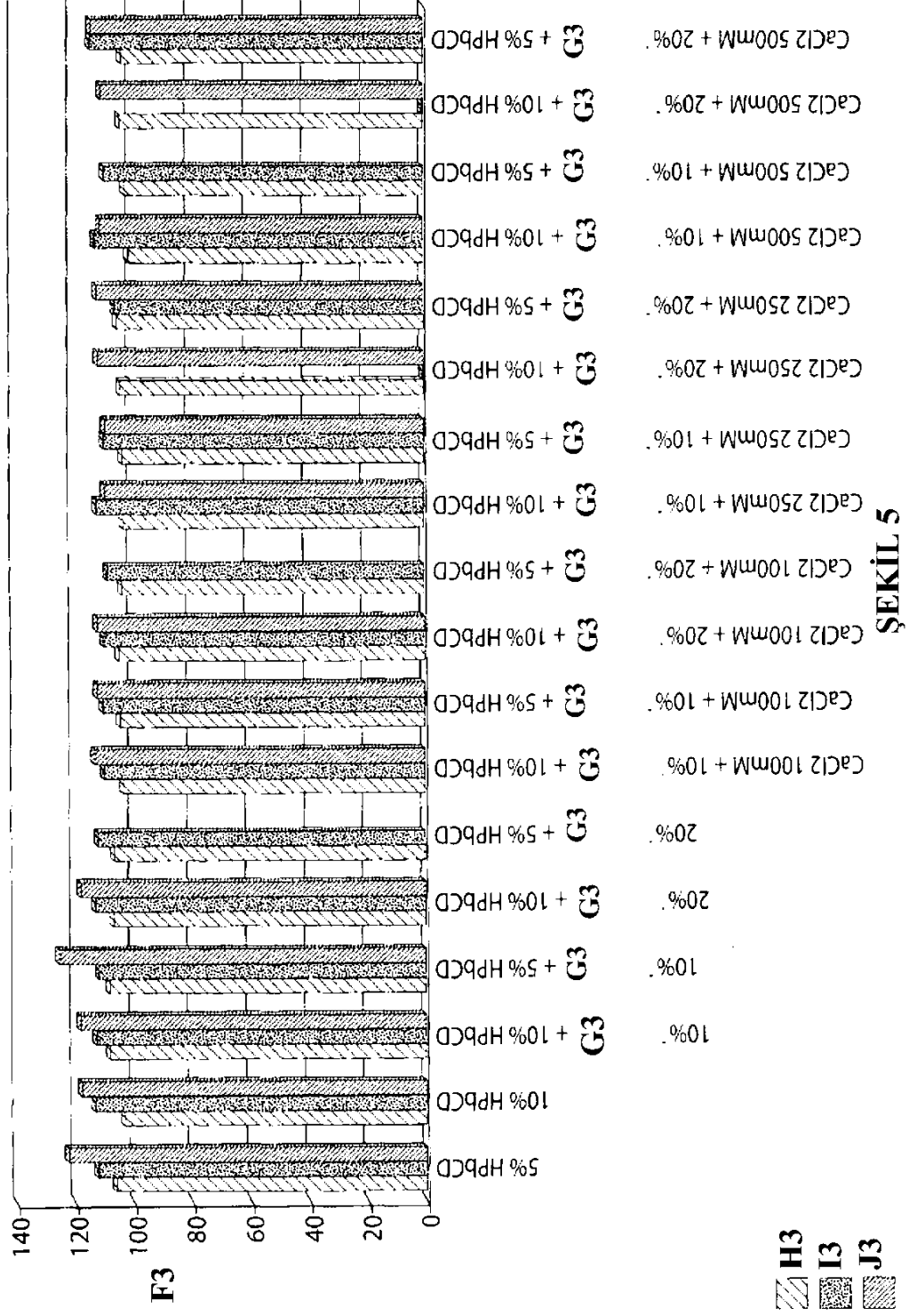
ŞEKİL 2B



ŞEKİL 3

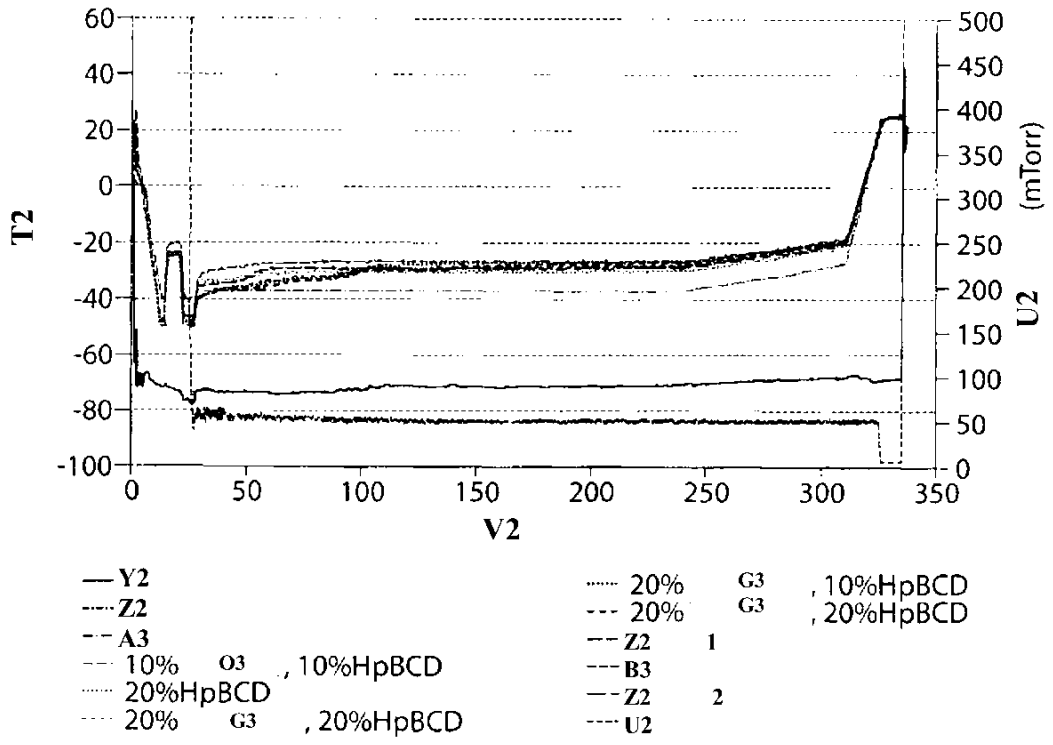


E3

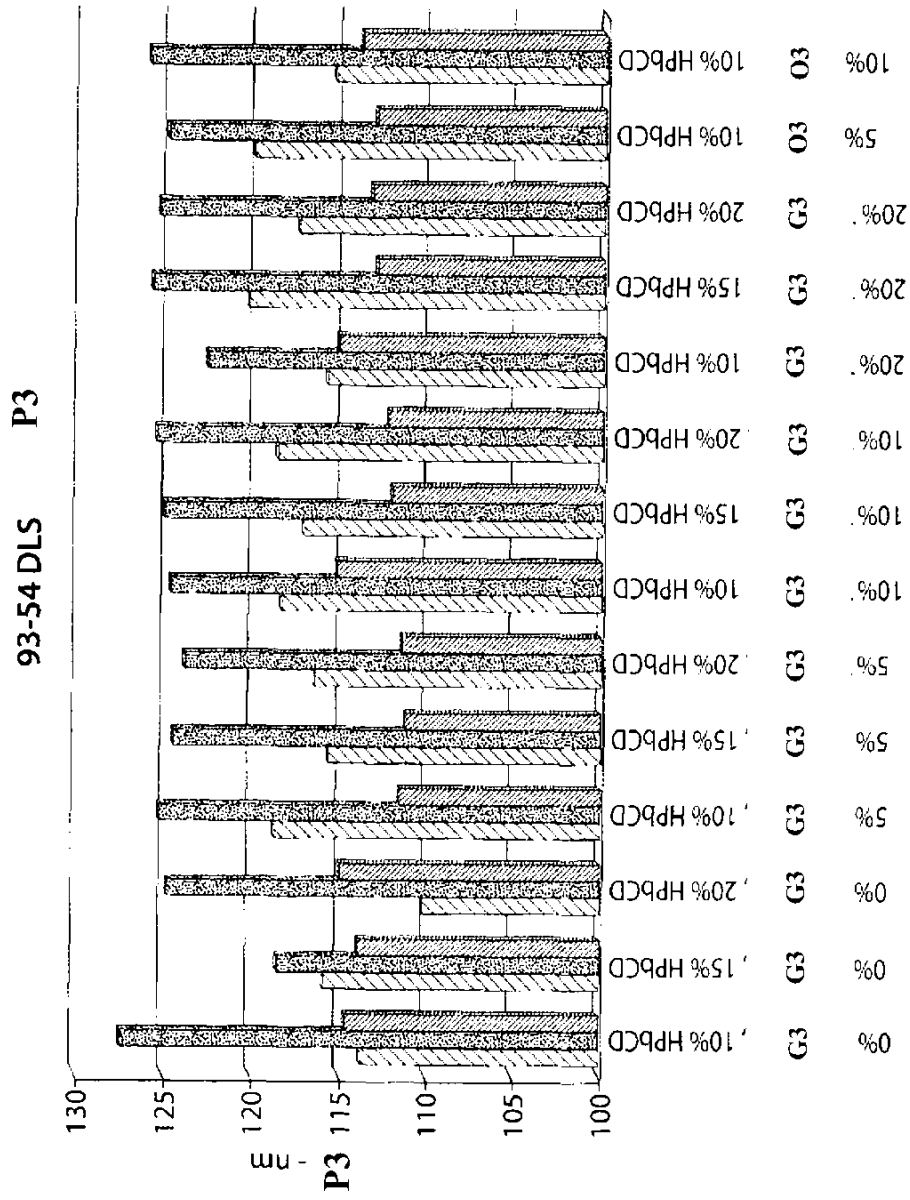


93-54 Lyo

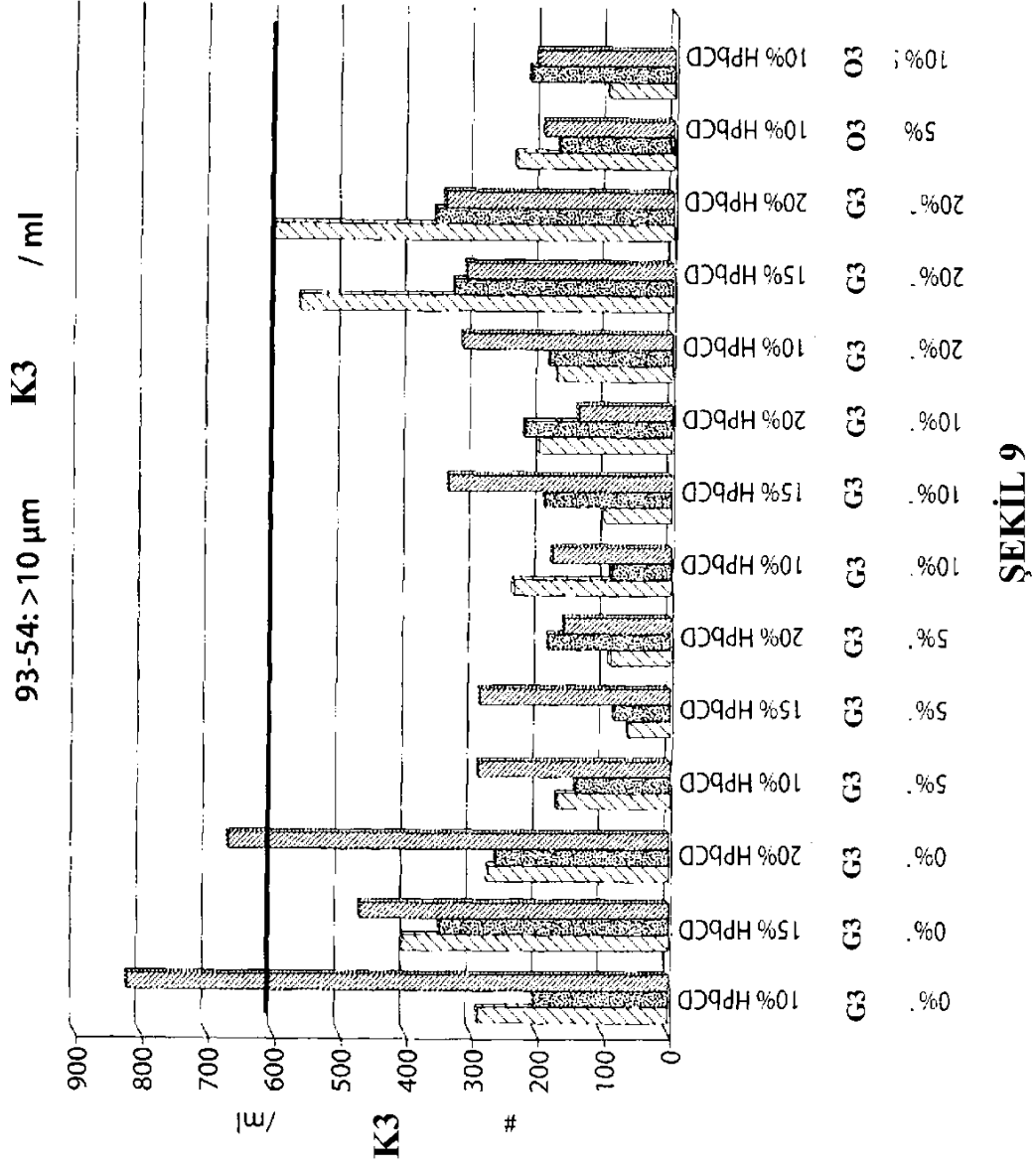
S2



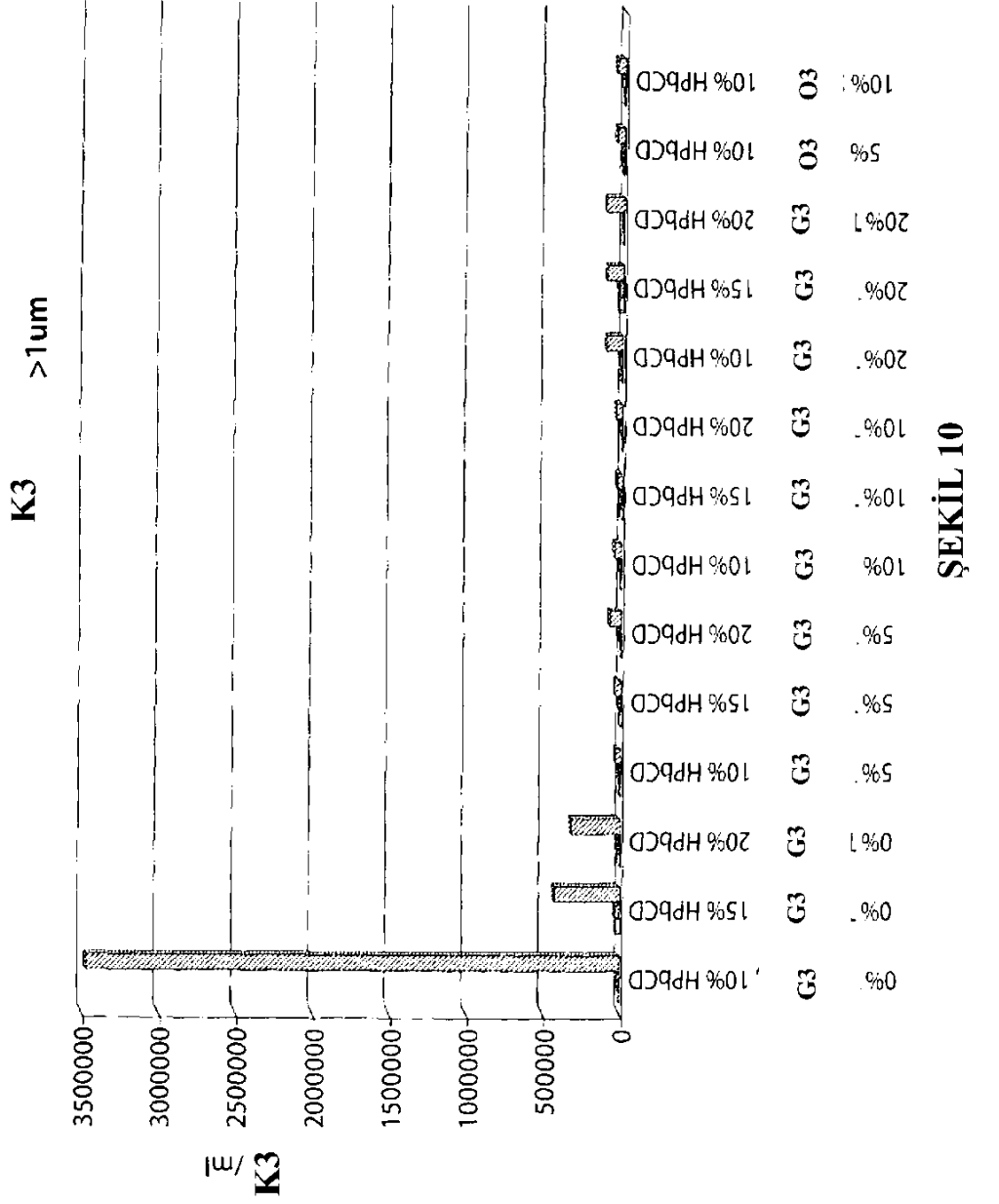
ŞEKİL 7



ŞEKİL 8

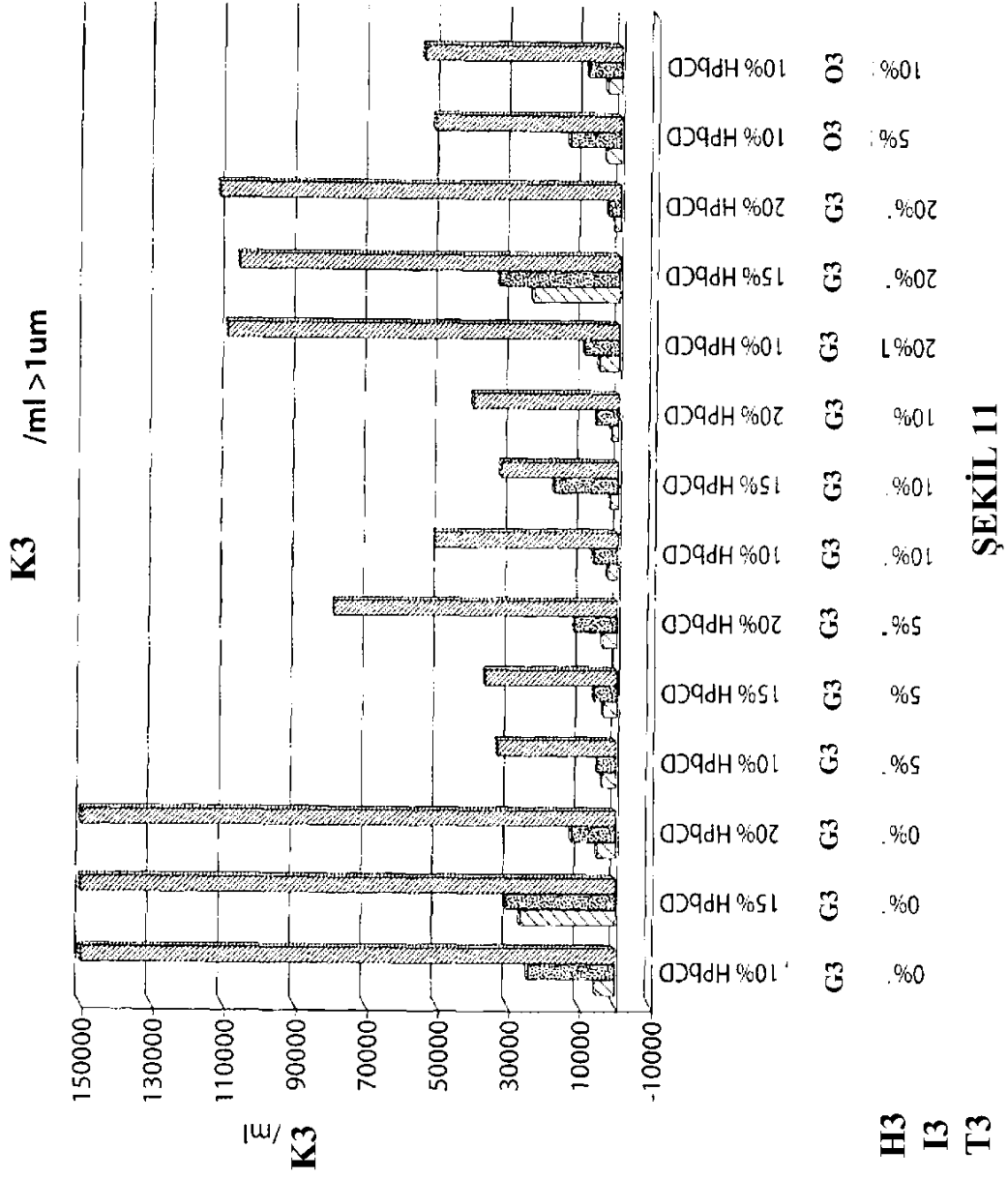


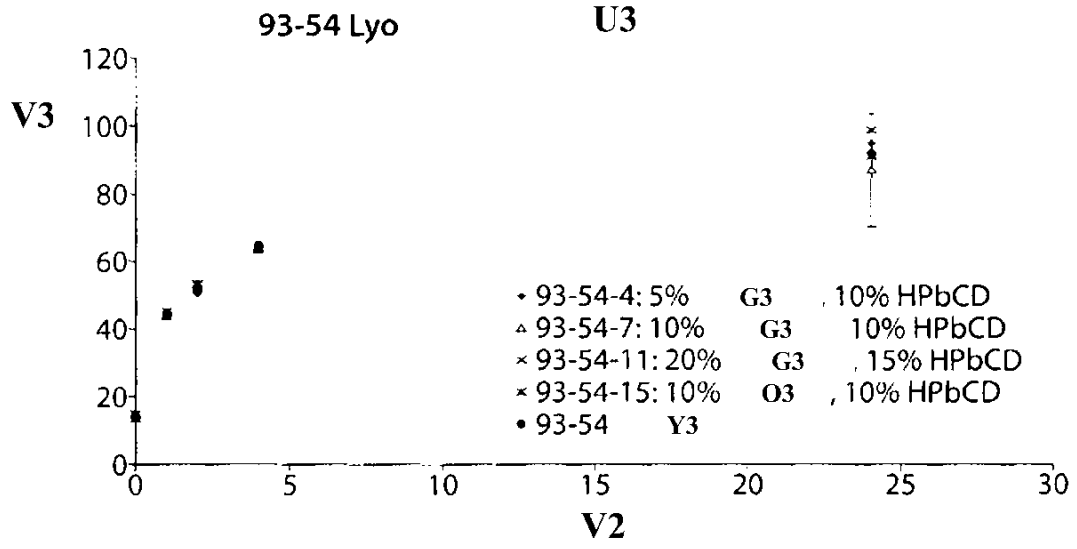
ŞEKİL 9



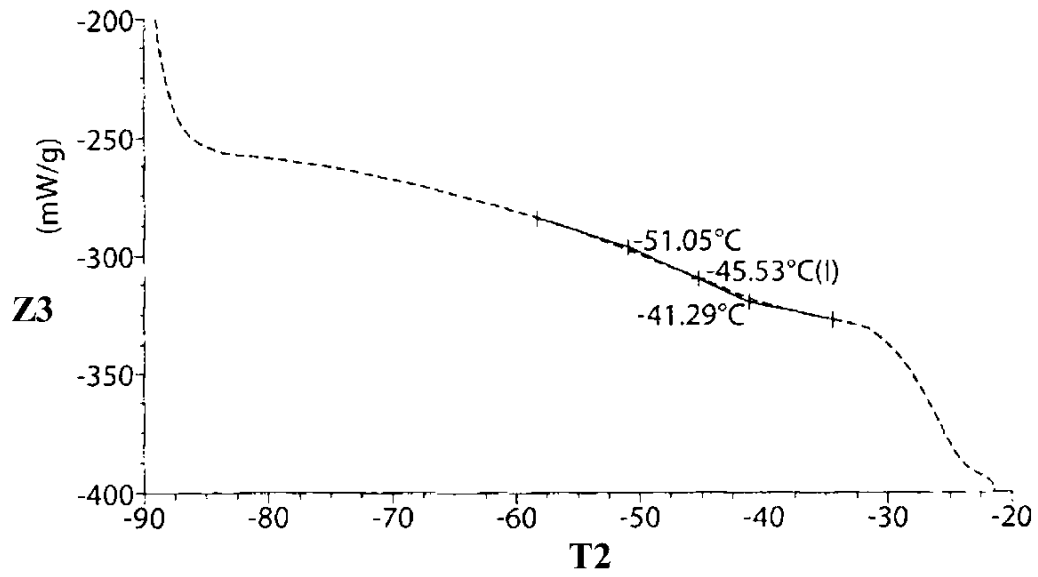
ŞEKİL 10

H3
I3
T3

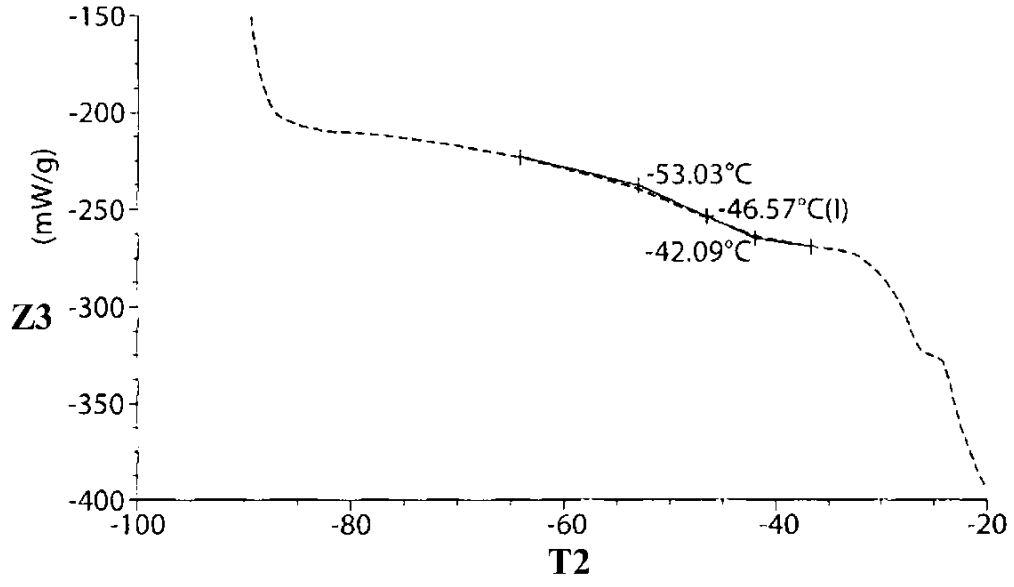




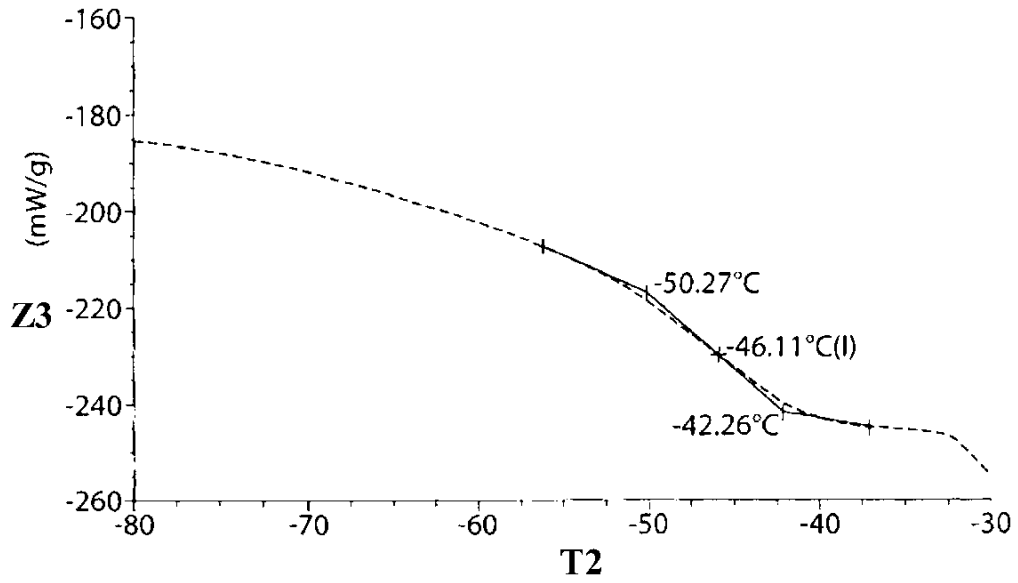
ŞEKİL 12



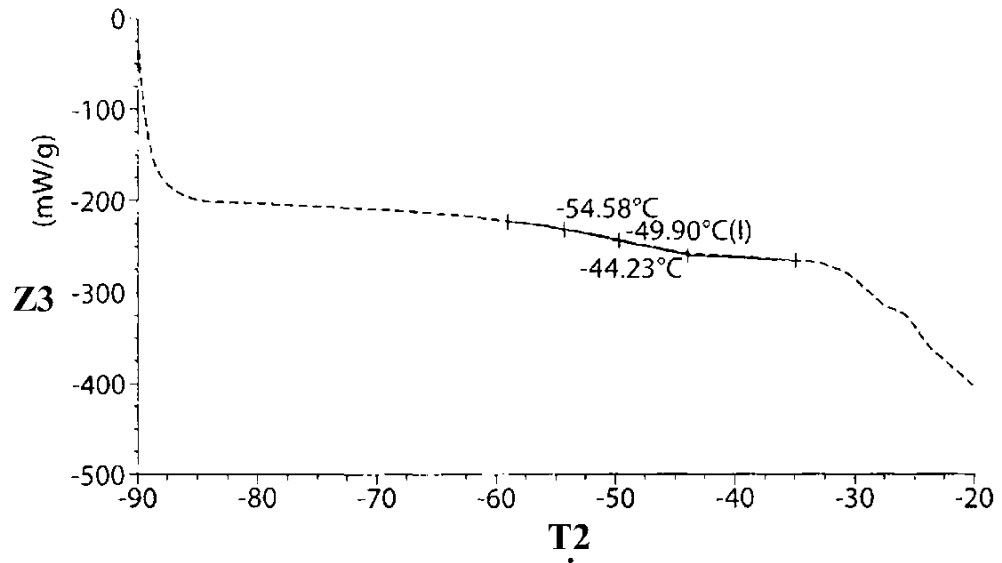
ŞEKİL 13



ŞEKİL 14



ŞEKİL 15



ŞEKİL 16