

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **036226**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

- (45) Дата публикации и выдачи патента  
**2020.10.15**
- (21) Номер заявки  
**201791537**
- (22) Дата подачи заявки  
**2016.03.28**
- (51) Int. Cl. *A61K 31/337* (2006.01)  
*A61K 9/14* (2006.01)  
*A61K 47/42* (2006.01)  
*A61K 47/16* (2006.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)

---

(54) **ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ  
ДОЦЕТАКСЕЛА-АЛЬБУМИНА, СПОСОБ ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ**

---

- (31) **201510157393.1**
- (32) **2015.04.03**
- (33) **CN**
- (43) **2018.01.31**
- (86) **PCT/CN2016/077521**
- (87) **WO 2016/155595 2016.10.06**
- (71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**СЫЧУАНЬ КЭЛУНЬ  
ФАРМАСЬЮТИКАЛ РИСЕРЧ  
ИНСТИТЬЮТ КО. ЛТД. (CN)**
- (72) Изобретатель:  
**Су Чжэнсин, Ян Ликай, Чжао Дун,  
Чжоу Цзин, Шань Фэнин, Ван  
Личунь, Ван Цзини (CN)**
- (74) Представитель:  
**Медведев В.Н. (RU)**
- (56) CN-A-101658516  
CN-A-101361731  
CN-A-103751107

- 
- (57) Изобретение относится к фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина, способу ее получения и ее применению для изготовления лекарственных средств для лечения рака. Фармацевтическая композиция содержит доцетаксел, альбумин и аминокислоту(ы), где массовое отношение альбумина к доцетакселу составляет от 50:1 до >0:1; аминокислота(ы) представляет по меньшей мере одну из аргинина, лизина, пролина, цистеина и глутаминовой кислоты, и массовое отношение аминокислоты(аминокислот) к доцетакселу составляет от 1:1 до 20:1.

**B1**

**036226**

**036226**

**B1**

### Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к области фармацевтических композиций доцетаксела (доцетаксола), в частности относится к фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина, способу ее получения и ее применению и, главным образом, относится к фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина с улучшенной стабильностью, способу ее получения и ее применению.

### Уровень техники изобретения

Доцетаксел относится к таксановым лекарственным препаратам. Основной механизм его действия включает в себя препятствование митозу, стимулирование сборки микротрубочек и недопущение разборки микротрубочек для того, чтобы ингибировать дифференцировку опухолевых клеток и в конечном итоге привести к их гибели. В настоящее время доцетаксел одобрен для лечения различных показаний, таких как рак молочной железы, немелкоклеточный рак легкого, рак предстательной железы и тому подобное в крупных странах мира, и он представляет собой наиболее часто применяемый или стандартный терапевтический препарат для лечения этих видов рака. Кроме того, в последующих клинических исследованиях доцетаксел также широко исследуют для лечения рака желудочно-кишечного тракта, опухоли головы и шеи, рака пищевода, рака яичников и тому подобного. Ожидается, что лечение этих показаний доцетакселем будет позднее одобрено в Европе и Америке.

Доцетаксел имеет плохую водорастворимость. В настоящее время коммерчески доступная лекарственная форма доцетаксела представляет собой жидкую лекарственную форму для инфузии в концентрированной форме, и обычно рекомендуемым режимом дозирования является внутривенная инфузия 75 мг/м<sup>2</sup> в течение 1 ч, один раз каждые 3 недели. Инъекционный раствор доцетаксела содержит концентрат лекарственного средства, который образуется путем растворения доцетаксела в растворителе, Твин-80, дополненном разбавителем, содержащим 13% этанола. Однако в период клинического применения необходимо предварительное использование противоаллергического лекарственного средства из-за гемолитического свойства Твин-80, который имеет склонность вызывать аллергические реакции, включая одышку, гипотензию, отек Квинке, краснуху, шок и т.д. при его внутривенном введении. Кроме того, высокая вязкость Твин-80 также вызывает большие неудобства в клиническом применении.

Для преодоления недостатков инъекционного раствора доцетаксела, таких как токсические побочные эффекты и тому подобное, CN 103830181 А раскрывает лиофилизированную липосому, содержащую комплекс включения доцетаксела с циклодекстрином, где стабильность доцетаксела улучшается включением с циклодекстрином, и улучшенное свойство избирательного воздействия и уменьшенные токсические побочные действия достигаются с помощью системы липосомальных частиц. Однако токсичность циклодекстрина как таковая ограничивает его применение. CN 101773465 А раскрывает полимерную мицеллярную систему, стабилизированную аминокислотами, и разрабатывается полимерная мицелла, содержащая доцетаксел. Показано, что физический внешний вид полимерной мицеллы с аминокислотами может быть стабильным в течение более чем 5 дней, тогда как полимерная мицелла без аминокислот может быть стабильной только в течение 30 мин. Однако разрушение высокомолекулярных полимеров (например, мПЭГ-ПМК и т.д.), используемых в полимерных мицеллах после введения в организм, является довольно медленным и может даже продолжаться более чем 1 год. Учитывая такие потенциальные угрозы безопасности, ни один полимерный мицеллярный продукт доцетаксела не был одобрен для выпуска на рынок Управлением по контролю за продуктами и лекарствами в Соединенных Штатах. Таким образом, хотя улучшенные свойства избирательного воздействия и уменьшенные токсические побочные действия достигаются с помощью этих систем частиц, их применение ограничено их недостатками.

CN 103054798 А раскрывает наночастицу доцетаксела-альбумина (ABI-008), где лимонную кислоту (или ее соль) добавляют к композиции доцетаксела и альбумина, вследствие чего физическая стабильность раствора наночастиц доцетаксела-альбумина увеличивается, и никакого процесса осаждения или седиментации не наблюдается в течение по меньшей мере 8 ч после разведения или регидратации.

Однако для улучшения стабильности доцетаксела, помимо контроля физической стабильности частиц в растворе, более важно снизить химическую деградацию доцетаксела. В настоящее время исследования, направленные на снижение химической деградации доцетаксела, довольно ограничены в уровне техники, и пока не существует способа ослабления такой деградации.

Доцетаксел сам по себе может подвергаться различным путям деградации в различных условиях, и полученные из него продукты деградации приводят к соответствующим изменениям в активности и/или токсичности доцетаксела и могут даже значительно влиять на активность и/или токсичность. Основные факторы, влияющие на деградацию доцетаксела, включают температуру, кислотные и основные растворители, окислители, восстановители и свет и т.д.

В основной, нейтральной или сильнокислотной среде одним из основных путей деградации доцетаксела является эпимеризация 7-гидрокси, которая приводит к 7-эпи-доцетакселу через ретроальдольную реакцию.

Bornique с соавт. (Drug Metabolism and Disposition, Vol. 30, No. 11, pp. 1149-1152, 2002) исследует взаимодействие между доцетакселем и 7-эпи-доцетакселем с помощью рекомбинантного человеческого

цитохрома P4501B1 (hCYP1B1). hCYP1B1 является обычным цитохромом в опухолевых клетках человека и в основном связан с лекарственной устойчивостью химиотерапевтических препаратов (включая доцетаксел). Тест *in vitro* показывает, что активность hCYP1B1 может быть увеличена более чем в 7 раз посредством 7-эпи-доцетаксела, и, таким образом, подтверждается, что продукт деградации доцетаксела, 7-эпи-доцетаксел, снижает активность доцетаксела.

CN 101415416 А раскрывает ингибирование продуцирования 7-эпи-доцетаксела в фармацевтической композиции доцетаксела и полисорбата 80 путем добавления органической кислоты со значением рКа от 2,5 до 4,5 в качестве ингибитора деградации доцетаксела.

Однако авторы настоящего изобретения путем проведения экспериментов продемонстрировали, что добавление такого агента, как винная кислота, лимонная кислота, аскорбиновая кислота или другая органическая кислота с величиной рКа от 2,5 до 4,5 и т.д., в композицию доцетаксела и альбумина не может эффективно ингибировать продуцирование 7-эпи-доцетаксела, которое наоборот может даже увеличиваться. Это указывает на то, что вышеуказанные агенты уменьшают химическую стабильность композиции и влияют на безопасность конечного состава.

CN 103054798 А раскрывает добавление стабилизатора, такого как лимонная кислота (или ее соль) и тому подобное, в композицию доцетаксела и альбумина. Хотя стабилизатор повышает физическую стабильность раствора наночастиц доцетаксела-альбумина, его ингибирующий эффект на продуцирование 7-эпи-доцетаксела не упоминается.

Экспериментально было продемонстрировано, что обычные стабилизаторы, такие как лимонная кислота (или ее соль) и тому подобное, не всегда могут эффективно ингибировать продуцирование 7-эпи-доцетаксела, и иногда его продуцирование может быть ускорено. Во время хранения количество продуцируемого 7-эпи-доцетаксела намного превышает 2,0%, что, вероятно, приведет к потенциальным угрозам безопасности при клиническом применении лекарственного средства.

Одна из проблем в поиске способа ингибирования продуцирования 7-эпи-доцетаксела заключается в том, что в процессе хранения наночастиц доцетаксела-альбумина присутствие большого количества водородных связей в полипептидной структуре альбумина является неблагоприятным для стабильности доцетаксела и ускоряет ретроальдольную реакцию, что влечет за собой эпимеризацию 7-гидроксила, приводя к образованию и постоянному увеличению примеси 7-эпи-доцетаксела.

Таким образом, в данной области техники актуальной проблемой, подлежащей решению, является найти способ ингибирования продуцирования 7-эпи-доцетаксела в фармацевтической композиции доцетаксела.

### Сущность изобретения

Принимая во внимание недостатки предшествующего уровня техники, согласно аспекту настоящего изобретения предоставляется фармацевтическая композиция на основе наночастиц доцетаксела-альбумина, отличающаяся тем, что фармацевтическая композиция содержит доцетаксел, альбумин и аминокислоту(ы), в которой массовое отношение альбумина к доцетакселу составляет от 50:1 до >0:1; аминокислота(ы) представляет по меньшей мере одну из аргинина, лизина, пролина, цистеина и глутаминовой кислоты, и массовое отношение аминокислоты(аминокислот) к доцетакселу составляет от 1:1 до 20:1.

Согласно другому аспекту изобретения в фармацевтической композиции массовое отношение альбумина к доцетакселу составляет от 20:1 до 1:1.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения фармацевтическая композиция представляет собой суспензию наночастиц, которая содержит доцетаксел в концентрации по меньшей мере 1 мг/мл, и наночастицы в ней имеют диаметр частиц не более чем 200 нм.

Согласно другому аспекту изобретения альбумин в фармацевтической композиции включает в себя один или несколько из рекомбинантного альбумина и сывороточного альбумина.

Согласно другому аспекту изобретения в фармацевтической композиции альбумином является человеческий сывороточный альбумин.

Согласно другому аспекту изобретения фармацевтическая композиция дополнительно включает один или более из меркаптоэтанола, глутатиона и ацетицистеина, где массовое отношение альбумина к средству для разворачивания структуры белка составляет от 100:1 до >0:1.

Согласно другому аспекту изобретения предоставляется способ получения фармацевтической композиции, включающий следующие стадии:

- 1) растворение доцетаксела в органическом растворителе, выбранном из одного или нескольких из этанола, трет-бутилового спирта и ацетона, с получением органической фазы;
- 2) использование воды для инъекций для растворения альбумина или разбавления раствора альбумина для того, чтобы получить раствор альбумина;
- 3) добавление средства для разворачивания структуры белка к раствору альбумина, полученному на стадии 2), и проведение реакции инкубации; где средство для разворачивания структуры белка включает в себя одно или несколько из меркаптоэтанола, глутатиона и ацетицистеина;
- 4) добавление органической фазы, полученной на стадии 1), к раствору, полученному после реакции инкубации на стадии 3), при сдвиговом усилии с получением разбавленного раствора наночастиц

доцетаксела-альбумина; и

5) концентрирование раствора, полученного на стадии 4), ультрафильтрацией, добавление аминокислоты(аминокислот) в концентрат с получением фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина с повышенной стабильностью;

улучшенная стабильность достигается аминокислотой(ами) путем ингибирования образования примеси 7-эпи-доцетаксела в фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина.

Согласно другому аспекту изобретения способ включает следующие стадии:

1) растворение доцетаксела в органическом растворителе, выбранном из одного или нескольких из этанола, трет-бутилового спирта и ацетона, с получением органической фазы;

2) использование воды для инъекций для растворения альбумина или разбавления раствора альбумина для того, чтобы получить раствор альбумина;

3) подвергание раствора альбумина, полученного на стадии 2), реакции инкубации;

4) добавление органической фазы, полученной на стадии 1), к раствору, полученному после реакции инкубации на стадии 3), при сдвиговом усилии с получением разбавленного раствора наночастиц доцетаксела-альбумина; и

5) концентрирование раствора, полученного на стадии 4), ультрафильтрацией, добавление аминокислоты(аминокислот) в концентрат с получением фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина с повышенной стабильностью;

улучшенная стабильность достигается аминокислотой(ами) путем ингибирования образования примеси 7-эпи-доцетаксела в фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина.

Согласно еще одному аспекту изобретения способ включает следующие стадии:

1) растворение доцетаксела в органическом растворителе, выбранном из одного или нескольких из этанола, трет-бутилового спирта и ацетона, с получением органической фазы;

2) использование воды для инъекции для растворения альбумина или для разбавления раствора альбумина для того, чтобы получить раствор альбумина, и последующее добавление аминокислоты(аминокислот);

3) подвергание раствора альбумина, полученного на стадии 2), реакции инкубации;

4) добавление органической фазы, полученной на стадии 1), к раствору, полученному после реакции инкубации на стадии 3), при сдвиговом усилии с получением разбавленного раствора наночастиц доцетаксела-альбумина; и

5) концентрирование раствора, полученного на стадии 4), ультрафильтрацией с получением фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина с повышенной стабильностью.

Согласно одному из аспектов настоящее изобретение относится к составу для лечения или профилактики аномального клеточного пролиферативного заболевания или расстройства, содержащему фармацевтическую композицию на основе наночастиц доцетаксела-альбумина, причем состав дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель и/или вспомогательное вещество.

Согласно другому аспекту изобретения состав для лечения или профилактики аномального клеточного пролиферативного заболевания или расстройства, содержащий фармацевтическую композицию на основе наночастиц доцетаксела-альбумина, полученную вышеописанным способом, дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель и/или вспомогательное вещество.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к применению вышеописанной фармацевтической композиции для изготовления лекарственного средства для лечения или профилактики аномального клеточного пролиферативного заболевания или расстройства.

В другом аспекте изобретение относится к применению фармацевтической композиции, полученной вышеописанным способом для изготовления лекарственного средства для лечения или профилактики аномального клеточного пролиферативного заболевания или расстройства.

В другом аспекте изобретения настоящее изобретение относится к применению вышеописанной композиции для лечения аномального клеточного пролиферативного заболевания или расстройства, которое представляет собой рак, где рак включает рак предстательной железы, рак желудочно-кишечного тракта, рак толстой кишки, рак молочной железы, рак головы и шеи, рак поджелудочной железы, рак легкого и рак яичников.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к применению аминокислоты(аминокислот) для улучшения стабильности фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина путем ингибирования образования примеси 7-эпи-доцетаксела в фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина, причем аминокислота(ы) включает в себя по меньшей мере одну из аргинина, лизина, пролина, цистеина и глутаминовой кислоты.

Неожиданно было обнаружено, что добавление аминокислоты(аминокислот) может привести к фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина, которая является стабильной в течение длительного времени и может значительно ингибировать продуцирование 7-эпи-доцетаксела в фармацевтической композиции. Согласно варианту осуществления настоящего изобрете-

ния добавление аминокислоты(аминокислот) в фармацевтическую композицию на основе наночастиц доцетаксела-альбумина может привести к композиции с содержанием 7-эпи-доцетаксела ниже 1% после хранения в течение 24 месяцев (например, при 2-8°C). В частности, когда используемой аминокислотой является аргинин, содержание 7-эпи-доцетаксела предпочтительно составляет менее 1%, например приблизительно 0,98%, приблизительно 0,83%, приблизительно 0,75%, приблизительно 0,72% или даже ниже, после 30 месяцев хранения (например, при 2-8°C).

#### **Краткое описание чертежа**

Фигура демонстрирует результаты фармакологической эффективности композиции из примера 1-с в лечении подкожного ксенотрансплантата клеток A549 немелкоклеточного рака легкого человека в опухолевой модели "голых" мышей BALB/c.

#### **Подробное описание изобретения**

Фармацевтическая композиция и способ ее получения.

Вариант осуществления настоящего изобретения предоставляет фармацевтическую композицию на основе наночастиц доцетаксела-альбумина, содержащую доцетаксел, альбумин и аминокислоту(ы), в которой массовое отношение альбумина к доцетакселу составляет от 50:1 до >0:1; аминокислота(ы) представляет по меньшей мере одну из аргинина, лизина, пролина, цистеина и глутаминовой кислоты, и массовое отношение аминокислоты(аминокислот) к доцетакселу составляет от 1:1 до 20:1.

Еще один вариант изобретения представляет фармацевтическую композицию, в которой массовое отношение альбумина к доцетакселу составляет от 20:1 до 1:1.

В еще одном варианте изобретения фармацевтическая композиция представляет собой суспензию наночастиц, которая содержит доцетаксел в концентрации по меньшей мере 1 мг/мл, и наночастицы в ней имеют диаметр частиц не более чем 200 нм.

В еще одном из вариантов изобретения альбумин в фармацевтической композиции включает в себя один или несколько из рекомбинантного альбумина и сывороточного альбумина, причем сывороточным альбумином является человеческий сывороточный альбумин.

В другом варианте изобретения фармацевтическая композиция дополнительно включает один или более из меркаптоэтанола, глутатиона и ацетилцистеина, где массовое отношение альбумина к средству для разворачивания структуры белка составляет от 100:1 до >0:1.

В другом варианте изобретения предоставляется способ получения фармацевтической композиции, включающий следующие стадии:

1) растворение доцетаксела в органическом растворителе, выбранном из одного или нескольких из этанола, трет-бутилового спирта и ацетона, с получением органической фазы;

2) использование воды для инъекций для растворения альбумина или разбавления раствора альбумина для того, чтобы получить раствор альбумина;

3) добавление средства для разворачивания структуры белка к раствору альбумина, полученному на стадии 2), и проведение реакции инкубации; где средство для разворачивания структуры белка включает в себя одно или несколько из меркаптоэтанола, глутатиона и ацетилцистеина;

4) добавление органической фазы, полученной на стадии 1), к раствору, полученному после реакции инкубации на стадии 3), при сдвиговом усилии с получением разбавленного раствора наночастиц доцетаксела-альбумина; и

5) концентрирование раствора, полученного на стадии 4), ультрафильтрацией, добавление аминокислоты(аминокислот) в концентрат с получением фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина с повышенной стабильностью;

улучшенная стабильность достигается аминокислотой(ами) путем ингибирования образования примеси 7-эпи-доцетаксела в фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина.

В еще одном варианте изобретения способ включает следующие стадии:

1) растворение доцетаксела в органическом растворителе, выбранном из одного или нескольких из этанола, трет-бутилового спирта и ацетона, с получением органической фазы;

2) использование воды для инъекций для растворения альбумина или разбавления раствора альбумина для того, чтобы получить раствор альбумина;

3) подвергание раствора альбумина, полученного на стадии 2), реакции инкубации;

4) добавление органической фазы, полученной на стадии 1), к раствору, полученному после реакции инкубации на стадии 3), при сдвиговом усилии с получением разбавленного раствора наночастиц доцетаксела-альбумина; и

5) концентрирование раствора, полученного на стадии 4), ультрафильтрацией, добавление аминокислоты(аминокислот) в концентрат с получением фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина с повышенной стабильностью;

улучшенная стабильность достигается аминокислотой(ами) путем ингибирования образования примеси 7-эпи-доцетаксела в фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина.

В еще одном варианте изобретения способ включает следующие стадии:

1) растворение доцетаксела в органическом растворителе, выбранном из одного или нескольких из этанола, трет-бутилового спирта и ацетона, с получением органической фазы;

2) использование воды для инъекции для растворения альбумина или для разбавления раствора альбумина для того, чтобы получить раствор альбумина, и последующее добавление аминокислоты(аминокислот);

3) подвергание раствора альбумина, полученного на стадии 2), реакции инкубации;

4) добавление органической фазы, полученной на стадии 1), к раствору, полученному после реакции инкубации на стадии 3), при сдвиговом усилии с получением разбавленного раствора наночастиц доцетаксела-альбумина; и

5) концентрирование раствора, полученного на стадии 4), ультрафильтрацией с получением фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина с повышенной стабильностью.

В соответствии с вышеприведенными вариантами осуществления аминокислота(ы) может быть добавлена до или после образования наночастиц в процессе приготовления фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина по настоящему изобретению. В процессе приготовления настоящей композиции любой способ может достичь эффекта настоящего изобретения при условии, что он может смешивать наночастицы доцетаксела-альбумина с аминокислотой(ами). Вышеперечисленные способы просто являются основными и, не отступая от сущности настоящего изобретения, другие способы, полученные посредством разумных модификаций вышеприведенных способов, охватываются настоящим изобретением.

Если иное не определено в контексте, предполагается, что все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют те же значения, которые обычно понятны специалисту в данной области техники. Ссылки на методы, используемые в настоящем документе, предназначены для ссылки на методы, общепринятые в данной области техники, включая вариации на эти методы или замены эквивалентных методов, которые были бы очевидны для специалиста в данной области техники. Хотя считается, что большинство из нижеследующих терминов будет понятно специалисту в данной области техники, следующие определения приведены для лучшей иллюстрации настоящего изобретения.

Термины "содержать", "включать в себя", "включать", "иметь в своем составе" или "заклучать в себе", а также другие их варианты, используемые в настоящем документе, являются инклюзивными или неограниченными и не исключают дополнительных неперечисленных элементов или стадий способа.

В контексте данного описания термин "доцетаксел" также известен в данной области как "таксотер" или "доцетаксол", и "доцетаксел", упоминаемый в настоящей заявке, включает в себя соединение доцетаксела как таковое и его производные или аналоги.

Производные или аналоги доцетаксела включают, но не ограничиваются ими, соединения, сходные с доцетакселом по структуре, или соединения, которые принадлежат к тому же роду химических соединений, что и доцетаксел, такие как таксаны. В некоторых вариантах осуществления производные или аналоги доцетаксела обладают биологическими, фармакологическими, химическими и/или физическими свойствами (включая, например, функциональность), которые аналогичны свойствам доцетаксела. Примеры производных или аналогов доцетаксела включают паклитаксел и кабазитаксел. Кроме того, в контексте данного описания термин "доцетаксел" также включает в себя кристаллические и аморфные формы, а также безводные, гидратированные формы (такие как полугидрат, дигидрат, тригидрат и тому подобное) и сольватированные формы (такие как алкогольаты).

В контексте данного описания термин "альбумин" включает в себя один или несколько из рекомбинантного альбумина и сывороточного альбумина, и сывороточный альбумин включает в себя нечеловеческий животный (например, бычий) сывороточный альбумин и человеческий сывороточный альбумин, предпочтительно человеческий сывороточный альбумин.

В контексте данного описания термин "аминокислота(ы)" включает в себя по меньшей мере одну из основных полярных аминокислот (таких как аргинин или лизин), неполярных аминокислот (таких как пролин), нейтральных полярных аминокислот (например, цистеин) и кислых полярных аминокислот (например, аспарагиновую кислоту или глутаминовую кислоту), предпочтительно аргинин.

В контексте данного описания термин "средство для разворачивания структуры белка" относится к веществу, которое может развернуть области гидрофобных связей альбумина для облегчения связывания доцетаксела с альбумином. Все вещества с таким действием могут достигать цели настоящего изобретения. Средство для разворачивания структуры белка включает в себя, но не ограничивается ими, один или несколько из меркаптоэтанола, глутатиона, ацетилцистеина и дитиотреитола.

В предпочтительном варианте осуществления фармацевтическая композиция представляет собой суспензию наночастиц, которая содержит доцетаксел в концентрации по меньшей мере 1 мг/мл, например 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 25, 30, 35, 40 или 50 мг/мл, и наночастицы в ней имеют диаметр частиц не более чем 200 нм, например 150, 100, 95, 90, 85, 80, 75, 70, 65, 60, 55 или 50 нм. Диаметр частиц наночастиц и концентрация доцетаксела могут находиться в любом диапазоне, состоящем из указанных выше значений диаметра частиц или концентрации.

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению сохраняет желаемые терапевтические эффекты и остается физически и/или химически стабильной при воздействии определенных условий,

таких как длительное хранение, повышенная температура или разбавление для парентерального введения.

Термин "физически стабильный" означает, что не наблюдается никакого процесса осаждения или седиментации в значительной степени в течение по меньшей мере приблизительно 8 ч, предпочтительно в течение приблизительно 24 ч, более предпочтительно в течение 48 ч и особенно предпочтительно в течение 96 ч после разведения или регидратации лиофилизированного порошкообразного состава фармацевтической композиции по настоящему изобретению.

Термин "химически стабильный" означает, что химическая структура или состав фармацевтической композиции или активного соединения являются стабильными, когда фармацевтическая композиция по настоящему изобретению хранится в обычных условиях. Предпочтительно после хранения при 2-8°C в течение по меньшей мере 24 месяцев или даже до 30 месяцев процентное содержание 7-эпи-доцетаксела составляет  $\leq 1,0\%$ .

Фармацевтическая композиция и терапевтический метод.

Другой вариант осуществления настоящего изобретения предоставляет состав, содержащий терапевтически эффективное количество вышеуказанной фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина и фармацевтически приемлемый носитель и/или вспомогательное вещество. Состав предпочтительно представляет собой лиофилизированный порошкообразный состав.

Другой вариант осуществления настоящего изобретения предоставляет применение фармацевтической композиции или состава по настоящему изобретению в изготовлении лекарственного средства для лечения или профилактики аномального клеточного пролиферативного заболевания или расстройства. Аномальное клеточное пролиферативное заболевание или расстройство предпочтительно представляет собой рак, который включает рак предстательной железы, рак толстой кишки, рак молочной железы, рак головы и шеи, рак поджелудочной железы, рак легкого и рак яичников.

Другой вариант осуществления настоящего изобретения предоставляет применение фармацевтической композиции или состава по настоящему изобретению в изготовлении лекарственного средства для лечения или профилактики рака, включая рак предстательной железы, рак толстой кишки, рак молочной железы, рак головы и шеи, рак поджелудочной железы, рак легкого и рак яичников.

Другой вариант осуществления настоящего изобретения предоставляет способ лечения или профилактики аномального клеточного пролиферативного заболевания или расстройства, где способ включает введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции или состава по настоящему изобретению. Аномальное клеточное пролиферативное заболевание или расстройство предпочтительно представляет собой рак, и рак предпочтительно представляет собой конкретный рак, указанный выше.

Термин "фармацевтически приемлемый носитель" относится к разбавителю, вспомогательному веществу, эксципиенту или носителю, с которым вводят терапевтическое средство, и он, с медицинской точки зрения, пригоден для контакта с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений, соизмеримых с разумным соотношением польза/риск.

Фармацевтически приемлемый носитель, который может быть применен в составе по настоящему изобретению, включает в себя, но не ограничивается ими, стерильные жидкости, такие как вода и масла, в том числе масла нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и тому подобное. Вода является типичным носителем, когда состав вводят внутривенно. Физиологические солевые растворы, а также водные растворы декстрозы и глицерина могут также быть использованы в качестве жидких носителей, особенно для инъекционных растворов. Подходящие фармацевтические эксципиенты включают крахмал, глюкозу, лактозу, сахарозу, желатин, мальтозу, мел, силикагель, стеарат натрия, моностеарат глицерина, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, глицерин, пропиленгликоль, воду, этанол и тому подобное. Состав, при желании, также может содержать незначительные количества смачивающих или эмульгирующих агентов или pH-буферных агентов. Пероральные составы могут содержать стандартные носители, такие как фармацевтические сорта маннита, лактозы, крахмала, стеарата магния, сахарина натрия, целлюлозы, карбоната магния и т.д. Примеры подходящих фармацевтических носителей описаны, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences (1990).

Состав может действовать системно и/или локально. С этой целью он может быть введен посредством подходящего пути, например путем инъекции, внутривенного, внутриартериального, подкожного, внутрибрюшинного, внутримышечного или трансдермального введения или введен с помощью перорального, трансбуккального, назального, трансмукозального, наружного, в виде офтальмологического состава, или через ингаляцию.

Для этих способов введения состав может быть введен в подходящей дозированной форме.

Такая дозированная форма включает, но не ограничивается ими, спрей, лосьон, мазь, суспензию, инъекционный раствор, инъекционную суспензию, инъекционную эмульсию, эликсир, сироп или лиофилизированный порошкообразный состав.

В контексте данного описания термин "терапевтически эффективное количество" относится к коли-

честву вводимой фармацевтической композиции/состава, которое будет в некоторой степени ослаблять один или несколько симптомов расстройства, подлежащего лечению.

Режимы дозирования могут быть скорректированы для обеспечения оптимального желаемого ответа. Например, может быть введена единичная разовая доза, несколько отдельных доз могут быть введены во времени или доза может быть пропорционально уменьшена или увеличена в соответствии с требованиями терапевтической ситуации. Следует отметить, что значения дозировок могут варьироваться в зависимости от типа и тяжести состояния, которое необходимо облегчить, и могут включать однократные или многократные дозы. Должно быть дополнительно понято, что для любого конкретного субъекта конкретные режимы дозирования должны быть скорректированы с течением времени в соответствии с индивидуальной потребностью и профессиональным суждением специалиста, осуществляющего или контролирующего введение композиций.

Количество вводимой фармацевтической композиции/состава по настоящему изобретению будет зависеть от субъекта, подвергаемого лечению, тяжести расстройства или состояния, скорости введения, распределения фармацевтической композиции/состава и усмотрения лечащего врача. Как правило, эффективная дозировка находится в диапазоне от приблизительно 0,0001 до приблизительно 50 мг на кг массы тела в день, например от приблизительно 0,01 до приблизительно 10 мг/кг/день, в разовых или разделенных дозах. Для человека массой 70 кг она составит от приблизительно 0,007 до приблизительно 3500 мг/день, например от приблизительно 0,7 до приблизительно 700 мг/день. В некоторых случаях уровни дозировки ниже нижнего предела вышеуказанного диапазона могут быть более чем достаточными, в то время как в других случаях могут быть применены еще большие дозы, не вызывающие какого-либо вредного побочного действия, при условии, что такие большие дозы сначала разделяют на несколько меньших доз для введения в течение всего дня.

Термин "лечение" в контексте настоящего описания, если не указано иное, означает обращение вспять, облегчение, ингибирование прогресса или предотвращение расстройства или состояния, к которому применяется такой термин, или одного или нескольких симптомов такого расстройства или состояния.

В контексте настоящего описания термин "субъект" включает в себя человека или животного, не являющегося человеком. Приводимый в качестве примера человеческий субъект включает в себя человека, имеющего заболевание (такое как описанное в настоящем документе) (называемого пациентом), или здорового субъекта. Термин "животное, не относящееся к человеку" в том смысле, как он используется в настоящем описании, включает в себя всех позвоночных животных, таких как немлекопитающие (например, птицы, амфибии, рептилии) и млекопитающие, такие как нечеловекообразные приматы, домашний скот и/или одомашненные животные (такие как овца, собака, кошка, корова, свинья и тому подобное).

Полезные эффекты фармацевтической композиции по настоящему изобретению.

1. Добавленная аминокислота(ы) значительно ингибирует образование примеси 7-эпи-доцетаксела в фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина, повышает стабильность, особенно химическую стабильность фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела, продлевает срок хранения фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела, уменьшает побочные эффекты или токсичность при введении, уменьшает раздражающее действие на организм и улучшает клиническую переносимость.

2. Способ получения фармацевтической композиции по настоящему изобретению прост.

3. Настоящее изобретение может быть использовано для лечения различных видов рака, таких как рак предстательной железы, рак толстой кишки, рак молочной железы, рак головы и шеи, рак поджелудочной железы, рак легкого (особенно немелкоклеточный рак легкого) и рак яичников и т.д., и, следовательно, имеет широкую перспективу применения на рынке. Кроме того, фармацевтическая композиция на основе наночастиц доцетаксела-альбумина по настоящему изобретению обладает лучшим терапевтическим действием, чем коммерчески доступная инъекция доцетаксела.

### Примеры

Следующие примеры приведены для дополнительной иллюстрации настоящего изобретения. Необходимо отметить, что следующие примеры не должны истолковываться как ограничивающие объем охраны настоящего изобретения, а технические решения, полученные в результате некоторых незначительных улучшений и модификаций технических решений настоящего изобретения специалистом в данной области техники в соответствии с содержанием, описанным выше, все также охватываются настоящим изобретением.

Концентрация коммерчески доступной инъекции доцетаксела, используемой в примерах настоящей заявки, составляла 40 мг/мл. Термин "доцетаксел" в примерах представляет собой соединение доцетаксела как таковое (то есть доцетаксел).

Пример 1.

Органическую фазу получали добавлением 100 мл этанола к 1500 мг доцетаксела, который затем растворяли путем обработки ультразвуком. Человеческий сывороточный альбумин разбавляли водой для инъекций, чтобы приготовить 6 мг/мл раствор человеческого сывороточного альбумина. 500 мг глута-



тиона добавляли к 1250 мл 6 мг/мл раствора человеческого сывороточного альбумина и раствор инкубировали на водяной бане при приблизительно 70°C в течение 6 мин с получением водной фазы. Органическую фазу гомогенно диспергировали в водной фазе при высоком сдвиговом усилии (1000 оборотов в минуту (об/мин)) и полученную в результате систему переносили в оборудование для концентрирования ультрафильтрацией (PALL, мембрана 100 кД). Систему концентрировали ультрафильтрацией с получением 6 мг/мл концентрата доцетаксела, в котором наночастицы доцетаксела-альбумина имели средний диаметр частиц 103 нм (Malvern Nano-ZS90).

Вышеуказанный концентрат наночастиц доцетаксела-альбумина разделяли на три части и добавляли аргинин в следующих соотношениях:

1-а. Массовое отношение аргинина к доцетакселу составляло 0,5:1;

1-б. Массовое отношение аргинина к доцетакселу составляло 1:1; и

1-с. Массовое отношение аргинина к доцетакселу составляло 20:1.

Затем смешанные растворы, содержащие аргинин, стерилизовали фильтрацией через стерильную головную часть фильтра 0,22 мкм и лиофилизировали в течение 48 ч в лиофилизаторе.

Лиофилизированные образцы разводили физиологическим раствором, и при оставлении разведенных образцов при комнатной температуре в течение 8 ч осаждение не наблюдалось, что указывает на то, что фармацевтическая композиция на основе наночастиц доцетаксела-альбумина по настоящему изобретению являлась физически стабильной. Измеряли диаметр частиц (средний диаметр частиц образца 1-а составлял 103 нм, средний диаметр частиц образца 1-б составлял 102 нм, и средний диаметр частиц образца 1-с составлял 104 нм), и определяли тенденцию к увеличению примеси 7-эпи-доцетаксела в фармацевтических композициях на основе наночастиц доцетаксела-альбумина.

Пример 2.

Органическую фазу получали добавлением 10 мл этанола к 150 мг доцетаксела, который затем растворяли путем обработки ультразвуком. Твердые частицы бычьего сывороточного альбумина растворяли с помощью воды для инъекций, чтобы приготовить 6 мг/мл раствор бычьего сывороточного альбумина. 200 мг глутатиона и 3750 мг пролина добавляли к 1250 мл 6 мг/мл раствора бычьего сывороточного альбумина, и раствор инкубировали на водяной бане при приблизительно 60°C в течение 6 мин с получением водной фазы. Органическую фазу гомогенно диспергировали в водной фазе при высоком сдвиговом усилии (1000 оборотов в минуту (об/мин)), и полученную в результате систему переносили в оборудование для концентрирования ультрафильтрацией (PALL, мембрана 100 кД). Систему концентрировали ультрафильтрацией с получением 6 мг/мл концентрата доцетаксела, где конечная концентрация пролина составляла 3 мг/мл, а массовое отношение пролина к доцетакселу составляло приблизительно 0,5:1.

Наночастицы доцетаксела-альбумина имели средний диаметр частиц 113 нм (Malvern Nano-ZS90). Полученный концентрат стерилизовали фильтрацией через стерильную головную часть фильтра 0,22 мкм и лиофилизировали в течение 48 ч в лиофилизаторе. Лиофилизированный образец разводили физиологическим раствором, и при оставлении разведенного образца при комнатной температуре в течение 8 ч осаждение не наблюдалось, что указывает на то, что фармацевтическая композиция на основе наночастиц доцетаксела-альбумина по настоящему изобретению являлась физически стабильной.

Пример 3.

Органическую фазу получали добавлением 10 мл этанола к 150 мг доцетаксела, который затем растворяли путем обработки ультразвуком. Рекомбинантный человеческий сывороточный альбумин и твердые частицы бычьего сывороточного альбумина (1:1 мас./мас.) растворяли в воде для инъекций, чтобы приготовить 10 мг/мл раствор рекомбинантного человеческого сывороточного альбумина и бычьего сывороточного альбумина. 50 мг глутатиона добавляли к 450 мл 10 мг/мл раствора рекомбинантного человеческого сывороточного альбумина и бычьего сывороточного альбумина и раствор инкубировали на водяной бане при 6°C в течение 6 мин с получением водной фазы. Органическую фазу гомогенно диспергировали в водной фазе при высоком сдвиговом усилии (1000 оборотов в минуту (об/мин)), и полученную систему переносили в оборудование для концентрирования ультрафильтрацией (PALL, мембрана 100 кД). Систему концентрировали ультрафильтрацией с получением 6 мг/мл концентрата доцетаксела. Затем в концентрат добавляли пролин, так что массовое отношение пролина к доцетакселу составляло 1:1. Наночастицы доцетаксела-альбумина имели средний диаметр частиц 110 нм (Malvern Nano-ZS90). Полученный концентрат стерилизовали фильтрацией через стерильную головную часть фильтра 0,22 мкм и лиофилизировали в течение 48 ч в лиофилизаторе. Лиофилизированный образец разводили физиологическим раствором, и при оставлении разведенного образца при комнатной температуре в течение 8 ч осаждение не наблюдалось, что указывает на то, что фармацевтическая композиция на основе наночастиц доцетаксела-альбумина по настоящему изобретению являлась физически стабильной.

Пример 4.

Продукт получали согласно способу из примера 1, за исключением того, что этанол заменяли трет-бутиловым спиртом, глутатион заменяли ацетилцистеином и аргинин заменяли лизином (массовое отношение лизина к доцетакселу составляло 1, то есть составляло 1:1). Диаметр частиц наночастиц доцетаксела-альбумина составлял 124 нм.

Пример 5.

Продукт получали согласно способу из примера 1, за исключением того, что этанол заменяли смесью ацетона и трет-бутилового спирта (1:1 об./об.), глутатион заменяли меркаптоэтанолом и аргинин заменяли цистеином (массовое отношение цистеина к доцетакселу составляло 1, то есть составляло 1:1). Диаметр частиц наночастиц доцетаксела-альбумина составлял 132 нм.

Пример 6.

Продукт получали согласно способу из примера 1, за исключением того, что глутатион заменяли смесью дитиотреитола и меркаптоэтанола (1:1 мас./мас.), аргинин заменяли смесью аргинина и пролина (массовое отношение аргинина к пролину составляло 1:1, а массовое отношение смеси аминокислот к доцетакселу составляло 1, то есть составляло 1:1), и концентрация доцетаксела после концентрирования составляла 1 мг/мл. Диаметр частиц наночастиц доцетаксела-альбумина составлял 200 нм.

Пример 7.

Продукт получали согласно способу из примера 1, за исключением того, что глутатион не добавляли и аргинин заменяли глутаминовой кислотой (массовое отношение глутаминовой кислоты к доцетакселу составляло 1:1). Диаметр частиц наночастиц доцетаксела-альбумина составлял 183 нм.

Пример 8.

Продукт получали согласно способу из примера 2, за исключением того, что глутатион не добавляли и пролин заменяли глутаминовой кислотой (массовое отношение глутаминовой кислоты к доцетакселу составляло 1:1). Диаметр частиц наночастиц доцетаксела-альбумина составлял 196 нм.

Сравнительный пример 1.

Органическую фазу получали добавлением 150 мг доцетаксела в 50 мл сосуд с последующим добавлением 10 мл этанола и доцетаксел растворяли путем обработки ультразвуком. Концентрированный раствор (200 мг/мл) человеческого сывороточного альбумина разбавляли водой для инъекций, чтобы приготовить 6 мг/мл раствор. 50 мг глутатиона добавляли к 125 мл 6 мг/мл раствора человеческого сывороточного альбумина и раствор инкубировали на водяной бане при 80°C в течение 6 мин. Органическую фазу затем гомогенно диспергировали в водной фазе при высоком сдвиговом усилии (1000 оборотов в минуту (об/мин)) и полученную систему переносили в оборудование для концентрирования ультрафильтрацией (PALL, мембрана 100 кД). Систему концентрировали ультрафильтрацией с получением 10 мг/мл концентрата доцетаксела. Затем добавляли винную кислоту (соль), так что конечный раствор имел pH 7,0 и содержал доцетаксел в концентрации 6 мг/мл и винную кислоту (соль) в концентрации 100 мМ (ссылка: предпочтительные соотношения в CN 103054798 A). Образец конечного раствора стерилизовали фильтрацией через стерильную головную часть фильтра 0,22 мкм и лиофилизировали в течение 48 ч в лиофилизаторе.

Сравнительный пример 2.

Продукт получали согласно способу из сравнительного примера 1, за исключением того, что винную кислоту заменяли лимонной кислотой, и конечная концентрация составляла 100 мМ (ссылка: предпочтительные соотношения в CN 103054798 A).

Сравнительный пример 3.

Продукт получали согласно способу из сравнительного примера 1, за исключением того, что винную кислоту заменяли цитратом натрия, и конечная концентрация составляла 100 мМ (ссылка: предпочтительные соотношения в CN 103054798 A).

Сравнительный пример 4.

Продукт получали согласно способу из примера 1, за исключением того, что не добавляли аминокислоту.

Экспериментальный пример 1. Стабильность при хранении.

После выдерживания при 2-8°C в течение различных периодов времени (см. табл. 1) продукты из примеров 1-8 и сравнительных примеров 1-4 добавляли с соответствующими количествами 0,9% раствора хлорида натрия. После того как продукты равномерно диспергировали, приблизительно 300 мкл каждого из образцов точно взвешивали, помещали в 2 мл центрифужную пробирку и точно добавляли 600 мкл ацетонитрила. После перемешивания вихревым способом в течение 30 с образцы подвергали твердофазной экстракции, и полученные в результате экстракционные растворы фильтровали, чтобы облегчить обнаружение содержания 7-эпи-доцетаксела.

Содержание в процентах 7-эпи-доцетаксела определяли с помощью ВЭЖХ, и хроматографические условия были следующими: колонка: Spherisorb RP18 4,6×250 нм, диаметр частиц: 5 мкм; подвижная фаза: раствор А=ацетонитрил:вода (2:3, об./об.) и раствор В=ацетонитрил; элюирование проводили раствором А в течение первых 70 мин, а затем с использованием 10%-го раствора А и 90%-го раствора В в течение 20 мин; скорость потока: 1 мл/мин; длина волны детектирования: 227 нм; и объем вводимой пробы: 20 мкл.

Приросты (представленные процентными величинами площади пиков на хроматограммах ВЭЖХ) 7-эпи-доцетаксела в фармацевтических композициях наночастиц доцетаксела-альбумина после хранения при 2-8°C приведены в табл. 1.

Таблица 1

Увеличение содержания 7-эпи-доцетаксела  
(прирост%=площадь пика% после N месяцев - площадь пика% в день 0)

Группа	Прирост% 7-эпи-доцетаксела				
	3 месяца	6 месяцев	12 месяцев	24 месяца	30 месяцев
Сравнительный пример 1	0,45%	0,81%	1,54%	2,65%	N/A
Сравнительный пример 2	0,44%	0,86%	1,39%	2,56%	N/A
Сравнительный пример 3	0,43%	0,85%	1,36%	2,47%	N/A
Сравнительный пример 4	0,45%	0,87%	1,49%	2,79%	N/A
Пример 1-а	0,02%	0,14%	0,37%	0,58%	0,74%
Пример 1-б	0,01%	0,11%	0,34%	0,49%	0,61%
Пример 1-с	0,04%	0,07%	0,30%	0,41%	0,54%
Пример 2	0,02%	0,15%	0,37%	0,70%	N/A
Пример 3	0,04%	0,16%	0,32%	0,63%	N/A
Пример 4	0%	0,19%	0,37%	0,66%	N/A
Пример 5	0,07%	0,26%	0,43%	0,64%	N/A
Пример 6	0,03%	0,14%	0,39%	0,53%	N/A
Пример 7	0,03%	0,2%	0,43%	0,63%	N/A
Пример 8	0,7%	0,24%	0,46%	0,79%	N/A

Примечание 1. Допустимый предел стабильности композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина (то есть самого высокого содержания 7-эпи-доцетаксела) обычно составляет "процентное содержание 7-эпи-доцетаксела $\leq$ 1,0%";

Примечание 2. N/A означает, что детектирование не выполняли.

Экспериментальные результаты показали, что добавление аргинина, лизина, пролина, цистеина, глутаминовой кислоты или их комбинации к композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина, полученной в примерах настоящей заявки, может эффективно ингибировать деградацию доцетаксела и уменьшать увеличение содержания эписмера, 7-эпи-доцетаксела. В табл. 1 также показано, что добавление органической кислоты (или ее соли) с рКа от 2,5 до 4,5 не может ингибировать увеличение содержания эписмера, 7-эпи-доцетаксела.

В вышеописанных испытаниях продукты из примеров 1-а, 1-б и 1-с по настоящему изобретению, в которых аргинин применяли в качестве ингибитора образования примесей, достигали наилучших результатов: они могут храниться при 2-8°C в течение по меньшей мере 24 месяцев или даже до 30 месяцев.

Экспериментальный пример 2. Стабильность при хранении.

Готовили композиции доцетаксела-альбумина, не содержащие аргинин или содержащие аргинин и доцетаксел в массовом соотношении 80:1, и процентное содержание 7-эпи-доцетаксела определяли в соответствии с экспериментальным примером 1. Процентные величины площадей пиков на хроматограммах ВЭЖХ с течением времени показаны в табл. 2. Как видно из табл. 2, когда отношение аргинина к доцетакселу составляло 80, увеличение содержания 7-эпи-доцетаксела в композиции ингибировалось в течение 30 месяцев хранения при 2-8°C.

Таблица 2

Увеличение содержания 7-эпи-доцетаксела  
(прирост%=площадь пика% после N месяцев - площадь пика% в день 0)

Отношение аргинина к доцетакселу	Прирост% 7-эпи-доцетаксела				
	3 месяца	6 месяцев	12 месяцев	24 месяца	30 месяцев
0 (0:1)	0,47%	0,87%	1,56%	2,76%	4,23%
80 (80:1)	0,01%	0,04%	0,22%	0,38%	0,49%

Как можно видеть из экспериментальных примеров 1 и 2, наночастицы доцетаксела-альбумина, полученные в примерах настоящей заявки, имеют хорошую физическую и химическую стабильность, не подвержены деструкции, имеют меньше примесей после обычного хранения и транспортировки и, конечно, будут иметь меньше токсических и побочных эффектов, вызванных примесью.

Экспериментальный пример 3. Противоопухолевая активность.

Применение композиций, полученных в настоящей заявке, для лечения рака демонстрировали с помощью проверочного испытания на фармакологическую эффективность в опухолевой модели "голых" мышей BALB/c с подкожным ксенотрансплантатом клеток A549 немелкоклеточного рака легкого человека.

30 отвечающих требованиям животных BALB/c, несущих опухолевые клетки A549, отбирали и

случайным образом делили на три группы (10 мышей на группу), представляющие собой группу, которой вводили физиологический раствор ("холостой" контроль), группу, которой вводили коммерчески доступную инъекцию доцетаксела (20 мг/кг), и группу, которой вводили наночастицы доцетаксела-альбумина (20 мг/кг) согласно примеру 1-с настоящего изобретения соответственно. Введение осуществляли путем внутривенной инъекции через хвостовую вену в течение 4 недель. Во время введения дважды в день вели наблюдение за общими клиническими симптомами животных, массу тела и диаметр опухоли измеряли два раза в неделю, а массу опухоли определяли в конце. Размер опухоли наносили на график в зависимости от времени, чтобы получить кривую для оценки фармакологической эффективности.

Результаты фармакологической эффективности показаны на фигуре. Как показано на фигуре, фармацевтическая композиция на основе наночастиц доцетаксела-альбумина согласно примеру 1-с настоящего изобретения достигла значительного ингибирующего эффекта на рост опухоли в опухолевой модели "голых" мышей BALB/c с подкожным ксенотрансплантатом клеток A549 немелкоклеточного рака легкого человека, и эффект композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина согласно примеру 1-с настоящего изобретения был лучше, чем эффект коммерчески доступной инъекции доцетаксела.

Экспериментальный пример 4. Противоопухолевая активность.

Применение композиций, полученных в настоящей заявке, для лечения рака демонстрировали с помощью проверочного испытания на фармакологическую эффективность с использованием фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина согласно примеру 7 настоящего изобретения в опухолевой модели "голых" мышей BALB/c с подкожным ксенотрансплантатом клеток A549 немелкоклеточного рака легкого человека.

30 отвечающих требованиям животных BALB/c, несущих опухолевые клетки A549, отбирали и случайным образом делили на три группы (10 мышей на группу), представляющие собой группу, которой вводили физиологический раствор ("холостой" контроль), группу, которой вводили коммерчески доступную инъекцию доцетаксела (16 мг/кг), и группу, которой вводили наночастицы доцетаксела-альбумина (13,6 мг/кг) согласно примеру 7 настоящего изобретения соответственно. Введение осуществляли путем внутривенной инъекции через хвостовую вену в течение 4 недель. Во время введения дважды в день вели наблюдение за общими клиническими симптомами животных, массу тела и диаметр опухоли измеряли два раза в неделю.

Результаты фармакологической эффективности показаны в табл. 3. Фармацевтическая композиция на основе наночастиц доцетаксела-альбумина согласно примеру 7 настоящего изобретения достигла значительного ингибирующего эффекта на рост опухоли в опухолевой модели "голых" мышей BALB/c с подкожным ксенотрансплантатом клеток A549 немелкоклеточного рака легкого человека. После введения в течение 21 дня скорость ингибирования опухоли, достигнутая с помощью композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина согласно примеру 7 (вводимая доза: 13,6 мг/кг), составила 112%, тогда как скорость ингибирования опухоли, достигнутая с помощью коммерчески доступной инъекции доцетаксела (вводимая доза: 16 мг/кг) составила 99%. Можно видеть, что наночастицы доцетаксела-альбумина по настоящему изобретению достигали высокой скорости ингибирования опухоли в низкой дозе, имели значительно лучший терапевтический эффект, чем коммерчески доступная инъекция доцетаксела, и имели превосходный терапевтический эффект на немелкоклеточный рак легкого человека.

Таблица 3

Терапевтический эффект на "голых" мышей с подкожным ксенотрансплантатом клеток A549 немелкоклеточного рака легкого человека

Группа	Доза введения (мг/кг)	Объем опухоли и в день 0 (мм <sup>3</sup> )	Объем опухоли и в день 21 (мм <sup>3</sup> )	Скорость ингибирования опухоли (%)
Физиологическое раствора	-	149,2	1218,9	-
Композиции согласно примеру 7	13,6	152,2	133,7	112
Коммерчески доступной инъекции доцетаксела	16	141,2	151,5	99

Экспериментальный пример 5. Противоопухолевая активность.

Применение композиций, полученных в настоящей заявке, для лечения рака демонстрировали с помощью проверочного испытания на фармакологическую эффективность с использованием фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина согласно примеру 7 настоящего изобретения в опухолевой модели "голых" мышей BALB/c с подкожным ксенотрансплантатом клеток SK-OV-3 рака яичника человека.

50 отвечающих требованиям животных BALB/c, несущих опухолевые клетки SK-OV-3, отбирали и случайным образом делили на пять групп (10 мышей на группу), представляющих собой группу, которой вводили физиологический раствор ("холостой" контроль), группу 1, которой вводили коммерчески дос-

тупную инъекцию доцетаксела (9,9 мг/кг), группу 2, которой вводили коммерчески доступную инъекцию доцетаксела (16 мг/кг), группу 1, которой вводили наночастицы доцетаксела-альбумина (8,5 мг/кг) согласно примеру 7 настоящего изобретения, и группу 2, которой вводили наночастицы доцетаксела-альбумина (13,6 мг/кг) согласно примеру 7 настоящего изобретения соответственно. Введение осуществляли путем внутривенной инъекции через хвостовую вену в течение 4 недель. Во время введения дважды в день вели наблюдение за общими клиническими симптомами животных, массу тела и диаметр опухоли измеряли два раза в неделю.

Результаты фармакологической эффективности показаны в табл. 4. Фармацевтическая композиция на основе наночастиц доцетаксела-альбумина согласно примеру 7 настоящего изобретения достигла значительного ингибирующего эффекта на рост опухоли в опухолевой модели "голых" мышей BALB/c с подкожным ксенотрансплантатом клеток SK-OV-3 рака яичника человека. После введения в течение 18 дней скорость ингибирования опухоли, достигнутая с помощью композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина согласно примеру 7 (вводимая доза: 8,5 мг/кг), составила 65%, тогда как скорость ингибирования опухоли, достигнутая с помощью коммерчески доступной инъекции доцетаксела (вводимая доза: 9,9 мг/кг), составила 55%. Когда фармацевтическую композицию согласно примеру 7 настоящего изобретения вводили в дозе 13,6 мг/кг и коммерчески доступную инъекцию доцетаксела вводили в дозе 16 мг/кг, скорость ингибирования опухоли и той и другой составила 87% после введения в течение 18 дней. В соответствии с вышеприведенными экспериментальными результатами по сравнению с коммерчески доступной инъекцией доцетаксела, композиция по настоящему изобретению достигала лучшего или эквивалентного ингибирующего эффекта на опухоль в более низкой дозе, что продемонстрировало, что наночастицы доцетаксела-альбумина по настоящему изобретению обладают превосходным терапевтическим эффектом на рак яичников человека.

Таблица 4

Терапевтический эффект на "голых" мышей с подкожным ксенотрансплантатом клеток SK-OV-3 рака яичника человека

Группа	Доза введения (мг/кг)	Объем опухоли в день 0 (мм <sup>3</sup> )	Объем опухоли в день 18 (мм <sup>3</sup> )	Скорость ингибирования опухоли (%)
Физиологического раствора	-	146,7	1876,3	-
Композиции согласно примеру 7 (группа 1)	8,5	145,0	758,1	65
Коммерчески доступной инъекции доцетаксела (группа 1)	9,9	144,0	930,3	55
Композиции согласно примеру 7 (группа 2)	13,6	145,3	361,8	87
Коммерчески доступной инъекции доцетаксела (группа 2)	16	145,8	373,8	87

Хотя настоящее изобретение было дополнительно описано посредством вышеупомянутых конкретных примеров, следует понимать, что оно не ограничено этим. Настоящее изобретение охватывает общие аспекты вышеприведенных описаний, и специалист в данной области техники способен вносить различные модификации или изменять различные детали настоящего изобретения без отхода от сущности и объема настоящего изобретения. Таким образом, настоящее описание представлено только с целью иллюстрации, а не в качестве ограничения.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция на основе наночастиц доцетаксела-альбумина, отличающаяся тем, что фармацевтическая композиция содержит

доцетаксел,  
альбумин и  
аминокислоту(ы),

в которой массовое отношение альбумина к доцетакселу составляет от 50:1 до >0:1; аминокислота(ы) представляет по меньшей мере одну из аргинина, лизина, пролина, цистеина и глутаминовой кислоты,

и массовое отношение аминокислоты(аминокислот) к доцетакселу составляет от 1:1 до 20:1.

2. Фармацевтическая композиция по п.1, отличающаяся тем, что фармацевтическая композиция

представляет собой суспензию наночастиц, которая содержит доцетаксел в концентрации по меньшей мере 1 мг/мл, и наночастицы в ней имеют диаметр частиц не более чем 200 нм.

3. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1 и 2, отличающаяся тем, что альбумин включает в себя один или несколько из рекомбинантного альбумина и сывороточного альбумина.

4. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-3, отличающаяся тем, что альбумином является человеческий сывороточный альбумин.

5. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-4, отличающаяся тем, что фармацевтическая композиция дополнительно содержит средство для разворачивания структуры альбумина, включающее одно или более из меркаптоэтанола, глутатиона и ацетицистеина, где массовое отношение альбумина к средству для разворачивания структуры альбумина составляет от 100:1 до >0:1.

6. Способ получения фармацевтической композиции по п.5, отличающийся тем, что способ включает следующие стадии:

1) растворение доцетаксела в органическом растворителе, выбранном из одного или нескольких из этанола, трет-бутилового спирта и ацетона, с получением органической фазы;

2) использование воды для инъекций для растворения альбумина или разбавления раствора альбумина для того, чтобы получить раствор альбумина;

3) добавление средства для разворачивания структуры белка к раствору альбумина, полученному на стадии 2), и проведение реакции инкубации; где средство для разворачивания структуры белка включает в себя одно или несколько из меркаптоэтанола, глутатиона и ацетилцистеина;

4) добавление органической фазы, полученной на стадии 1), к раствору, полученному после реакции инкубации на стадии 3), при сдвиговом усилии с получением разбавленного раствора наночастиц доцетаксела-альбумина; и

5) концентрирование раствора, полученного на стадии 4), ультрафильтрацией, добавление аминокислоты(аминокислот) в концентрат с получением фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина с повышенной стабильностью;

улучшенная стабильность достигается аминокислотой(ами) путем ингибирования образования примеси 7-эпи-доцетаксела в фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина.

7. Способ получения фармацевтической композиции по любому из пп.1-4, отличающийся тем, что способ включает следующие стадии:

1) растворение доцетаксела в органическом растворителе, выбранном из одного или нескольких из этанола, трет-бутилового спирта и ацетона, с получением органической фазы;

2) использование воды для инъекций для растворения альбумина или разбавления раствора альбумина для того, чтобы получить раствор альбумина;

3) подвергание раствора альбумина, полученного на стадии 2), реакции инкубации;

4) добавление органической фазы, полученной на стадии 1), к раствору, полученному после реакции инкубации на стадии 3), при сдвиговом усилии с получением разбавленного раствора наночастиц доцетаксела-альбумина; и

5) концентрирование раствора, полученного на стадии 4), ультрафильтрацией, добавление аминокислоты(аминокислот) в концентрат с получением фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина с повышенной стабильностью;

улучшенная стабильность достигается аминокислотой(ами) путем ингибирования образования примеси 7-эпи-доцетаксела в фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина.

8. Способ получения фармацевтической композиции по любому из пп.1-4, отличающийся тем, что способ включает следующие стадии:

1) растворение доцетаксела в органическом растворителе, выбранном из одного или нескольких из этанола, трет-бутилового спирта и ацетона, с получением органической фазы;

2) использование воды для инъекции для растворения альбумина или для разбавления раствора альбумина для того, чтобы получить раствор альбумина, и последующее добавление аминокислоты(аминокислот);

3) подвергание раствора альбумина, полученного на стадии 2), реакции инкубации;

4) добавление органической фазы, полученной на стадии 1), к раствору, полученному после реакции инкубации на стадии 3), при сдвиговом усилии с получением разбавленного раствора наночастиц доцетаксела-альбумина; и

5) концентрирование раствора, полученного на стадии 4), ультрафильтрацией с получением фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина с повышенной стабильностью.

9. Состав для лечения или профилактики аномального клеточного пролиферативного заболевания или расстройства, содержащий фармацевтическую композицию на основе наночастиц доцетаксела-альбумина по любому из пп.1-5, отличающийся тем, что состав дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель и/или вспомогательное вещество.

10. Состав для лечения или профилактики аномального клеточного пролиферативного заболевания

или расстройства, содержащий фармацевтическую композицию на основе наночастиц доцетаксела-альбумина, полученную согласно способу по любому из пп.6-8, отличающийся тем, что состав дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель и/или вспомогательное вещество.

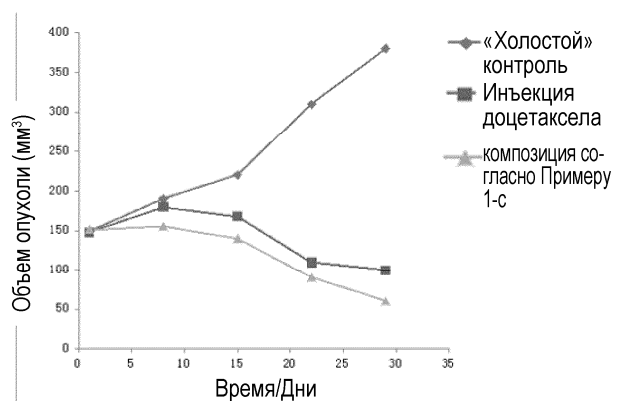
11. Применение фармацевтической композиции по любому из пп.1-5 в изготовлении лекарственного средства для лечения или профилактики аномального клеточного пролиферативного заболевания или расстройства.

12. Применение фармацевтической композиции, полученной согласно способу по любому из пп.6-8, для изготовления лекарственного средства для лечения или профилактики аномального клеточного пролиферативного заболевания или расстройства.

13. Применение по п.11 или 12, где аномальное клеточное пролиферативное заболевание или расстройство представляет собой рак, где рак включает рак предстательной железы, рак желудочно-кишечного тракта, рак толстой кишки, рак молочной железы, рак головы и шеи, рак поджелудочной железы, рак легкого и рак яичников.

14. Применение аминокислоты(аминокислот) для улучшения стабильности фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина, отличающееся тем, что стабильность улучшается аминокислотой(ами) путем ингибирования образования примеси 7-эпи-доцетаксела в фармацевтической композиции на основе наночастиц доцетаксела-альбумина; аминокислота(ы) включает в себя по меньшей мере одну из аргинина, лизина, пролина, цистеина и глутаминовой кислоты, и фармацевтическая композиция представляет собой фармацевтическую композицию по любому из пп.1-5 или фармацевтическую композицию, полученную согласно способу по любому из пп.6-8.

15. Фармацевтическая композиция по п.1, в которой массовое отношение альбумина к доцетакселу составляет от 20:1 до 1:1.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2