

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202490973 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.06.11

(22) Дата подачи заявки
2022.10.12

(51) Int. Cl. *A61K 31/4745* (2006.01)
A61K 9/16 (2006.01)
A61K 9/10 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)
A61K 47/28 (2006.01)
A61K 47/14 (2006.01)
A61K 47/42 (2017.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО И СПОСОБ ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 202111202739.7

(32) 2021.10.15

(33) CN

(86) PCT/CN2022/124787

(87) WO 2023/061393 2023.04.20

(71) Заявитель:
КУНЬШАНЬ СИНЬЮНЬДА
БАЙОТЕК КО., ЛТД. (CN)

(72) Изобретатель:
Кэ Тяньи, Тань Линь, Вэнь Байган,
Лао Фан, Лю Янь, Ван Нинся, Цзюй
Шан, Цуй Дунсюэ, Ду Сюйчжао, Оуян
Фансин (CN)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Раскрыта композиция, содержащая 7-этил-10-гидроксикамптотедин, и способ ее получения и ее применение. Композиция содержит SN-38, липид, альбумин и Span 20.

A1

202490973

202490973

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-580779EA/55

КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО И СПОСОБ ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЕ

Область техники

Настоящая заявка относится к композиции 7-этил-10-гидроксикамптотецина (SN-38), которая содержит SN-38, липид, альбумин и Span 20, а также к способу ее получения и применению.

Уровень техники

SN-38 является активным метаболитом продаваемого на рынке лекарственного средства гидрохлорида иринотекана (CPT-11) в организме, и обладает эффективностью в отношении некоторых опухолевых клеток примерно в 100-1000 раз выше, чем у CPT-11 (Zhang J A, Xuan T, Parmar M, *et al.*, Development and characterization of a novel liposome-based formulation of SN-38, [*J*]. *International journal of pharmaceutics*, 2004, 270(1):93-107). SN-38 оказывает ингибирующее действие на различные опухолевые клетки, такие как колоректальный рак, мелкоклеточный рак легких, рак лимфы, рак молочной железы, рак пищевода, рак матки и рак яичников. Однако эффективность превращения CPT-11 в SN-38 в организме очень низка и составляет всего 2-8% (Rowinsky E K, Grochow L B, Ettinger D S, *et al.*, Phase I and pharmacological study of the novel topoisomerase I inhibitor CPT-11 administered as a ninety-minute infusion every 3 weeks, [*J*]. *Cancer research*, 1994, 54(2): 427-436).

Исследования показали, что лактоновая структура с замкнутым кольцом SN-38 является эффективным компонентом для проявления противораковой активности SN-38. Однако SN-38 с такой структурой с замкнутым кольцом нерастворим в большинстве биосовместимых и фармацевтически приемлемых растворителей и имеет низкую пригодность для разработки лекарственного средства. Эти факторы сильно ограничивают разработку и клиническое использование SN-38. До сих пор не существует фармацевтического состава, содержащего SN-38 в качестве активного ингредиента, одобренной для продажи.

Поэтому в настоящее время сохраняется острая необходимость решения проблем растворимости и пригодности для разработки лекарственного средства SN-38. Для решения проблемы растворимости SN-38, некоторые исследования были посвящены структурной модификации SN-38. Модификацию можно разделить на модификацию водорастворимости и модификацию жирорастворимости, первая может быть найдена, например, в WO1995022549A1, и вторая может быть найдена, например, в US20060229359A. Модификация жирорастворимости обычно включает получение SN-38 в липосоме, и процесс получения обычно включает модификацию молекулы камптотецина с гидрофобной молекулой, такой как длинноцепочечная жирная кислота или холестерин, витамин E и липофильная органическая кислота, и затем получение продукта камптотецин-липосома с модифицированной молекулой камптотецина и определенной долей

эксципиента, такого как фосфолипид и холестерин. CN108567742A направлена на получение продукта камптотецин-липосома путем улучшения эксципиента, а не гидрофобной модификации SN-38. Указанные выше продукты не содержат альбумин, но позволяют камптотецину сохранять большую часть активной структуры с замкнутым кольцом путем модификации с липидами и позволяют быть захваченным альбумином после поступления в организм, тем самым продлевая эффективность.

Кроме того, стабильность и масштабирование процесса приготовления составов SN-38 всегда являются проблемами с точки зрения пригодности для разработки лекарственного средства SN-38 из-за более особых физических и химических свойств SN-38, таких как более легкая кристаллизация в воде и положительно заряженная поверхность по сравнению с лекарственными средствами паклитаксела.

Нанолипосомы, наносuspензии и подобные, полученные модификацией либо водорастворимости, либо липорастворимости/приготовлением липосом, имеют недостатки, заключающиеся в неудовлетворительной загрузке лекарственного средства SN-38, сложном процессе получения или плохой повторяемости после масштабирования процесса и нестабильных составах. По-прежнему остается актуальной проблема, которую необходимо решить, чтобы экономически эффективно получить наносостав SN-38 с высокой загрузкой лекарственного средства SN-38 процессом, который является простым и стабильным для масштабирования, путем оптимизации компонентов состава и процесса.

В заявке известного уровня техники (PCT/CN2021/102332) авторов изобретения описана композиция с высокой загрузкой лекарственного средства, содержащая SN-38, липид и альбумин, которая дает состав SN-38, подходящий для приготовления лекарственного средства. На основании вышеуказанной работы, инвесторы неожиданно обнаружили, что добавление Span 20 в композицию приводит к уменьшению количества гомогенизаций под высоким давлением во время приготовления, эффективному уменьшению размера частиц состава, увеличению потока фильтрации и уменьшению потери сырья и затрат. Между тем, полученный фармацевтический состав имеет лучшую стабильность, лучший контроль размера частиц после распада и более стабильную эффективность. Содержание PCT/CN2021/102332 полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

Содержание изобретения

Сущность изобретения

Международная заявка на патент PCT/CN2021/102332 описывает композицию, содержащую SN-38, липид и альбумин. Авторы изобретения обнаружили, что при приготовлении в более крупном масштабе (например, 100 миллиграммов или более сырья SN-38), включая масштабированный процесс, например, приготовление в пилотном масштабе, когда к композиции добавляют Span 20, количество гомогенизаций под высоким давлением во время приготовления может быть уменьшено, размер частиц наночастиц в композиции эффективно уменьшается, поток фильтрации увеличивается, потери сырья и стоимость уменьшаются, и между тем размер частиц наночастиц после распада можно

контролировать. Путем дополнительного контроля содержания альбумина в композиции, можно контролировать размер наночастиц так, чтобы он был ближе к размеру, подходящему для приготовления лекарственного средства. Композиция по изобретению также имеет преимущества композиции в РСТ/CN2021/102332, включая: (1) повышенную загрузку лекарственного средства и эффективность инкапсулирования SN-38; (2) включение низкого уровня SN-38 со структурой с разомкнутым кольцом; (3) отсутствие включения мультимера альбумина, низкая иммуногенность и высокая безопасность; (4) малый размер частиц и узкое распределение частиц по размеру для; (5) превосходная стабильность (включая превосходную стабильность при разбавлении и стабильность при хранении); (6) SN-38, который существует в аморфной форме и/или в форме нанокристаллов и обладает преимуществами высокой скорости растворения и высокой биодоступности; и (7) превосходную противоопухолевую эффективность *in vivo*.

В первом аспекте, настоящая заявка предлагает композицию, содержащую SN-38, липид, альбумин и Span 20, которая характеризуется тем, что композиция содержит наночастицы, где в наночастицах альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и, необязательно, по меньшей мере часть липида, где липид выбран из холестерина, производных холестерина, аналогов холестерина и эфиров жирных кислот, а также любой комбинации двух или нескольких из них.

Во втором аспекте, настоящая заявка предлагает способ получения композиции по первому аспекту.

В третьем аспекте, настоящая заявка предлагает способ получения композиции, содержащей SN-38, липид, альбумин и Span 20.

В четвертом аспекте, настоящая заявка предлагает композицию, которую можно получить способом по третьему аспекту.

В пятом аспекте, настоящая заявка дополнительно предлагает способ получения композиции с улучшенными свойствами.

Другие аспекты настоящей заявки дополнительно предлагают фармацевтическую композицию, содержащую композиции, описанные выше, и ее применение.

Краткое описание чертежей

На ФИГ. 1 представлена типовая ВЭЖХ хроматограмма измерения содержания SN-38 в продукте, полученном в Примере 1.

На ФИГ. 2 представлена типовая ВЭЖХ хроматограмма измерения содержания холестерина в продукте, полученном в Примере 1.

На ФИГ. 3 представлена типовая ВЭЖХ хроматограмма измерения содержания SN-38 различной структуры в продукте, полученном в Примере 1.

На ФИГ. 4 представлена типовая ГПХ-ВЭЖХ хроматограмма измерения агрегатов альбумина в продукте, полученном в Примере 1.

На ФИГ. 5 представлен рентгеновский спектр лиофилизированного продукта, полученного в Примере 2, SN-38 и HSA.

На ФИГ. 6 показаны результаты эксперимента по распаду, проведенного при

градиентном разведении в Примере 19.

На ФИГ. 7 показаны результаты эксперимента по распаду, проведенного при градиентном разведении в Примере 20.

На ФИГ. 8 показаны изменения массы тела животных, которым вводят продукт гНА-SN-38 из Примера 1 в Примере 21.

На ФИГ. 9 показаны результаты ингибирования трижды отрицательного рака молочной железы человека MDA-MB-23 продуктом Примера 1 в эксперименте *in vivo*.

На ФИГ. 10 показаны результаты ингибирования рака толстой кишки человека HT-29 продуктом Примера 2 в эксперименте *in vivo*.

На ФИГ. 11 показаны изменения массы тела тестируемых животных в Примере 24.

На ФИГ. 12 показаны изменения объема опухоли у тестируемых животных в Примере 24.

На ФИГ. 13 показаны изменения массы тела тестируемых животных в Примере 25.

На ФИГ. 14 показаны изменения объема опухоли у тестируемых животных в Примере 25.

На ФИГ. 15 показаны изменения массы тела тестируемых животных в Примере 26.

На ФИГ. 16 показаны изменения объема опухоли у тестируемых животных в Примере 26.

На ФИГ. 17 показаны изменения массы тела тестируемых животных в Примере 27.

На ФИГ. 18 показаны изменения объема опухоли у тестируемых животных в Примере 27.

На ФИГ. 19 показаны изменения массы тела тестируемых животных в Примере 28.

На ФИГ. 20 показаны изменения объема опухоли у тестируемых животных в Примере 28.

На ФИГ. 21 показаны результаты состава, содержащего Span 20, полученного в Примере 30, в эксперименте по распаду, проведенном при градиентном разведении.

На ФИГ. 22 показаны результаты состава, не содержащего Span 20, полученного в Примере 30, в эксперименте по распаду, проведенном при градиентном разведении.

На ФИГ. 23 показаны результаты применения состава, содержащего Span 20, полученного в Примере 30, наблюдаемые с помощью криогенного трансмиссионного электронного микроскопа.

На ФИГ. 24 показаны результаты, полученные с помощью криогенного трансмиссионного электронного микроскопа для состава, не содержащего Span 20, полученного в Примере 30.

На ФИГ. 25 показаны изменения объема опухоли у тестируемых животных в Примере 34.

На ФИГ. 26 показаны изменения массы тела тестируемых животных в Примере 34.

На ФИГ. 27 показаны размеры опухолевой массы тестируемых животных в Примере 34.

На ФИГ. 28 показаны изменения массы тела тестируемых животных в Примере 38.

На ФИГ. 29 и ФИГ. 30 показаны изменения объема опухоли у тестируемых животных в Примере 38.

На ФИГ. 31 показаны изменения массы тела тестируемых животных в Примере 39.

На ФИГ. 32 и ФИГ. 33 показаны изменения объема опухоли у тестируемых животных в Примере 39.

Подробное описание изобретения

Определения

Если ниже не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в данной области техники. Ссылки на методы, используемые в настоящем документе, предназначены для обозначения методов, обычно понимаемых в данной области техники, включая вариации этих методов или замены эквивалентных методов, которые были бы очевидны для специалиста в данной области техники. Хотя считается, что следующие термины будут легко понятны специалисту в данной области техники, тем не менее, следующие определения предложены для лучшей иллюстрации настоящего изобретения.

Термин «наночастица» обозначает частицу, имеющую наноразмер по меньшей мере в одном измерении (например, в одном, двух или трех измерениях), например, размер примерно 1 нм, примерно 10 нм, примерно 100 нм или примерно 200-300 нм, предпочтительно, размер не более 200 нм.

Термин «нанокристалл» относится к кристаллу размером от 1 до 1000 нм, особенно, к кристаллу от 50 до 300 нм, который может быть монокристаллом или поликристаллом.

Термин «везикула» относится к организованной молекулярной сборке, имеющей структуру внешнего слоя, которая может спонтанно образовываться при диспергировании в водной фазе.

Термин «Span 20», также называемый монолауратом сорбитана или Span20, представляет собой поверхностно-активное вещество.

Термин «водная композиция» относится к композиции на водной основе, которая находится в жидкой или полутвердой форме, предпочтительно, в жидкой форме. Жидкая форма включает, но не ограничена ими, раствор (например, раствор белковых наночастиц), коллоид, эмульсию и суспензию.

Термины «загрузка лекарственного средства (LD)» и «эффективность инкапсулирования (EE)» можно рассчитать по формулам, предложенным в примерах.

Термин «органическая кислота» включает насыщенные или ненасыщенные жирные кислоты, имеющие 1-24 атома углерода, особенно жирные кислоты с короткой цепью, содержащие 2-4 атома углерода, жирные кислоты со средней цепью, содержащие 6-12 атомов углерода, и жирные кислоты с длинной цепью, содержащие 14-24 атомов углерода; и ароматические карбоновые кислоты. В качестве примера можно особо упомянуть октановую кислоту. «Жирные кислоты с длинной цепью» включают, но не ограничены ими, пальмитиновую кислоту (C16:0), стеариновую кислоту (C18:0), олеиновую кислоту (C18:1), линолевую кислоту (C18:2), α -линоленовую кислоту (C18:3), арахидоновую кислоту

(C20:4), тимнодоновую кислоту (C20:5) и докозагексаеновую кислоту (C22:6). В качестве примеров можно особо упомянуть пальмитиновую кислоту и стеариновую кислоту.

Термины «включать», «содержать», «иметь», «содержать» или «относиться к» и другие их варианты в настоящем документе являются всеобъемлющими или открытыми и не исключают дополнительные, не перечисленные элементы или стадии способа, хотя указанные дополнительные, не перечисленные элементы или стадии способа не обязательно существуют (т. е. эти термины также охватывают термины «по существу состоит из» и «состоит из»).

Термин «примерно» относится к диапазону в пределах $\pm 10\%$, предпочтительно, в пределах $\pm 5\%$, и более предпочтительно, в пределах $\pm 2\%$ от указанного значения.

Числовой диапазон, указанный в настоящем документе, должен включать в себя любые и все включенные в него поддиапазоны. Например, диапазон от «1-10» следует понимать как включающий не только четко указанные значения от 1 до 10, но также любое отдельное значение (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 и 9) и любой поддиапазон (например, от 1 до 2, от 1,5 до 2,5, от 1 до 3, от 1,5 до 3,5, от 2,5 до 4 и от 3 до 4,5) в диапазоне от 1 до 10. Этот принцип также применим к диапазону, использующему только одно значение в качестве минимального или максимального значения.

Все документы, упомянутые в описании, включены в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

В первом аспекте, настоящая заявка предлагает композицию, содержащую SN-38, липид, альбумин и Span 20, которая характеризуется тем, что композиция содержит наночастицы, где в наночастицах альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и необязательно, по меньшей мере часть липида;

липид:SN-38 составляет примерно (0,1-10):1 (масс.:масс.);

альбумин:SN-38 составляет примерно (1-100):1 (масс.:масс.); и

Span 20:SN-38 составляет примерно (3-60):100 (масс.:масс.); и

где липид выбран из холестерина, производных холестерина, аналогов холестерина и эфиров жирных кислот, а также любой комбинации двух или нескольких из них.

В некоторых вариантах осуществления, липид:SN-38 составляет примерно (0,5-6):1 (масс.:масс.), например, примерно (0,5-5):1 (масс.:масс.), примерно (0,5-3):1 (масс.:масс.), примерно (1-4):1 (масс.:масс.), примерно (1,2-4):1 (масс.:масс.), примерно (1,4-2):1 (масс.:масс.), примерно (1,5- 2,5):1 (масс.:масс.) или примерно 1:1 (масс.:масс.).

В некоторых вариантах осуществления, альбумин:SN-38 составляет примерно (1-50):1 (масс.:масс.), например, примерно (3-25):1 (масс.:масс.), примерно (5-25):1 (масс.:масс.), примерно (5-20):1 (масс.:масс.) или примерно (5-18):1 (масс.:масс.), примерно (6-15):1 (масс.:масс.), примерно (7-15):1 (масс.:масс.), примерно (6-12):1 (масс.:масс.), примерно (7-12):1 (масс.:масс.), примерно (9-11):1 (масс.:масс.) или примерно 10:1 (масс.:масс.).

В некоторых вариантах осуществления, Span 20:SN-38 составляет примерно (4-60):100 (масс.:масс.), например, примерно (5-60):100 (масс.:масс.), примерно (6-60):100

(масс.:масс.), примерно (7-55):100 (масс.:масс.), примерно (8-50):100 (масс.:масс.), примерно (10-45):100 (масс.:масс.), примерно (12-40):100 (масс.:масс.), примерно (14-35):100 (масс.:масс.), примерно (15-30):100 (масс.:масс.), примерно (16-25):100 (масс.:масс.) или примерно (18-20):100 (масс.:масс.).

В некоторых вариантах осуществления, альбумин:липид составляет примерно (1-100):1 (масс.:масс.), примерно (2-20):1 (масс.:масс.), примерно (3-15):1 (масс.:масс.) или примерно (5-10):1 (масс.:масс.), например, примерно 7:1 (масс.:масс.) или примерно 10:1 (масс.:масс.).

В некоторых вариантах осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, липида и альбумина в композиции, SN-38 содержится в количестве от примерно 1% масс./масс. до примерно 25% масс./масс. В некоторых вариантах осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, липида и альбумина в композиции, липид содержится в количестве от примерно 1% масс./масс. до примерно 35% масс./масс. В некоторых вариантах осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, липида и альбумина в композиции, содержание альбумина составляет от примерно 50% масс./масс. до примерно 98% масс./масс.

В некоторых вариантах осуществления, исходя из общего количества SN-38, липида и альбумина в композиции, содержание SN-38 составляет от примерно 3% масс./масс. до примерно 20% масс./масс. В некоторых вариантах осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, липида и альбумина в композиции, липид содержится в количестве от примерно 2% масс./масс. до примерно 30% масс./масс. В некоторых вариантах осуществления, исходя из общего количества SN-38, липида и альбумина в композиции, содержание альбумина составляет от примерно 55% масс./масс. до примерно 95% масс./масс.

В некоторых вариантах осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, липида и альбумина в композиции, SN-38 содержится в количестве от примерно 3% масс./масс. до примерно 15% масс./масс., например, примерно 4% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 6,5% масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 7,5% масс./масс., примерно 8% масс./масс., примерно 8,5% масс./масс., примерно 9% масс./масс., примерно 10% масс./масс., примерно 11% масс./масс., примерно 12% масс./масс., примерно 13% масс./масс. или примерно 14% масс./масс.

В некоторых вариантах осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, липида и альбумина в композиции, липид содержится в количестве от примерно 3% масс./масс. до примерно 30% масс./масс., например, примерно 4% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 8% масс./масс., примерно 8,5% масс./масс., примерно 9% масс./масс., примерно 9,5% масс./масс., примерно 10% масс./масс., примерно 10,5% масс./масс., примерно 11% масс./масс., примерно 11,5% масс./масс., примерно 12% масс./масс., примерно 12,5% масс./масс., примерно 13% масс./масс., примерно 13,5% масс./масс., примерно 14%

масс./масс., примерно 15% масс./масс., примерно 16% масс./масс., примерно 17% масс./масс., примерно 18% масс./масс., примерно 19% масс./масс., примерно 20% масс./масс., примерно 21% масс./масс., примерно 24% масс./масс., примерно 26% масс./масс. или примерно 28% масс./масс.

В некоторых вариантах осуществления, исходя из общего количества SN-38, липида и альбумина в композиции, содержание альбумина составляет от примерно 60% масс./масс. до примерно 94% масс./масс., например, от примерно 64% масс./масс. до примерно 93% масс./масс., от примерно 66% масс./масс. до примерно 92% масс./масс., от примерно 68% масс./масс. до примерно 91% масс./масс., от примерно 70% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., от примерно 75% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., примерно 75% масс./масс., примерно 76% масс./масс., примерно 77% масс./масс., примерно 78% масс./масс., примерно 79% масс./масс., примерно 80% масс./масс., примерно 81% масс./масс., примерно 82% масс./масс., примерно 83% масс./масс., примерно 84% масс./масс., примерно 85% масс./масс., примерно 86% масс./масс., примерно 87% масс./масс., примерно 88% масс./масс. или примерно 89% масс./масс.

Без какой-либо надежды быть связанными какой-либо теорией, изобретатели обнаружили, что с увеличением количества используемых липидов композиция имеет тенденцию иметь меньший средний размер частиц, более высокую эффективность инкапсулирования и более высокую доступность SN-38; увеличение количества используемого альбумина может привести к снижению нагрузки лекарственным средством; а чрезмерно высокое содержание альбумина может также увеличивать размер наночастиц, влияя на пригодность для разработки лекарственного средства. В одном варианте осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, липида и альбумина в композиции, липид содержится в количестве от примерно 5% масс./масс. до примерно 24% масс./масс. В одном варианте осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, липида и альбумина в композиции, содержание альбумина составляет от примерно 60% масс./масс. до примерно 90% масс./масс.

С другой стороны, чрезмерно высокое содержание липидного компонента в составе может оказать неблагоприятное воздействие на индивидуума. С точки зрения снижения потребления липидов, вызванного введением композиции, ожидается, что будет предпочтительным, чтобы, исходя из общего количества SN-38, липида и альбумина в композиции, содержание липида в композиции составляло не более примерно 18% масс./масс., например, не более примерно 16% масс./масс. или не более примерно 14% масс./масс. Однако это не означает, что композиция с более высоким содержанием липидов нежелательна.

В некоторых вариантах осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, липида, альбумина и Span 20 в композиции, Span 20 содержится в количестве от примерно 0,03% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., например, от примерно 0,06% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., от примерно 0,08% масс./масс. до примерно 9% масс./масс., от примерно 0,1% масс./масс. до примерно 8% масс./масс., от примерно 0,2% масс./масс. до

примерно 7% масс./масс., от примерно 0,4% масс./масс. до примерно 6% масс./масс., от примерно 0,6% масс./масс. до примерно 5% масс./масс., от примерно 0,8% масс./масс. до примерно 4% масс./масс., от примерно 1% масс./масс. до примерно 2% масс./масс.

В некоторых вариантах осуществления, липид:SN-38 составляет примерно (1-10):1 (масс.:масс.), например, примерно (1-8):1 (масс.:масс.), примерно (1-6):1 (масс.:масс.), примерно (1-5):1 (масс.:масс.), примерно (1-4,5):1 (масс.:масс.), примерно (1-4):1 (масс.:масс.), примерно (1,2-3,8):1 (масс.:масс.), примерно 1:1 (масс.:масс.), примерно (1,4-3,6):1 (масс.:масс.), примерно (1,6-3,4):1 (масс.:масс.), примерно (1,8-3,2):1 (масс.:масс.), примерно (2-3):1 (масс.:масс.), примерно (2,2-2,8):1 (масс.:масс.), примерно (2,4-2,6):1 (масс.:масс.), примерно 1:1 (масс.:масс.) или примерно 2,5:1 (масс.:масс.). В некоторых других вариантах осуществления, липид:SN-38 составляет примерно (0,8-1,8):1 (масс.:масс.), примерно (0,9-1,7):1 (масс.:масс.) или примерно (1-1,4):1.

В некоторых вариантах осуществления, альбумин:SN-38 составляет примерно (5-40):1 (масс.:масс.), например, примерно (от 5 до менее 40):1 (масс.:масс.), примерно (5-35):1 (масс.:масс.), примерно (5-30):1 (масс.:масс.), примерно (8-25):1 (масс.:масс.), примерно (10-22,5):1 (масс.:масс.), примерно (12,5-20):1 (масс.:масс.), примерно (15-17,5):1 (масс.:масс.), примерно (16-18):1 (масс.:масс.) или примерно 10:1 (масс.:масс.). В некоторых других вариантах осуществления, альбумин:SN-38 составляет примерно (9-21):1 (масс.:масс.), примерно (9-20):1 (масс.:масс.), примерно (11-18):1 (масс.:масс.) или примерно (11,1-17,3):1 (масс.:масс.).

В некоторых вариантах осуществления Span 20:SN-38 составляет примерно (5-60):100 (масс.:масс.) например, примерно (6-60):100 (масс.:масс.), примерно (7-55):100 (масс.:масс.), примерно (8-50):100 (масс.:масс.), примерно (10-45):100 (масс.:масс.), примерно (12-40):100 (масс.:масс.), примерно (14-35):100 (масс.:масс.), примерно (15-30):100 (масс.:масс.), примерно (16-25):100 (масс.:масс.) или примерно (18-20):100 (масс.:масс.). В некоторых других вариантах осуществления, Span 20:SN-38 составляет примерно (5-10):100 (масс.:масс.), примерно (5-9):100 (масс.:масс.), примерно (6-8,6):100 (масс.:масс.), примерно (6-8):100 (масс.:масс.) или примерно (6,5-7):100 (масс.:масс.).

В некоторых вариантах осуществления, альбумин:липид составляет примерно (1-40):1 (масс.:масс.) например, примерно (от 1 до менее 40):1 (масс.:масс.), примерно (2-35):1 (масс.:масс.), примерно (3-15):1 (масс.:масс.), примерно (5-10):1 (масс.:масс.) или примерно (6-8):1 (масс.:масс.), например, примерно 7:1 (масс.:масс.) или примерно 10:1 (масс.:масс.). В некоторых вариантах осуществления альбумин:липид составляет примерно (6-21):1 (масс.:масс.), примерно (6,7-13):1 (масс.:масс.), примерно (7-13):1 (масс.:масс.) или примерно (11-12,7):1 (масс.:масс.).

В некоторых вариантах осуществления, исходя из общего количества SN-38, липида и альбумина в композиции, SN-38 содержится в количестве от примерно 2% масс./масс. до примерно 16% масс./масс. В некоторых вариантах осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, липида и альбумина в композиции, липид содержится в количестве от примерно 2% масс./масс. до примерно 35% масс./масс. В некоторых вариантах

осуществления, исходя из общего количества SN-38, липида и альбумина в композиции, содержание альбумина составляет от примерно 75% масс./масс. до примерно 96% масс./масс.

В некоторых вариантах осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, липида и альбумина в композиции, SN-38 содержится в количестве от примерно 2,5% масс./масс. до примерно 15% масс./масс., например, примерно от 4% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 9,5% масс./масс., от примерно 5% масс./масс. до примерно 9% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс./масс. В некоторых вариантах осуществления, исходя из общего количества SN-38, липида и альбумина в композиции, содержание липида в композиции составляет от примерно 2,5% масс./масс. до примерно 30% масс./масс., например, от примерно 4% масс./масс. до примерно 12,5% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., от примерно 7% масс./масс. до примерно 10% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс./масс. В некоторых вариантах осуществления, исходя из общего количества SN-38, липида и альбумина в композиции, содержание альбумина составляет от примерно 76% масс./масс. до примерно 95% масс./масс., например, от примерно 78% масс./масс. до примерно 93% масс./масс., от примерно 79% масс./масс. до примерно 91,5% масс./масс., от примерно 80% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., от примерно 82% масс./масс. до примерно 89% масс./масс. от примерно 84% масс./масс. до примерно 88% масс./масс. или от примерно 84,5% масс./масс. до примерно 87,5% масс./масс.

В некоторых вариантах осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, липида и альбумина в композиции, SN-38 содержится в количестве от примерно 3% масс./масс. до примерно 14% масс./масс., например, от примерно 3,5% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., примерно 4% масс./масс., примерно 4,2% масс./масс., примерно 4,5% масс./масс., примерно 4,6% масс./масс., примерно 4,8% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 5,5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 6,5% масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 7,5% масс./масс., примерно 7,6% масс./масс., примерно 7,8% масс./масс., примерно 8% масс./масс., примерно 8,5% масс./масс., примерно 9% масс./масс., примерно 9,2% масс./масс., примерно 9,5% масс./масс., примерно 9,6% масс./масс., примерно 9,8% масс./масс., примерно 10% масс./масс., примерно 10,5% масс./масс., примерно 11% масс./масс. или примерно 11,5% масс./масс.

В некоторых вариантах осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, липида и альбумина в композиции, липид содержится в количестве от примерно 4% масс./масс. до примерно 25% масс./масс., например, от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 20% масс./масс., примерно 4,3% масс./масс., примерно 4,5% масс./масс., примерно 4,7% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 5,5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 6,5% масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 7,5% масс./масс., примерно 7,6% масс./масс., примерно 7,8% масс./масс., примерно 8%

масс./масс., 8,5% масс./масс. примерно 9% масс./масс., примерно 9,5% масс./масс., примерно 10% масс./масс., примерно 10,5% масс./масс., примерно 11% масс./масс., примерно 11,5% масс./масс., примерно 12% масс./масс., примерно 12,1% масс./масс., примерно 12,3% масс./масс., примерно 12,5% масс./масс., примерно 13% масс./масс., примерно 13,5% масс./масс., примерно 14% масс./масс., примерно 14,5% масс./масс., примерно 15% масс./масс., примерно 15,5% масс./масс., примерно 16% масс./масс., примерно 16,5% масс./масс., примерно 17% масс./масс., примерно 17,5% масс./масс., примерно 18% масс./масс., примерно 18,5% масс./масс., примерно 19% масс./масс. или примерно 19,5% масс./масс.

В некоторых вариантах осуществления, исходя из общего количества SN-38, липида и альбумина в композиции, содержание альбумина составляет от примерно 78% масс./масс. до примерно 92% масс./масс., например, примерно 79% масс./масс., примерно 79,2% масс./масс., примерно 79,4% масс./масс., примерно 79,6% масс./масс., примерно 79,8% масс./масс., примерно 80% масс./масс., примерно 81% масс./масс., примерно 82% масс./масс., примерно 83% масс./масс., примерно 84% масс./масс., примерно 84,3% масс./масс., примерно 84,5% масс./масс., примерно 84,7% масс./масс., примерно 84,9% масс./масс., примерно 85% масс./масс., примерно 86% масс./масс., примерно 87% масс./масс., примерно 87,3% масс./масс., примерно 87,5% масс./масс., примерно 87,7% масс./масс., примерно 87,9% масс./масс., примерно 88% масс./масс. примерно 89% масс./масс., примерно 90% масс./масс., примерно 91% масс./масс., примерно 91,3% масс./масс. или примерно 91,5% масс./масс.

В некоторых вариантах осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, липида, альбумина и Span 20 в композиции, Span 20 содержится в количестве от примерно 0,14% масс./масс. до примерно 5% масс./масс., например, от примерно 0,2% масс./масс. до примерно 2,5% масс./масс., от примерно 0,22% масс./масс. до примерно 2,0% масс./масс., от примерно 0,24% масс./масс. до примерно 2% масс./масс., от примерно 0,26% масс./масс. до примерно 1,5% масс./масс., от примерно 0,28% масс./масс. до примерно 1,0% масс./масс., от примерно 0,3% масс./масс. до примерно 0,9% масс./масс., от примерно 0,32% масс./масс. до примерно 0,8% масс./масс., от примерно 0,34% масс./масс. до примерно 0,7% масс./масс., от примерно 0,36% масс./масс. до примерно 0,6% масс./масс., от примерно 0,38% масс./масс. до примерно 0,58% масс./масс., от примерно 0,4% масс./масс. до примерно 0,56% масс./масс., от примерно 0,42% масс./масс. до примерно 0,54% масс./масс., от примерно 0,44% масс./масс. до примерно 0,52% масс./масс., примерно 0,46% масс./масс., примерно 0,48% масс./масс. или примерно 0,5% масс./масс. В некоторых других вариантах осуществления, Span 20 содержится в количестве от примерно 0,2% масс./масс. до примерно 0,8% масс./масс., от примерно 0,24% масс./масс. до примерно 0,7% масс./масс., от примерно 0,26% масс./масс. до примерно 0,7% масс./масс., от примерно 0,3% масс./масс. до примерно 0,65% масс./масс., от примерно 0,36% масс./масс. до примерно 0,6% масс./масс., от примерно 0,4% масс./масс. до примерно 0,58% масс./масс., от примерно 0,44% масс./масс. до примерно 0,56% масс./масс., от примерно 0,48% масс./масс. до

примерно 0,54% масс./масс. или от примерно 0,5% масс./масс. до примерно 0,52% масс./масс.

В некоторых вариантах осуществления, содержание SN-38, присутствующего в наночастицах, составляет по меньшей мере примерно 1% масс./масс. или по меньшей мере примерно 2% масс./масс., например, по меньшей мере примерно 3% масс./масс., от примерно 3% масс./масс. до примерно 13% масс./масс., от примерно 4% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., примерно 4% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 8% масс./масс., примерно 9% масс./масс., примерно 10% масс./масс. или примерно 11% масс./масс. от общего количества SN-38, липида и альбумина в композиции.

В некоторых вариантах осуществления, содержание SN-38, присутствующего в наночастицах, составляет от примерно 80% масс./масс. до примерно 99% масс./масс., например, от примерно 88% масс./масс. до примерно 98% масс./масс., примерно 89% масс./масс. примерно 90% масс./масс., примерно 91% масс./масс., примерно 92% масс./масс., примерно 93% масс./масс., примерно 94% масс./масс., примерно 95% масс./масс., примерно 96% масс./масс., или примерно 97% масс./масс. от общего количества SN-38 в композиции.

В некоторых вариантах осуществления, производные холестерина выбраны из эфиров, образованных холестерином и органическими кислотами, предпочтительно, выбранных из холестеринилпальмитата, холестеринкаприлата и их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления, аналоги холестерина выбраны из витамина D2, витамина D3 и их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления, сложные эфиры жирных кислот выбраны из глицеридов жирных кислот, предпочтительно, глицеридов жирных кислот с длинной цепью, предпочтительно глицерилстеарата, и более предпочтительно, глицерилмоностеарата.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления, липид выбран из холестерина, холестеринпальмитата, холестеринкаприлата, витамина D2, витамина D3, глицерилмоностеарата и любой комбинации двух или более из них.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления, липид выбран из холестерина, холестеринпальмитата, витамина D3, глицерилмоностеарата и любой комбинации двух или более из них.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления, липид представляет собой: холестерин, холестеринпальмитат, витамин D3 или глицерилмоностеарат; смесь холестерина и холестеринилпальмитата; смесь холестерина и витамина D3; смесь холестерина и моностеарата глицерина; или смесь холестеринпальмитата и глицерилмоностеарата.

В некоторых более предпочтительных вариантах осуществления, липид представляет собой холестерин. Предпочтительно, холестерин используют в качестве единственного липида. В некоторых из таких вариантов осуществления, холестерин: SN-38

составляет примерно (1-6):1 (масс.:масс.), например, примерно (1,2-5):1 (масс.:масс.), например, примерно (1,4-4):1 (масс.:масс.), примерно 3:1 (масс.:масс.), примерно 2:1 (масс.:масс.) или примерно 1:1 (масс.:масс.). В некоторых других вариантах осуществления, холестерин:SN-38 составляет примерно (0,8-1,8):1 (масс.:масс.), примерно (0,9-1,7):1 (масс.:масс.), примерно (1-1,4):1. В некоторых из таких вариантов осуществления, альбумин:SN-38 составляет примерно (3-25):1 (масс.:масс.), примерно (4-20):1 (масс.:масс.), примерно (5-15):1 (масс.:масс.), примерно (6-12):1 (масс.:масс.), примерно (7-12):1 (масс.:масс.), примерно (9-11):1 (масс.:масс.) или примерно 10:1 (масс.:масс.). В некоторых других вариантах осуществления, альбумин:SN-38 составляет примерно (9-21):1 (масс.:масс.), примерно (9-20):1 (масс.:масс.), примерно (11-18):1 (масс.:масс.), или примерно (11,1-17,3):1 (масс.:масс.). В некоторых таких вариантах осуществления, соотношение альбумин:холестерин составляет примерно (2-20):1 (масс.:масс.) например, примерно (3-15):1 (масс.:масс.), примерно (5-10):1 (масс.:масс.), или примерно 7:1 (масс.:масс.). В некоторых других вариантах осуществления, соотношение альбумин:холестерин составляет примерно (6-21):1 (масс.:масс.), примерно (6,7-13):1 (масс.:масс.), примерно (7-13):1 (масс.:масс.), или примерно (11-12,7):1 (масс.:масс.).

В некоторых из таких вариантов осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, холестерина и альбумина в композиции, SN-38 содержится в количестве от примерно 3% масс./масс. до примерно 15% масс./масс., например, от примерно 4% масс./масс. до примерно 15% масс./масс., от примерно 6% масс./масс. до примерно 10% масс./масс. или от примерно 8% масс./масс. до примерно 12% масс./масс. В некоторых других вариантах осуществления, SN-38 содержится в количестве от примерно 4% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 9,5% масс./масс., от примерно 5% масс./масс. до примерно 9% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс./масс. В некоторых из таких вариантов осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, холестерина и альбумина в композиции, холестерин содержится в количестве от примерно 5% масс./масс. до примерно 25% масс./масс., например, от примерно 6% масс./масс. до примерно 22% масс./масс. или от примерно 15% масс./масс. до примерно 20%. В некоторых других вариантах осуществления, холестерин содержится в количестве от примерно 4% масс./масс. до примерно 12,5% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., от примерно 7% масс./масс. до примерно 10% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс./масс. В некоторых из таких вариантов осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, холестерина и альбумина в композиции, содержание альбумина составляет от примерно 64% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., например, от примерно 70% масс./масс. до примерно 90% масс./масс. В некоторых других вариантах осуществления, содержание альбумина составляет от примерно 78% масс./масс. до примерно 93% масс./масс., от примерно 79% масс./масс. до примерно 91,5% масс./масс., от примерно 80% масс./масс. до примерно 90% масс./масс. от примерно 82% масс./масс. до примерно 89% масс./масс., от примерно 84% масс./масс. до примерно 88% масс./масс. или от примерно 84,5% масс./масс.

до примерно 87,5% масс./масс. В некоторых из таких вариантов осуществления, содержание SN-38, присутствующего в наночастицах, составляет по меньшей мере примерно 3% масс./масс., например, от примерно 3% масс./масс. до примерно 13% масс./масс., от примерно 4% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., примерно 4% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 8% масс./масс., примерно 9% масс./масс., примерно 10% масс./масс. или примерно 11% масс./масс. от общего количества SN-38, холестерина и альбумина в композиции.

В некоторых других вариантах осуществления, липид представляет собой холестеринпальмитат. В некоторых вариантах осуществления, липид представляет собой витамин D3. В некоторых вариантах осуществления, липид представляет собой глицерилмоностеарат. В некоторых вариантах осуществления, в качестве единственного липида используют холестеринпальмитат, витамин D3 или глицерилмоностеарат.

Также может подразумеваться, что липид представляет собой смесь холестерина и моностеарата глицерина, где холестерин:моностеарат глицерина имеет соотношение, например, примерно (0,2-5):1 (масс.:масс.), примерно (0,5-3):1 (масс.:масс.), примерно (0,5-2):1 (масс.:масс.) или примерно 1:1 (масс.:масс.).

В некоторых вариантах осуществления, липид представляет собой смесь пальмитата холестерина и моностеарата глицерина, где пальмитат холестерина:моностеарат глицерина составляет, например, примерно (0,2-5):1 (масс.:масс.), примерно (0,5-3):1 (масс.:масс.), примерно (0,5-2):1 (масс.:масс.) или примерно 1:1 (масс.:масс.).

В некоторых вариантах осуществления, липид представляет собой смесь холестерина и холестеринилпальмитата, где холестерин:холестеринилпальмитат составляет, например, примерно (0,2-5):1 (масс.:масс.), примерно (0,5-3):1 (масс.:масс.), примерно (0,5-2):1 (масс.:масс.) или примерно 1:1 (масс.:масс.).

Что касается вариантов осуществления, включающих липид, отличный от холестерина, или комбинацию холестерина и другого липида, липид:SN-38 представляет собой, например, (1-6):1 (масс.:масс.), примерно (1,2-5):1 (масс.:масс.), примерно (1,4-4,5):1 (масс.:масс.), примерно 4,3:1 (масс.:масс.), примерно 3:1 (масс.:масс.), примерно 1:1 (масс.:масс.), или примерно 2:1 (масс.:масс.). В некоторых из таких вариантов осуществления, альбумин:SN-38 составляет, например, примерно (5-25):1 (масс.:масс.), примерно (10-20):1 (масс.:масс.), примерно (6-15):1 (масс.:масс.), примерно (7-15):1 (масс.:масс.), примерно (9-12):1 (масс.:масс.), примерно (9-11):1 (масс.:масс.), примерно 9,5:1 (масс.:масс.) или примерно 10:1 (масс.:масс.). В некоторых из таких вариантов осуществления, альбумин:липид имеет соотношение, например, примерно (2-10):1 (масс.:масс.), примерно (3-7):1 (масс.:масс.) или примерно (4-6):1 (масс.:масс.). В некоторых из таких вариантов осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, липида и альбумина в композиции, SN-38 содержится в количестве, например, от примерно 5% масс./масс. до примерно 15% масс./масс. от примерно 6% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., от примерно 7% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., от примерно 8%

масс./масс. или примерно 9% масс./масс. В некоторых из таких вариантов осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, липида и альбумина в композиции, липид содержится в количестве, например, от примерно 5% масс./масс. до примерно 32% масс./масс. от примерно 10% масс./масс. до примерно 30% масс./масс., примерно 18% масс./масс., примерно 20% масс./масс., примерно 22% масс./масс., примерно 24% масс./масс., примерно 26% масс./масс., примерно 28% масс./масс. или примерно 29% масс./масс. В некоторых из таких вариантов осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, липида и альбумина в композиции, содержание альбумина составляет, например, от примерно 60% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., от примерно 64% масс./масс. до примерно 85% масс./масс., от примерно 70% масс./масс. до примерно 80% масс./масс. или примерно 75% масс./масс. В некоторых из таких вариантов осуществления, содержание SN-38, присутствующего в наночастицах, составляет по меньшей мере примерно 3% масс./масс., например, от примерно 3% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., от примерно 4% масс./масс. до примерно 9% масс./масс., примерно 4% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 7% масс./масс. или примерно 8% масс./масс. от общего количества SN-38, липида и альбумина в композиции.

В некоторых вариантах осуществления, описанных выше, композиция находится в жидкой, полутвердой или твердой форме.

В некоторых вариантах осуществления, композиция находится в твердой форме, предпочтительно, в форме порошка. Более предпочтительно, композиция представляет собой лиофилизированный порошок.

В некоторых из таких вариантов осуществления, SN-38 присутствует в композиции предпочтительно в аморфной и/или нанокристаллической форме, по данным электронной микроскопии или рентгеноструктурного (Cu-K α) анализа. Нанокристалл может иметь размер частиц в диапазоне примерно 30-500 нм, предпочтительно, примерно 50-200 нм. SN-38 в нанокристаллической форме составляет 75% или выше, например, 80%, 85%, 90% или выше, от общего количества SN-38.

Без какой-либо надежды быть связанными какой-либо теорией, в композиции настоящей заявки Span 20 играет роль в улучшении стабильности композиции, регулировании размера наночастиц и повышении их дисперсности.

В некоторых вариантах осуществления, композиция не содержит дополнительного стабилизатора. В некоторых других вариантах осуществления, композиция предпочтительно также содержит дополнительный стабилизатор, например, стабилизатор для лиофилизации, где дополнительный стабилизатор находится в таком количестве, что при восстановлении композиции с образованием водной композиции (включая раствор и эмульсию), дополнительный стабилизатор, который содержится в количестве по меньшей мере примерно 2% масс./об., например, по меньшей мере примерно 3% масс./об., по меньшей мере примерно 5% масс./об., от примерно 5% масс./об. до примерно 30% масс./об., от примерно 10% масс./об. до примерно 25% масс./об. или от примерно 15% масс./об. до

примерно 20% масс./об.

В некоторых из таких вариантов осуществления, композиция также содержит дополнительный стабилизатор, который содержится в количестве от примерно 60% масс./масс. до примерно 98% масс./масс., например, от примерно 65% масс./масс. до примерно 97% масс./масс., от примерно 68% масс./масс. от примерно 96% масс./масс., от примерно 69% масс./масс. до примерно 95% масс./масс., от примерно 70% масс./масс. до примерно 94% масс./масс., от примерно 71% масс./масс. до примерно 93% масс./масс., от примерно 72% масс./масс. до примерно 92% масс./масс., примерно 73% масс./масс., примерно 74% масс./масс., примерно 75% масс./масс., примерно 76% масс./масс., примерно 77% масс./масс., примерно 78% масс./масс., примерно 79% масс./масс., примерно 80% масс./масс., примерно 81% масс./масс., примерно 82% масс./масс., примерно 83% масс./масс., примерно 84% масс./масс., примерно 85% масс./масс., примерно 86% масс./масс., примерно 87% масс./масс., примерно 88% масс./масс., примерно 89% масс./масс., примерно 90% масс./масс. или примерно 91% масс./масс., в расчете на общее количество композиции.

В некоторых вариантах осуществления, когда композицию восстанавливают с образованием водной композиции (включая раствор и эмульсию), которая содержится в количестве SN-38 от примерно 0,1 мкг/мл до примерно 30,0 мг/мл (или значения содержания SN-38, описанные ниже в отношении водной композиции), наночастицы имеют средний размер частиц примерно от 50 до 200 нм, например, примерно от 90 до 150 нм, примерно от 95 до 140 нм, примерно от 100 до 130 нм, примерно от 105 нм до 125 нм или примерно от 110 до 120 нм.

В некоторых других вариантах осуществления, композиция представляет собой водную композицию в жидкой форме, включая раствор и эмульсию.

В некоторых вариантах осуществления, композиция в жидкой форме содержит SN-38 в форме нанокристаллов и/или везикул. Диапазон размеров частиц нанокристаллов может составлять примерно 30-500 нм, предпочтительно, примерно 50-200 нм.

В некоторых из таких вариантов осуществления, композиция находится в форме раствора; и в некоторых из таких вариантов осуществления, композиция находится в форме эмульсии.

Авторы изобретения обнаружили, что водная композиция по настоящей заявке обладает превосходной стабильностью при разведении. В некоторых вариантах осуществления, при разведении (например, с использованием 1 x PBS при pH примерно 7,4) композиция приводит к содержанию SN-38 примерно 4 мкг/мл или ниже, например, примерно 2 мкг/мл или ниже, примерно 1 мкг/мл или ниже или примерно 0,4 мкг/мл или ниже, например, примерно 0,1 мкг/мл или 0,04 мкг/мл, в разведенной композиции, наночастицы не подвергаются распаду. Благодаря превосходной стабильности, водная композиция может существовать в виде концентрированного раствора или разведенного раствора.

Следовательно, различные компоненты водной композиции могут содержаться в

широком диапазоне. В некоторых из таких вариантов осуществления, в пересчете на общее количество композиции, SN-38 содержится в количестве от примерно 0,1 мкг/мл до примерно 30,0 мг/мл, от примерно 0,2 мкг/мл до примерно 27,0 мг/мл, от примерно 0,5 мкг/мл до примерно 24,0 мг/мл, от примерно 1,0 мкг/мл до примерно 21,0 мг/мл, от примерно 5,0 мкг/мл до примерно 18,0 мг/мл, от примерно 10,0 мкг/мл до примерно 15,0 мг/мл, от примерно 20,0 мкг/мл до примерно 12 мг/мл, от примерно 25,0 мкг/мл до примерно 9 мг/мл, от примерно 50,0 мкг/мл до примерно 6,0 мг/мл или от примерно 100,0 мкг/мл до примерно 3,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, в пересчете на общее количество композиции, липид содержится в количестве от примерно 0,05 мкг/мл до примерно 100,0 мг/мл, от примерно 0,1 мкг/мл до примерно 90,0 мг/мл, от примерно 0,25 мкг/мл до примерно 80,0 мг/мл, от примерно 0,5 мкг/мл до примерно 70,0 мг/мл, от примерно 2,5 мкг/мл до примерно 60,0 мг/мл, от примерно 5,0 мкг/мл до примерно 50,0 мг/мл, от примерно 10,0 мкг/мл до примерно 40,0 мг /мл, от примерно 12,5 мкг/мл до примерно 30,0 мг/мл, от примерно 25,0 мкг/мл до примерно 20,0 мг/мл или от примерно 50,0 мкг/мл до примерно 10,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, в пересчете на общее количество композиции, содержание альбумина составляет от примерно 3,0 мкг/мл до примерно 300,0 мг/мл, от примерно 6,0 мкг/мл до примерно 270,0 мг/мл, от примерно 15,0 мкг/мл до примерно 240,0 мг/мл, от примерно 30,0 мкг/мл до примерно 210,0 мг/мл, от примерно 150,0 мкг/мл до примерно 180,0 мг/мл, от примерно 300,0 мкг/мл до примерно 150,0 мг/мл, от примерно 600,0 мкг/мл до примерно 120,0 мг /мл, от примерно 750,0 мкг/мл до примерно 90,0 мг/мл, от примерно 1500,0 мкг/мл до примерно 60,0 мг/мл или от примерно 3,0 мг/мл до примерно 30,0 мг/мл.

В целом, исходя из общего количества композиции, содержание SN-38 может составлять от примерно 100,0 мкг/мл до примерно 3,0 мг/мл, например, от примерно 200,0 мкг/мл до примерно 2,5 мг/мл, от примерно 300,0 мкг/мл до примерно 2,0 мг/мл, от примерно 400,0 мкг/мл до примерно 1,5 мг/мл, от примерно 500,0 мкг/мл до примерно 1,0 мг/мл или от примерно 600 мкг/мл до примерно 800 мкг/мл; и/или

содержание липида может составлять от примерно 50,0 мкг/мл до примерно 10,0 мг/мл, например, от примерно 100,0 мкг/мл до примерно 8,0 мг/мл, от примерно 200,0 мкг/мл до примерно 6,0 мг/мл, от примерно 300,0 мкг/мл до примерно 4,0 мг/мл, от примерно 400,0 мкг/мл до примерно 3,0 мг/мл, от примерно 500,0 мкг/мл до примерно 2,5 мг/мл, от примерно 600,0 мкг/мл до примерно 2,0 мг/мл, от примерно 700,0 мкг/мл до примерно от 1,5 мг/мл, от примерно 800 мкг/мл до примерно 1,0 мг/мл или от примерно 200 мкг/мл до примерно 1,5 мг/мл; и/или

содержание альбумина может составлять от примерно 3,0 мг/мл до примерно 30,0 мг/мл, например, от примерно 4,0 мг/мл до примерно 25,0 мг/мл, от примерно 5,0 мг/мл до примерно 20,0 мг/мл, ль примерно 6,0 мг/мл до примерно 15,0 мг/мл, от примерно 7,0 мг/мл до примерно 12,0 мг/мл или от примерно 8,0 мг/мл до примерно 10,0 мг/мл.

В идеале, в водной композиции (включая раствор и эмульсию) наночастицы имеют средний размер частиц не более примерно 200 нм, например, не более примерно 150 нм, и предпочтительно, средний размер частиц наночастиц все еще отвечает требованиям, описанным выше, после хранения в течение определенного времени перед введением. Авторы изобретения обнаружили, что водная композиция по настоящей заявке обладает такими превосходными свойствами.

В некоторых вариантах осуществления, наночастицы имеют средний размер примерно от 50 до 200 нм, например, примерно от 90 до 150 нм или примерно от 100 до 130 нм.

В некоторых вариантах осуществления, после хранения при 4°C в течение 24 часов, наночастицы имеют средний размер частиц примерно от 50 до 200 нм, например, примерно от 90 до 150 нм или примерно от 100 до 130 нм.

В некоторых вариантах осуществления, наночастицы имеют коэффициент распределения частиц по размерам (PDI) не более примерно 0,30, например, не более примерно 0,2, не более примерно 0,10 или не более примерно 0,01.

В некоторых вариантах осуществления, композиция имеет дзета-потенциал от примерно -35 мВ до примерно -20 мВ, например, примерно -31 мВ.

В некоторых из таких вариантов осуществления, композиция не содержит дополнительный стабилизатор. В некоторых из таких вариантов осуществления, композиция также содержит дополнительный стабилизатор, который содержится в количестве по меньшей мере примерно 2% масс./об., предпочтительно, по меньшей мере примерно 3% масс./об., например, по меньшей мере примерно 5% масс./об., от примерно 5% масс./об. до примерно 30% масс./об., от примерно 10% масс./об. до примерно 25% масс./об. или от примерно 15% масс./об. до примерно 20% масс./об., в расчете на общее количество композиции.

Дополнительный стабилизатор, описанный выше, может быть выбран из альбуминов (таких как сывороточный альбумин человека, рекомбинантный альбумин человека, бычий сывороточный альбумин и сухое обезжиренное молоко), моносахаридов, дисахаридов, полисахаридов и любой их комбинации, предпочтительно, выбран из глюкозы и сахарозы, предпочтительно, сахарозы.

Использование дополнительного стабилизатора способствует сохранению среднего размера наночастиц. Авторы изобретения обнаружили, что наличие дополнительного стабилизатора снижает увеличение среднего размера наночастиц в водной композиции после хранения при 4°C в течение 24 часов по сравнению с отсутствием дополнительного стабилизатора. Между тем, что касается композиции, в итоге предложенной в форме лиофилизированного порошка, использование дополнительных стабилизаторов, в частности, сахаридных стабилизаторов, также обеспечивает дополнительные преимущества, поскольку они могут одновременно действовать как эксципиенты для лиофилизации в ходе лиофилизации водной композиции так, чтобы можно было избежать использования других эксципиентов для лиофилизации, в частности, альбуминов

(например, HSA), используемых в качестве эксципиентов для лиофилизации в известном уровне техники, что обеспечивает экономическую эффективность и способствует снижению риска лекарственной анафилаксии. Поэтому в некоторых вариантах осуществления, композиция предпочтительно не содержит дополнительный стабилизатор лиофилизации. Конечно, композиция также может включать дополнительный эксципиент для лиофилизации, такой как один или несколько из сахарозы, маннита, лактозы, мальтозы, трегалозы и декстрана, где это необходимо.

В первой подгруппе первого аспекта, настоящая заявка предлагает композицию, содержащую SN-38, липид, альбумин и Span 20, где липид представляет собой холестерин, характеризующуюся тем, что композиция содержит наночастицы, где в наночастицах альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и необязательно, по меньшей мере часть липида,

где:

холестерин:SN-38 в некоторых вариантах осуществления составляет примерно (1-3):1 (масс.:масс.), например, примерно (1,2-2,5):1 (масс.:масс.), примерно (1,4-2):1 (масс.:масс.), примерно (1,5-2):1 (масс.:масс.), примерно (1,3-1,8):1 (масс.:масс.), примерно (1,4-1,6):1 (масс.:масс.), примерно (1,5-1,7):1 (масс.:масс.), примерно (1,2-1,5):1 (масс.:масс.), примерно 1:1 (масс.:масс.) или примерно (1,4-1,5):1 (масс.:масс.), или в некоторых других вариантах осуществления, примерно (0,8-1,8):1 (масс.:масс.), примерно (0,9-1,7):1 (масс.:масс.) или примерно (1-1,4):1;

альбумин:SN-38 в некоторых вариантах осуществления составляет примерно (5-15):1 (масс.:масс.), например, примерно (5-12):1 (масс.:масс.), примерно (6-12):1 (масс.:масс.) или примерно (7-12):1 (масс.:масс.), примерно (9-11):1 (масс.:масс.), примерно (10-12):1 (масс.:масс.) или примерно 11:1 (масс.:масс.), или в некоторых других вариантах осуществления, примерно (9-21):1 (масс.:масс.), примерно (9-20):1 (масс.:масс.), примерно (11-18):1 (масс.:масс.) или примерно (11,1-17,3):1 (масс.:масс.);

альбумин:холестерин в некоторых вариантах осуществления составляет примерно (3-10):1 (масс.:масс.), примерно (4-8):1 (масс.:масс.) или примерно (5-7):1 (масс.:масс.), или в некоторых других вариантах осуществления, примерно (6-21):1 (масс.:масс.), примерно (6,7-13):1 (масс.:масс.), примерно (7-13):1 (масс.:масс.) или примерно (11-12,7):1 (масс.:масс.); и

Span 20:SN-38 такой, как описано выше.

В некоторых вариантах осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, холестерина и альбумина в композиции, SN-38 содержится в количестве от примерно 6% масс./масс. до примерно 14% масс./масс., например, от примерно 6,5% масс./масс. до примерно 13% масс./масс., от примерно 7% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., от примерно 8% масс./масс. до примерно 11% масс./масс., от примерно 8,5% масс./масс. до примерно 10% масс./масс. или примерно 9% масс./масс. В некоторых других вариантах осуществления, SN-38 содержится в количестве от примерно 4% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., от примерно 4,5%

масс./масс. до примерно 9,5% масс./масс., от примерно 5% масс./масс. до примерно 9% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс./масс. В некоторых вариантах осуществления, исходя из общего количества SN-38, холестерина и альбумина в композиции, холестерин содержится в количестве от примерно 8% масс./масс. до примерно 18% масс./масс., например, от 8,5% масс./масс. до примерно 17% масс./масс., от примерно 9% масс./масс. до примерно 16% масс./масс., от примерно 9,5% масс./масс. до примерно 16% масс./масс., от примерно 10% масс./масс. до примерно 16% масс./масс., от примерно 10,5% масс./масс. до примерно 16% масс./масс., от примерно 11% масс./масс. до примерно 15% масс./масс., от примерно 11,5% масс./масс. до примерно 15% масс./масс., от примерно 12% масс./масс. до примерно 15% масс./масс., от примерно 12,5% масс./масс. до примерно 14% масс./масс. или от примерно 13% масс./масс. до примерно 13,5% масс./масс. В некоторых других вариантах осуществления, холестерин содержится в количестве от примерно 4% масс./масс. до примерно 12,5% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., от примерно 7% масс./масс. до примерно 10% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс./масс. В некоторых вариантах осуществления, исходя из общего количества SN-38, холестерина и альбумина в композиции, содержание альбумина составляет от примерно 66% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., например, от примерно 68% масс./масс. до примерно 89% масс./масс., от примерно 70% масс./масс. до примерно 88% масс./масс., от примерно 70% масс./масс. до примерно 87% масс./масс., от примерно 70% масс./масс. до примерно 86% масс./масс., от примерно 70% масс./масс. до примерно 85% масс./масс., от примерно 75% масс./масс. до примерно 85% масс./масс., примерно 76% масс./масс., примерно 77% масс./масс., примерно 78% масс./масс., примерно 79% масс./масс., примерно 80% масс./масс., примерно 81% масс./масс., примерно 82% масс./масс., примерно 83% масс./масс. или примерно 84% масс./масс. В некоторых других вариантах осуществления, содержание альбумина составляет от примерно 78% масс./масс. до примерно 93% масс./масс., от примерно 79% масс./масс. до примерно 91,5% масс./масс., от примерно 80% масс./масс. до примерно 90% масс./масс. от примерно 82% масс./масс. до примерно 89% масс./масс., от примерно 84% масс./масс. до примерно 88% масс./масс. или от примерно 84,5% масс./масс. до примерно 87,5% масс./масс.

Во второй подгруппе первого аспекта, настоящая заявка предлагает композицию, содержащую SN-38, липид, альбумин и Span 20, где липид представляет собой холестерин, характеризующуюся тем, что композиция содержит наночастицы, где в наночастицах альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и необязательно, по меньшей мере часть липида,

где:

холестерин:SN-38 в некоторых вариантах осуществления составляет примерно (1-5):1 (масс.:масс.) например, примерно (1-4,5):1 (масс.:масс.), примерно (1-4):1 (масс.:масс.), примерно (1,2-3,8):1 (масс.:масс.), примерно (1,4-3,6):1 (масс.:масс.), примерно (1,6-3,4):1 (масс.:масс.), примерно (1,8-3,2):1 (масс.:масс.), примерно (2-3):1 (масс.:масс.), примерно

(2,2-2,8):1 (масс.:масс.), примерно (2,4-2,6):1 (масс./масс.), примерно 2,5:1 (масс.:масс.) или примерно 1:1 (масс.:масс.), или в некоторых других вариантах осуществления, примерно (0,8-1,8):1 (масс.:масс.), примерно (0,9-1,7):1 (масс.:масс.) или примерно (1-1,4):1; и/или

альбумин:SN-38, в некоторых вариантах осуществления, составляет примерно (5-25):1 (масс.:масс.), например, примерно (5-20):1 (масс.:масс.), примерно (6-19):1 (масс.:масс.), примерно (7-18):1 (масс.:масс.), примерно (8-16):1 (масс.:масс.), примерно (9-14):1 (масс.:масс.) или примерно (10-12):1 (масс./масс.), или в некоторых других вариантах осуществления, примерно (9-21):1 (масс./масс.), примерно (9-20):1 (масс./масс.), примерно (11-18):1 (масс.:масс.) или примерно (11,1-17,3):1 (масс.:масс.); и/или

альбумин:холестерин, в некоторых вариантах осуществления, составляет примерно (5-25):1 (масс.:масс.), например, примерно (6-20):1 (масс.:масс.), примерно (7-18):1 (масс.:масс.), примерно (8-16):1 (масс.:масс.), примерно (9-14):1 (масс.:масс.), или примерно (10-12):1 (масс.:масс.), или в некоторых других вариантах осуществления, примерно (6-21):1 (масс.:масс.), примерно (6,7-13):1 (масс.:масс.), примерно (7-13):1 (масс.:масс.), примерно (11-12,7):1 (масс.:масс.); и/или

Span 20:SN-38, в некоторых вариантах осуществления, составляет примерно (5-15):100 (масс.:масс.), например, примерно (6-12):100 (масс.:масс.), примерно (7-10):100 (масс.:масс.) или примерно 7,5:100 (масс.:масс.), или в некоторых других вариантах осуществления, примерно (5-10):100 (масс.:масс.), примерно (5-9):100 (масс.:масс.), примерно (6-8,6):100 (масс.:масс.), примерно (6-8):100 (масс.:масс.) или примерно (6,5-7):100 (масс.:масс.).

В некоторых из таких вариантов осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, холестерина и альбумина в композиции, SN-38 содержится в количестве от примерно 3% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., например, от примерно 3,5% масс./масс. до примерно 9,5% масс./масс., примерно 4% масс./масс., примерно 4,5% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 5,5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 6,5% масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 7,5% масс./масс., примерно 8% масс./масс., примерно 8,5% масс./масс. или примерно 9% масс./масс. В некоторых других вариантах осуществления, SN-38 содержится в количестве от примерно 4% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 9,5% масс./масс., от примерно 5% масс./масс. до примерно 9% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс./масс.

В некоторых из таких вариантов осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, холестерина и альбумина в композиции, холестерин содержится в количестве от примерно 4% масс./масс. до примерно 18% масс./масс., например, от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 17,5% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 5,5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 6,5% масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 7,5% масс./масс., примерно 8% масс./масс., 8,5% масс./масс., примерно 9% масс./масс., примерно 9,5% масс./масс., примерно 10% масс./масс., примерно 10,5% масс./масс., примерно 11% масс./масс., примерно 11,5% масс./масс., примерно 12%

масс./масс., примерно 12,5% масс./масс., примерно 13% масс./масс., примерно 13,5% масс./масс., примерно 14% масс./масс., примерно 14,5% масс./масс., примерно 15% масс./масс., примерно 15,5% масс./масс., примерно 16% масс./масс., примерно 16,5% масс./масс. или примерно 17% масс./масс. В некоторых других вариантах осуществления, холестерин содержится в количестве от примерно 4% масс./масс. до примерно 12,5% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., от примерно 7% масс./масс. до примерно 10% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс./масс.

В некоторых из таких вариантов осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, холестерина и альбумина в композиции, содержание альбумина составляет от примерно 78% масс./масс. до примерно 92% масс./масс., например, примерно 79% масс./масс., примерно 80% масс./масс., примерно 81% масс./масс., примерно 82% масс./масс., примерно 83% масс./масс., примерно 84% масс./масс., примерно 85% масс./масс., примерно 86% масс./масс., примерно 87% масс./масс., примерно 88% масс./масс., примерно 89% масс./масс., примерно 90% масс./масс. или примерно 91% масс./масс. В некоторых других вариантах осуществления, содержание альбумина составляет от примерно 78% масс./масс. до примерно 93% масс./масс., от примерно 79% масс./масс. до примерно 91,5% масс./масс., от примерно 80% масс./масс. до примерно 90% масс./масс. от примерно 82% масс./масс. до примерно 89% масс./масс., от примерно 84% масс./масс. до примерно 88% масс./масс. или от примерно 84,5% масс./масс. до примерно 87,5% масс.

В некоторых дополнительных вариантах осуществления, изобретение предлагает композицию, описанную выше, где:

холестерин:SN-38 составляет примерно (1-2,5):1 (масс.:масс.), например, примерно 1,25:1 (масс.:масс.) или примерно 1:1 (масс.:масс.); и/или

альбумин:SN-38 составляет примерно (8-25):1 (масс.:масс.), например, примерно (10-20):1 (масс.:масс.), примерно (12-18):1 (масс.:масс.), примерно (12,5-17):1 (масс.:масс.), примерно (15-16):1 (масс./масс.), примерно 10:1 (масс./масс.) или примерно 16,7:1 (масс./масс.); и/или

альбумин:холестерин составляет примерно (5-10):1 (масс.:масс.), примерно (6-9):1 (масс.:масс.), примерно (7-8):1 (масс.:масс.), примерно 10:1 (масс.:масс.) или примерно 6,7:1 (масс.:масс.); и/или

Span 20:SN-38 составляет примерно (5-40):100 (масс./масс.), например, примерно (6-30):100 (масс./масс.), примерно (7-25):100 (масс./масс.), примерно (8-20):100 (масс.:масс.), примерно (9-15):100 (масс.:масс.) или примерно (10-12):100 (масс./масс.).

В некоторых вариантах осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, холестерина и альбумина в композиции, SN-38 содержится в количестве от примерно 3% масс./масс. до примерно 9% масс./масс., например, от примерно 3,5% масс./масс. до примерно 8,5% масс./масс., примерно 4% масс./масс., примерно 4,5% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 5,5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 6,5%

масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 7,5% масс./масс. или примерно 8% масс./масс.

В некоторых вариантах осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, холестерина и альбумина в композиции, холестерин содержится в количестве от примерно 8% масс./масс. до примерно 18% масс./масс., например, от примерно 8,5% масс./масс. до примерно 17,5% масс./масс., примерно 9% масс./масс., примерно 9,5% масс./масс., примерно 10% масс./масс., примерно 10,5% масс./масс., примерно 11% масс./масс., примерно 11,5% масс./масс. примерно 12% масс./масс., примерно 12,5% масс./масс., примерно 13% масс./масс., примерно 13,5% масс./масс., примерно 14% масс./масс., примерно 14,5% масс./масс., примерно 15% масс./масс., примерно 15,5% масс./масс., примерно 16% масс./масс., примерно 16,5% масс./масс. или примерно 17% масс./масс.

В некоторых вариантах осуществления, в пересчете на общее количество SN-38, липида, альбумина и Span 20 в композиции, Span 20 содержится в количестве от примерно 0,2% масс./масс. до примерно 0,6% масс./масс., например, от примерно 0,22% масс./масс. до примерно 0,58% масс./масс., от примерно 0,24% масс./масс. до примерно 0,56% масс./масс., от примерно 0,26% масс./масс. до примерно 0,54% масс./масс., от примерно 0,28% масс./масс. до примерно 0,52% масс./масс., от примерно 0,3% масс./масс. до примерно 0,5% масс./масс., от примерно 0,32% масс./масс. до примерно 0,48% масс./масс., от примерно 0,34% масс./масс. до примерно 0,46% масс./масс., от примерно 0,36% масс./масс. до примерно 0,44% масс./масс., от примерно 0,38% масс./масс. до примерно 0,42% масс./масс. или примерно 0,4% масс.

В некоторых других дополнительных вариантах осуществления, изобретение предлагает композицию, описанную выше, где:

холестерин:SN-38 составляет примерно (0,8-1,8):1 (масс.:масс.), примерно (0,9-1,7):1 (масс.:масс.) или примерно (1-1,4):1; и/или

альбумин:SN-38 составляет примерно (9-21):1 (масс.:масс.), примерно (9-20):1 (масс.:масс.), примерно (11-18):1 (масс.:масс.) или примерно (11,1-17,3):1 (масс.:масс.); и/или

альбумин:холестерин составляет примерно (6-21):1 (масс.:масс.), примерно (6,7-13):1 (масс.:масс.), примерно (7-13):1 (масс.:масс.) или примерно (11 -12,7):1 (масс.:масс.); и/или

Span 20:SN-38 составляет примерно (5-10):100 (масс.:масс.), примерно (5-9):100 (масс.:масс.), примерно (6-8,6):100 (масс.:масс.), примерно (6-8):100 (масс.:масс.) или примерно (6,5-7):100 (масс.:масс.); и/или

в расчете на общее количество SN-38, холестерина и альбумина в композиции,

SN-38 содержится в количестве от примерно 4% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 9,5% масс./масс., от примерно 5% масс./масс. до примерно 9% масс./масс., или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс.; и/или

холестерин содержится в количестве от примерно 4% масс./масс. до примерно 12,5%

масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., от примерно 7% масс./масс. до примерно 10% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс.; и/или

содержание альбумина составляет от примерно 78% масс./масс. до примерно 93% масс./масс., от примерно 79% масс./масс. до примерно 91,5% масс./масс., от примерно 80% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., от примерно 82% масс./масс. до примерно 89% масс./масс., от примерно 84% масс./масс. до примерно 88% масс./масс. или от примерно 84,5% масс./масс. до примерно 87,5% масс.; и/или

Span 20 содержится в количестве от примерно 0,2% масс./масс. до примерно 0,8% масс./масс., от примерно 0,24% масс./масс. до примерно 0,7% масс./масс., от примерно 0,26% масс./масс. до примерно 0,7% масс./масс., от примерно 0,3% масс./масс. до примерно 0,65% масс./масс., от примерно 0,36% масс./масс. до примерно 0,6% масс./масс., от примерно 0,4% масс./масс. до примерно 0,58% масс./масс., от примерно 0,44% масс./масс. до примерно 0,56% масс./масс., от примерно 0,48% масс./масс. до примерно 0,54% масс./масс. или от примерно 0,5% масс./масс. до примерно 0,52% масс.

Композиция по второму подмножеству имеет преимущества при получении в более крупных масштабах (например, порядка сотен миллиграммов или более сырья SN-38), в том числе в масштабированном процессе, например, в пилотном масштабе, такие как уменьшенное количество гомогенизаций под высоким давлением во время получения, эффективное уменьшение размера частиц наночастиц в композиции и увеличение потока фильтрации, контролируемый размер частиц после распада в физиологических условиях, а также снижение потерь сырья и стоимости, а также наличие соответствующего содержания альбумина, позволяющего контролировать размер наночастиц так, чтобы он был ближе к размеру, подходящему для приготовления лекарственного средства.

В некоторых вариантах осуществления, по первому подмножеству и второму подмножеству, содержание SN-38, присутствующего в наночастицах, составляет по меньшей мере от примерно 6% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., например, от примерно 7% масс./масс. до примерно 11% масс./масс., от примерно 8% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., примерно 8,3% или примерно 9% масс./масс. от общего количества SN-38, холестерина и альбумина в композиции.

В некоторых вариантах осуществления, содержание SN-38, присутствующего в наночастицах, составляет от примерно 95% масс./масс. до примерно 99% масс./масс., например, от примерно 96% масс./масс. до примерно 99% масс./масс., от примерно 97% масс./масс. до примерно 99% масс./масс., от примерно 98% масс./масс. до примерно 99% масс./масс. или примерно 99% масс./масс. или выше от общего количества SN-38 в композиции.

В некоторых вариантах осуществления, как описано выше, композиция находится в жидкой, полутвердой или твердой форме.

В некоторых вариантах осуществления, композиция находится в твердой форме, предпочтительно, в форме порошка, более предпочтительно, лиофилизированного

порошка.

В некоторых из таких вариантов осуществления, SN-38 присутствует в композиции предпочтительно в аморфной и/или нанокристаллической форме, по данным электронной микроскопии и рентгенодифракционного (Cu-K α) анализа.

В некоторых вариантах осуществления, композиция не содержит дополнительный стабилизатор. В некоторых вариантах осуществления, композиция также содержит дополнительный стабилизатор, где дополнительный стабилизатор находится в таком количестве, что при восстановлении композиции с образованием водной композиции (включая раствор и эмульсию) дополнительный стабилизатор содержится в количестве по меньшей мере примерно 2% масс./об., например, по меньшей мере примерно 3% масс./об., по меньшей мере примерно 5% масс./об., от примерно 5% масс./об. до примерно 30% масс./об., от примерно 10% масс./об. до примерно 25% масс./об. или от примерно 15% масс./об. до примерно 20% масс./об.

В некоторых из таких вариантов осуществления, композиция также содержит дополнительный стабилизатор, содержание которого составляет от примерно 70% масс./масс. до примерно 96% масс./масс., например, от примерно 70% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., от примерно 72% масс./масс. до примерно 89% масс./масс., от примерно 74% масс./масс. до примерно 88% масс./масс., от примерно 76% масс./масс. до примерно 87% масс./масс., от примерно 80% масс./масс. до примерно 86% масс./масс., от примерно 81% масс./масс. до примерно 86% масс./масс., от примерно 82% масс./масс. до примерно 85% масс./масс. или от примерно 83% масс./масс. до примерно 84% масс./масс., в расчете на общее количество композиции. В некоторых других вариантах осуществления, композиция также содержит дополнительный стабилизатор, который содержится в количестве от примерно 80% масс./масс. до примерно 96% масс./масс. или от примерно 84% масс./масс. до примерно 95% масс./масс., в расчете на общее количество композиции.

Дополнительный стабилизатор может быть выбран из маннита, лактозы, мальтозы, трегалозы, декстрана, глюкозы и сахарозы и любой их композиции, предпочтительно, сахарозы.

В некоторых других вариантах осуществления, композиция представляет собой водную композицию в жидкой форме, включая раствор и эмульсию.

В некоторых из таких вариантов осуществления, композиция в жидкой форме содержит SN-38, существующий в форме нанокристаллов и/или везикул.

В некоторых из таких вариантов осуществления, композиция находится в форме раствора; и в некоторых вариантах осуществления, композиция находится в форме эмульсии.

В некоторых из таких вариантов осуществления, в пересчете на общее количество композиции, SN-38 содержится в количестве от примерно 500,0 мкг/мл до примерно 1,0 мг/мл, например, от примерно 600 мкг/мл до примерно 800 мкг/мл.

В некоторых из таких вариантов осуществления, в пересчете на общее количество композиции, содержание альбумина составляет от примерно 5,0 мг/мл до примерно 10,0

мг/мл, например, от примерно 6,0 мг/мл до примерно 10 мг/мл, или от примерно 7,0 мг/мл до примерно 8,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, наночастицы в композиции имеют средний размер частиц примерно от 90 до 160 нм, например, примерно от 95 до 150 нм, примерно от 100 до 140 нм, примерно от 105 до 130 нм, примерно от 110 до 125 нм, примерно 110 нм, примерно 115 нм, примерно 120 нм, примерно 125 нм, примерно 130 нм, 135 нм, примерно 140 нм или примерно 145 нм.

В некоторых вариантах осуществления, наночастицы имеют коэффициент распределения частиц по размерам (PDI) не более примерно 0,30, например, не более примерно 0,2, не более примерно 0,10 или не более примерно 0,01.

В некоторых вариантах осуществления, композиция имеет дзета-потенциал от примерно -35 мВ до примерно -20 мВ, например, примерно -31 мВ.

В некоторых вариантах осуществления, когда разведение композиции (например, с использованием 1 x PBS при pH примерно 7,4) приводит к содержанию SN-38 примерно 4 мкг/мл или ниже, например, примерно 2 мкг/мл или ниже, примерно 1 мкг/мл или ниже, примерно 0,4 мкг/мл или ниже, примерно 0,1 мкг/мл или ниже, примерно 0,04 мкг/мл или ниже, примерно 0,02 мкг/мл или ниже или примерно 0,01 мкг/мл или ниже, в разведенной композиции наночастицы не подвергаются распаду.

В некоторых из таких вариантов осуществления, композиция не содержит дополнительный стабилизатор. В некоторых вариантах осуществления, композиция также содержит дополнительный стабилизатор, где в расчете на общее количество композиции, дополнительный стабилизатор содержится в количестве по меньшей мере примерно 2% масс./об., например, по меньшей мере примерно 3% масс./об., по меньшей мере примерно 5% масс./об., от примерно 5% масс./об. до примерно 30% масс./об., от примерно 10% масс./об. до примерно 25% масс./об. или от примерно 15% масс./об. до примерно 20% масс./об.

Дополнительный стабилизатор может быть выбран из маннита, лактозы, мальтозы, трегалозы, декстрана, глюкозы и сахарозы и любой их композиции, предпочтительно, сахарозы.

SN-38 с разомкнутым кольцом является неактивной формой SN-38. Авторы изобретения неожиданно обнаружили, что в композиции по настоящей заявке SN-38 с разомкнутым кольцом присутствует только в очень небольшом количестве. В некоторых вариантах осуществления, SN-38 с разомкнутым кольцом в композиции составляет примерно 2% масс./масс. или менее, предпочтительно, примерно 1,8% масс./масс. или менее, от общего количества SN-38.

Альбумин, действующий как носитель, может образовывать мультимеры, включая димеры, тримеры, мультимеры и подобные. Существование мультимеров альбумина увеличивает риск иммуногенности лекарственного средства, в частности, лекарственного средства, вводимого парентерально. Следовательно, предпочтительно содержать как можно меньше мультимеров альбумина. Авторы изобретения неожиданно обнаружили, что

мультимер альбумина не существует или по существу не существует в композиции по настоящей заявке. Предпочтительно, альбумин в мономерной форме в композиции составляет по меньшей мере примерно 95% масс./масс., предпочтительно, по меньшей мере примерно 96%, более предпочтительно, по меньшей мере примерно 98%, более предпочтительно, по меньшей мере примерно 99%, по меньшей мере примерно 99,2%, по меньшей мере примерно 99,4% или по меньшей мере примерно 99,5% от общего количества альбумина. Можно ожидать, что композиция по настоящей заявке обладает преимуществами низкой иммуногенности и, следовательно, высокой безопасности.

Альбумин, который можно использовать в настоящей заявке, выбран из сывороточного альбумина человека (HSA), рекомбинантного альбумина человека (rHA), бычьего сывороточного альбумина и свиного сывороточного альбумина. Например, альбумин содержит аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO:1. Предпочтительно, альбумин выбран из сывороточного альбумина человека (HSA), рекомбинантного альбумина человека (rHA).

Во втором аспекте, настоящая заявка предлагает способ получения композиции по первому аспекту, как описано выше, отличающийся тем, что способ включает следующие стадии:

(1) растворение SN-38, липида и Span 20 в органическом растворителе с образованием органической фазы; и приготовление водного раствора альбумина в виде водной фазы;

(2) смешивание органической фазы и водной фазы с образованием эмульсии, где эмульсия содержит наночастицы, где в наночастицах альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и необязательно, по меньшей мере часть липида; и

(3) удаление органического растворителя из эмульсии с получением продукта, содержащего наночастицы.

В некоторых вариантах осуществления, способ включает следующие стадии:

(1) растворение SN-38, липида и Span 20 с использованием смешанного органического растворителя, содержащего первый органический растворитель, выбранный из ДМСО и C₁₋₃ спирта, и второй органический растворитель, выбранный из CHCl₃ и смеси CH₂Cl₂ и CHCl₃ с образованием органической фазы; и приготовление водного раствора альбумина в виде водной фазы;

(2) смешивание органической фазы и водной фазы для приготовления эмульсии, где эмульсия содержит наночастицы, где в наночастицах альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и необязательно, по меньшей мере часть липида;

(3) удаление органических растворителей; и

(4) необязательно, стерилизация продукта, полученного на стадии (3).

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления, в смешанном органическом растворителе на стадии (1) объемное соотношение второго органического растворителя к ДМСО или C₁₋₃ спирту составляет от примерно 1:20 (об./об.) до примерно 20:1 (об./об.), например, от примерно 1:5 до примерно 5:1 (об./об.), от примерно 1:2 до

примерно 4:1 (об./об.), от примерно 1:1 до примерно 4:1 (об./об.) от примерно 1,5:1 (об./об.) до примерно 3:1 (об./об.) или от примерно 2:1 (об./об.) до 7:3 (об./об.).

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления, на стадии (2) соотношение органическая фаза:водная фаза составляет от примерно 1:2 (об./об.) до примерно 1:50 (об./об.), например, от примерно 1:5 (об./об.) до примерно 1:20 (об./об.), от примерно 1:7 (об./об.) до примерно 1:15 (об./об.), от 1:10 (об./об.) до примерно 1:12 (об./об.), например, от примерно 1:5 (об./об.) до примерно 1:12 (об./об.), от примерно 1:5 (об./об.) до примерно 1:12 (об./об.), примерно 1:6 (об./об.), примерно 1:7 (об./об.) или примерно 1:10 (об./об.).

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления, стадия (2) включает следующие стадии:

(2-1) диспергирование органической фазы в водной фазе при сдвиге с получением неочищенной эмульсии; и

(2-2) гомогенизация неочищенной эмульсии под высоким давлением с получением мелкодисперсной эмульсии, содержащей наночастицы.

C₁₋₃ спирт включает метанол, этанол и изопропанол, и любую их комбинацию, например, представляет собой этанол (EtOH).

В некоторых вариантах осуществления, смешанный органический растворитель содержит второй органический растворитель и EtOH в соотношении примерно 7:3 (об./об.). В некоторых вариантах осуществления, смешанный органический растворитель содержит второй органический растворитель и ДМСО в соотношении примерно 1:1 (об./об.).

В некоторых дополнительных вариантах осуществления, изобретение предлагает способ, описанный выше, где способ включает следующие стадии:

(1) растворение SN-38, липида и Span 20 с использованием смешанного органического растворителя второго органического растворителя/ДМСО в соотношении 1:1 (об./об.) или смешанного органического растворителя второго органического растворителя/EtOH при 7:3 (об./об.) с образованием органической фазы; и приготовление водного раствора альбумина в виде водной фазы;

(2) смешивание органической фазы и водной фазы в соотношении от примерно 1:10 (об./об.) до примерно 1:15 (об./об.), например, примерно 1:12 (об./об.), для приготовления эмульсии, где эмульсия содержит наночастицы, где в наночастицах альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и необязательно по меньшей мере часть липида;

(3) удаление органических растворителей; и

(4) необязательно, стерилизация продукта, полученного на стадии (3).

В некоторых вариантах осуществления, второй органический растворитель представляет собой CHCl₃. В некоторых других вариантах осуществления, второй органический растворитель представляет собой смесь CH₂Cl₂ и CHCl₃, где предпочтительно, объемное соотношение CH₂Cl₂ и CHCl₃ в смеси составляет примерно 2:5-1:1, предпочтительно, примерно 2:5. Использование смеси CH₂Cl₂ и CHCl₃ в качестве

второго органического растворителя имеет то преимущество, что снижает остаточный уровень CHCl_3 в конечном продукте, тем самым уменьшая ограничение остатков растворителя при клинической дозировке по сравнению с только CHCl_3 .

В некоторых вариантах осуществления, водная фаза не содержит дополнительный стабилизатор.

В некоторых других вариантах осуществления, водная фаза уже содержит дополнительный стабилизатор; и в некоторых других вариантах осуществления, способ дополнительно включает добавление дополнительного стабилизатора на стадии (2). Например, дополнительный стабилизатор находится в таком количестве, что содержание дополнительного стабилизатора в продукте, полученном на стадии (3) или (4), составляет по меньшей мере примерно 2% масс./об., например, по меньшей мере примерно 3% масс./об., по меньшей мере примерно 5% масс./об., от примерно 5% масс./об. до примерно 30% масс./об., от примерно 10% масс./об. до примерно 25% масс./об. или от примерно 15% масс./об. до примерно 20% масс./об%. Предпочтительно, дополнительный стабилизатор может быть выбран из альбуминов (таких как сывороточный альбумин человека, рекомбинантный альбумин человека, бычий сывороточный альбумин и сухое обезжиренное молоко), моносахаридов, дисахаридов, полисахаридов, маннита и любой их комбинации, предпочтительно, выбран из маннита, лактозы, мальтозы, трегалозы, декстрана, глюкозы и сахарозы, и любой их композиции, предпочтительно, представляет собой сахарозу.

В некоторых вариантах осуществления, смешанный органический растворитель на стадии (1) добавляют к водной фазе перед смешиванием органической фазы и водной фазы на стадии (2). Например, объем добавленного смешанного растворителя равен объему органической фазы или меньше его. Например, объемное соотношение добавленного смешанного органического растворителя к органической фазе составляет от примерно 1:1 (об./об.) до примерно 1:5 (об./об.), например, от примерно 1:2 (об./об.) до примерно 1:4 (об./об.) или примерно 1:3 (об./об.).

В некоторых вариантах осуществления, в органической фазе на стадии (1) концентрация SN-38 составляет примерно 5-17 мг/мл, например, примерно 5,25-12 мг/мл или примерно 7-12 мг/мл, например, примерно 10 мг/мл.

В некоторых других вариантах осуществления, в органической фазе на стадии (1) концентрация SN-38 составляет 4-10 мг/мл, например, примерно 6-8 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, в органической фазе на стадии (1) концентрация липида составляет примерно 3-50 мг/мл, например, примерно 5-45 мг/мл или примерно 7,5-30 мг/мл, примерно 10-25 мг/мл или примерно 15-20 мг/мл.

В некоторых других вариантах осуществления, в органической фазе на стадии (1) концентрация липида составляет примерно 10-20 мг/мл, например, примерно 15 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, в органической фазе на стадии (1) Span 20 имеет концентрацию примерно 0,3-6 мг/мл, например, примерно 0,3-2 мг/мл или примерно 0,6-1 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, в водной фазе концентрация альбумина составляет примерно 5-15 мг/мл, например, примерно 6-12 мг/мл, предпочтительно, примерно 6-10 мг/мл.

В некоторых других вариантах осуществления, в водной фазе концентрация альбумина составляет примерно 8-30 мг/мл, например, примерно 12-20 мг/мл или примерно 16-18 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, способ включает стадию (4): стерилизацию продукта, полученного на стадии (3). Особых ограничений на способы стерилизации нет. В предпочтительном варианте осуществления, продукт, полученный на стадии (3), стерилизуют фильтрованием через фильтрующую мембрану размером примерно 0,2 мкм.

В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает следующую стадию:

(5) сушка продукта, полученного на стадии (3) или (4), предпочтительно распылительной сушкой или лиофилизацией, с получением композиции в твердой форме, предпочтительно, в виде порошка, и более предпочтительно, лиофилизированного порошка.

Предпочтительно, SN-38 существует в композиции в аморфной и/или нанокристаллической форме, по данным электронной микроскопии или рентгеноструктурного (Cu-K α) анализа.

В некоторых дополнительных вариантах осуществления, стадия (5) дополнительно включает: добавление дополнительного стабилизатора к продукту, полученному на стадии (3) или (4), перед сушкой, где дополнительный стабилизатор находится в таком количестве, что когда твердую форму, полученную на стадии (5), восстанавливают с образованием водной композиции (включая раствор и эмульсию), дополнительный стабилизатор содержится в количестве по меньшей мере примерно 2% масс./об., например, по меньшей мере примерно 3% масс./об., по меньшей мере примерно 5% масс./об., от примерно 5% масс./об. до примерно 30% масс./об., от примерно 10% масс./об. до примерно 25% масс./об. или от примерно 15% масс./об. до примерно 20% масс./об.

Дополнительный стабилизатор может быть выбран из альбуминов (таких как сывороточный альбумин человека, рекомбинантный альбумин человека, бычий сывороточный альбумин и сухое обезжиренное молоко), моносахаридов, дисахаридов, полисахаридов, маннита и любой их комбинации, предпочтительно, выбран из маннита, лактозы, мальтозы, трегалозы, декстрана, глюкозы и сахарозы, и любой их комбинации, предпочтительно, представляет собой сахарозу.

В третьем аспекте, настоящая заявка предлагает способ получения композиции, содержащей SN-38, липид, альбумин и Span 20, отличающийся тем, что способ включает следующие стадии:

(1) растворение SN-38, липида и Span 20 в органическом растворителе с образованием органической фазы; и приготовление водного раствора альбумина в виде водной фазы;

(2) смешивание органической фазы и водной фазы с образованием эмульсии, где эмульсия содержит наночастицы, где в наночастицах альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и необязательно по меньшей мере часть липида; и

(3) удаление органического растворителя из эмульсии для получения продукта, содержащего наночастицы.

Варианты осуществления способа описаны выше относительно способа по второму аспекту.

В способах по второму и третьему аспектам, часть альбумина может инкапсулировать часть SN-38 с образованием наночастиц или может инкапсулировать часть липида с образованием наночастиц. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления, композиции по первому аспекту и четвертому аспекту далее могут содержать наночастицы, образованные частью альбумина, инкапсулирующего часть SN-38, и/или наночастицы, образованные частью альбумина, инкапсулирующего часть липида.

В четвертом аспекте, настоящая заявка предлагает композицию, которая может быть приготовлена способом по третьему аспекту, описанному выше.

В пятом аспекте, настоящая заявка дополнительно предлагает способ получения композиции с улучшенными свойствами, где композиция содержит SN-38, липид и альбумин, где альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и необязательно наименьшая часть липида образует наночастицы,

где способ отличается тем, что Span 20 добавляют в процессе приготовления композиции.

В некоторых вариантах осуществления, композиция не содержит дополнительный стабилизатор.

В некоторых вариантах осуществления, улучшенные свойства включают улучшенную стабильность.

В некоторых вариантах осуществления, когда композиция находится в жидкой форме, улучшенная стабильность включает: снижение образования или содержания мультимера альбумина и/или уменьшение размера наночастиц во время приготовления, хранения и/или применения композиции. Предпочтительно, мультимер альбумина не существует или по существу не существует в композиции, или мультимер альбумина составляет не более 5% масс./масс., например, не более примерно 4%, не более примерно 2%, не более примерно 1,5%, не более примерно 1,2%, не более примерно 1,1%, не более примерно 1% или не более примерно 0,8% от общего количества альбумина.

В некоторых вариантах осуществления, композиция такая, как описано в первом аспекте выше.

В некоторых вариантах осуществления, способ включает следующие стадии:

(1) растворение SN-38, липида и Span 20 в органическом растворителе с образованием органической фазы; и приготовление водного раствора альбумина в виде водной фазы;

(2) смешивание органической фазы и водной фазы с образованием эмульсии, где

эмульсия содержит наночастицы, где в наночастицах альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и необязательно, по меньшей мере часть липида; и

(3) удаление органического растворителя из эмульсии с получением продукта, содержащего наночастицы.

Кроме того, варианты осуществления способа такие же, как описано выше в отношении способа по второму аспекту.

В шестом аспекте, настоящая заявка предлагает фармацевтическую композицию, содержащую описанную выше композицию и необязательно, фармацевтически приемлемый носитель.

В седьмом аспекте, настоящая заявка предлагает фармацевтическую композицию, содержащую описанную выше композицию, которая была высушена, и необязательно, фармацевтически приемлемый носитель. Сушка предпочтительно представляет собой лиофилизацию или распылительную сушку, более предпочтительно, лиофилизацию. Предпочтительно, фармацевтическая композиция находится в твердой форме, предпочтительно, в виде лиофилизованного порошка. Предпочтительно, SN-38 существует в композиции в аморфной и/или нанокристаллической форме.

Нет особых ограничений путей введения композиции или фармацевтической композиции настоящей заявки. Пути введения, которые можно рассмотреть, включают, но не ограничены ими, пероральное, интраназальное, местное и парентеральное введение. Предпочтительно, фармацевтическую композицию используют для парентерального введения, включая, но не ограничиваясь ими, внутривенное, внутриартериальное, подкожное, внутрикожное и внутримышечное введение, более предпочтительно, введение посредством внутривенной инъекции (например, болюса или инфузии).

Выбор фармацевтически приемлемого носителя зависит от дозированной формы лекарственного средства или фармацевтической композиции, которая зависит, во-первых, от пути введения дозированной формы (например, дозированной формы для перорального, интраназального, внутрикожного, подкожного, местного, внутримышечного или внутривенного введения), а во-вторых, от формулы дозированной формы. Например, фармацевтически приемлемый носитель может включать воду (например, воду для инъекций), буфер, изотонический солевой раствор (например, фосфатный буфер (PBS)), глюкозу, маннит, декстрозу, лактозу, крахмал, стеарат магния, целлюлозу, карбонат магния, 0,3% глицерин, гиалуроновую кислоту, аскорбиновую кислоту, молочную кислоту, этанол, полиалкиленгликоль, такой как полиэтиленгликоль (например, полиэтиленгликоль 4000) или полипропиленгликоль, триглицерид и т. д.

В восьмом аспекте, настоящая заявка предлагает применение композиции или фармацевтической композиции, описанной выше, при производстве лекарственного средства для лечения SN-38-чувствительной опухоли у субъекта.

В девятом аспекте, настоящая заявка предлагает композицию или фармацевтическую композицию, описанную выше, для применения при лечении SN-38-чувствительной опухоли у субъекта.

В десятом аспекте, настоящая заявка предлагает способ лечения SN-38-чувствительной опухоли у субъекта, который включает введение субъекту терапевтически эффективного количества композиции или фармацевтической композиции, описанной выше.

В некоторых вариантах осуществления, субъект представляет собой млекопитающее, включая, но не ограничиваясь ими, мышь, крысу, кролика, морскую свинку, собаку, кошку, овцу, корову, козу и лошадь. В некоторых вариантах осуществления, индивидуум представляет собой человека.

«SN-38-чувствительная опухоль» относится к опухоли, отвечающей на введение SN-38, и ответ включает уменьшение опухолевых клеток, уменьшение размера опухоли, устранение метастазов опухоли, ингибирование роста опухоли и подобное. Предпочтительно, SN-38-чувствительная опухоль выбрана из колоректального рака, мелкоклеточного рака легкого, рака лимфы, рака молочной железы (предпочтительно, трижды отрицательного рака молочной железы), рака пищевода, рака желудка, рака печени, рака почки, рака поджелудочной железы, рака матки и рака яичников.

Экспериментальные исследования показали, что после связывания противоопухолевого лекарственного средства с альбумином, противоопухолевый эффект лекарственного средства может быть значительно улучшен. Например, паклитаксел, связанный с наноальбумином, обладает селективностью к опухолевой ткани и уникальным механизмом транспорта, и внутриопухолевая концентрация лекарственного средства паклитаксела увеличивается на 33% по сравнению с паклитакселом в растворе (Desai N, Trieu V, Yao Z, *et al.*, Increased antitumor activity, intratumor paclitaxel concentrations, and endothelial cell transport of cremophor-free, albumin-bound paclitaxel, ABI-007, compared with cremophor-based paclitaxel, [*J. Clinical cancer research*, 2006, 12(4): 1317-1324]). Вышеупомянутый результат достигается за счет активного таргетирующего опухоль эффекта, достигаемого за счет связывания рецепторов gp60 в опухолевой ткани с альбумином, и пассивного таргетирующего опухоль эффекта, достигаемого за счет EPR эффекта наночастиц конъюгата лекарственное средство-альбумин после связывания лекарственного средства с альбумином. Таким образом, значительно увеличивается распределение лекарственного средства в опухоли, улучшается терапевтический эффект, и уменьшаются токсические и побочные эффекты. Можно ожидать, что композиция или фармацевтическая композиция настоящей заявки будет обладать преимущественной противоопухолевой эффективностью. Путем предварительных экспериментов, авторы изобретения обнаружили, что композиция по настоящей заявке обладает противоопухолевой активностью, превосходящей активность коммерчески доступного гидрохлорида иринотекана для инъекций.

В одиннадцатом аспекте, настоящая заявка предлагает набор, содержащий композицию или фармацевтическую композицию, описанную выше. При необходимости, набор может дополнительно содержать инструкцию, упаковку и контейнер для размещения композиции или фармацевтической композиции.

Хотя варианты осуществления изобретения были описаны с использованием SN-38 в качестве активного ингредиента в вышеупомянутых аспектах с первого по одиннадцатый, они представляют собой лишь один аспект концепции изобретения. Концепция изобретения дополнительно рассматривает технические решения с другими лекарственными средствами камптотецина в качестве активных ингредиентов. Ожидается, что вышеуказанные варианты осуществления, по-прежнему применимы, когда SN-38 заменяют другими лекарственными средствами камптотецина. Другими словами, настоящая заявка дополнительно включает любые и все варианты осуществления, описанные в любом из аспектов с первого по одиннадцатый выше, за исключением того, что SN-38 заменен другими лекарственными средствами камптотецина, если не существует противоречия в контексте. Другие лекарственные средства камптотецина могут быть выбраны из: иринотекана (CPT-11), 10-гидроксикамптотецина (HCPT), топотекана (TPT), рубитекана (9-NC), 9-аминокамптотецина (9-AC), белотекана (№ CAS: 256411-32-2), Dxd (№ CAS: 1599440-33-1), DX-8951 (экзатекан), СКD602 (белотекан), луртотекан, намитекан (№ CAS: 372105-27-6), ST1481 (гиматекан, № CAS: 292618-32-7), BNP-1350 (№ CAS: 203923-89-1) и BN80915 (дифломотекан). Специалист в данной области техники поймет, что такие варианты осуществления, также могут обеспечить положительные эффекты, описанные ниже.

Варианты осуществления изобретения, описанные в разделе «Сущность изобретения» настоящей заявки, включают:

Вариант осуществления 1. Композиция, содержащая SN-38, липид, альбумин и Span 20, отличающаяся тем, что композиция содержит наночастицы, где в наночастицах альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и необязательно, по меньшей мере часть липида;

липид: SN-38 составляет примерно (0,1-10):1 (масс.:масс.), примерно (0,5-6):1 (масс.:масс.), примерно (0,5-5):1 (масс.:масс.), примерно (0,5-3):1 (масс.:масс.), примерно (1-4):1 (масс.:масс.), примерно (1,2-4):1 (масс.:масс.), примерно (1,4-2):1 (масс.:масс.), примерно (1,5-2,5):1 (масс.:масс.) или примерно 1:1;

альбумин: SN-38 составляет примерно (1-100):1 (масс.:масс.), примерно (1-50):1 (масс.:масс.), примерно (3-25):1 (масс.:масс.), примерно (5-25):1 (масс.:масс.), примерно (5-20):1 (масс.:масс.), примерно (5-18):1 (масс.:масс.), примерно (6-15):1 (масс.:масс.), примерно (7-15):1 (масс.:масс.), примерно (6-12):1 (масс.:масс.), примерно (7-12):1 (масс.:масс.), примерно (9-11):1 (масс.:масс.) или примерно 10:1 (масс.:масс.); и

Span 20: SN-38 составляет примерно (3-60):100 (масс.:масс.), примерно (4-60):100 (масс.:масс.), примерно (5-60):100 (масс.:масс.), примерно (6-60):100 (масс.:масс.), примерно (7-55):100 (масс.:масс.), примерно (8-50):100 (масс.:масс.), примерно (10-45):100 (масс.:масс.), примерно (12-40):100 (масс.:масс.), примерно (14-35):100 (масс.:масс.), примерно (15-30):100 (масс.:масс.), примерно (16-25):100 (масс.:масс.) или примерно (18-20):100 (масс.:масс.); и

где липид выбран из холестерина, производных холестерина, аналогов холестерина

и эфиров жирных кислот, и любой комбинации двух или нескольких из них.

Вариант осуществления 2. Композиция по варианту осуществления 1, отличающаяся тем, что альбумин:липид составляет примерно (1-100):1 (масс.:масс.), например, примерно (2-20):1 (масс.:масс.), примерно (3- 15):1 (масс.:масс.), примерно (5-10):1 (масс.:масс.), примерно 7:1 (масс.:масс.) или примерно 10:1 (масс.:масс.).

Вариант осуществления 3. Композиция по варианту осуществления 1 или 2, отличающаяся тем, что в расчете на общее количество SN-38, липида и альбумина в композиции:

SN-38 содержится в количестве от примерно 1% масс./масс. до примерно 25% масс./масс.; и/или

липид содержится в количестве от примерно 1% масс./масс. до примерно 35% масс./масс.; и/или

альбумин содержится в количестве от примерно 50% масс./масс. до примерно 98% масс./масс.;

или,

SN-38 содержится в количестве от примерно 3% масс./масс. до примерно 20% масс./масс.; и/или

липид содержится в количестве от примерно 2% масс./масс. до примерно 30% масс./масс.; и/или

альбумин содержится в количестве от примерно 55% масс./масс. до примерно 95% масс./масс.:

или,

SN-38 содержится в количестве от примерно 3% масс./масс. до примерно 15% масс./масс., примерно 4% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 6,5% масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 7,5% масс./масс., примерно 8% масс./масс., примерно 8,5% масс./масс., примерно 9% масс./масс., примерно 10% масс./масс., примерно 11% масс./масс., примерно 12% масс./масс., примерно 13% масс./масс. или примерно 14% масс./масс.; и/или

липид содержится в количестве от примерно 3% масс./масс. до примерно 30% масс./масс., примерно 4% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 8% масс./масс., примерно 8,5% масс./масс., примерно 9% масс./масс., примерно 9,5% масс./масс., примерно 10% масс./масс., примерно 10,5% масс./масс., примерно 11% масс./масс., примерно 11,5% масс./масс., примерно 12% масс./масс., примерно 12,5% масс./масс., примерно 13% масс./масс., примерно 13,5% масс./масс., примерно 14% масс./масс., примерно 15% масс./масс., примерно 16% масс./масс., примерно 17% масс./масс., примерно 18% масс./масс., примерно 19% масс./масс., примерно 20% масс./масс., примерно 21% масс./масс., примерно 24% масс./масс., примерно 26% масс./масс. или примерно 28% масс./масс.; и/или

альбумин содержится в количестве от примерно 60% масс./масс. до примерно 94% масс./масс., от примерно 64% масс./масс. до примерно 93% масс./масс., от примерно 66%

масс./масс. до примерно 92% масс./масс., от примерно 68% масс./масс. до примерно 91% масс./масс., от примерно 70% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., от примерно 75% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., от примерно 76% масс./масс. до примерно 77% масс./масс., примерно 78% масс./масс., примерно 79% масс./масс., примерно 80% масс./масс., примерно 81% масс./масс., примерно 82% масс./масс., примерно 83% масс./масс., примерно 84% масс./масс., примерно 85% масс./масс., примерно 86% масс./масс., примерно 87% масс./масс., примерно 88% масс./масс. или примерно 89% масс./масс.

Вариант осуществления 4. Композиция по любому из вариантов осуществления 1-3, отличающаяся тем, что Span 20 содержится в количестве от примерно 0,03% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., от примерно 0,06% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., от примерно 0,08% масс./масс. до примерно 9% масс./масс., от примерно 0,1% масс./масс. до примерно 8% масс./масс., от примерно 0,2% масс./масс. до примерно 7% масс./масс., от примерно 0,4% масс./масс. до примерно 6% масс./масс., от примерно 0,6% масс./масс. до примерно 5% масс./масс., от примерно 0,8% масс./масс. до примерно 4% масс./масс. или от примерно 1% масс./масс. до примерно 2% масс./масс. в расчете на общее количество SN-38, липида, альбумина и Span 20 в композиции.

Вариант осуществления 5. Композиция по любому из вариантов осуществления 1-4, отличающаяся тем, что:

липид:SN-38 составляет примерно (1-10):1 (масс.:масс.), примерно (1-8):1 (масс.:масс.), примерно (1-6):1 (масс.:масс.), примерно (1-5):1 (масс.:масс.), примерно (1-4,5):1 (масс.:масс.), примерно (1-4):1 (масс.:масс.), примерно (1,2-3,8):1 (масс.:масс.), примерно (1,4-3,6):1 (масс.:масс.), примерно (1,6-3,4):1 (масс.:масс.), примерно (1,8-3,2):1 (масс.:масс.), примерно (2-3):1 (масс.:масс.), примерно (2,2-2,8):1 (масс.:масс.), примерно (2,4-2,6):1 (масс.:масс.), примерно 1:1 (масс.:масс.), примерно 2,5:1 (масс.:масс.) или примерно (0,8-1,8):1 (масс.:масс.), примерно (0,9-1,7):1 (масс.:масс.) или примерно (1-1,4):1; и/или

альбумин:SN-38 составляет примерно (5-40):1 (масс.:масс.), примерно (от 5 до менее 40):1 (масс.:масс.), примерно (5-35):1 (масс.:масс.), примерно (5-30):1 (масс.:масс.), примерно (8-25):1 (масс.:масс.), примерно (10-22,5):1 (масс.:масс.), примерно (12,5-20):1 (масс.:масс.), примерно (15-17,5):1 (масс.:масс.), примерно (16-18):1 (масс.:масс.), примерно 10:1 (масс.:масс.) или примерно (9-21):1 (масс.:масс.), примерно (9-20):1 (масс.:масс.), примерно (11-18):1 (масс.:масс.) или примерно (11,1-17,3):1 (масс.:масс.); и/или

Span 20:SN-38 составляет примерно (5-60):100 (масс.:масс.), примерно (6-60):100 (масс.:масс.), примерно (7-55):100 (масс.:масс.), примерно (8-50):100 (масс.:масс.), примерно (10-45):100 (масс.:масс.), примерно (12-40):100 (масс.:масс.), примерно (14-35):100 (масс.:масс.), примерно (15-30):100 (масс.:масс.), примерно (16-25):100 (масс.:масс.), примерно (18-20):100 (масс.:масс.) или примерно (5-10):100 (масс.:масс.), примерно (5-9):100 (масс.:масс.), примерно (6-8,6):100 (масс.:масс.), примерно (6-8):100

(масс.:масс.) или примерно (6,5-7):100 (масс.:масс.); и/или

альбумин:липид составляет примерно (1-40):1 (масс.:масс.), примерно (от 1 до менее 40):1 (масс.:масс.), примерно (2-35):1 (масс.:масс.), примерно (3-15):1 (масс.:масс.), примерно (5-10):1 (масс.:масс.), примерно (6-8):1 (масс.:масс.) или примерно 7:1 (масс.:масс.) или примерно (6-21):1 (масс.:масс.), примерно (6,7-13):1 (масс.:масс.), примерно (7-13):1 (масс./масс.) или примерно (11-12,7):1 (масс.:масс.).

Вариант осуществления 6. Композиция по любому из вариантов осуществления 1-5, отличающаяся тем, что в расчете на общее количество SN-38, липида и альбумина в композиции:

SN-38 содержится в количестве от примерно 2% масс./масс. до примерно 16% масс./масс.; и/или

липид содержится в количестве от примерно 2% масс./масс. до примерно 35% масс./масс.; и/или

альбумин содержится в количестве от примерно 75% масс./масс. до примерно 96% масс./масс.;

или,

SN-38 содержится в количестве от примерно 2,5% масс./масс. до примерно 15% масс./масс., от примерно 4% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 9,5% масс./масс., от примерно 5% масс./масс. до примерно 9% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс./масс.; и/или

содержание липида в композиции составляет от примерно 2,5% масс./масс. до примерно 30% масс./масс., от примерно 4% масс./масс. до примерно 12,5% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., от примерно 7% масс./масс. до примерно 10% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс./масс.; и/или

содержание альбумина в композиции составляет от примерно 76% масс./масс. до примерно 95% масс./масс., от примерно 78% масс./масс. до примерно 93% масс./масс., от примерно 79% масс./масс. до примерно 91,5% масс./масс., от примерно 80% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., от примерно 82% масс./масс. до примерно 89% масс./масс., от примерно 84% масс./масс. до примерно 88% масс./масс. или от примерно 84,5% масс./масс. до примерно 87,5% масс./масс.;

или,

SN-38 содержится в количестве от примерно 3% масс./масс. до примерно 14% масс./масс., от примерно 3,5% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., примерно 4% масс./масс., примерно 4,2% масс./масс., примерно 4,5% масс./масс., примерно 4,6% масс./масс., примерно 4,8% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 5,5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 6,5% масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 7,5% масс./масс., примерно 7,6% масс./масс., примерно 7,8% масс./масс., примерно 8% масс./масс., примерно 8,5% масс./масс., примерно 9% масс./масс., примерно 9,2% масс./масс., примерно 9,5% масс./масс., примерно 9,6% масс./масс., примерно 9,8%

масс./масс., примерно 10% масс./масс., примерно 10,5% масс./масс., примерно 11% масс./масс. или примерно 11,5% масс./масс.; и/или

липид содержится в количестве от примерно 4% масс./масс. до примерно 25% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 20% масс./масс., примерно 4,3% масс./масс., примерно от 4,5% масс./масс., примерно 4,7% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 5,5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 6,5% масс./масс., примерно 6,7% масс./масс., примерно 6,9% масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 7,5% масс./масс., примерно 7,6% масс./масс., примерно 7,8% масс./масс., примерно 8% масс./масс., примерно 8,5% масс./масс., примерно 9% масс./масс., примерно 9,5% масс./масс., примерно 10% масс./масс., примерно 10,5% масс./масс., примерно 11% масс./масс., примерно 11,5% масс./масс., примерно 12% масс./масс., примерно 12,1% масс./масс., примерно 12,3% масс./масс., примерно 12,5% масс./масс., примерно 13% масс./масс., примерно 13,5% масс./масс., примерно 14% масс./масс., примерно 14,5% масс./масс., примерно 15% масс./масс., примерно 15,5% масс./масс., примерно 16% масс./масс., примерно 16,5% масс./масс., примерно 17% масс./масс., примерно 17,5% масс./масс., примерно 18% масс./масс., примерно 18,5% масс./масс., примерно 19% масс./масс. или примерно 19,5% масс./масс.; и/или

альбумин содержится в количестве от примерно 78% масс./масс. до примерно 92% масс./масс., примерно 79% масс./масс., примерно 79,2% масс./масс., примерно 79,4% масс./масс., примерно 79,6% масс./масс., примерно 79,8 масс./масс., примерно 80% масс./масс., примерно 81% масс./масс., примерно 82% масс./масс., примерно 83% масс./масс., примерно 84% масс./масс., примерно 84,3% масс./масс., примерно 84,5% масс./масс., примерно 84,7% масс./масс., примерно 84,9% масс./масс., примерно 85% масс./масс., примерно 86% масс./масс., примерно 87% масс./масс., примерно 87,3% масс./масс., примерно 87,5% масс./масс., примерно 87,7% масс./масс., примерно 87,9% масс./масс., примерно 88% масс./масс., примерно 89% масс./масс., примерно 90% масс./масс., примерно 91% масс./масс., примерно 91,3% масс./масс. или примерно 91,5% масс./масс.

Вариант осуществления 7. Композиция по любому из вариантов осуществления 1-6, отличающаяся тем, что, исходя из общего количества SN-38, липида, альбумина и Span 20 в композиции, Span 20 содержится в количестве от примерно 0,14% масс./масс. до примерно 5% масс./масс., от примерно 0,2% масс./масс. до примерно 2,5% масс./масс., от примерно 0,22% масс./масс. до примерно 2,0% масс./масс., от примерно 0,24% масс./масс. до примерно 2% масс./масс., от примерно 0,26% масс./масс. до примерно 1,5% масс./масс., от примерно 0,28% масс./масс. до примерно 1,0% масс./масс., от примерно 0,3% масс./масс. до примерно 0,9% масс./масс., от примерно 0,32% масс./масс. до примерно 0,8% масс./масс., от примерно 0,34% масс./масс. до примерно 0,7% масс./масс., от примерно 0,36% масс./масс. до примерно 0,6% масс./масс., от примерно 0,38% масс./масс. до примерно 0,58% масс./масс., от примерно 0,4% масс./масс. до примерно 0,56% масс./масс., от примерно 0,42% масс./масс. до примерно 0,54% масс./масс., от примерно 0,44% масс./масс.

до примерно 0,52% масс./масс., примерно 0,46% масс./масс., примерно 0,48% масс./масс., примерно 0,5% масс./масс., от примерно 0,2% масс./масс. до примерно 0,8% масс./масс., от примерно 0,24% масс./масс. до примерно 0,7% масс./масс., от примерно 0,26% масс./масс. до примерно 0,7% масс./масс., от примерно 0,3% масс./масс. до примерно 0,65% масс./масс., от примерно 0,36% масс./масс. до примерно 0,6% масс./масс., от примерно 0,4% масс./масс. до примерно 0,58% масс./масс., от примерно 0,44% масс./масс. до примерно 0,56% масс./масс., от примерно 0,48% масс./масс. до примерно 0,54% масс./масс. или от примерно 0,5% масс./масс. до примерно 0,52% масс.

Вариант осуществления 8. Композиция по любому из вариантов осуществления 1-7, отличающаяся тем, что:

содержание SN-38, присутствующего в наночастицах, составляет по меньшей мере примерно 1% масс./масс. или по меньшей мере примерно 2% масс./масс., например, по меньшей мере примерно 3% масс./масс., от примерно 3% масс./масс. до примерно 13% масс./масс., от примерно 4% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., примерно 4% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 8% масс./масс., примерно 9% масс./масс., примерно 10% масс./масс. или примерно 11% масс./масс. от общего количества SN-38, липида и альбумина в композиции; и/или

содержание SN-38, присутствующего в наночастицах, составляет от примерно 80% масс./масс. до примерно 99% масс./масс., например, от примерно 88% масс./масс. до примерно 98% масс./масс., примерно 89% масс./масс., примерно 90% масс./масс., примерно 91% масс./масс., примерно 92% масс./масс., примерно 93% масс./масс., примерно 94% масс./масс., примерно 95% масс./масс., примерно 96% масс./масс. или примерно 97% масс./масс. от общего количества SN-38 в композиции.

Вариант осуществления 9. Композиция по любому из вариантов осуществления 1-8, отличающаяся тем, что:

производные холестерина выбраны из сложных эфиров, образованных холестерином и органическими кислотами, включая холестеринпальмитат, холестеринкаприлат и их комбинации; и/или

аналоги холестерина выбраны из витамина D2, витамина D3 и их комбинации; и/или сложные эфиры жирных кислот выбраны из глицеридов жирных кислот, таких как глицериды жирных кислот с длинной цепью, включая стеарат глицерина, например, глицерилмоностеарат.

Вариант осуществления 10. Композиция по любому из вариантов осуществления 1-9, отличающаяся тем, что липид представляет собой холестерин.

Вариант осуществления 11. Композиция по варианту осуществления 10, отличающаяся тем, что:

холестерин:SN-38 составляет примерно (1-6):1 (масс.:масс.), примерно (1,2-5):1 (масс.:масс.), примерно (1,4-4):1 (масс.:масс.), примерно 3:1 (масс.:масс.), примерно 2:1 (масс.:масс.), примерно 1:1 (масс.:масс.) или примерно (0,8-1,8):1 (масс.:масс.), примерно

(0,9-1,7): 1 (масс./масс.) или примерно (1-1,4):1; и/или

альбумин:SN-38 составляет примерно (3-25):1 (масс.:масс.), примерно (4-20):1 (масс.:масс.), примерно (5-15):1 (масс.:масс.), примерно (6-12):1 (масс.:масс.), примерно (7-12):1 (масс.:масс.), примерно (9-11):1 (масс.:масс.) или примерно 10:1 (масс.:масс.) или примерно (9-21):1 (масс.:масс.), примерно (9-20):1 (масс.:масс.), примерно (11-18):1 (масс.:масс.) или примерно (11,1-17,3):1 (масс.:масс.); и/или

альбумин:холестерин составляет примерно (2-20):1 (масс.:масс.), примерно (3-15):1 (масс.:масс.), примерно (5-10):1 (масс.:масс.) или примерно 7:1 (масс.:масс.) или примерно (6-21):1 (масс.:масс.), примерно (6,7-13):1 (масс.:масс.), примерно (7-13):1 (масс.:масс.) или примерно (11-12,7):1 (масс.:масс.); и/или

в расчете на общее количество SN-38, холестерина и альбумина в композиции,

SN-38 содержится в количестве от примерно 3% масс./масс. до примерно 15% масс./масс., от примерно 4% масс./масс. до примерно 15% масс./масс., от примерно 6% масс./масс. до примерно 10% масс./масс. или от примерно 8% масс./масс. до примерно 12% масс./масс. или от примерно 4% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 9,5% масс./масс., от примерно 5% масс./масс. до примерно 9% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс./масс.; и/или

холестерин содержится в количестве от примерно 5% масс./масс. до примерно 25% масс./масс., от примерно 6% масс./масс. до примерно 22% масс./масс., от примерно 15% масс./масс. до примерно 20% масс./масс. или от примерно 4% масс./масс. до примерно 12,5% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., от примерно 7% масс./масс. до примерно 10% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс./масс.; и/или

альбумин содержится в количестве от примерно 64% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., от примерно 70% масс./масс. до примерно 90% масс./масс. или от примерно 78% масс./масс. до примерно 93% масс./масс., от примерно 79% масс./масс. до примерно 91,5% масс./масс., от примерно 80% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., от примерно 82% масс./масс. до примерно 89% масс./масс., от примерно 84% масс./масс. до примерно 88% масс./масс. или от примерно 84,5% масс./масс. до примерно 87,5% масс./масс.; и/или

содержание SN-38, присутствующего в наночастицах, составляет по меньшей мере примерно 3% масс./масс., например, от примерно 3% масс./масс. до примерно 13% масс./масс., от примерно 4% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., примерно 4% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 8% масс./масс., примерно 9% масс./масс., примерно 10% масс./масс. или примерно 11% масс./масс. от общего количества SN-38, холестерина и альбумина в композиции.

Вариант осуществления 12. Композиция по варианту осуществления 10, где:

холестерин:SN-38 составляет примерно (1-3):1 (масс.:масс.), примерно (1,2-2,5):1 (масс.:масс.), примерно (1,4-2):1 (масс.:масс.), примерно (1,5-2):1 (масс.:масс.), примерно (1,3-1,8):1 (масс.:масс.), примерно (1,4-1,6):1 (масс.:масс.), примерно (1,5-1,7):1

(масс.:масс.), примерно (1,2-1,5):1 (масс.:масс.), примерно 1:1 (масс.:масс.), примерно (1,4-1,5):1 (масс.:масс.) или примерно (0,8-1,8):1 (масс.:масс.), примерно (0,9-1,7):1 (масс.:масс.), примерно (1-1,4):1;

альбумин:SN-38 составляет примерно (5-15):1 (масс.:масс.), примерно (5-12):1 (масс.:масс.), примерно (6-12):1 (масс.:масс.) или примерно (7-12):1 (масс.:масс.), примерно (9-11):1 (масс.:масс.), примерно (10-12):1 (масс.:масс.), примерно 11:1 (масс.:масс.) или примерно (9-21):1 (масс.:масс.), примерно (9-20):1 (масс.:масс.), примерно (11-18):1 (масс.:масс.) или примерно (11,1-17,3):1 (масс.:масс.); и

альбумин:холестерин составляет примерно (3-10):1 (масс.:масс.), примерно (4-8):1 (масс.:масс.), примерно (5-7):1 (масс.:масс.) или примерно (6-21):1 (масс.:масс.), примерно (6,7-13):1 (масс.:масс.), примерно (7-13):1 (масс.:масс.) или примерно (11-12,7):1 (масс./масс.).

Вариант осуществления 13. Композиция по варианту осуществления 12, отличающаяся тем, что в расчете на общее количество SN-38, холестерина и альбумина в композиции:

SN-38 содержится в количестве от примерно 6% масс./масс. до примерно 14% масс./масс., от примерно 6,5% масс./масс. до примерно 13% масс./масс., от примерно 7% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., от примерно 8% масс./масс. до примерно 11% масс./масс., от примерно 8,5% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., примерно 9% масс./масс. или от примерно 4% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 9,5% масс./масс., от примерно 5% масс./масс. до примерно 9% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. примерно 8% масс./масс.; и/или

холестерин содержится в количестве от примерно 8% масс./масс. до примерно 18% масс./масс., от примерно 8,5% масс./масс. до примерно 17% масс./масс., от примерно 9% масс./масс. до примерно 16% масс./масс., от примерно 9,5% масс./масс. до примерно 16% масс./масс., от примерно 10% масс./масс. до примерно 16% масс./масс., от примерно 10,5% масс./масс. до примерно 16% масс./масс., от примерно 11% масс./масс. до примерно 15% масс./масс., от примерно 11,5% масс./масс. до примерно 15% масс./масс., от примерно 12% масс./масс. до примерно 15% масс./масс., от примерно 12,5% масс./масс. до примерно 14% масс./масс., от примерно 13% масс./масс. до примерно 13,5% масс./масс. или от примерно 4% масс./масс. до примерно 12,5% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., от примерно 7% масс./масс. до примерно 10% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс./масс.; и/или

альбумин содержится в количестве от примерно 66% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., от примерно 68% масс./масс. до примерно 89% масс./масс., от примерно 70% масс./масс. до примерно 88% масс./масс., от примерно 70% масс./масс. до примерно 87% масс./масс., от примерно 70% масс./масс. до примерно 86% масс./масс., от примерно 70% масс./масс. до примерно 85% масс./масс., от примерно 75% масс./масс. до примерно 85% масс./масс., примерно 76% масс./масс., примерно 77% масс./масс., примерно 78%

масс./масс., примерно 79% масс./масс., 80% масс./масс., 81% масс./масс., примерно 82% масс./масс., примерно 83% масс./масс., примерно 84% масс./масс., от примерно 78% масс./масс. до примерно 93% масс./масс., от примерно 79% масс./масс. до примерно 91,5% масс./масс., от примерно 80% масс./масс. до примерно от 90% масс./масс., от примерно 82% масс./масс. до примерно 89% масс./масс., от примерно 84% масс./масс. до примерно 88% масс./масс. или от примерно 84,5% масс./масс. до примерно 87,5% масс./масс.

Вариант осуществления 14. Композиция по варианту осуществления 10, отличающаяся тем, что:

холестерин:SN-38 составляет примерно (1-5):1 (масс.:масс.), примерно (1-4,5):1 (масс.:масс.), примерно (1-4):1 (масс.:масс.), примерно (1,2-3,8):1 (масс.:масс.), примерно (1,4-3,6):1 (масс.:масс.), примерно (1,6-3,4):1 (масс.:масс.), примерно (1,8-3,2):1 (масс.:масс.), примерно (2-3):1 (масс.:масс.), примерно (2,2-2,8):1 (масс.:масс.), примерно (2,4-2,6):1 (масс.:масс.), примерно 2,5:1 (масс.:масс.), примерно 1:1 (масс.:масс.) или примерно (0,8-1,8):1 (масс.:масс.), примерно (0,9-1,7):1 (масс.:масс.) или примерно (1-1,4):1; и/или

альбумин:SN-38 составляет примерно (5-25):1 (масс.:масс.), примерно (5-20):1 (масс.:масс.), примерно (6-19):1 (масс.:масс.), примерно (7-18):1 (масс.:масс.), примерно (8-16):1 (масс.:масс.), примерно (9-14):1 (масс.:масс.) или примерно (10-12):1 (масс.:масс.) или примерно (9-21):1 (масс.:масс.), примерно (9-20):1 (масс.:масс.), примерно (11-18):1 (масс.:масс.) или примерно (11,1-17,3):1 (масс.:масс.); и/или

альбумин:холестерин составляет примерно (5-25):1 (масс.:масс.), примерно (6-20):1 (масс.:масс.), примерно (7-18):1 (масс.:масс.), примерно (8-16):1 (масс.:масс.), примерно (9-14):1 (масс.:масс.), примерно (10-12):1 (масс.:масс.) или примерно (6-21):1 (масс.:масс.), примерно (6,7-13):1 (масс.:масс.), примерно (7-13):1 (масс.:масс.) или примерно (11-12,7):1 (масс.:масс.); и/или

Span 20: SN-38 составляет примерно (5-40):100 (масс.:масс.), примерно (6-30):100 (масс.:масс.), примерно (7-25):100 (масс.:масс.), примерно (8-20):100 (масс.:масс.), примерно (9-15):100 (масс.:масс.), примерно (10-12):100 (масс.:масс.) или примерно (5-10):100 (масс.:масс.), примерно (5-9):100 (масс.:масс.), примерно (6-8,6):100 (масс.:масс.), примерно (6-8):100 (масс.:масс.) или примерно (6,5-7):100 (масс.:масс.); и/или

в расчете на общее количество SN-38, холестерина и альбумина в композиции,

SN-38 содержится в количестве от примерно 3% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., от примерно 3,5% масс./масс. до примерно 9,5% масс./масс., примерно 4% масс./масс., примерно 4,5% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 5,5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 6,5% масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 7,5% масс./масс., примерно 8% масс./масс., примерно 8,5% масс./масс., примерно 9% масс./масс. или от примерно 4% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 9,5% масс./масс., от примерно 5% масс./масс. до примерно от 9% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс./масс.; и/или

холестерин содержится в количестве от примерно 4% масс./масс. до примерно 18%

масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 17,5% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 5,5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 6,5% масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 7,5% масс./масс., примерно 8% масс./масс., 8,5% масс./масс., примерно 9% масс./масс., примерно 9,5% масс./масс., примерно 10% масс./масс., примерно 10,5% масс./масс., примерно 11% масс./масс., примерно 11,5% масс./масс., примерно 12% масс./масс., примерно 12,5% масс./масс., примерно 13% масс./масс., примерно 13,5% масс./масс., примерно 14% масс./масс., примерно 14,5% масс./масс., примерно 15% масс./масс., примерно 15,5% масс./масс., примерно 16% масс./масс., примерно 16,5% масс./масс., примерно 17% масс./масс. или от примерно 4% масс./масс. до примерно 12,5% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., от примерно 7% масс./масс. до примерно 10% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс./масс.; и/или

альбумин содержится в количестве от примерно 78% масс./масс. до примерно 92% масс./масс., примерно 79% масс./масс., примерно 80% масс./масс., примерно 81% масс./масс., примерно 82% масс./масс., примерно 83% масс./масс., примерно 84% масс./масс., примерно 85% масс./масс., примерно 86% масс./масс., примерно 87% масс./масс., примерно 88% масс./масс., примерно 89% масс./масс., примерно 90% масс./масс., примерно 91% масс./масс. или от примерно 78% масс./масс. до примерно 93% масс./масс., от примерно 79% масс./масс. до примерно 91,5% масс./масс., от примерно 80% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., от примерно 82% масс./масс. до примерно 89% масс./масс., от примерно 84% масс./масс. до примерно 88% масс./масс. или от примерно 84,5% масс./масс. до примерно 87,5% масс.

Вариант осуществления 15. Композиция по любому из вариантов осуществления 12-14, отличающаяся тем, что:

содержание SN-38, присутствующего в наночастицах, составляет по меньшей мере от примерно 6% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., например, от примерно 7% масс./масс. до примерно 11% масс./масс., от примерно 8% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., примерно 8,3% или примерно 9% масс./масс. от общего количества SN-38, холестерина и альбумина в композиции; и/или

содержание SN-38, присутствующего в наночастицах, составляет от примерно 95% масс./масс. до примерно 99% масс./масс., например, от примерно 96% масс./масс. до примерно 99% масс./масс., от примерно 97% масс./масс. до примерно 99% масс./масс., от примерно 98% масс./масс. до примерно 99% масс./масс., примерно 99% масс./масс. или выше от общего количества SN-38 в композиции.

Вариант осуществления 16. Композиция по любому из вариантов осуществления 1-15, отличающаяся тем, что композиция находится в жидкой, полутвердой или твердой форме.

Вариант осуществления 17. Композиция по любому из вариантов осуществления 1-16, отличающаяся тем, что композиция находится в твердой форме, предпочтительно, в форме порошка, более предпочтительно, лиофилизированного порошка;

предпочтительно, SN-38 существует в композиции в аморфной и/или нанокристаллической форме.

Вариант осуществления 18. Композиция по любому из вариантов осуществления 1-17, отличающаяся тем, что композиция не содержит дополнительный стабилизатор; или

предпочтительно, композиция дополнительно содержит дополнительный стабилизатор, например, стабилизатор лиофилизации, где дополнительный стабилизатор находится в таком количестве, что при восстановлении композиции с образованием водной композиции (включая раствор и эмульсию), дополнительный стабилизатор содержится в количестве по меньшей мере примерно 2% масс./об., например, по меньшей мере примерно 3% масс./об., например, по меньшей мере примерно 5% масс./об., от примерно 5% масс./об. до примерно 30% масс./об., от примерно 10% масс./об. до примерно 25% масс./об. или от примерно 15% масс./об. до примерно 20% масс./об.

Вариант осуществления 19. Композиция по варианту осуществления 17 или 18, отличающаяся тем, что композиция дополнительно содержит дополнительный стабилизатор, и в расчете на общее количество композиции,

дополнительный стабилизатор содержится в количестве от примерно 60% масс./масс. до примерно 98% масс./масс., например, от примерно 65% масс./масс. до примерно 97% масс./масс., от примерно 68% масс./масс. до примерно 96% масс./масс. от примерно 69% масс./масс. до примерно 95% масс./масс., от примерно 70% масс./масс. до примерно 94% масс./масс., от примерно 71% масс./масс. до примерно 93% масс./масс., от примерно 72% масс./масс. до примерно 92% масс./масс., примерно 73% масс./масс., примерно 74% масс./масс., примерно 75% масс./масс., примерно 76% масс./масс., примерно 77% масс./масс., примерно 78% масс./масс., примерно 79% масс./масс., примерно 80% масс./масс., примерно 81% масс./масс., примерно 82% масс./масс., примерно 83% масс./масс., примерно 84% масс./масс., примерно 85% масс./масс., примерно 86% масс./масс., примерно 87% масс./масс., примерно 88% масс./масс., примерно 89% масс./масс., примерно 90% масс./масс. или примерно 91% масс./масс.;

например, дополнительный стабилизатор содержится в количестве от примерно 70% масс./масс. до примерно 96% масс./масс., от примерно 70% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., от примерно 72% масс./масс. до примерно 89% масс./масс., от примерно 74% масс./масс. до примерно 88% масс./масс., от примерно 76% масс./масс. до примерно 87% масс./масс. или от примерно 80% масс./масс. до примерно 96% масс./масс., от примерно 80% масс./масс. до примерно 86% масс./масс., от примерно 81% масс./масс. до примерно 86% масс./масс., от примерно 82% масс./масс. до примерно 85% масс./масс., от примерно 83% масс./масс. до примерно 84% масс./масс. или от примерно 84% масс./масс. до примерно 95% масс./масс.

Вариант осуществления 20. Композиция по варианту осуществления 18 или 19, где дополнительный стабилизатор выбран из альбуминов (таких как сывороточный альбумин человека, рекомбинантный альбумин человека, бычий сывороточный альбумин и сухое обезжиренное молоко), моносахаридов, дисахаридов, полисахаридов, маннита и любой их

комбинации, предпочтительно, выбран из маннита, лактозы, мальтозы, трегалозы, декстрана, глюкозы и сахарозы и любой их композиции, предпочтительно, представляет собой сахарозу.

Вариант осуществления 21. Композиция по любому из вариантов осуществления 17-20, где когда композицию восстанавливают с образованием водной композиции (включая раствор и эмульсию) при концентрации от примерно 0,1 мкг/мл до примерно 30,0 мг/мл, наночастицы имеют средний размер частиц от примерно 50 до 200 нм, например, от примерно 90 до 150 нм, от примерно 95 до 140 нм, от примерно 100 до 130 нм, от примерно 105 до 125 нм или от примерно 110 до 120 нм.

Вариант осуществления 22. Композиция по любому из вариантов осуществления 1-16, отличающаяся тем, что композиция представляет собой водную композицию в жидкой форме, включая раствор и эмульсию; и

в частности, композиция в жидкой форме содержит SN-38 в форме нанокристаллов и/или везикул.

Вариант осуществления 23. Композиция по варианту осуществления 22, отличающаяся тем, что в расчете на общее количество композиции

SN-38 содержится в количестве от примерно 0,1 мкг/мл до примерно 30,0 мг/мл, от примерно 0,2 мкг/мл до примерно 27,0 мг/мл, от примерно 0,5 мкг/мл до примерно 24,0 мг/мл, от примерно 1,0 мкг/мл до примерно 21,0 мг/мл, от примерно 5,0 мкг/мл до примерно 18,0 мг/мл, от примерно 10,0 мкг/мл до примерно 15,0 мг/мл, от примерно 20,0 мкг/мл до примерно 12 мг/мл, от примерно 25,0 мкг/мл до примерно 9 мг/мл, от примерно 50,0 мкг/мл до примерно 6,0 мг/мл или от примерно 100,0 мкг/мл до примерно 3,0 мг/мл; и/или

липид содержится в количестве от примерно 0,05 мкг/мл до примерно 100,0 мг/мл, от примерно 0,1 мкг/мл до примерно 90,0 мг/мл, от примерно 0,25 мкг/мл до примерно 80,0 мг/мл, от примерно 0,5 мкг/мл до примерно 70,0 мг/мл, от примерно 2,5 мкг/мл до примерно 60,0 мг/мл, от примерно 5,0 мкг/мл до примерно 50,0 мг/мл, от примерно 10,0 мкг/мл до примерно 40,0 мг/мл, от примерно 12,5 мкг/мл до примерно 30,0 мг/мл, от примерно 25,0 мкг/мл до примерно 20,0 мг/мл или от примерно 50,0 мкг/мл до примерно 10,0 мг/мл; и/или

альбумин содержится в количестве от примерно 3,0 мкг/мл до примерно 300,0 мг/мл, от примерно 6,0 мкг/мл до примерно 270,0 мг/мл, от примерно 15,0 мкг/мл до примерно 240,0 мг/мл, от примерно 30,0 мкг/мл до примерно 210,0 мг/мл, от примерно 150,0 мкг/мл до примерно 180,0 мг/мл, от примерно 300,0 мкг/мл до примерно 150,0 мг/мл, от примерно 600,0 мкг/мл до примерно 120,0 мг/мл, от примерно 750,0 мкг/мл до примерно 90,0 мг/мл, от примерно 1500,0 мкг/мл до примерно 60,0 мг/мл или от примерно 3,0 мг/мл до примерно 30,0 мг/мл.

Вариант осуществления 24. Композиция по варианту осуществления 22 или 23, отличающаяся тем, что в расчете на общее количество композиции

SN-38 содержится в количестве от примерно 100,0 мкг/мл до примерно 3,0 мг/мл, например, от примерно 200,0 мкг/мл до примерно 2,5 мг/мл, от примерно 300,0 мкг/мл до примерно 2,0 мг/мл, от примерно 400,0 мкг/мл до примерно 1,5 мг/мл, от примерно 500,0

мкг/мл до примерно 1,0 мг/мл или от примерно 600 мкг/мл до примерно 800 мкг/мл; и/или липид содержится в количестве от примерно 50,0 мкг/мл до примерно 10,0 мг/мл, например, от примерно 100,0 мкг/мл до примерно 8,0 мг/мл, от примерно 200,0 мкг/мл до примерно 6,0 мг/мл, от примерно 300,0 мкг/мл до от примерно 4,0 мг/мл, от примерно 400,0 мкг/мл до примерно 3,0 мг/мл, от примерно 500,0 мкг/мл до примерно 2,5 мг/мл, от примерно 600,0 мкг/мл до примерно 2,0 мг/мл, от примерно 700,0 мкг/мл до примерно 1,5 мг/мл, от примерно 800 мкг/мл до примерно 1,0 мг/мл или от примерно 200 мкг/мл до примерно 1,5 мг/мл; и/или

альбумин содержится в количестве от примерно 3,0 мг/мл до примерно 30,0 мг/мл, например, от примерно 4,0 мг/мл до примерно 25,0 мг/мл, от примерно 5,0 мг/мл до примерно 20,0 мг/мл, от примерно 6,0 мг/мл до примерно 15,0 мг/мл, от примерно 7,0 мг/мл до примерно 12,0 мг/мл или от примерно 8,0 мг/мл до примерно 10,0 мг/мл.

Вариант осуществления 25. Композиция по любому из вариантов осуществления, 22-24, отличающаяся тем, что наночастицы имеют средний размер частиц примерно от 50 до 200 нм, например, примерно от 90 до 150 нм, примерно от 95 до 140 нм, примерно от 100 до 130 нм, примерно от 105 до 125 нм или примерно от 110 до 120 нм.

Вариант осуществления 26. Композиция по любому из вариантов осуществления, 22-25, отличающаяся тем, что после хранения при 4°C в течение 24 часов наночастицы имеют средний размер частиц от примерно 50 до 200 нм, например, от примерно 90 до 150 нм или примерно от 100 до 130 нм.

Вариант осуществления 27. Композиция по любому из вариантов осуществления, 22-26, отличающаяся тем, что наночастицы имеют индекс распределения частиц по размерам (PDI) не более примерно 0,30, например, не более примерно 0,2, не более примерно 0,10 или не более примерно 0,01.

Вариант осуществления 28. Композиция по любому из вариантов осуществления 22-27, отличающаяся тем, что композиция имеет дзета-потенциал от примерно -35 мВ до примерно -20 мВ, например, примерно -31 мВ.

Вариант осуществления 29. Композиция по любому из вариантов осуществления 22-28, отличающаяся тем, что при разведении (например, с использованием 1 x PBS при pH примерно 7,4) композиция приводит к содержанию SN-38 примерно 4 мкг/мл или ниже, например, примерно 2 мкг/мл или ниже, примерно 1 мкг/мл или ниже, примерно 0,4 мкг/мл или ниже, примерно 0,1 мкг/мл или ниже, примерно 0,04 мкг/мл или ниже, примерно 0,02 мкг/мл или ниже, или примерно 0,01 мкг/мл или ниже, в разведенной композиции наночастицы не подвергаются распаду.

Вариант осуществления 30. Композиция по любому из вариантов осуществления 22-29, отличающаяся тем, что композиция не содержит дополнительный стабилизатор; или предпочтительно, композиция дополнительно содержит дополнительный стабилизатор, где в пересчете на общее количество композиции, дополнительный стабилизатор содержится в количестве по меньшей мере примерно 2% масс./об., например, по меньшей мере примерно 3% масс./об., по меньшей мере примерно 5% масс./об., от

примерно 5% масс./об. до примерно 30% масс./об., от примерно 10% масс./об. до примерно 25% масс./об. или от примерно 15% масс./об. до примерно 20% масс./об.

Вариант осуществления 31. Композиция по варианту осуществления 30, где дополнительный стабилизатор выбран из альбуминов (таких как сывороточный альбумин человека, рекомбинантный альбумин человека, бычий сывороточный альбумин и сухое обезжиренное молоко), моносахаридов, дисахаридов, полисахаридов, маннита и любой их комбинации, предпочтительно выбран из маннита, лактозы, мальтозы, трегалозы, декстрана, глюкозы и сахарозы и любой их композиции, предпочтительно, представляет собой сахарозу.

Вариант осуществления 32. Композиция по любому из вариантов осуществления 1-31, которая характеризуется тем, что содержание SN-38 с разомкнутым кольцом в композиции составляет примерно 2% масс./масс. или меньше, например, примерно 1,8% масс./масс. или меньше, от общего количества SN-38; и/или

мультимер альбумина не существует или по существу не существует в композиции; например, альбумин в мономерной форме в композиции составляет по меньшей мере примерно 95% масс./масс., например, по меньшей мере примерно 96%, по меньшей мере примерно 98%, по меньшей мере примерно 99%, по меньшей мере примерно 99,2%, по меньшей мере примерно 99,4% или по меньшей мере примерно 99,5% от общего количества альбумина.

Вариант осуществления 33. Композиция по любому из вариантов осуществления 1-32, отличающаяся тем, что альбумин выбран из сывороточного альбумина человека (HSA), рекомбинантного альбумина человека (rHA), бычьего сывороточного альбумина и свиного сывороточного альбумина; например, альбумин содержит аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO:1; и

предпочтительно, альбумин выбран из сывороточного альбумина человека (HSA) и рекомбинантного альбумина человека (rHA).

Вариант осуществления 34. Способ получения композиции по любому из вариантов осуществления 1-33, отличающийся тем, что способ включает следующие стадии:

(1) растворение SN-38, липида и Span 20 в органическом растворителе с образованием органической фазы; и приготовление водного раствора альбумина в виде водной фазы;

(2) смешивание органической фазы и водной фазы с образованием эмульсии, где эмульсия содержит наночастицы, где в наночастицах альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и необязательно по меньшей мере часть липида; и

(3) удаление органического растворителя из эмульсии с получением продукта, содержащего наночастицы.

Вариант осуществления 35. Способ по варианту осуществления 34, отличающийся тем, что способ включает следующие стадии:

(1) растворение SN-38, липида и Span 20 с использованием смешанного органического растворителя, содержащего первый органический растворитель, выбранный

из ДМСО и C₁₋₃ спирта (включая метанол, этанол и изопропанол и любую их комбинацию, предпочтительно, этанол (EtOH)), и второй органический растворитель, выбранный из CHCl₃ и смеси CH₂Cl₂ и CHCl₃, с образованием органической фазы, где в смешанном органическом растворителе объемное соотношение второго органического растворителя к ДМСО или C₁₋₃ спирту составляет от примерно 1:20 (об./об.) до примерно 20:1 (об./об.), например, от примерно 1:5 до примерно 5:1 (об./об.), от примерно 1:2 до примерно от 4:1 (об./об.), от примерно 1:1 до примерно 4:1 (об./об.), от примерно 1,5:1 (об./об.) до примерно 3:1 (об./об.) или от примерно 2:1 (об./об.) до 7:3 (об./об.); и приготовление водного раствора альбумина в виде водной фазы;

(2) смешивание органической фазы и водной фазы для приготовления эмульсии, где эмульсия содержит наночастицы, где в наночастицах альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и необязательно по меньшей мере часть липида;

(3) удаление органического растворителя; и

(4) необязательно, стерилизация продукта, полученного на стадии (3), предпочтительно путем фильтрации через фильтрующую мембрану примерно 0,2 мкм;

где, необязательно, второй органический растворитель представляет собой CHCl₃ или смесь CH₂Cl₂ и CHCl₃, где необязательно, объемное соотношение CH₂Cl₂ и CHCl₃ в смеси составляет примерно 2:5-1:1, предпочтительно, примерно 2:5.

Вариант осуществления 36. Способ по варианту осуществления 34 или 35, отличающийся тем, что на стадии (2) соотношение органическая фаза:водная фаза составляет от примерно 1:2 (об./об.) до примерно 1:50 (об./об.), например, от примерно 1:5 (об./об.) до примерно 1:20 (об./об.), от примерно 1:7 (об./об.) до примерно 1:15 (об./об.), от примерно 1:10 (об./об.) до примерно 1:12 (об./об.), например, от примерно 1:5 (об./об.) до примерно 1:12 (об./об.), от примерно 1:5 (об./об.) до примерно 1:12 (об./об.), примерно 1:6 (об./об.), примерно 1:7 (об./об.) или примерно 1:10 (об./об.).

Вариант осуществления 37. Способ по любому из вариантов осуществления 34-36, отличающийся тем, что стадия (2) включает следующие стадии:

(2-1) диспергирование органической фазы в водной фазе при сдвиге с получением неочищенной эмульсии; и

(2-2) гомогенизация неочищенной эмульсии под высоким давлением для получения тонкоизмельченной эмульсии, содержащей наночастицы.

Вариант осуществления 38. Способ по любому из вариантов осуществления 34-37, отличающийся тем, что:

водная фаза не содержит дополнительный стабилизатор; или

водная фаза уже содержит дополнительный стабилизатор; или

способ дополнительно включает добавление дополнительного стабилизатора на стадии (2); и

где дополнительный стабилизатор присутствует в таком количестве, что содержание дополнительного стабилизатора в продукте, полученном на стадии (3) или (4), составляет по меньшей мере примерно 2% масс./об., например, по меньшей мере примерно 3%

масс./об., по меньшей мере примерно 5% масс./об., от примерно 5% масс./об. до примерно 30% масс./об., от примерно 10% масс./об. до примерно 25% масс./об. или от примерно 15% масс./об. до примерно 20% масс./об.

Вариант осуществления 39. Способ по варианту осуществления 38, где дополнительный стабилизатор выбран из альбуминов (таких как сывороточный альбумин человека, рекомбинантный альбумин человека, бычий сывороточный альбумин и сухое обезжиренное молоко), моносахаридов, дисахаридов, полисахаридов, маннита и любой их комбинации, предпочтительно, выбран из маннита, лактозы, мальтозы, трегалозы, декстрана, глюкозы и сахарозы и любой их композиции, предпочтительно, представляет собой сахарозу.

Вариант осуществления 40. Способ по любому из вариантов осуществления 34-39, отличающийся тем, что смешанный органический растворитель на стадии (1) добавляют к водной фазе перед смешиванием органической фазы и водной фазы на стадии (2).

Вариант осуществления 41. Способ по варианту осуществления 40, отличающийся тем, что объем добавленного смешанного растворителя равен или меньше объема органической фазы; например, объемное соотношение добавленного смешанного органического растворителя к органической фазе составляет от примерно 1:1 (об./об.) до примерно 1:5 (об./об.), например, от примерно 1:2 (об./об.) до примерно 1:4 (об./об.) или примерно 1:3 (об./об.).

Вариант осуществления 42. Способ по любому из вариантов осуществления 34-41, отличающийся тем, что:

в органической фазе на стадии (1),

SN-38 имеет концентрацию примерно 5-17 мг/мл, например, примерно 5,25-12 мг/мл, примерно 7-12 мг/мл или примерно 10 мг/мл; и/или

липид имеет концентрацию примерно 3-50 мг/мл, например, примерно 5-45 мг/мл или примерно 7,5-30 мг/мл, примерно 10-25 мг/мл или примерно 15-20 мг/мл; и/или

в водной фазе, альбумина имеет концентрацию примерно 5-15 мг/мл, например, примерно 6-12 мг/мл или примерно 6-10 мг/мл.

Вариант осуществления 43. Способ по любому из вариантов осуществления 34-41, отличающийся тем, что:

в органической фазе на стадии (1),

концентрация SN-38 составляет примерно 4-10 мг/мл, например, примерно 6-8 мг/мл; и/или

концентрация липида составляет примерно 10-20 мг/мл, например, примерно 15 мг/мл; и/или

концентрация Span 20 составляет примерно 0,3-6 мг/мл, например, примерно 0,3-2 мг/мл или примерно 0,6-1 мг/мл; и/или

в водной фазе, концентрация альбумина составляет примерно 8-30 мг/мл, например, примерно 12-20 мг/мл или примерно 16-18 мг/мл.

Вариант осуществления 44. Способ по любому из вариантов осуществления 34-43,

включая стадию (4): стерилизация продукта, полученного на стадии (3), предпочтительно, путем фильтрации через фильтрующую мембрану примерно 0,2 мкм.

Вариант осуществления 45. Способ по любому из вариантов осуществления 34-44, отличающийся тем, что способ дополнительно включает следующую стадию:

(5) сушка продукта, полученного на стадии (3) или (4), предпочтительно, распылительной сушкой или лиофилизацией, с получением композиции в твердой форме, предпочтительно, порошка, и более предпочтительно, лиофилизированного порошка; и предпочтительно, SN-38 существует в композиции в аморфной форме.

Вариант осуществления 46. Способ по варианту осуществления 45, отличающийся тем, что стадия (5) дополнительно включает: добавление дополнительного стабилизатора, как указано в варианте осуществления 39, к продукту, полученному на стадии (3) или (4), перед сушкой, где дополнительный стабилизатор находится в таком количестве, чтобы при восстановлении твердой формы, полученной на стадии (5), с образованием водной композиции (включая раствор и эмульсию), содержание дополнительного стабилизатора составляло по меньшей мере примерно 2% масс./об., например, по меньшей мере от примерно 3% масс./об., по меньшей мере примерно 5% масс./об., от примерно 5% масс./об. до примерно 30% масс./об., от примерно 10% масс./об. до примерно 25% масс./об. или от примерно 15% масс./об. до примерно 20% масс./об.

Вариант осуществления 47. Фармацевтическая композиция, содержащая композицию по любому из вариантов осуществления 1-33 и необязательно, фармацевтически приемлемый носитель.

Вариант осуществления 48. Фармацевтическая композиция, содержащая высушенную композицию по любому из вариантов осуществления 1-33 и необязательно, фармацевтически приемлемый носитель.

Вариант осуществления 49. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления 48, где сушка представляет собой лиофилизацию или распылительную сушку, предпочтительно, лиофилизацию.

Вариант осуществления 50. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления 48 или 49, которая находится в твердой форме, предпочтительно, в виде лиофилизированного порошка, и предпочтительно, используется для парентерального введения, более предпочтительно, для введения путем внутривенной инъекции.

Вариант осуществления 51. Применение композиции по любому из вариантов осуществления 1-33 или фармацевтической композиции по любому из вариантов осуществления 47-50 при производстве лекарственного средства для лечения SN-38-чувствительной опухоли у субъекта, где опухоль предпочтительно выбрана из колоректального рака, мелкоклеточного рака легкого, рака лимфы, рака молочной железы (предпочтительно, трижды отрицательного рака молочной железы), рака пищевода, рака желудка, рака печени, рака почки, рака поджелудочной железы, рака матки и рака яичников.

Вариант осуществления 52. Композиция по любому из вариантов осуществления 1-

33 или фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления 47-50 для применения при лечении SN-38-чувствительной опухоли у субъекта, где опухоль предпочтительно выбрана из колоректального рака, мелкоклеточного рака легких, рака лимфы, рака молочной железы (предпочтительно, трижды отрицательного рака молочной железы), рака пищевода, рака желудка, рака печени, рака почки, рака поджелудочной железы, рака матки и рака яичников.

Вариант осуществления 53. Способ лечения SN-38-чувствительной опухоли у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества композиции по любому из вариантов осуществления 1-33 или фармацевтической композиции по любому из вариантов осуществления 47-50, где опухоль предпочтительно выбрана из колоректального рака, мелкоклеточного рака легких, рака лимфы, рака молочной железы (предпочтительно, трижды отрицательного рака молочной железы), рака пищевода, рака желудка, рака печени, рака почки, рака поджелудочной железы, рака матки и рака яичников.

Вариант осуществления, 54. Набор, содержащий композицию по любому из вариантов осуществления 1-33 или фармацевтическую композицию по любому из вариантов осуществления 47-50.

Вариант осуществления 55. Способ получения композиции с улучшенными свойствами, где композиция содержит SN-38, липид и альбумин, где альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и необязательно по меньшей мере часть липида с образованием наночастицы, и

где способ отличается тем, что Span 20 добавляют в процессе приготовления композиции;

где, необязательно, композиция не содержит дополнительный стабилизатор; и/или

где, необязательно, улучшенные свойства включают улучшенную стабильность; где, например, когда композиция находится в жидкой форме, улучшенная стабильность включает: уменьшение образования или содержания мультимера альбумина (например, мультимер альбумина не существует или по существу не существует в композиции, или мультимер альбумина составляет не более 5% масс./масс., например, не более примерно 4%, не более примерно 2%, не более примерно 1,5%, не более примерно 1,2%, не более примерно 1,1%, не более примерно 1% или не более примерно 0,8% от общего количества альбумина) и/или уменьшенный размер наночастиц во время приготовления, хранения и/или применения композиции; и/или

где, необязательно, композиция такая, как определена в любом из вариантов осуществления 1-33.

Вариант осуществления 56. Способ по варианту осуществления 55, отличающийся тем, что способ включает следующие стадии:

(1) растворение SN-38, липида и Span 20 в органическом растворителе с образованием органической фазы; и приготовление водного раствора альбумина в виде водной фазы;

(2) смешивание органической фазы и водной фазы с образованием эмульсии, где эмульсия содержит наночастицы, где в наночастицах альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и необязательно по меньшей мере часть липида; и

(3) удаление органического растворителя из эмульсии с получением продукта, содержащего наночастицы.

Вариант осуществления 57. Способ по варианту осуществления 56, отличающийся тем, что способ включает следующие стадии:

(1) растворение SN-38, липида и Span 20 с использованием смешанного органического растворителя, содержащего первый органический растворитель, выбранный из ДМСО и C_{1-3} спирта (включая метанол, этанол и изопропанол и любую их комбинацию, предпочтительно, этанол (EtOH)) и второй органический растворитель, выбранный из $CHCl_3$ и смеси CH_2Cl_2 и $CHCl_3$, с образованием органической фазы, где в смешанном органическом растворителе объемное соотношение второго органического растворителя к ДМСО или C_{1-3} спирту составляет от примерно 1:20 (об./об.) до примерно 20:1 (об./об.), например, от примерно 1:5 до примерно 5:1 (об./об.), от примерно 1:2 до примерно от 4:1 (об./об.), от примерно 1:1 до примерно 4:1 (об./об.), от примерно 1,5:1 (об./об.) до примерно 3:1 (об./об.) или примерно от 2:1 (об./об.) до 7:3 (об./об.); и приготовление водного раствора альбумина в виде водной фазы;

(2) смешивание органической фазы и водной фазы для приготовления эмульсии, где эмульсия содержит наночастицы, где в наночастицах альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и необязательно по меньшей мере часть липида;

(3) удаление органического растворителя; и

(4) необязательно, стерилизация продукта, полученного на стадии (3), предпочтительно, путем фильтрации через фильтрующую мембрану примерно 0,2 мкм;

где, необязательно, второй органический растворитель представляет собой $CHCl_3$ или смесь CH_2Cl_2 и $CHCl_3$, где необязательно, объемное соотношение CH_2Cl_2 и $CHCl_3$ в смеси составляет примерно 2:5-1:1, предпочтительно, примерно 2:5.

Полезные эффекты

Авторы изобретения обнаружили, что изобретение позволяет сократить количество гомогенизаций под высоким давлением во время приготовления, эффективно уменьшить размер частиц наночастиц в композиции, увеличить поток фильтрации, стабилизировать размер частиц наночастиц после распада, уменьшить потери сырья и снизить стоимость, особенно в масштабированном процессе, например, при приготовлении в пилотном масштабе. Кроме того, путем дополнительного контроля содержания альбумина в композиции, изобретение позволяет контролировать размер наночастиц. Следовательно, размер наночастиц в композиции по изобретению ближе к размеру, подходящему для приготовления лекарственного средства. Кроме того, композиция по изобретению обладает низкой иммуногенностью, высокой безопасностью и обладает превосходной стабильностью при хранении, поскольку образование мультимеров альбумина предотвращается благодаря наличию Span 20 во время хранения.

Примеры

Изобретение будет дополнительно проиллюстрировано следующими Примерами. Эти примеры используют просто для описания изобретения, но не предназначены для его ограничения каким-либо образом.

Сокращения, используемые в примерах, имеют следующие значения.

Сокращение	Китайское наименование	Сокращение	Китайское наименование
гНА	Рекомбинантный сывороточный альбумин человека	HSA	Сывороточный альбумин человека
ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография	EtOH	Этанол
ГПХ-ВЭЖХ	Гель-проникающая хроматография	CHCl ₃	Хлороформ
PDI	Коэффициент дисперсности полимера	Chol	Холестерин
Chol-PA	Пальмитат холестерина	SA-Gly	Глицерилмоностеарат

Способы измерения различных параметров продуктов, полученных в Примерах

1. Измерение размера частиц и распределения частиц по размерам

Потенциометр размера частиц Malvern Nano ZSE используют для измерения размера частиц и распределения частиц по размерам для наночастиц в образцах. Лазерный луч, излучаемый прибором, имеет длину волны 633 нм, и внутренний угол между падающим светом и рассеянным светом составляет 173°. Параметры устанавливают следующие: белок в качестве образца; вода в качестве диспергатора; температура измерения 25°C; и автоматическое сканирующее обнаружение. Каждый образец измеряют трижды параллельно и результаты усредняют.

2. Измерение дзета-потенциала

Потенциометр размера частиц Malvern Nano ZSE используют для измерения дзета-потенциала наночастиц в образцах. Параметры устанавливают следующие: белок в качестве образца; и вода в качестве диспергатора. Выбирают пул образцов DTS1070; температура измерения составляет 25°C; и принимают автоматическое сканирующее обнаружение. Перед обнаружением, тестируемые образцы разводят в 10 раз по объему деионизированной водой. Каждый образец измеряют трижды параллельно и результаты усредняют.

3. Измерение содержания SN-38 в системе.

Берут 10 мг полученного образца, разводят в 5 раз деионизированной водой, затем разводят в 10 раз изопропанолом, экстрагируют ультразвуком в течение 15 минут, и затем центрифугируют при 10000 об/мин в течение 12 минут. Супернатант отбирают для

определения SN-38 в системе с помощью ВЭЖХ, и площадь пика подгоняют к стандартной кривой для расчета содержания SN-38 в системе.

Условия хроматографии ВЭЖХ такие, как показано в Таблице 1.

Таблица 1: Условия хроматографии для измерения содержания SN-38 с помощью ВЭЖХ

Модель хроматографической колонки	Agilent Poroshell 120 EC-C18 2,7 мкм 3,0*150 мм
Длина волны детектора	265 нм, 381 нм
Температура колонки	50°C
Температура лотка для образцов	Комнатная температура
Подвижные фазы	А: 25 mM NaH ₂ PO ₄ , pH 3,1; В: ацетонитрил (АЦН)
Скорость потока	0,6 мл/мин
Режим элюирования	Градиентное элюирование
Объем впрыска образца	5 мкл
Время прогона	25 мин

Условия градиентного элюирования такие, как показано в Таблице 2.

Таблица 2: Условия градиентного элюирования, используемые при измерении содержания SN-38 с помощью ВЭЖХ

Время (мин)	А%	В%
0	80	20
5	80	20
15	15	85
20	15	85
22	80	20
25	80	20

Полученная типовая хроматограмма измерения содержания SN-38 показана на ФИГ. 1 (на примере Примера 1).

4. Измерение содержания альбумина в системе

Для измерения содержания альбумина в системе используют способ BSA. BSA используют в качестве стандарта, и образец разводят в 10 раз. Отбирают 25 мкл разведенной пробы, добавляют 200 мкл раствора для обнаружения и гомогенно перемешивают встряхиванием на шейкере, затем планшет с микролунками герметично закрывают и инкубируют при 37°C в течение 120 мин. Поглощение измеряют при 562 нм на микропланшетном ридере, и концентрацию альбумина в образце рассчитывают по стандартной кривой.

5. Измерение содержания холестерина в системе

Содержание холестерина в образце измеряют ВЭЖХ. Способ разведения образца такой же, как и при описанном выше измерении содержания SN-38. Условия хроматографии такие, как показано в Таблице 3.

Таблица 3: Условия хроматографии для измерения содержания холестерина с помощью ВЭЖХ

Модель хроматографической колонки	Agilent Eclipse XDB-C18 5 мкм 4,6*250 мМ
Хроматографическая колонка №	ZJ-RP-001
Длина волны детектора	205 нм
Температура колонки	30°C
Температура лотка для образцов	15°C
Скорость потока	1 мл/мин
Подвижная фаза	Метанол
Режим элюирования	Изократное элюирование
Объем впрыска образца	5 мкл
Время прогона	20 мин

Полученная типовая хроматограмма измерения содержания холестерина показана на ФИГ. 2 (на примере Примера 1).

6. Расчет загрузки лекарственного средства (LD) и эффективности инкапсулирования (EE).

LD (%)

$$= \frac{\text{Содержание общего SN – 38 в системе} - \text{содержание свободного SN – 38 в системе}}{\text{Содержание альбумина в системе} + \text{содержание общего SN – 38 в системе} + \text{содержание липида в системе}} \times 100\%$$

EE (%)

$$= \frac{\text{Содержание общего SN – 38 в системе} - \text{содержание свободного SN – 38 в системе}}{\text{Содержание общего SN – 38 в системе}} \times$$

где содержание общего SN-38 в системе измеряют способом, описанным в «3. Измерение содержания SN-38 в системе».

Содержание свободного SN-38 в системе измеряют способом ВЭЖХ после экстракции твердофазной экстракцией. Конкретный способ твердофазной экстракции заключается в следующем:

1) Активация SPE plug (Select Core™ HLB, 1 мл): активируют сначала 3 мл метанола, и затем 3 мл.

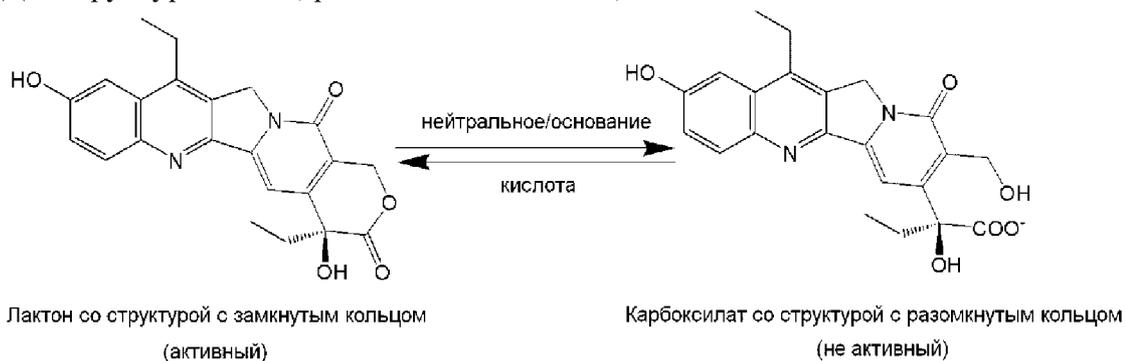
2) 200 мкл образца, подлежащего разделению, загружают и пропускают через колонку под действием силы тяжести.

3) Элюирование осуществляют 2 мл воды под действием силы тяжести.

4) Элюирование осуществляют 2 мл метанола под действием силы тяжести. Фазу метанола собирают для получения раствора для обнаружения свободного SN-38.

7. Обнаружение двух структур SN-38.

Две структуры SN-38, разные по активности, схематически показаны ниже:



Способ обработки образца такой же, как описанное выше измерение содержания SN-38, и условия хроматографии ВЭЖХ такие, как показано в Таблице 4.

Таблица 4: Условия хроматографии ВЭЖХ для измерения содержания различных структур SN-38

Модель хроматографической колонки	Agilent Poroshell 120 EC-C18 4 мкм 3,0*150 мм
Хроматографическая колонка №	QCCA-RP-007
Длина волны детектора	265 нм, Ref 460 нм, 40 нм
Температура колонки	40°C
Температура лотка для образцов	Комнатная температура
Скорость потока	1 мл/мин
Подвижные фазы	А: 25 мМ КН ₂ РО ₄ ; В: АЦН
Режим элюирования	Градиентное элюирование
Объем впрыска образца	5 мкл
Время прогона	20 мин

Условия градиентного элюирования такие, как показано в Таблице 5.

Таблица 5: Условия градиентного элюирования, используемые при измерении содержания различных структур SN-38 с помощью ВЭЖХ

Время (мин)	А%	В%
0	95	5
15	40	60
18	40	60
18.1	95	5
20	95	5

Полученная типовая хроматограмма, измеренная для содержания различных структур SN-38, показана на ФИГ. 3 (на примере Примера 1).

Доля SN-38 с разомкнутым кольцом в образце может быть рассчитана по отношению

площадей пиков структуры с разомкнутым кольцом к структуре лактонового кольца на хроматограмме. Все доли SN-38 с разомкнутым кольцом в образцах, полученных в Примерах по изобретению, составляют <2,0%.

8. Измерение агрегатов альбумина в образце

ГПХ-ВЭЖХ используют для измерения агрегации альбумина в образце. 5 мкл полученного образца отбирают непосредственно для обнаружения, и условия хроматографии такие, как показано в Таблице 6.

Таблица 6: Условия хроматографии ГПХ-ВЭЖХ для измерения агрегатов альбумина в образце

Модель хроматографической колонки	TSKgel G4000SWxl 7,8 ×300 мм, 8 мкм
Хроматографическая колонка №	QCCA-RP-007
Длина волны детектора	280 нм, 260 нм
Температура колонки	30°C
Температура лотка для образцов	10°C
Скорость потока	0,5 мл/мин
Подвижная фаза	0,05 М Tris-HCl, pH 7,0
Режим элюирования	Изократное элюирование
Объем впрыска образца	5 мкл
Время прогона	30 мин

Полученная типовая хроматограмма измерения агрегатов альбумина показана на ФИГ. 4 (на примере Примера 1). Результаты показывают, что в образцах нет мультимера альбумина и существует лишь небольшое количество димера, что указывает на то, что этот продукт не демонстрирует иммуногенность из-за мультимеров альбумина.

9. Эксперименты по стабильности и распаду

Стабильность образцов измеряют главным образом путем хранения приготовленных образцов при комнатной температуре и 4°C отдельно и наблюдения за тем, имеется ли в образцах явное осаждение или осадок с определенными интервалами; тем временем отбирают образцы для определения размера частиц и распределения частиц по размерам для изучения изменения размера наночастиц в образцах.

Эксперимент по распаду проводят для изучения стабильности связывания альбумина и SN-38 в образце. Образец разводят 1 x PBS при pH 7,4 и измеряют размер частиц и распределение частиц по размерам в образцах при различных коэффициентах разведения, чтобы изучить, при каком коэффициенте разведения будет происходить распад наночастиц с выпадением сырья SN-38 в осадок. Более высокий коэффициент разведения указывает на лучшую стабильность наночастиц.

10. Способ обнаружения XRD

Способ рентгеновской дифракции (Bruker, D8 ADVANCE) используют для оценки

изменения кристаллической формы активного фармацевтического ингредиента (API) в образце. Кристаллические формы лиофилизированного порошка альбумина, лиофилизированного порошка альбумин-SN-38 и SN-38 определяют отдельно. Лучи Cu-K α используют для сканирования диапазона 2θ 2°-40° со скоростью 2°/мин.

11. Способ обнаружения электронной микроскопией

Условия получения образцов: концентрацию API в каждом образце доводят до 2 мг/мл водой для инъекций. Температура составляет 4°C, влажность составляет 100%, время блоттинга составляет 9 секунд, сила блоттинга составляет 3. Криогенный трансмиссионный электронный микроскоп (Talos L120C) используют для наблюдения морфологии везикул и кристаллов в образце под 120 кВ.

В зависимости от конкретных обстоятельств, вышеуказанные способы измерения выбирают для измерения образцов, полученных в следующих Примерах.

Экспериментальные материалы:

Если не указано иное, SN-38, используемый в следующих Примерах, предоставлен Sichuanxieli Pharmaceutical Co., Ltd.; холестерин предоставлен компанией Jiangsu Southeast Nanomaterials Co., Ltd.; гНА предоставлен North China Pharmaceutical Company Ltd.; HSA предоставлен компанией Guang Dong Shuang Lin Bio-Pharmacy Co., Ltd.; и инъекция гидрохлорида иринотекана (CPT-11, 60 мг/кг) предоставлена Jiangsu Hengrui Pharmaceuticals Co., Ltd.

Если не указано иное, в следующих экспериментальных исследованиях на животных, дозы продуктов гНА-SN-38 или HSA-SN-38 и CPT-11 основаны на активных ингредиентах; растворителем является вода для инъекций, которую используют в качестве холостой пробы.

Пример 1: Получение Продукта 1 гНА-SN-38

1. Процесс получения

- 1) Получают органический растворитель EtOH/CHCl₃ в объемном соотношении 2/3;
- 2) Берут 21 мг SN -38 и 30 мг холестерина, добавляют 3 мл органического растворителя со стадии 1) и полностью растворяют с получением раствора лекарственного средства;
- 3) Водный раствор гНА общим объемом примерно 21 мл получают с деионизированной водой в качестве водной фазы так, чтобы общее содержание гНА в водной фазе составляло 200 мг;
- 4) Сдвиговое диспергирование: после смешивания раствора лекарственного средства со стадии 2) с водной фазой со стадии 3), сдвиговое диспергирование осуществляют в течение 10-15 минут для получения неочищенной эмульсии;
- 5) Неочищенную эмульсию переносят в гомогенизатор высокого давления и гомогенизируют под давлением 1300-1500 бар в течение 2-7 мин;
- 6) Роторное испарение осуществляют при температуре 40-45°C в течение 4-8 мин;
- 7) Фильтрацию осуществляют через 0,2 мкм PES мембрану шприцевого фильтра (Sartorius Pharm.). До и после фильтрации измеряют такие параметры, как размер частиц,

эффективность инкапсулирования и загрузка лекарственного средства в образце продукта.

2. Результаты измерений

Результаты измерений образца, полученного в Примере 1, представлены в Таблице

7.

Таблица 7: Результаты измерения параметров образца, полученного в Примере 1

Параметры	Образец перед прохождением через мембрану	Образец после прохождения через мембрану
Размер частиц (нм)	171,2±8,04 нм	124,6±3,62 нм
PDI	0,243±0,015	0,217±0,015
Дзета-потенциал (мВ)	-33,5	-31,3
Загрузка лекарственного средства (%)	--	3,27
Эффективность инкапсулирования (%)	--	90,10
Доля (%) SN-38 с разомкнутым кольцом	1,987	1,833
Концентрация при распаде	--	Когда исходный образец разводят в 1000 раз, распределение частиц по размерам становится широким, но распад с осаждением частиц SN-38 не происходит. После разведения в 10000 раз происходит очевидный распад. То есть, когда концентрацию SN-38 в образце разводят до <0,05 мкг/мл, наночастицы быстро распадаются.
Стабильность	--	После хранения образца в холодильнике при 4°C в течение 24 часов, размер частиц образца составляет 138,2±5,36 нм, и размер частиц увеличивается на 10,91%.

Примечания: Доля увеличения размера частиц=((размер частиц после размещения - размер частиц до размещения) * 100%/размер частиц до размещения)

Пример 2: Получение лиофилизованного состава продукта 1 HSA-SN-38 и его восстановленного раствора

1. Процесс получения

- 1) Получают органический растворитель EtOH/CHCl₃ в объемном соотношении 2/3;
- 2) Берут 21 мг SN-38 и 30 мг холестерина, добавляют 3 мл органического растворителя со стадии 1) и полностью растворяют с получением раствора лекарственного средства;
- 3) Водный раствор HSA общим объемом примерно 32 мл получают с деионизированной водой в качестве водной фазы так, чтобы общее содержание HSA в водной фазе составляло 200 мг;
- 4) Сдвиговое диспергирование: после того как раствор лекарственного средства со стадии 2) смешивают с водной фазой со стадии 3), сдвиговое диспергирование осуществляют в течение 10-15 минут для получения неочищенной эмульсии;
- 5) Неочищенную эмульсию переносят в гомогенизатор высокого давления и гомогенизируют под давлением 1300-1500 бар в течение 2-7 мин;
- 6) Роторное испарение осуществляют при температуре 40-45°C в течение 4-8 мин;
- 7) К продукту, полученному на стадии 6), добавляют сахарозу и перемешивают так, чтобы сахароза полностью растворилась, чтобы получить концентрацию сахарозы 30 мг/мл;
- 8) Лиофилизированную композицию наночастиц HSA-SN-38 получают путем фильтрации через 0,2 мкм PES мембрану шприцевого фильтра, заполнения флаконов и лиофилизации в вакууме.

Лиофилизированный продукт подвергают XRD анализу.

Берут два лиофилизированных образца, один из которых разводят деионизированной водой так, чтобы концентрация SN-38 была такой же, как концентрация перед лиофилизацией (восстановленный раствор 1), и другой разводят деионизированной водой так, чтобы концентрация SN-38 была в 6 раз выше концентрации перед лиофилизацией (восстановленный раствор 2). Измеряют такие параметры, как размер частиц и эффективность инкапсулирования двух восстановленных растворов.

2. Результаты измерений

(1) Результаты измерения параметров восстановленных растворов.

Результаты измерения параметров восстановленных растворов лиофилизированных продуктов, полученных в Примере 2, представлены в Таблице 8.

Таблица 8: Результаты измерения параметров восстановленных растворов лиофилизированных продуктов, полученных в Примере 2

Параметры	Восстановленный раствор 1	Восстановленный раствор 2
pH	6,91	6,90
Размер частиц (d, нм)	158,3±3,4	178,2±3,2
PDI	0,210±0,018	0,241±0,018
Дзета-потенциал (мВ)	-31,4±0,6	-29,3±0,9

Доля разомкнутого кольца (%)	1,86	1,92
Эффективность инкапсулирования (%)	98,64	98,97
Загрузка лекарственного средства (%)	5,08	5,08

Примечания: при измерении эффективности инкапсулирования в настоящем документе, способ измерения содержания свободного SN-38 заключается в следующем: образец центрифугируют на высокой скорости (центрифугируют при 21000 об/мин в течение 1 ч), отбирают супернатант и затем экстрагируют путем добавления в 9 раз большего объема ацетонитрила для обнаружения.

Результаты показывают, что когда концентрация активного ингредиента увеличивается до 6 раз после восстановления, размер частиц увеличивается лишь незначительно и остается менее 200 нм. Остальные свойства образца существенно не изменяются. Следовательно, лиофилизированный состав по настоящей заявке можно разводить до различных концентраций, необходимых для использования.

(2) Результаты XRD анализа

Лиофилизированный продукт, кристаллы SN-38 и HSA, подвергают XRD-обнаружению, и результаты показаны на ФИГ. 5.

Результаты показывают, что при сравнении результатов измерения HSA-SN-38 и SN-38, SN-38 в лиофилизированном порошке находится в аморфном состоянии. Сообщалось, что активный фармацевтический ингредиент в аморфной форме более склонен к растворению и имеет более высокую биодоступность по сравнению с кристаллической формой (например, Wang, D., Liang, N., Kawashima, Y. *et al.* Biotin-modified bovine serum albumin nanoparticles as a potential drug delivery system for paclitaxel. *J Mater Sci* **54**, 8613-8626 (2019)). Состав настоящей заявки имеет преимущества высокой скорости растворения SN-38 и высокой биодоступности по сравнению с кристаллической формой SN-38.

Пример 3: Получение продукта 2 гНА-SN-38

1. Процесс получения

1) Получают органический растворитель EtOH/CHCl₃ в объемном соотношении 2/3;
 2) Берут 42 мг SN-38 и 60 мг холестерина, добавляют 3 мл органического растворителя со стадии 1) и полностью растворяют с получением раствора лекарственного средства;

3) Водный раствор гНА общим объемом примерно 21 мл получают с деионизированной водой в качестве водной фазы так, чтобы общее содержание гНА в водной фазе составляло 500 мг;

4) Сдвиговое диспергирование: после того как раствор лекарственного средства со стадии 2) смешивают с водной фазой со стадии 3), сдвиговое диспергирование осуществляют в течение 10-15 минут для получения неочищенной эмульсии;

5) Неочищенную эмульсию переносят в гомогенизатор высокого давления и гомогенизируют под давлением 1300-1500 бар в течение 2-7 мин;

6) Роторное испарение осуществляют при температуре 40-45°C в течение 4-8 мин;

7) Фильтрацию осуществляют через 0,2 мкм PES мембрану шприцевого фильтра. До и после фильтрации измеряют такие параметры, как размер частиц, эффективность инкапсулирования и загрузка лекарственного средства в образце продукта.

2. Результаты измерений

Результаты измерений Продукта 2 показаны в Таблице 9.

Таблица 9: Результаты измерения параметров образца, полученного в Примере 3

Параметры	Образец перед прохождением через мембрану	Образец после прохождения через мембрану
Размер частиц/PDI (нм/---)	177,6 нм/0,24	124,4 нм/0,214
Дзета-потенциал	-26,2	-25,2
Загрузка лекарственного средства (%)	4,61	3,21
Эффективность инкапсулирования (%)	92,21	91,01

Пример 4. Получение продукта 3 гНА-SN-38.

1. Процесс получения

1) Получают органический растворитель EtOH/CHCl₃ в объемном соотношении 2/3;

2) Берут 42 мг SN-38 и 60 мг холестерина, добавляют 3 мл органического растворителя со стадии 1) и полностью растворяют с получением раствора лекарственного средства;

3) Водный раствор гНА общим объемом примерно 21 мл получают с деионизированной водой в качестве водной фазы так, чтобы общее содержание гНА в водной фазе составляло 200 мг;

4) Сдвиговое диспергирование: после того как раствор лекарственного средства со стадии 2) смешивают с водной фазой со стадии 3), сдвиговое диспергирование осуществляют в течение 10-15 минут для получения неочищенной эмульсии;

5) Неочищенную эмульсию переносят в гомогенизатор высокого давления и гомогенизируют под давлением 1300-1500 бар в течение 2-7 мин;

6) Роторное испарение осуществляют при температуре 40-45°C в течение 4-8 мин;

7) Фильтрацию осуществляют через 0,2 мкм PES мембрану шприцевого фильтра. До и после фильтрации измеряют такие параметры, как размер частиц, эффективность инкапсулирования и загрузка лекарственного средства в образце продукта.

2. Результаты измерений

Результаты измерений Продукта 3 показаны в Таблице 10.

Таблица 10: Результаты измерения параметров образца, полученного в Примере 4

Параметр	Образец перед прохождением через мембрану	Образец после прохождения через мембрану
Размер частиц/PDI (нм/---)	150,7 нм/0,264	117,1 нм/0,204
Загрузка лекарственного средства (%)	10,6	9,3
Эффективность инкапсулирования (%)	80,3	79,10

Пример 5. Получение продукта 4 гНА-SN-38.

1. Процесс получения

1) Получают органический растворитель EtOH/CHCl₃ в объемном соотношении 2/3;
 2) Берут 10 мг SN-38 и 60 мг холестерина, добавляют 3 мл органического растворителя со стадии 1) и полностью растворяют с получением раствора лекарственного средства;

3) Водный раствор гНА общим объемом примерно 21 мл получают с деионизированной водой в качестве водной фазы так, чтобы общее содержание гНА в водной фазе составляло 150 мг;

4) Сдвиговое диспергирование: после того как раствор лекарственного средства со стадии 2) смешивают с водной фазой со стадии 3), сдвиговое диспергирование осуществляют в течение 10-15 минут для получения неочищенной эмульсии;

5) Неочищенную эмульсию переносят в гомогенизатор высокого давления и гомогенизируют под давлением 1300-1500 бар в течение 2-7 мин;

6) Роторное испарение осуществляют при температуре 40-45°C в течение 4-8 мин;

7) Фильтрацию осуществляют через мембрану шприцевого фильтра PES 0,2 мкм. До и после фильтрации измеряют такие параметры, как размер частиц, эффективность инкапсулирования и загрузка лекарственного средства в образце продукта.

2. Результаты измерений

Результаты измерений Продукта 4 показаны в Таблице 11.

Таблица 11: Результаты измерения параметров образца, полученного в Примере 5

Параметр	Образец перед прохождением через мембрану	Образец после прохождения через мембрану
Размер частиц/PDI (нм/---)	180,7 нм/0,226	146,3 нм/0,207

Дзета-потенциал	-26,1	-35,6
Загрузка лекарственного средства (%)	4,1	3,13
Эффективность инкапсулирования (%)	92,1	90,4

Пример 6: Получение продукта гНА-SN-38 в отсутствие липида

Продукт гНА-SN-38 Примера 6 получают в соответствии со способом получения Примера 1, за исключением добавления липидов (например, холестерина) на стадии 2) способа получения Примера 1, и тестируют. Результаты измерений параметров продукта гНА-SN-38 представлены в Таблице 12.

Таблица 12: Результаты измерения параметров продукта гНА-SN-38, полученного в Примере 6

Параметры	Образец перед прохождением через мембрану	Образец после прохождения через мембрану
Размер частиц/PDI (нм/---)	248,5 нм/0,205	160,3 нм/0,157
Размер частиц через 24 ч/PDI (нм/---)	--	271,1 нм/0,228
Загрузка лекарственного средства (%)	--	2,15
Эффективность инкапсулирования (%)	--	82,70

Результаты показывают, что образец, полученный без добавления липидов, имеет плохую стабильность, и размер частиц образца увеличивается на 69,12% после хранения в холодильнике при 4°C в течение 24 часов. Напротив, после того, как образец, полученный в Примере 1 (с добавлением липида), хранят в холодильнике при 4°C в течение 24 часов, размер частиц образца увеличивается только на 10,91%. Это показывает, что добавление холестерина значительно улучшает стабильность образца. Кроме того, загрузка лекарственного средства и эффективность инкапсулирования без добавления липидов ниже, чем результаты с добавлением холестерина.

Пример 7: Получение продуктов гНА-SN-38 с добавлением других липидов

Два продукта гНА-SN-38 получают в соответствии со способом получения Примера 1, за исключением замены холестерина на стадии 2) способа получения Примера 1 хеновой кислотой или пальминовой кислотой, и тестируют. Результаты измерений параметров изделий гНА-SN-38 представлены в Таблице 13.

Таблица 13: Результаты измерения параметров продуктов гНА-SN-38, полученных в Примере 7

Образец		Размер частиц (нм)	PDI
К органическому растворителю добавляют 5 мг/мл холевой кислоты	Образец перед прохождением через мембрану	295,7 нм	0,191
	Образец после прохождения через мембрану	--	--
К органическому растворителю добавляют 5 мг/мл пальминовой кислоты	Образец перед прохождением через мембрану	533,4 нм	0,222
	Образец после прохождения через мембрану	--	--

Результаты показывают, что образцы, полученные с помощью одного и того же процесса получения с холевой кислотой или пальминовой кислотой в качестве липида, имеют больший размер частиц, и образец с добавлением пальминовой кислоты имеет еще больший размер частиц и более широкое распределение частиц по размерам, чем образец, в который добавлена холевая кислота. После обработки через мембрану, содержание наночастиц в образцах является чрезвычайно низким, и распределение частиц по размерам является очень большим, и невозможно дать объективные результаты по размеру частиц и PDI.

Пример 8: Исследование различных систем органических растворителей

За исключением замены органического растворителя на стадии 1) процесса получения Примера 1 на систему органических растворителей, показанную в Таблице 14, продукты гНА-SN-38 получают в соответствии со способом получения Примера 1 и тестируют. Размер частиц полученных продуктов также измеряют после хранения в холодильнике при 4°C в течение ночи. Результаты измерений параметров полученных продуктов гНА-SN-38 приведены в Таблице 14.

Таблица 14: Результаты измерения параметров продуктов гНА-SN-38, полученных с использованием различных систем органических растворителей

Система органических растворителей (об./об.)	Размер частиц до прохождения через мембрану/PDI (нм/---)	Размер частиц после прохождения через мембрану/PDI (нм/---)	Размер частиц после хранения при 4°C в течение	Загрузка лекарственного средства (%)	Абсолютное восстановление SN-38 (%)

			ночи/PDI (нм/--)		
Хлороформ:этанол= 1:1	178,2/0,251	118,2/0,177	137,1/0,197	4,21	34,39
Хлороформ:изопроп анол=1:1	230,1/0,253	132,8/0,186	153,8/0,171	2,66	22,92
Хлороформ:метанол =1:1	209,2/0,311	128,5/0,245	150,1/0,180	2,80	26,93
Дихлорметан:этанол =1:1	247,1/0,206	148,3/0,198	168,4/0,125	1,63	14,63
Дихлорметан:метано л=1:1	287,0/0,191	151,6/0,189	171,2/0,183	1,02	7,68
Дихлорметан:изопро панол=1:1	283,2/0,164	148,7/0,266	161,9/0,249	0,28	1,87

Примечания: восстановление SN-38 рассчитывают по следующей формуле:

Абсолютное восстановление SN-38 (%)=(концентрация SN-38 в образце после прохождения через мембрану, измеренная с помощью ВЭЖХ × объем образца после прохождения через мембрану)/(Количество сырья SN-38) × 100%

Результаты показывают, что образец, полученный с использованием системы хлороформ/этанол в качестве органического растворителя, имеет наименьший размер частиц и самую высокую загрузку лекарственного средства.

Пример 9: Исследование различных соотношений органических растворителей

За исключением того, что органический растворитель на стадии 1) процесса получения Примера 1 заменен на EtOH/CHCl₃ в различных соотношениях, показанных в Таблице 15, и количество гНА, используемое в системе, доведено до 300 мг, продукты гНА-SN-38 получают в соответствии со способом получения Примера 1 и тестируют. Результаты измерений параметров полученных продуктов гНА-SN-38 представлены в Таблице 15.

Таблица 15. Результаты измерения параметров продуктов гНА-SN-38, полученных с использованием EtOH/CHCl₃ в различных соотношениях

Образец	Размер частиц (нм)	PDI	Загрузка лекарственного средства (%)	Эффективность инкапсулирования (%)
EtOH/CHCl ₃	Образец перед	154,7	0,220	--

=1/1 (об./об.)	прохождением через мембрану				
	Образец после прохождения через мембрану	125,0	0,197	3,89	92,74
EtOH/CHCl ₃ =2/8 (об./об.)	Образец перед прохождением через мембрану	175,2	0,248	--	--
	Образец после прохождения через мембрану	119,2	0,214	3,82	89,43
EtOH/CHCl ₃ =1/9 (об./об.)	Образец перед прохождением через мембрану	318,3	0,348	--	--
	Образец после прохождения через мембрану	120,7	0,235	1,34	84,02

Видно, что продукты гНА-SN-38 с удовлетворительным размером частиц, загрузкой лекарственного средства и эффективностью инкапсулирования могут быть получены с использованием органических растворов EtOH/CHCl₃ в различных соотношениях.

Пример 10: Исследование различных концентраций холестерина

За исключением того, что количество холестерина, используемого на стадии 2) процесса получения Примера 1, доводят до количества, показанного в Таблице 16, продукты гНА-SN-38 получают в соответствии со способом получения Примера 1 и тестируют. Результаты измерений параметров полученных продуктов гНА-SN-38 представлены в Таблице 16.

Таблица 16: Результаты измерения параметров продуктов гНА-SN-38, полученных с использованием различных концентраций холестерина

Образец		Размер частиц (нм)	PDI	Загрузка лекарственного средства (%)	Эффективность инкапсулирования (%)
Холестерин 9 мг	Образец перед прохождением через мембрану	220,0	0,233	--	--
	Образец после	145,1	0,189	1,94	92,74

	прохождения через мембрану				
Холестерин 15 мг	Образец перед прохождением через мембрану	170,8	0,214	--	--
	Образец после прохождения через мембрану	132,7	0,179	3,79	90,47
Холестерин 45 мг	Образец перед прохождением через мембрану	173,6	0,371	--	--
	Образец после прохождения через мембрану	126,8	0,247	3,60	94,07

Результаты показывают, что когда количество холестерина, используемого в составе, увеличивают, размер частиц образцов после прохождения через мембрану меньше, а эффективность инкапсулирования и загрузка лекарственного средства SN-38 в образцах выше.

Пример 11: Исследование различных концентраций SN-38

За исключением того, что количество SN-38, использованное на стадии 2) процесса получения Примера 1, доводят до количеств, показанных в Таблице 17, продукты гНА-SN-38 получают в соответствии со способом получения Примера 1 и тестируют. Результаты измерений параметров полученных продуктов гНА-SN-38 представлены в Таблице 17.

Таблица 17: Результаты измерения параметров продуктов гНА-SN-38, полученных с использованием различных концентраций SN-38

Образец		Размер частиц (нм)	PDI	Загрузка лекарствен ного средства (%)	Эффективнос ть инкапсулиров ания (%)
SN-38 15 мг	Образец перед прохождением через мембрану	175,1	0,265	--	--
	Образец после прохождения через мембрану	122,3	0,246	2,57	91,29

SN-38 30 мг	Образец перед прохождением через мембрану	180,3	0,226	--	--
	Образец после прохождения через мембрану	126,7	0,195	4,60	88,94

Результаты показывают, что увеличение концентрации SN-38 в составе мало влияет на размер частиц, но приводит к увеличению загрузки лекарственного средства.

Пример 12: Исследование различных концентраций гНА в водной фазе

За исключением того, что количество гНА или объем водной фазы на стадии 3) процесса получения Примера 1 доводят до значений, показанных в Таблице 18, продукты гНА-SN-38 получают в соответствии со способом получения Примера 1 и тестируют. Результаты измерений параметров полученных продуктов гНА-SN-38 представлены в Таблице 18.

Таблица 18: Результаты измерения параметров продуктов гНА-SN-38, полученных с использованием различных концентраций гНА

Образец		Размер частиц (нм)	PDI	Загрузка лекарственного средства (%)	Эффективность инкапсулирования (%)
гНА 150 мг	Образец перед прохождением через мембрану	170,6	0,231	--	--
	Образец после прохождения через мембрану	125,8	0,198	3,98	92,30
гНА 250 мг	Образец перед прохождением через мембрану	177,6	0,240	--	--
	Образец после прохождения через мембрану	124,4	0,214	2,81	91,01

Результаты показывают, что увеличение количества альбумина приводит к небольшому уменьшению загрузки лекарственного средства и мало влияет на эффективность инкапсулирования.

Пример 13: Исследование различных объемных соотношений органический растворитель/водная фаза

За исключением того, что объем органического растворителя на стадии 2) или объем водной фазы на стадии 3) способа получения примера 1 доводят до значений, показанных в Таблице 19, продукты гНА-SN-38 получают в соответствии с процессом получения Примера 1 и тестируют. Результаты измерений параметров полученных продуктов гНА-SN-38 представлены в Таблице 19.

Таблица 19: Результаты измерения параметров продуктов гНА-SN-38, полученных с различными объемными соотношениями органический растворитель/водная фаза

Образец		Размер частиц (нм)	PDI	Загрузка лекарственного средства (%)	Эффективность инкапсулирования (%)
Объем органического растворителя 2 мл	Образец перед прохождением через мембрану	176,5	0,248	--	--
	Образец после прохождения через мембрану	120,7	0,235	3,56	89,23
Объем органического растворителя 4 мл	Образец перед прохождением через мембрану	190,5	0,223	--	--
	Образец после прохождения через мембрану	121,6	0,222	2,66	90,67
Объем водной фазы 17 мл	Образец перед прохождением через мембрану	175,2	0,251	--	--
	Образец после прохождения через мембрану	122,1	0,209	1,81	79,32
Объем водной фазы 27 мл	Образец перед прохождением через мембрану	164,9	0,236	--	--
	Образец после прохождения через мембрану	129,6	0,206	3,46	94,22

	мембрану				
--	----------	--	--	--	--

Результаты показывают, что чем меньше объемное соотношение органический растворитель:водная фаза, тем выше загрузка лекарственного средства в продукт, и эффективность инкапсулирования SN-38 увеличивается.

Пример 14: Получение продуктов гНА-SN-38, содержащих дополнительные стабилизаторы

1. Процесс получения

1) Получают органический растворитель EtOH/CHCl₃ в объемном соотношении 2/3;
2) Берут 21 мг SN-38 и 30 мг холестерина, добавляют 3 мл органического растворителя со стадии 1) и полностью растворяют с получением раствора лекарственного средства;

3) Получают раствор HSA с деионизированной водой и добавляют сахарозу или глюкозу в качестве стабилизатора для образования водной фазы (примерно 32 мл), где общее содержание HSA в водной фазе составляет 200 мг, и концентрация сахарозы или содержание глюкозы в конечном продукте показаны в Таблице 20;

4) Сдвиговое диспергирование: после того как раствор лекарственного средства со стадии 2) смешивают с водной фазой со стадии 3), сдвиговое диспергирование осуществляют в течение 10-15 минут для получения неочищенной эмульсии;

5) Неочищенную эмульсию переносят в гомогенизатор высокого давления и гомогенизируют под давлением 1300-1500 бар в течение 2-7 мин;

6) Роторное испарение осуществляют при температуре 40-45°C в течение 4-8 мин;

7) Фильтрацию осуществляют через 0,2 мкм PES мембрану шприцевого фильтра. До и после фильтрации измеряют такие параметры, как размер частиц, эффективность инкапсулирования и загрузка лекарственного средства в образцах продукта.

8) Размер частиц полученных продуктов снова измеряют после хранения в холодильнике при 4°C в течение ночи.

2. Результаты измерений

Результаты измерений параметров полученных изделий HSA-SN-38 приведены в Таблице 20.

Таблица 20: Результаты измерения параметров изделий HSA-SN-38, содержащих дополнительные стабилизаторы

Содержание сахаридов (масс./об.)	Размер частиц перед прохождением через мембрану/PDI (нм/--)	Размер частиц после прохождения через мембрану/PDI (нм/--)	Размер частиц после хранения при 4°C в течение ночи/PDI (нм/--)	Загрузка лекарственного средства (%)	Абсолютное восстановление в течение SN-38 (%)
3% сахарозы	176,6/0,265	117,0/0,263	124,2/0,251	3,86	34,25

10% сахарозы	149,1/0,267	100,3/0,221	112,5/0,225	5,01	43,99
3% глюкозы	185,9/0,248	132,1/0,235	159,7/0,230	6,46	58,57
10% глюкозы	152,6/0,250	118,5/0,225	139,7/0,224	5,76*	64,50

Примечания: * поскольку глюкоза является восстановительным сахаридом и влияет на результат определения концентрации белка ВАС, результат измерения загрузки лекарственного средства продукта с добавленной глюкозой может быть ниже.

Результаты показывают, что продукт, полученный с добавлением сахарозы к водной фазе, имеет относительно меньший размер частиц и лучшую стабильность по сравнению с глюкозой, но имеет меньшую загрузку лекарственного средства, чем продукт, полученный с добавлением глюкозы. Для того же стабилизатора, с увеличением его концентрации, показатели дополнительно улучшаются.

Авторы изобретения далее измерили влияние циклодекстрина (5%, 10% и 15%) в качестве стабилизатора и обнаружили, что после выдерживания при комнатной температуре в течение 24 часов, полученные продукты становятся мутными из-за осаждения или имеют размер частиц больше чем 250 нм. Следовательно, циклодекстрин может оказаться непригодным для использования в качестве стабилизатора.

Пример 15: Получение продуктов HSA-SN-38 различными способами получения

1. Процесс получения

1) Получают органический растворитель EtOH/CHCl₃ в объемном соотношении 2/3;
2) Берут 21 мг SN-38 и 30 мг холестерина, добавляют 3 мл органического растворителя со стадии 1) и полностью растворяют с получением раствора лекарственного средства;

3) Получают раствор HSA с деионизированной водой и добавляют сахарозу в качестве водной фазы (примерно 32 мл), где общее содержание HSA в водной фазе составляет 200 мг, и концентрация сахарозы в конечном продукте составляет 10% (масс./об.);

4) Сдвиговое диспергирование: 1 мл органического растворителя со стадии 1) добавляют к водной фазе со стадии 3) и диспергируют под сдвигом в течение 5 минут, и затем добавляют раствор лекарственного средства со стадии 2) и непрерывно диспергируют под сдвигом в течение 5 мин для получения неочищенной эмульсии;

5) Неочищенную эмульсию переносят в гомогенизатор высокого давления и гомогенизируют под давлением 1300-1500 бар в течение 2-7 мин;

6) Роторное испарение осуществляют при температуре 40-45°C в течение 4-8 мин;

7) Фильтрацию осуществляют через 0,2 мкм PES мембрану шприцевого фильтра. До и после фильтрации измеряют такие параметры, как размер частиц, эффективность инкапсулирования и загрузка лекарственного средства в образцах продукта.

8) Размер частиц полученных продуктов снова измеряют после хранения в холодильнике при 4°C в течение ночи.

2. Результаты измерений

Результаты измерений параметров полученного изделия HSA-SN-38 приведены в Таблице 21.

Таблица 21. Результаты измерения параметров продукта HSA-SN-38, полученного различными способами получения

Образец	Размер частиц до прохождения через мембрану/PDI (нм/---)	Размер частиц после прохождения через мембрану/PDI (нм/---)	Размер частиц после хранения при 4°C в течение ночи/PDI (нм/--)	Загрузка лекарственного средства (%)	Абсолютное восстановление SN-38 (%)
Продукт Примера 15	156,2 нм/0,243	121,1 нм/0,210	145,5 нм/0,203	8,41	60,04

Результаты показывают, что продукт HSA-SN-38, полученный путем сначала обработки раствора альбумина небольшим количеством органического растворителя, и затем добавления раствора лекарственного средства, демонстрирует превосходные параметры, особенно более высокую загрузку лекарственного средства.

Пример 16: Получение продуктов rHA-SN-38, полученных с использованием других липидов

Продукты rHA-SN-38 получают в соответствии со способом получения Примера 1 и тестируют, за исключением того, что холестерин на стадии 2) процесса получения Примера 1 заменяют липидами, указанными в Таблице 22 ниже (холестерилпальмитат (Chol-PA, TCI Co., Ltd.), глицерилмоностеарат (SA-Gly, damas-beta Co., Ltd.) и витамин D3 (Aladdin Reagent Co., Ltd.)). Размеры частиц полученных продуктов также измеряют после хранения в холодильнике при 4°C в течение ночи. Результаты измерений параметров изделий rHA-SN-38 приведены в Таблице 22.

Таблица 22: Результаты измерения параметров продуктов rHA-SN-38, полученных с использованием других липидов

Липид и его количество	Размер частиц до прохождения через мембрану/PDI (нм/---)	Размер частиц после прохождения через мембрану/PDI (нм/---)	Размер частиц после хранения при 4°C в течение ночи/PDI (нм/--)	Загрузка лекарственного средства (%)	Абсолютное восстановление SN-38 (%)
30 мг Chol-PA	184,4/0,255	128,1/0,238	165,3/0,281	4,74	38,43

60 мг Chol-PA	177,0/0,265	121,5/0,283	131,7/0,283	5,34	44,43
90 мг Chol-PA	151,1/0,342	100,1/0,290	119,5/0,409	5,50	49,00
30 мг Витамин D3	172,7/0,224	111,5/0,271	--	2,76	35,83
30 мг SA-Gly	183,6/0,211	141,3/0,160	458,1/0,546	7,04	65,99

Результаты показывают, что продукты с однородным размером частиц и высокой загрузкой лекарственного средства могут быть получены в случае Chol-PA и SA-Gly. Чем выше количество Chol-PA, тем меньше размер частиц продукта и тем выше абсолютное восстановление SN-38 и загрузка лекарственного средства. Однако гранулометрический состав расширен. Продукт, полученный добавлением SA-Gly, имеет более крупный размер частиц и более высокое абсолютное восстановление SN-38 и загрузку лекарственного средства, но меньшую стабильность.

Пример 17: Получение продуктов rHA-SN-38, полученных с использованием липидных комбинаций

За исключением того, что холестерин на стадии 2) процесса получения Примера 1 заменяют комбинациями липидов, показанными в Таблице 23 ниже, продукты rHA-SN-38 получают в соответствии со способом получения Примера 1 и тестируют. Размеры частиц полученных продуктов также измеряют после хранения в холодильнике при 4°C в течение ночи. Результаты измерений параметров изделий rHA-SN-38 приведены в Таблице 23.

Таблица 23: Результаты измерения параметров продуктов rHA-SN-38, полученных с использованием липидных комбинаций

Добавка и количество	Размер частиц до прохождения через мембрану/PDI (нм/---)	Размер частиц после прохождения через мембрану/PDI (нм/---)	Размер частиц после хранения при 4°C в течение ночи/PDI (нм/---)	Загрузка лекарственного средства (%)	Абсолютное восстановление SN-38 (%)
30 мг Chol+15 мг Chol-PA	178,6/0,281	112,6/0,241	131,2/0,213	4,43	43,43
30 мг Chol+30 мг Chol-PA	157,5/0,278	101,3/0,232	114,0/0,186	5,12	46,55
15 мг Chol+30 мг Chol-PA	176,2/0,290	103,2/0,230	114,9/0,197	4,05	35,63

мг Chol-PA					
30 мг Chol+30 мг SA-Gly	213,6/0,235	168,8/0,202	--	5,52	49,71
30 мг Chol-PA+30 мг SA-Gly	195,6/0,226	143,7/0,183	153,6/0,152	5,19	41,49

Результаты показывают, что добавление Chol-PA в состав позволяет уменьшить размер частиц продукта; и чем больше добавленное количество, тем меньше размер частиц и тем лучше стабильность продукта. Продукт, полученный добавлением SA-Gly в состав, имеет крупный размер частиц, но уменьшенное распределение частиц по размерам. Продукт, полученный добавлением как Chol-PA, так и SA-Gly, имеет более низкое распределение частиц по размерам и хорошую стабильность при хранении.

Пример 18: Получение продуктов гНА-SN-38, полученных с увеличенной долей липидов

За исключением того, что количество холестерина составляет 60 мг, другое сырье в этом примере было таким же, как в Примере 1. Для получения жидких и лиофилизированных порошкообразных составов, сырье делят на две группы для получения жидкого состава по способу Примера 1 и получения лиофилизированного порошкообразного состава по способу Примера 2 (стадию 7 не проводят), соответственно. Результаты измерения параметров полученных жидких и лиофилизированных порошкообразных составов гНА-SN-38 представлены в следующей таблице:

Жидкий состав			Лиофилизированный порошок		
Размер частиц до лиофилизации /PDI (нм/---)	Загрузка лекарственного средства (%)	Содержание мультимера гНА (%)	Размер частиц после восстановления/ PDI (нм/---)	Загрузка лекарственного средства (%)	Мультимер гНА (%)
142,5/0,259	4,56	0,95	164,0/0,226	4,4	0,57

Пример 19: Крупномасштабное получение продукта HSA-SN-38

Процесс получения в пилотном масштабе изучают на основе вышеуказанных получений в малом масштабе, и продукт HSA-SN-38 этого примера получают в условиях крупномасштабного производства.

1. Процесс получения

1) Получают смешанный органический растворитель EtOH (152 мл) и CHCl₃ (228 мл);

2) Берут 3,36 г SN-38 и 4,8 г холестерина, полностью растворяют в органическом растворителе со стадии 1) и инкубируют при 50°C в течение 30 мин или более для получения раствора лекарственного средства;

3) Водный раствор (3360 мл) HSA (32 г) получают с деионизированной водой в качестве водной фазы;

4) Сдвиговое диспергирование: после того как раствор лекарственного средства со стадии 2) смешивают с водной фазой со стадии 3), сдвиговое диспергирование осуществляют в течение 10-15 минут для получения неочищенной эмульсии;

5) Неочищенную эмульсию переносят в гомогенизатор высокого давления и гомогенизируют в течение 10 циклов под давлением 900-1200 бар;

6) К продукту, полученному на стадии 5), добавляют раствор сахарозы (100 г/л, 2,16 л) и перемешивают;

7) Смесь, полученную на стадии 6), выпаривают на роторном испарителе при давлении 60-70 мбар, и образец концентрируют с использованием ультрафильтрации в тангенциальном потоке (Suzhou Saiensi Instrument Co., Ltd.);

8) Для фильтрации используют листовой фильтр (Sartorius, SARTOBRAN P). Образцы отбирают до и после фильтрации для измерения размера частиц и эффекта инкапсулирования. Фильтрат разливают по флаконам и лиофилизируют в вакууме с получением лиофилизированной композиции наночастиц HSA-SN-38.

2. Результаты измерений

(1) Результат размера частиц

Размер частиц образца фильтрата, полученного на стадии 8), составляет 124,6 нм (PDI=0,187).

(2) Эффект инкапсулирования

Таблица 24. Эффект инкапсулирования образца фильтрата, полученного на стадии 8) Примера 19

Концентрация SN-38 (мг/мл)	Относительное восстановление SN-38 (%)	Абсолютное восстановление SN-38 (%)	Чистота SN-38 (%)	Содержание HSA (мг/мл)	Содержание мультимеров HSA (%)	Абсолютное восстановление HSA (%)	Остаток органического раствора и тела (мг/мл)	Загрузка лекарственного средства (%)
0,605	73,083	57,638	99,851	6,7	0,5	66,608	Этанол 0,76; хлороформ 0,0049	8,329

Примечания: относительное восстановление SN-38 (%) представляет собой долю разницы концентрации SN-38 в образце до и после прохождения через мембрану относительно концентрации SN-38 в образце до прохождения через мембрану; и

абсолютное восстановление HSA (%) представляет собой долю количества HSA в продукте после прохождения через мембрану по отношению к количеству подаваемого HSA.

3. Эксперимент по распаду

Полученный лиофилизированный состав восстанавливают 1 x PBS при pH 7,4 до концентрации SN-38 1 мг/мл, и затем градиентно разводят до 100 мкг/мл, 10 мкг/мл, 1 мкг/мл, 0,1 мкг/мл и 0,01 мкг/мл, и измеряют размер частиц и распределение частиц по размерам при различных концентрациях.

Полученные результаты показаны на ФИГ. 6. Результаты показывают, что наночастицы HSA-SN-38 начинают распадаться, когда концентрация SN-38 составляет менее 1 мкг/мл, и медленно распадаются, когда концентрация SN-38 достигает 0,01 мкг/мл. Это указывает на то, что лиофилизированный продукт HSA-SN-38, полученный в Примере 19, имеет превосходную стабильность и значительно превосходит другие нанолекарственные препараты альбумина, коммерчески доступные в настоящее время.

Пример 20: Крупномасштабное получение продукта HSA-SN-38

Процесс получения в пилотном масштабе изучают на основе вышеуказанных получений в малом масштабе, и продукт HSA-SN-38 этого примера получают в условиях крупномасштабного производства.

1. Процесс получения

1) Получают смешанный органический растворитель EtOH (222 мл) и CHCl₃ (333 мл);

2) Берут 4,41 г SN-38 и 6,30 г холестерина, полностью растворяют в 480 мл органического растворителя со стадии 1), инкубируют при 50°C в течение 30 мин и более, и затем смешивают с оставшимся органическим растворителем с получением раствора лекарственного средства;

3) Водный раствор (3360 мл) HSA (32 г) получают с деионизированной водой в качестве водной фазы;

4) Сдвиговое диспергирование: после того как раствор лекарственного средства со стадии 2) смешивают с водной фазой со стадии 3), сдвиговое диспергирование осуществляют в течение 10-15 минут для получения неочищенной эмульсии;

5) Неочищенную эмульсию переносят в гомогенизатор высокого давления и гомогенизируют в течение 10 циклов под давлением 900-1200 бар;

6) К продукту, полученному на стадии 5), добавляют раствор сахарозы (36 г/л, 6 л) и перемешивают;

7) Смесь, полученную на стадии 6), выпаривают на роторном испарителе при давлении 60-70 мбар и образец концентрируют с использованием ультрафильтрации в тангенциальном потоке (Suzhou Saiensi Instrument Co., Ltd.);

8) Для фильтрации используют листовой фильтр (Sartorius, SARTOBRAN P). Образцы отбирают до и после фильтрации для измерения размера частиц и эффекта инкапсулирования. Фильтрат разливают по флаконам и лиофилизируют в вакууме с

получением лиофилизированной композиции наночастиц HSA-SN-38.

2. Результаты измерений

(1) Результат размера частиц

Размер частиц образца фильтрата, полученного на стадии 8), составляет 146,9 нм (PDI=0,208).

(2) Эффект инкапсулирования

Таблица 25. Эффект инкапсулирования образца фильтрата, полученного на стадии 8) Примера 20

Соде р жани е SN- 38 (мг/м л)	Относи тельно восстан овлени е SN- 38 (%)	Абсолю тное восстан овле ние SN-38 (%)	Чист ота SN- 38 (%)	Содерж ание HSA (мг/мл)	Содержа ние мульти меров HSA (%)	Абсолют ное восстано вление HSA (%)	Остаток органичес кого растворит еля (мг/мл)	Загруз ка лекарс твенно го средст ва (%)
0,772	71,015	46,236	99,8 82	8,5	0,1	69,838	Этанол 1,18; хлорофор м 0,0048	8,358

3. Эксперимент по распаду

Полученный лиофилизированный состав восстанавливают водой для инъекций до концентрации SN-38 1 мг/мл, и затем градиентно разводят до 100 мкг/мл, 10 мкг/мл, 1 мкг/мл, 0,1 мкг/мл и 0,01 мкг/мл, и измеряют размер частиц и распределение частиц по размерам при различных концентрациях.

Полученные результаты показаны на ФИГ. 7. Результаты показывают, что, как и продукт Примера 19, продукт HSA-SN-38 этого примера начинает распадаться со значительно расширенным распределением частиц по размерам, когда концентрация SN-38 составляет менее примерно 1 мкг/мл, и быстро распадается, когда концентрация SN-38 достигает 0,1 мкг/мл. Продукт HSA-SN-38 этого примера все еще имеет хорошую стабильность и явно превосходит другие коммерчески доступные наносоставы альбумина.

Пример 21: Исследование токсичности продукта гНА-SN-38 из Примера 1

Фармакодинамический эксперимент осуществляют с продуктом гНА-SN-38, полученным в Примере 1, в модели подкожно имплантированных опухолевых клеток Нер 3В человека (клеток ATCC HB-8064) у голых мышей BALB/c, и одновременно оценивают безопасность.

Путем внутривенной инъекции в хвост, выбранным голым мышам BALB/c с опухолями (по 5 мышей в каждой группе) вводят продукт гНА-SN-38 (30 мг/кг) из Примера 1 один раз в неделю в течение 6 недель подряд. Массу тела животных измеряют на 13, 16,

20, 23, 27, 30, 34, 37 и 41 дни после введения. Результаты показаны на ФИГ. 8.

Результаты показывают, что продукт (30 мг/кг) Примера 1 не влияет на массу тела животных, обладает хорошей безопасностью и хорошей эффективностью ингибирования опухолей.

Пример 22: Исследование активности продукта гНА-SN-38 против опухоли молочной железы

Фармакодинамический эксперимент осуществляют с продуктом гНА-SN-38, полученным в Примере 1, в модели подкожно имплантированной опухоли трижды отрицательного рака молочной железы человека MDA-MB-231 (ATCC: CRM-HTB-26™) у голых мышей BALB/c для изучения применения композиции по изобретению при лечении рака.

Исследование проводят по двум протоколам.

Протокол I:

21 подходящих голых мышей BALB/c с опухолями выбирают и случайным образом делят на 3 группы, по 7 мышей в каждой группе, и вводят стерильную воду для инъекций, коммерчески доступную инъекцию гидрохлорида иринотекана (60 мг/кг) и продукт гНА-SN-38 (15 мг/кг), соответственно. Мышам вводят внутривенную инъекцию в хвост дважды в неделю в течение 3 недель подряд. День первого введения принимают за день 0 и в этот день измеряют объем опухоли каждого животного. Во время введения, общие клинические проявления у животных наблюдают ежедневно, и массу тела и объемы опухолей измеряют дважды в неделю.

Результаты эксперимента показаны в Таблице 26. Продукт гНА-SN-38 по изобретению оказывает чрезвычайно значительный эффект ингибирования опухоли в модели подкожно имплантированной опухоли трижды отрицательного рака молочной железы человека MDA-MB-231 у голых мышей BALB/c и явно превосходит коммерчески доступную инъекцию гидрохлорида иринотекана. После 3 доз, степень ингибирования опухоли продуктом гНА-SN-38 (15 мг/кг) составляет 95%, и степень ингибирования опухоли коммерчески доступной инъекцией гидрохлорида иринотекана (60 мг/кг) составляет 71%.

Таблица 26: Терапевтический эффект продукта гНА-SN-38 на подкожно имплантированную опухоль трижды отрицательного рака молочной железы человека Mda-Mb-231 у голых мышей

Группа	Введенная доза (мг/кг)	Объем опухоли в 0 день (мм ³)	Объем опухоли на 16 день (мм ³)	Степень ингибирования опухоли (%)
Вода для инъекций	-	138	2624	-
Продукт гНА-SN-38	15	143	128	95
Коммерческая инъекция	60	141	754	71

гидрохлорида иринотекана				
-----------------------------	--	--	--	--

Протокол II:

42 подходящих голых мышей BALB/c с опухолями отбирают и случайным образом делят на 6 групп, по 7 мышей в каждой группе, и вводят стерильную воду для инъекций, коммерчески доступную инъекцию гидрохлорида иринотекана (60 мг/кг, 80 мг/кг), гНА (220 мг/кг) и продукт гНА-SN-38 (1,67 мг/кг, 5 мг/кг, 15 мг/кг), соответственно. Мышам вводят внутривенную инъекцию в хвост дважды в неделю в течение 3 недель подряд. День первого введения принимают за день 0 и в этот день измеряют объем опухоли каждого животного. Во время введения, общие клинические проявления у животных наблюдают ежедневно, и массу тела и объемы опухолей измеряют дважды в неделю.

Результаты экспериментов показаны на ФИГ. 9. Как показано на ФИГ. 9, использованные различные дозы продукта гНА-SN-38 демонстрируют превосходное преимущество в ингибировании опухоли, которое зависит от дозы.

Как показали приведенные выше результаты эксперимента, продукт гНА-SN-38 по изобретению имеет низкую дозу введения и высокую степень ингибирования опухоли, оказывает значительно лучший терапевтический эффект, чем коммерчески доступная инъекция гидрохлорида иринотекана, и оказывает превосходный терапевтический эффект на трижды отрицательный рак молочной железы человека.

Пример 23: Исследование активности продукта гНА-SN-38 против рака толстой кишки (НТ-29)

Лиофилизированный порошок продукта гНА-SN-38, полученный в Примере 2, восстанавливают и подвергают фармакодинамическому эксперименту в модели подкожно имплантированной опухоли рака толстой кишки человека НТ-29 (ATCC: НТВ 3В™) у голых мышей BALB/c для изучения применения композиции изобретения при лечении рака.

Исследование проводят по двум протоколам.

Протокол I:

21 подходящих голых мышей BALB/c с опухолями отбирают и случайным образом делят на 3 группы, по 7 мышей в каждой группе, и вводят стерильную воду для инъекций, коммерчески доступную инъекцию гидрохлорида иринотекана (60 мг/кг) и продукт гНА-SN-38 (30 мг/кг), соответственно. Мышам вводят внутривенную инъекцию в хвост один раз в неделю в течение 3 недель подряд. День первого введения принимают за день 0 и в этот день измеряют объем опухоли каждого животного. Во время введения, общие клинические проявления у животных наблюдают ежедневно, и массу тела и объемы опухолей измеряют дважды в неделю.

Результаты эксперимента показаны в Таблице 27. Продукт гНА-SN-38 (30 мг/кг) по изобретению оказывает чрезвычайно значительный эффект ингибирования опухоли в модели подкожно имплантированной опухоли рака толстой кишки человека НТ-29 у голых мышей BALB/c и явно превосходил коммерчески доступную инъекцию гидрохлорида

иринотекана (60 мг/кг). После 4 доз, степень ингибирования опухоли продуктом гНА-SN-38 (30 мг/кг) составляет 72%, и степень ингибирования опухоли коммерчески доступной инъекцией гидрохлорида иринотекана (60 мг/кг) составляет 47%.

Таблица 27: Терапевтический эффект продукта гНА-SN-38 на подкожно имплантированную опухоль рака толстой кишки человека HT-29 у голых мышей

Группа	Введенная доза (мг/кг)	Объем опухоли в 0 день (мм ³)	Объем опухоли на 26 день (мм ³)	Степень ингибирования опухоли (%)
Вода для инъекций	-	97	1082	-
Продукт гНА-SN-38	30	99	308	72
Коммерческая инъекция гидрохлорида иринотекана	60	97	578	47

Протокол II:

15 подходящих голых мышей BALB/c с опухолями отбирают и случайным образом делят на 3 группы, по 5 мышей в каждой группе, и вводят стерильную воду для инъекций, коммерчески доступную инъекцию гидрохлорида иринотекана (60 мг/кг, 80 мг/кг) и продукт гНА-SN-38 (3,3 мг/кг, 10 мг/кг, 30 мг/кг), соответственно. Мышам вводят внутривенную инъекцию в хвост один раз в неделю в течение 4 недель подряд. День первого введения принимают за день 0, и в этот день измеряют объем опухоли каждого животного. Во время введения, общие клинические проявления у животных наблюдают ежедневно, и массу тела и объемы опухолей измеряют дважды в неделю.

Как показано на ФИГ. 10, различные дозы продукта гНА-SN-38 демонстрируют превосходное преимущество в ингибировании опухоли, которое зависит от дозы.

Как показали приведенные выше результаты эксперимента, продукт гНА-SN-38 по изобретению имеет низкую дозу введения и высокую степень ингибирования опухоли, оказывает значительно лучший терапевтический эффект, чем коммерчески доступная инъекция гидрохлорида иринотекана, и оказывает превосходный терапевтический эффект на рак толстой кишки человека.

Пример 24: Фармакодинамическое исследование опухоли MDA-MB-231 *in vivo*

Цель: противоопухолевую активность различных доз продукта HSA-SN-38 из Примера 19 (введенных после восстановления в носителе) оценивают на модели подкожного ксенотрансплантата линии клеток трижды отрицательного рака молочной железы человека MDA-MB-231 (ATCC: CRM-HTB-26™) у голых мышей BALB/c и сравнивают с коммерчески доступной инъекцией гидрохлоридом иринотекана (CPT-11).

1. Дизайн эксперимента

Таблица 28. Дизайн эксперимента по изучению противоопухолевого действия

тестируемых агентов в модели рака молочной железы человека MDA-MB-231

Группа	Лечение	Количество		Путь введения	с Объем (мл/кг)	Схема дозирования
		во животные	Доза (мг/кг)			
	Носитель					
1	(Холостая проба)	7	-	в/в	10	QW x 3
2	CPT-11	7	60	в/в	10	QW x 3
3	CPT-11	7	80	в/в	10	QW x 3
4	A01S	7	240	в/в	10	QW x 3
5	HSA-SN-38	7	15	в/в	10	QW x 3
6	HSA-SN-38	7	5	в/в	10	QW x 3
7	HSA-SN-38	7	1,67	в/в	10	QW x 3

Примечания: QW: дозируется один раз в неделю.

A01S: сывороточный альбумин человека (Guang Dong Shuang Lin Bio-Pharmacy Co., Ltd.) используют в качестве отрицательного контроля.

2. Способ эксперимента

Отбирают 49 самок голых мышей Balb/c (6-8 недель), и опухолевые массы MDA-MB-231 инокулируют в правые лопатки голых мышей. Животных случайным образом группируют (по 7 животных в каждой группе) через 16 дней после инокуляции опухолевых масс, и вводят внутривенную инъекцию в хвост. Через неделю после последнего введения, опухоли берут у всех мышей и взвешивают.

3. Экспериментальное наблюдение и сбор данных

После инокуляции опухолевых клеток, помимо наблюдения за ростом опухоли, также определяют влияние лечения на поведение животных, в том числе на активность, потребление пищи и воды, изменение массы тела (массу тела измеряют дважды в неделю), а также любые аномалии в глазах, шерсти и других состояниях тестируемых животных. Клинические симптомы, наблюдаемые в ходе эксперимента, фиксируют в исходных данных. Объем опухоли рассчитывают по следующей формуле:

Объем опухоли (мм³)=1/2 x (a x b²) (a представляет длинный диаметр и b представляет короткий диаметр).

Когда масса тела отдельного животного снижается более чем на 15% (BWL >15%), введение отдельному животному прекращают и возобновляют, когда снижение массы тела

восстанавливается до уровня ниже 10%. Когда масса тела отдельного животного уменьшается более чем на 20%, отдельное животное подвергают эвтаназии в соответствии с правилами защиты животных.

4. Критерии оценки для терапевтического эффекта

Относительная скорость пролиферации опухоли (Т/С (%)) представляет собой долю относительных объемов опухолей или масс опухолей в группе лечения и контрольной группе в определенный момент времени, которую рассчитывают по следующей формуле:

$$T/C (\%) = T_{RTV} / C_{RTV} \times 100\%$$

где T_{RTV} представляет средний RTV группы лечения; и C_{RTV} представляет средний RTV группы контрольного носителя;

где:

$$RTV = V_t / V_0,$$

где V_0 представляет объем опухоли животного при делении на группы, и V_t представляет объем опухоли животного после лечения;

или

$$T/C \% = T_{TW} / C_{TW} \times 100\%$$

где T_{TW} представляет среднюю массу опухоли в группе лечения в конце эксперимента; и C_{TW} представляет среднюю массу опухоли группы контрольного носителя в конце эксперимента.

Относительную степень ингибирования опухоли (TGI (%)) рассчитывают по следующей формуле:

$$TGI (\%) = (1 - T/C) \times 100\%,$$

где Т и С представляют относительные объемы опухолей (RTV) или массы опухолей (TW) группы лечения и контрольной группы в конкретный момент времени, соответственно.

5. Статистический анализ

Средние значения опухоли разных групп сравнивают с помощью однофакторного ANOVA в эксперименте. Анализ однородности дисперсии показывает значительную разницу в значении F, и после анализа ANOVA проводят множественное сравнение с использованием способа Даннета ТЗ (гетерогенная дисперсия). Анализ всех данных проводят с использованием SPSS 17.0. $p < 0,05$ считается показателем значимой разницы.

6. Результаты эксперимента

6.1 Изменение массы тела: как показано на ФИГ. 11.

6.2. Изменение объема опухоли : как показано на ФИГ. 12.

6.3 Показатели оценки противоопухолевой эффективности

В следующей Таблице 29 показаны показатели оценки эффективности ингибирования опухоли такими агентами, как HSA-SN-38 и СРТ-11, в модели ксенотрансплантата MDA-MB-231.

Таблица 29. Анализ эффективности в каждой группе лечения в модели рака молочной железы человека MDA-MB-231

Агент	№ ^а	Объем		RTV (D33)	Масса опухоли (мг) (D33)	Т/С (%)		p Значение	
		опухоли (мм ³)				RTW	TW	TV	TW
		D16	D33						
Носитель	7/7	138± 22	2624±4 33	19,01±1, 31	2451±354	100	100	1,000	1,000
СРТ-11 60 мг/кг	7/7	141± 23	754±21 8	4,59±1,0 4	680±212	24	28	0,058	0,027
СРТ-11 80 мг/кг	7/6	144± 27	389±12 0	2,46±0,4 1	391±143	13	16	0,023	0,011
A01S 240 мг/кг	7/7	145± 27	2811±4 32	20,67±2, 65	2399±304	109	98	1,000	1,000
HSA-SN- 38 15 мг/кг	7/7	143± 28	128±25	0,89±0,0 5	69±17	5	3	0,015	0,007
HSA-SN- 38 5 мг/кг	7/7	143± 28	1074±1 16	8,42±1,0 2	920±90	44	38	0,130	0,057
HSA-SN- 38 1,67 мг/кг	7/7	135± 19	2022±4 38	16,98±4, 16	1641±367	89	67	0,998	0,873

Примечания: а. представляет количество животных до введения/количество животных в конце эксперимента

7. Заключение

Высокая доза HSA-SN-38 (15 мг/кг) оказывает очевидный эффект ингибирования опухоли и превосходит СРТ-11. В конце эксперимента (33 день после инокуляции опухоли), после 3 доз, группа высокой дозы HSA-SN-38 имеет объем опухоли 128 мм³, RTV 0,89, значение Т/С 5% и $p=0,015$. Промежуточная доза HSA-SN-38 (5 мг/кг) также оказывает определенное ингибирующее действие на рост опухоли, но достоверно не отличается от группы носителя ($p=0,130$). Никакой явной противоопухолевой активности не наблюдается в группе лечения низкой дозой (1,67 мг/кг) HSA-SN-38. Результат анализа массы опухоли по существу соответствует результату анализа объема опухоли.

Влияние на изменение массы тела мышей с опухолями в каждой группе показано на ФИГ. 11. Во время эксперимента, в группе лечения высокой дозой (80 мг/кг) СРТ-11 одно животное погибло, и у остальных 6 животных нет явного снижения массы тела после второй

дозы. В конце эксперимента, масса тела увеличивается на 1,95% по сравнению с таковой до введения. Ни одно животное не погибло в группе лечения низкой дозой (60 мг/кг) СРТ-11, и после последней дозы, масса тела увеличивается на 2,41% по сравнению с таковой до введения. Ни одно животное не погибло, и никаких других аномальных токсических реакций не наблюдается в группах, получающих три дозы HSA-SN-38. После последней дозы, масса тела увеличивается в разной степени по сравнению с таковой до введения, прибавка массы тела в группах высокой, средней и низкой доз составила 3,70%, 7,63% и 4,85%, соответственно. Наиболее выраженным является увеличение массы тела в контрольных группах носителя и A01S, которое в конце эксперимента составляет 10,84% и 9,04% по сравнению с таковым до введения, соответственно.

Подводя итог, HSA-SN-38 в дозе 15 мг/кг оказывает значительный эффект в ингибировании роста опухоли на модели рака молочной железы человека MDA-MB-231. Аналогичным образом, СРТ-11 в дозе 80 мг/кг оказывает значительный эффект в ингибировании роста опухоли, который, однако, слабее, чем у группы, получающей высокие дозы HSA-SN-38; и одно животное погибло после второго введения лекарственного средства. В целом, HSA-SN-38 обладает более сильной противоопухолевой активностью, чем СРТ-11, и обладает хорошей переносимостью, не приводит к гибели животных и не демонстрирует другие токсические реакции в ходе эксперимента.

Пример 25: Фармакодинамическое исследование опухоли НСТ116 *in vivo*

Цель: проверяют противоопухолевую активность HSA-SN-38 (введенного после восстановления в носителе), полученного в Примере 20, в модели подкожного ксенотрансплантата клеточной линии рака толстой кишки человека НСТ116 (ATCC CCL-247) у голых мышей BALB/c, и по сравнению с коммерчески доступным гидрохлоридом иринотекана (СРТ-11) для инъекций.

1. Дизайн эксперимента

Таблица 30. Дизайн эксперимента по изучению противоопухолевого действия тестируемых агентов на линии клеток рака толстой кишки человека НСТ116

Группа	Уход	Количество животных	Доза (мг/кг)	Путь введения	Объем дозы (мл/кг)	Схема дозирования
	Носитель					
1	(Холостая проба)	7	-	в/в	10	QW x 4
2	СРТ-11	7	60	в/в	10	QW x 4
3	СРТ-11	7	80	в/в	10	QW x 4
4	A01S	7	450	в/в	10	QW x 4
5	HSA-SN-38	7	30	в/в	10	QW x 4
6	HSA-SN-	7	10	в/в	10	QW x 4

	38					
7	HSA-SN- 38	7	3.3	в/в	10	QW x 4

2. Способ эксперимента

Опухолевую массу НСТ116 в хорошем состоянии разрезают на небольшие опухолевые массы размером 20-30 мм³, которые инокулируют в правые лопатки в общей сложности 70 голым мышам. Когда средний объем опухоли достигает примерно 121 мм³ через 15 дней после инокуляции опухолевых масс, мышей с чрезмерно маленькими или большими объемами опухоли отсеивают, и оставшихся 49 мышей случайным образом распределяют по группам (7 групп по 7 мышей в каждой группе) по объему опухоли и вводят (путем внутривенной инъекции в хвост) один раз в неделю, в течение в общей сложности 4 недель. Терапевтический эффект оценивают по относительной скорости ингибирования опухоли (TGI), и безопасность оценивают по изменению массы тела и гибели животных. Через неделю после последней дозы, у всех мышей берут опухоли, взвешивают и фотографируют.

3. Статистический анализ

Средние значения опухоли разных групп сравнивают с помощью однофакторного ANOVA в эксперименте. Анализ однородности дисперсии показывает значительную разницу в значении F, и после анализа ANOVA проводят множественное сравнение с использованием способа Даннета Т3 (гетерогенная дисперсия). Анализ всех данных проводят с использованием SPSS 17.0. $p < 0,05$ считают показателем значимой разницы.

4. Результаты эксперимента

4.1 Изменение массы тела: как показано на ФИГ. 13.

4.2 Изменение объема опухоли

Изменение объема опухоли в различных группах показано в Таблице 31 и на ФИГ. 14.

Таблица 31. Объем опухоли животных разных групп в разные моменты времени

Время (D)	Объем опухоли (мм ³ , среднее ± СОС)						
	Холостая проба	СРТ-11 60 мг/кг	СРТ-11 80 мг/кг	A01S 450 мг/кг	HSA-SN- 38 30 мг/кг	HSA-SN- 38 10 мг/кг	HSA-SN- SN-38 3,3 мг/кг
15	117±13	117±15	119±15	117±14	123±18	124±20	117±12
19	221±31	194±36	171±21	184±23	134±21	175±38	184±19
22	306±40	221±36	194±24	244±36	144±20	194±35	243±30
26	533±66	287±44	233±30	403±37	138±28	222±34	342±40
29	637±82	327±48	238±32	521±28	134±25	265±27	447±50

33	869±133	378±65	249±37	723±41	125±22	293±29	599±72
36	990±154	411±79	252±39	794±54	125±23	316±34	653±72
40	1200±17 7	437±85	236±43	863±57	117±20	355±37	763±90
43	1487±19 3	477±103	231±44	1176±77	113±20	433±35	865±99

4. 3 показателя оценки противоопухолевой эффективности

В Таблице 32 показаны показатели оценки противоопухолевой эффективности таких агентов, как HSA-SN-38 и СРТ-11, в модели ксенотрансплантата НСТ116.

Таблица 32. Анализ эффективности в каждой группе лечения в модели рака толстой кишки человека НСТ116

Агент	№ ^а	Объем опухоли (мм ³)		RTV (D43)	Масса опухоли (мг) (D43)	Т/С (%)		<i>p</i> Значение	
		D15	D43			RT V	T W	TV	TW
Холостая проба	7/ 7	117±1 3	1487±19 3	12,58±1,0 5	1441±216	100	10 0	1,00 0	1,0 00
СРТ-11 60 мг/кг	7/ 7	117±1 5	477±103	4,42±1,05	370±87	35	26	0,01 9	0,0 26
СРТ-11 80 мг/кг	7/ 7	119±1 5	231±44	1,95±0,31	173±34	16	12	0,00 7	0,0 13
A01S 450 мг/кг	7/ 7	117±1 4	1176±77	11,22±1,8 7	982±78	89	68	0,89 5	0,6 40
HSA-SN-38 30 мг/кг	7/ 7	123±1 8	113±20	0,92±0,13	86±18	7	6	0,00 5	0,0 10
HSA-SN-38 10 мг/кг	7/ 7	124±2 0	433±35	3,75±0,36	342±42	30	24	0,01 8	0,0 26
HSA-SN-38 3,3 мг/кг	7/ 7	117±1 2	865±99	7,65±0,96	778±100	61	54	0,22 7	0,2 62

Примечания: а. представляет количество животных до введения/количество животных в конце эксперимента

5. Заключение и обсуждение.

В эксперименте наблюдают, что высокая доза HSA-SN-38 (30 мг/кг) оказывает значительный эффект ингибирования опухоли и превосходит СРТ-11. В конце эксперимента (43 дня (D43) после инокуляции опухоли), после 4 доз, группа, получающая высокую дозу HSA-SN-38, имеет объем опухоли 113 мм³, RTV 0,92 и значение Т/С

составляет 7% и достоверно отличается от группы носителя ($p=0,005$). Промежуточная доза HSA-SN-38 (10 мг/кг) обладает противоопухолевой активностью, эквивалентной группе низкой дозы (60 мг/кг) СРТ-11, имеет объем опухоли 433 мм³, RTV 3,75, значение Т/С составляет 30% и достоверно отличается от группы контрольного носителя ($p=0,018$). Результат анализа веса опухоли по существу соответствует результату анализа объема опухоли.

В ходе эксперимента ни одно животное не погибло в каждой экспериментальной группе. Однако масса тела животных разных групп, включая группу носителя, снижается в разной степени. Снижение массы тела животных в конце эксперимента по сравнению с массой тела до введения составляет 1,83% в группе носителя, 5,41% в группе А01S, 16,00% и 14,41% в группах высокой дозы и низкой дозы (80 мг/кг и 60 мг/кг) СРТ-11, соответственно, и 11,84%, 13,85% и 12,57% в группах трех доз HSA-SN-38 (30 мг/кг, 10 мг/кг, и 3,3 мг/кг), соответственно. Учитывая, что масса тела животных в группе носителя и группе А01S снижается в разной степени в эксперименте и никакого явного снижения массы тела животных в группах лечения HSA-SN-38 в фармакологических экспериментах в других моделях не наблюдается, считают, что снижение массы тела животных в каждой группе лечения HSA-SN-38 в эксперименте может быть связано с особенностью кахексии модели НСТ116.

Подводя итог, HSA-SN-38 (в дозах 30 мг/кг и 10 мг/кг) оказывает значительный эффект в ингибировании роста опухоли на модели рака толстой кишки человека и превосходит положительный контроль СРТ-11, и имеет хорошую переносимость и не вызывает гибели животных и другие токсические реакции, наблюдаемые во время введения в эксперименте.

Пример 26: Фармакодинамическое исследование в модели рака яичников человека SKOV-3 *in vivo*

Цель: проверяют противоопухолевую активность различных доз HSA-SN-38 из Примера 19 (введенных после разведения в носителе) в модели подкожного ксенотрансплантата линии клеток рака яичников человека SKOV-3 (АТСС НТВ 77) у голых мышей NU/NU и сравнивают с коммерчески доступным гидрохлоридом иринотекана (СРТ-11) для инъекций.

1. Дизайн эксперимента

Таблица 33. Дизайн эксперимента по изучению противоопухолевого действия тестируемых агентов на модели рака яичников человека SKOV-3

Группа	Лечение	Количество животных	Доза (мг/кг)	Путь введения	Объем дозы (мл/кг)	Схема дозирования
1	Носитель (Холостая проба)	8	-	в/в	10	QW x 4

2	CPT-11	8	60	в/в	10	QW x 4
3	CPT-11	8	80	в/в	10	QW x 4
4	A01S	8	450	в/в	10	QW x 4
5	HSA-SN-38	8	30	в/в	10	QW x 4
6	HSA-SN-38	8	10	в/в	10	QW x 4
7	HSA-SN-38	8	3.3	в/в	10	QW x 4

2. Способ эксперимента

Опухолевые массы SKOV-3 подкожно инокулируют 80 голым мышам BALB/c. 56 мышей с опухолями отбирают на 14 день после инокуляции и в среднем делят на 7 групп по 8 мышей в каждой группе. Мышам вводят внутривенную инъекцию в хвост один раз в неделю в течение в общей сложности 4 недель. Терапевтический эффект оценивают по относительной скорости ингибирования опухоли (TGI), и безопасность оценивают по изменению массы тела и гибели животных.

3. Статистический анализ

Средние значения опухоли разных групп сравнивают с помощью однофакторного ANOVA в эксперименте. Анализ однородности дисперсии показывает значительную разницу в значении F, и после анализа ANOVA проводят множественное сравнение с использованием способа Даннета Т3 (гетерогенная дисперсия). Анализ всех данных проводят с использованием SPSS 17.0. $p < 0,05$ считают показателем значимой разницы.

4. Результаты эксперимента

4.1 Изменение массы тела : как показано на ФИГ. 15.

4.2 Изменение объема опухоли

Изменение объема опухоли в разных группах показано в Таблице 34 и на ФИГ. 16.

Таблица 34. Объем опухоли животных разных групп в разные моменты времени

Время (D)	Объем опухоли (мм ³ , среднее ± СОС)						
	Холостая проба	CPT-11 60 мг/кг	CPT-11 80 мг/кг	A01S 450 мг/кг	HSA-SN-38 30 мг/кг	HSA-SN-38 10 мг/кг	HSA-SN-38 3,3 мг/кг
14	160±23	161±16	162±17	163±17	163±17	162±16	162±16
18	313±48	246±30	224±21	300±39	186±23	250±31	235±17
21	450±83	405±44	343±33	458±58	248±32	372±50	375±31
25	687±135	497±51	429±65	708±89	249±39	470±60	511±62
28	866±152	642±68	598±62	857±91	296±46	615±74	684±83
32	1103±163	834±90	743±133	1199±149	299±54	883±134	919±124
35	1256±21	1010±96	933±149	1607±249	334±63	1218±171	1078±15

	5						3
39	1658±30	1214±11	1332±85	2206±360	355±78	1382±189	1387±23
	9	9					1
42	2151±35	1430±13	1854±12	2933±513	445±117	1596±269	1792±30
	1	6	0				7

4.3 Показатели оценки противоопухолевой эффективности

В Таблице 35 представлены показатели оценки противоопухолевой эффективности HSA-SN-38 и СРТ-11 в модели ксенотрансплантата SKOV-3.

Таблица 35. Анализ эффективности в каждой группе лечения на модели рака яичников человека SKOV-3

Лекарственное средство	№ ^a	Объем опухоли (мм ³)		RTV (D42)	Масса опухоли (мг) (D42)	T/C (%)		<i>p</i> Значение	
		D14	D42			RT V	TW	TV	TW
Холостая проба	8/8	160±1	2151±3	14,44±2,33	1747±327	100	100	1,00	1,00
СРТ-11 60 мг/кг	8/8	161±1	1430±1	9,20±0,7	1179±150	64	67	0,69	0,8
СРТ-11 80 мг/кг	8/2	162±1	1854±1	11,44±0,21	1664±258	79	95	1,00	1,00
A01S 450 мг/кг	8/8	163±1	2933±5	18,75±3,69	2611±477	130	149	0,97	0,9
HSA-SN-38 30 мг/кг	8/8	163±1	445±11	2,65±0,6	285±96	18	16	0,02	0,0
HSA-SN-38 10 мг/кг	8/8	162±1	1596±2	9,85±1,3	1336±238	68	76	0,97	0,9
HSA-SN-38 3,3 мг/кг	8/8	162±1	1792±3	11,13±1,90	1532±290	77	88	1,00	1,0

Высокая доза HSA-SN-38 (30 мг/кг) оказывает значительный эффект ингибирования опухоли и превосходит низкую дозу СРТ-11 (60 мг/кг). В конце эксперимента (на 42 день (D42) после инокуляции опухоли) после 4 доз, группа высокой дозы HSA-SN-38 имеет объем опухоли 445 мм³, RTV 2,65 и значение T/C составляет 18% и достоверно отличается от группы носителя ($p=0,023$). Группа низкой дозы (60 мг/кг) СРТ-11 существенно не отличается от группы носителя ($p=0,691$). Группы, получающие среднюю и низкую дозу HSA-SN-38, существенно не отличаются от группы носителя (значение p составляет 0,977 и 1,000, соответственно). Результат анализа массы опухоли по существу соответствует

результату анализа объема опухоли.

В ходе эксперимента, 6 животных погибли в группе лечения высокой дозой (80 мг/кг) СРТ-11, и ни одно животное не погибло в других группах. По окончании эксперимента, масса тела животных увеличивается в разной степени. Масса тела животных в группах высокой, средней и низкой доз HSA-SN-38 увеличивается на 5,60%, 5,65% и 7,03%, соответственно. Масса тела животных в группе низкой дозы СРТ-11 увеличивается на 6,97% по сравнению с таковой до введения, и масса тела двух живых животных в группе высокой дозы увеличивается на 11,94%. Наиболее выраженным является увеличение массы тела животных в контрольных группах носителя и A01S, которое в конце эксперимента составляет 8,86% и 11,99% по сравнению с таковым до введения, соответственно.

Заключение:

HSA-SN-38 в дозе 30 мг/кг оказывает значительный эффект в ингибировании роста опухоли в модели рака яичников человека SKOV-3, превосходит СРТ-11, обладает хорошей переносимостью, не вызывает гибель животных, и не вызывает другие токсические реакции, наблюдающиеся в ходе эксперимента.

Пример 27: Фармакодинамическое исследование на модели рака толстой кишки человека SW620 *in vivo*

Цель: проверяют противоопухолевую активность различных доз гНА-SN-38, полученного в Примере 4, в модели подкожного ксенотрансплантата клеточной линии рака толстой кишки человека SW620 (ATCC: CCL-227) у голых мышей BALB/c, и сравнивают с коммерчески доступным гидрохлоридом иринотекана (СРТ-11) для инъекций.

1. Дизайн эксперимента

Таблица 36. Дизайн эксперимента по изучению противоопухолевого действия тестируемых агентов на модели рака толстой кишки человека SW620

Группа	Лечение	Количество		Путь введения	Объем дозы (мл/кг)	Схема дозирования
		во животных	Доза (мг/кг)			
1	Носитель (Холостая проба)	7	-	в/в	10	QW x 4
2	СРТ-11	7	60	в/в	10	QW x 4
3	СРТ-11	7	80	в/в	10	QW x 4
4	A01S	7	420	в/в	10	QW x 4
5	HSA-SN-38	7	30	в/в	10	QW x 4
6	HSA-SN-38	7	10	в/в	10	QW x 4

7	HSA-SN- 38	7	3.3	в/в	10	QW x 4
---	---------------	---	-----	-----	----	--------

2. Способ эксперимента

Опухолевые массы SW620 подкожно инокулируют 75 голым мышам BALB/c. 49 мышей с опухолями отбирают на 13 день (D13) после инокуляции и в среднем делят на 7 групп, по 7 мышей в каждой группе. Мышам вводят внутривенную инъекцию в хвост один раз в неделю в течение в общей сложности 4 недель. Терапевтический эффект оценивают по относительной скорости ингибирования опухоли (TGI), и безопасность оценивают по изменению массы тела и гибели животных.

3. Статистический анализ

Средние значения опухоли разных групп сравнивают с помощью однофакторного ANOVA в эксперименте. Анализ однородности дисперсии показывает значительную разницу в значении F, и после анализа ANOVA проводят множественное сравнение с использованием способа Даннета Т3 (гетерогенная дисперсия). Анализ всех данных проводят с использованием SPSS 17.0. $p < 0,05$ считают показателем значимой разницы.

4. Результаты эксперимента

4.1 Изменение массы тела: как показано на ФИГ. 17.

4.2 Изменение объема опухоли

Изменение объема опухоли в различных группах показано в Таблице 37 и на ФИГ. 18.

Таблица 37. Объем опухоли животных разных групп в разные моменты времени

Вре мя (D)	Объем опухоли (мм ³ , среднее ± СОС)						
	Холоста я проба	СРТ-11 60 мг/кг	СРТ-11 80 мг/кг	A01S 420 мг/кг	RHA-SN- 38 30 мг/кг	RHA-SN- 38 10 мг/кг	RHA- SN-38 3,3 мг/кг
13	125±14	126±14	129±16	130±17	129±17	128±17	124±13
16	268±54	219±33	226±30	227±34	229±28	192±32	232±62
20	388±92	315±46	408±50	377±49	233±27	209±35	307±94
23	535±122	362±48	476±63	578±78	221±24	214±34	370±104
27	766±191	408±54	586±73	892±132	145±11	193±32	435±110
30	998±252	486±71	724±123	1129±17 0	90±10	136±16	494±120
34	1164±307	516±73	716±119	1434±21 0	49±11	105±12	552±118
37	1580±384	563±91	732±125	1772±26 2	28±4	99±10	663±136

41 2158±452 551±94 714±117 2364±33 21±2 101±10 762±138
1

4.3 Показатели оценки противоопухолевой эффективности

В Таблице 38 показаны показатели оценки противоопухолевой эффективности гНА-SN-38 и СРТ-11 в модели ксенотрансплантата SW620.

Таблица 38. Анализ эффективности каждой группы лечения в модели рака толстой кишки человека SW620

Лекарственное средство	N ^a	Объем опухоли (мм ³)		RTV (D41)	Масса опухоли (мг) (D41)	T/C (%)		p Значение	
		D13	D41			RT V	TW	TV	TW
Холостая проба	7/7	125±1 4	2158±4 52	16,43±1, 94	1754±354	100	100	1,00 0	1,00 0
СРТ-11 60 мг/кг	7/7	126±1 4	551±94	4,69±1,1 2	465±91	28	27	0,13 3	0,12 1
СРТ-11 80 мг/кг	7/7	129±1 6	714±11 7	5,95±1,2 2	495±91	36	28	0,20 2	0,13 2
A01S 420 мг/кг	7/7	130±1 7	2364±3 31	18,75±2, 38	2089±304	114	119	1,00 0	1,00 0
HSA-SN-38 30 мг/кг	7/7	129±1 7	21±2	0,17±0,0 1	12±3	1	1	0,04 0	0,03 3
HSA-SN-38 10 мг/кг	7/7	128±1 7	101±10	0,81±0,0 6	74±11	5	4	0,04 7	0,03 9
HSA-SN-38 3,3 мг/кг	7/7	124±1 3	762±13 8	6,08±0,8 3	748±141	37	43	0,23 1	0,32 1

Примечания: а. представляет количество животных до введения/количество животных в конце эксперимента

Высокие и средние дозы HSA-SN-38 (30 мг/кг и 10 мг/кг) оказывают значительный эффект ингибирования опухоли и превосходят СРТ-11. В конце эксперимента (на 41 день (D41) после инокуляции опухоли) после 4 доз, группы высокой дозы и средней дозы гНА-SN-38 имеют объем опухоли 21 мм³ и 101 мм³, значения RTV 0,17 и 0,81 и значения T/C 1% и 5%, соответственно, и значительно отличаются от группы носителя (значения *p* составляют 0,040 и 0,047, соответственно). Группы, получающие высокую и низкую дозы

СРТ-11 (80 мг/кг и 60 мг/кг), имеют одинаковую эффективность и не имеют очевидной зависимости «доза-эффект» и существенно не отличаются от группы носителя (значения p составляют 0,202 и 0,133, соответственно). Объем опухоли в группе низкой дозы (3,3 мг/кг) гНА-SN-38 существенно не отличается от объема опухоли в группе носителя на D41 ($p=0,231$). Результат анализа веса опухоли по существу соответствует результату анализа объема опухоли.

Ни одно животное не погибло в каждой группе, и не наблюдается никаких других аномальных токсических реакций. В конце эксперимента, масса тела животных групп высокой и средней доз гНА-SN-38 увеличивается на 2,03% и 4,01% по сравнению с таковой до введения, соответственно. Масса тела животных других групп снижается в разной степени в конце эксперимента по сравнению с таковой до введения: снижение составляет 5,81% и 0,99% в группах с высокой дозой и низкой дозой СРТ-11, соответственно, 0,33% в группе низкой дозы гНА-SN-38 и 5,83% и 4,39% в контрольных группах носителя и А01S, соответственно.

Подводя итог, гНА-SN-38 в дозах 30 мг/кг и 10 мг/кг оказывает эффект значительного ингибирования роста опухоли на модели рака толстой кишки человека SW620 и превосходит СРТ-11 в дозах 80 мг/кг и 60 мг/кг. Более того, масса тела животных двух групп лечения гНА-SN-38 увеличивается более явно, и масса тела животных двух групп лечения СРТ-11 уменьшается или увеличивается лишь незначительно. В целом, гНА-SN-38 обладает явно более сильной противоопухолевой активностью, чем СРТ-11, обладает хорошей переносимостью, не вызывает гибель животных, а также не вызывает других токсических реакций, наблюдающихся в ходе эксперимента.

Пример 2.8. Фармакодинамическое исследование на модели рака печени человека Нер3В *in vivo*

Цель: проверяют противоопухолевую активность гНА-SN-38, полученного в Примере 5, в модели подкожного ксенотрансплантата клеточной линии рака печени человека Нер3В (АТСС-8064) у голых мышей BALB/с, и сравнивают с активностью коммерчески доступного гидрохлорида иринотекана (СРТ-11) для инъекций.

1. Дизайн эксперимента

Таблица 39. Дизайн эксперимента по изучению противоопухолевого действия тестируемых агентов на модели рака печени человека Нер3В

Группа	Лечение	Количество животных	Доза (мг/кг)	Путь введения	Объем дозы (мл/кг)	Схема дозирования
1	Холостая проба	7	-	в/в	10	QW x 4
2	СРТ-11	7	60	в/в	10	QW x 4
3	СРТ-11	7	80	в/в	10	QW x 4

4	A01S	7	420	в/в	10	QW x 4
5	HSA-SN-38	7	30	в/в	10	QW x 4
6	HSA-SN-38	7	10	в/в	10	QW x 4
7	HSA-SN-38	7	3.3	в/в	10	QW x 4

2. Способ эксперимента

Опухолевые массы Her3B подкожно инокулируют 75 голым мышам BALB/c. 49 мышей с опухолями отбирают на 13 день (D13) после инокуляции и в среднем делят на 7 групп, по 7 мышей в каждой группе. Мышам вводят внутривенную инъекцию в хвост один раз в неделю в течение в общей сложности 4 недель. Терапевтический эффект оценивают по относительной скорости ингибирования опухоли (TGI), и безопасность оценивают по изменению массы тела и гибели животных.

3. Статистический анализ

Средние значения опухоли разных групп сравнивают с помощью однофакторного ANOVA в эксперименте. Анализ однородности дисперсии показывает значительную разницу в значении F, и после анализа ANOVA проводят множественное сравнение с использованием способа Даннета Т3 (гетерогенная дисперсия). Анализ всех данных проводят с использованием SPSS 17.0. $p < 0,05$ считают показателем значимой разницы.

4. Результаты экспериментов

4.1 Изменение массы тела: как показано на ФИГ. 19.

4.2. Изменение объема опухоли: как показано на ФИГ. 20.

Заключение

Тестируемый продукт гНА-SN-38 в дозах 30 мг/кг и 10 мг/кг оказывает эффект значительного ингибирования роста опухоли на модели рака печени человека Her3B, что аналогично противоопухолевому уровню СРТ-11 в дозе 80 мг/кг. СРТ-11 в дозе 60 мг/кг обладает противоопухолевой активностью, сходной с эффектом ингибирования опухоли HSA-SN-38 в дозе 3,33 мг/мл. гНА-SN-38 имеет хорошую переносимость, не вызывает гибель животных или других токсических реакций, наблюдающихся в ходе эксперимента.

Пример 29: Влияние добавления различных поверхностно-активных веществ на состав SN-38

Процесс получения:

- 1) Получают смешанный растворитель EtOH/CHCl₃ в объемном соотношении 3/7;
- 2) 300 мг SN-38, 300 мг холестерина и поверхностно-активное вещество в количестве, как показано в следующей Таблице 40, добавляют к 30 мл смешанного растворителя со стадии 1) и полностью растворяют при нагревании с получением раствора лекарственного средства;
- 3) Водный раствор HSA общим объемом 370 мл получают с деионизированной

водой в качестве водной фазы так, чтобы общее содержание HSA в водной фазе составляло 3 г;

4) Сдвиговое диспергирование: раствор лекарственного средства со стадии 2) смешивают с водной фазой со стадии 3) и сдвиговое диспергирование осуществляют в течение 10 минут для получения неочищенной эмульсии;

5) Неочищенную эмульсию переносят в гомогенизатор высокого давления и гомогенизируют под давлением 1300-1500 бар 3-8 раз;

6) Гомогенизированный продукт переносят в колбу;

7) Роторное испарение осуществляют при температуре 40°C-45°C в течение 4-6 мин для удаления хлороформа из системы;

8) EtOH в системе удаляют путем замены жидкости с помощью системы ультрафильтрации с тангенциальным потоком (TFF) (Millipore);

9) Фильтрацию осуществляют через 0,2 мкм PES мембрану шприцевого фильтра.

10) Полученный продукт хранят в холодильнике при температуре 4°C.

Во время получения, размер частиц образца определяют отдельно после сдвигового диспергирования, после гомогенизации под высоким давлением, и до и после фильтрации.

Таблица 40: Параметры композиций с различными поверхностно-активными веществами

Поверхностно-активное вещество и количество (мг)		Размер частиц после диспергирования/PDI (нм/--)	Размер частиц после гомогенизации под высоким давлением/PDI (нм/---)	Размер частиц до фильтрации/PDI (нм/----)	Размер частиц после фильтрации/PDI (нм/----)
Tween 80	100	278,5 нм/0,406	133,7 нм/0,215 (3 раза при 1400 бар)	2466 нм/0,483	129,4 нм/0,480
Span 20	18	313,2 нм/0,608	121,3 нм/0,174 (3 раза при 1400 бар)	134,8 нм/0,201	116,2 нм/0,177
Kolliphor HS15	100	309,4 нм/0,480	193,5 нм/0,167 (8 раз при 1400 бар)	6134 нм/0,800	28,87 нм/1000
Poloxamer 188	100	После добавления в органической фазе выпадают в осадок нерастворимые частицы, НД.			
Без добавления	-	419,2 нм/0,781	140,5 нм/0,185 (5 раз под 1400 бар)	178,2 нм/0,183	153,6 нм/0,080

поверхностно-активного вещества					
---------------------------------	--	--	--	--	--

Результаты показывают, что добавление различных количеств поверхностно-активных веществ к органической фазе влияет на время гомогенизации и размер частиц в процессе получения, и Span 20 является превосходным по сокращению времени гомогенизации и уменьшению размера частиц наночастиц по сравнению с другими поверхностно-активными веществами или отсутствием поверхностно-активного вещества.

Пример 30: Влияние добавления Span 20 на поток фильтрации состава SN-38

Для дальнейшего изучения влияния Span 20 на процесс получения сравнивают размер частиц и поток фильтрации на стадиях получения состава SN-38 с или без добавления Span 20. Процесс получения и количество добавляемого Span 20 такие же, как в Примере 29. Результаты показаны в Таблице 41.

Таблица 41. Влияние добавления Span 20 или отсутствия Span 20 на размер частиц и поток фильтрации

Span 20	Размер частиц после гомогенизации под высоким давлением/PDI (нм/---)	Размер частиц после TFF/PDI (нм/---)	Размер частиц после фильтрации/PDI (нм/----)
Не добавлен	139,9 нм/0,222	157,6 нм/0,208	131,2 нм/0,192 (поток фильтрации составляет 6,5 мл)
Добавлен	132,9 нм/0,264	148,9 нм/0,222	119,5 нм/0,194 (поток фильтрации составляет 10 мл)

Результаты показывают, что по сравнению с составом, полученным без Span 20, продукт, полученный способом получения с добавлением Span 20, имеет меньший размер частиц и увеличенный поток фильтрации через шприцевой фильтр PES.

Более того, эксперименты по распаду двух вышеуказанных образцов проводят в соответствии со способом, описанным в пункте 9 преамбулы Примеров. В частности, образец разводят 1 x PBS при pH 7,4. Размер частиц образца при различных коэффициентах разведения измеряют, чтобы изучить, при каком коэффициенте разведения произойдет распад наночастиц, выпадающих в осадок из сырья SN-38. Более высокий коэффициент разведения указывает на лучшую стабильность наночастиц.

Результаты эксперимента по распаду такие, как показано на ФИГ. 21 и ФИГ. 22. Результаты показывают, что независимо от того, добавлен ли Span 20 или нет, при разведении до 0,1 мкг/мл, два образца все еще находятся в стабильном состоянии; и при

постоянном разведении до 10 нг/мл, размер частиц двух образцов явно увеличивается, и наночастицы подвергаются распаду. После добавления Span 20, изменение размера частиц после распада имеет меньшую амплитуду и является более стабильным.

Кроме того, в соответствии со способом, описанным в пункте 11 преамбулы Примеров, морфологию двух вышеуказанных образцов наблюдают с использованием криогенного трансмиссионного электронного микроскопа, и результаты наблюдения электронного микроскопа показаны на ФИГ. 23 и ФИГ. 24. Их результатов обнаружено, что в двух образцах API имеет два разных состояния, а именно нанокристаллы и везикулы, и образец, содержащий Span 20, имеет больше везикул и меньше нанокристаллов. Поскольку SN-38 в форме везикул представляет собой API быстрого действия после поступления в организм человека, указано, что добавление Span 20 помогает составу проявить свою эффективность в организме как можно быстрее, при этом лучше сохраняя размер частиц наночастиц.

Пример 31: Влияние добавления различных количеств Span 20 на состав SN-38

Процесс получения:

1) Систему органических растворителей получают, как показано в следующей Таблице 42;

2) SN-38, холестерин и Span 20 взвешивают, как показано в Таблице 42, добавляют 30 мл органического растворителя со стадии 1) и полностью растворяют с получением раствора лекарственного средства;

3) Водный раствор HSA общим объемом 370 мл получают с деионизированной водой в качестве водной фазы так, чтобы общее содержание HSA в водной фазе составляло 3 г;

4) Сдвиговое диспергирование: раствор лекарственного средства со стадии 2) смешивают с водной фазой со стадии 3) и сдвиговое диспергирование осуществляют в течение 10 минут для получения неочищенной эмульсии;

5) Неочищенную эмульсию переносят в гомогенизатор высокого давления и гомогенизируют под давлением 1300-1500 бар 3-5 раз;

6) Гомогенизированный продукт переносят в колбу;

7) Роторное испарение осуществляют при температуре 40°C-45°C в течение 4-6 мин для удаления хлороформа из системы;

8) ДМСО или EtOH в системе удаляют путем замены жидкости на TFF;

9) Фильтрацию осуществляют через 0,2 мкм PES мембрану шприцевого фильтра, и такие параметры, как размер частиц, восстановление API фильтрацией и загрузка лекарственного средства в образец, определяют до и после фильтрации;

10) Образец хранят в холодильнике при температуре 4°C.

Результаты показаны в Таблице 42.

Таблица 42: Влияние добавления различных количеств Span 20 на состав SN-38

Соста в	Система органическ	Формула состава (мг)	Размер частиц до	Размер частиц	Загрузка лекарств	Восстанов ление API
------------	-----------------------	-------------------------	---------------------	------------------	----------------------	------------------------

	их растворите лей (об./об.)		проходе ния через мембрану/ PDI (нм/--)	после прохождени я через мембрану/P DI (нм/--)	енного средства (%)	филтраци ей (%)
1	ДМСО/СНCl ₃ =1:1	SN-38 180 мг; Холестерин 300 мг; Span 20 9 мг	147,6/0,140	129,6/0,130	4,140%	77,37%
2	ДМСО/СНCl ₃ =1:1	SN-38 120 мг; Холестерин 450 мг; Span 20 9 мг	156,5/0,139	137,0/0,135	2,766%	72,38%
3	ДМСО/СНCl ₃ =1:1	SN-38 180 мг; Холестерин 450 мг; Span 20 9 мг	131,2/0,161	118,4/0,133	4,265%	81,74%
4	ДМСО/СНCl ₃ =1:1	SN-38 240 мг; Холестерин 450 мг; Span 20 9 мг	163,9/0,125	142,9/0,103	4,358%	62,36%
5	ДМСО/СНCl ₃ =1:1	SN-38 180 мг; Холестерин 450 мг; Span 20 18 мг	137,6/0,152	123,3/0,138	4,060%	76,86%
6	ДМСО/СНCl ₃ =1:1	SN-38 180 мг; Холестерин 600 мг; Span 20 9 мг	139,0/0,130	124,8/0,006 2	4,164%	75,04%
7	ДМСО/СНCl ₃ =1:1	SN-38 120 мг; Холестерин 600 мг; Span 20 18 мг	117,4/0,164	108,1/0,126	3,319%	84,46%
8	ДМСО/СНCl ₃ =1:1	SN-38 240 мг; Холестерин 600 мг; Span 20 18 мг	137,8/0,158	122,2/0,123	5,553%	79,82%
9	EtOH/СНCl ₃ =3:7	SN-38 120 мг; Холестерин 300 мг; Span 20 18 мг	109,4/0,234	98,43/0,211	3,173%	90,49%
10	EtOH/СНCl ₃ =3:7	SN-38 240 мг; Холестерин 300 мг;	125,2/0,228	107,5/0,272	6,040%	87,56%

		Span 20 18 мг				
11	EtOH/CHCl ₃ =3:7	SN-38 300 мг; Холестерин 300 мг; Span 20 18 мг	138,8/0,214	116,5/0,163	7,298%	81,47%
12	EtOH/CHCl ₃ =3:7	SN-38 300 мг; Холестерин 300 мг	152,3/0,267	134,9/0,183	4,146%	75,24%

Результаты показывают, что для различных соотношений содержания SN-38 и холестерина, путем добавления Span 20 в процессе получения, можно уменьшить размер частиц наночастиц, улучшить эффективность фильтрации и поток, и увеличить степень восстановления фильтрацией. Однофакторное сравнение показывает, что Span 20 может увеличить загрузку лекарственного средства и восстановление API.

Пример 32: Влияние добавления Span 20 на стабильность состава SN-38

Влияние Span 20 на образование мультимера альбумина в растворе наблюдают путем измерения содержания мультимера сывороточного альбумина человека в составе SN-38.

Способ эксперимента:

1) Составы 11 и 12 из Примера 31 разливают по флаконам и лиофилизируют в вакууме с получением лиофилизированных составов наночастиц HSA-SN-38. После хранения в течение 14 дней, их разводят деионизированной водой так, чтобы концентрации SN-38 были такими же, как концентрации перед лиофилизацией, и хранят в условиях высокой температуры, высокой влажности или сильного света в течение 5 или 10 дней. для использования в качестве образцов для измерения.

2) Содержание мультимера сывороточного альбумина человека в составах SN-38, полученных различными способами получения, измеряют с помощью ГПХ-ВЭЖХ. Для обнаружения отбирают 5 мкл полученного образца, условия хроматографии такие, как показано в Таблице 43.

Таблица 43: Условия хроматографии ГПХ-ВЭЖХ для измерения агрегата альбумина в образце

Модель хроматографической колонки	TSKgel G3000Swxl 7,8 x 300 мм, 5 мкм Guard SWXL 6,0*40	
Хроматографическая колонка №	QCCA-RP-007	
Длина волны детектора	228 нм	
Температура колонки	30°C	
Температура лотка для образцов	5°C	
Скорость потока	0,4 мл/мин	
Подвижные фазы	А: 0,1 моль/л K ₂ HPO ₄	В: АЦН

Время прогона и скорость потока	Время (мин)	Скорость потока (мл/мин)
	0	0,4
	25	0,4
	28	0,9
	55	0,9
	56	0,4
	60	0,4
Режим элюирования	Изократное элюирование: А(98%)+В(2%)	
Объем впрыска образца	5 мкл	
Время прогона	30 минут	

Результаты показаны в Таблице 44 ниже:

Таблица 44: Влияние добавления Span 20 на стабильность альбумина

Образец	Результаты обнаружения						
	День 0	Высокая температура (40°C)		Высокая влажность (75% ОВ)		Сильный свет (5000LX)	
		5 д	10 д	5 д	10 д	5 д	10 д
Состав 12	0,4%	/	3,1%	1,7%	2,3%	2,1%	2,4%
Состав 11	0,5%	0,4%	0,5%	0,5%	0,4%	0,4%	0,4%

Примечания: доля содержания в таблице представляет долю содержание мультимера в образце. Чем меньше значение, тем меньше мультимер.

Результаты показывают, что по сравнению с Составом 12 без добавления Span 20, Состав 11 с добавлением Span 20 не имеет очевидных изменений в содержании мультимера альбумина, что указывает на то, что Span 20 способен ингибировать агрегацию альбумина. Следовательно, Span 20 способен эффективно предотвращать агрегацию альбумина в растворе и продлевать срок годности лекарственного средства, и не обладает иммуногенностью, обусловленной мультимером альбумина.

Пример 33: Влияние содержания альбумина на составы SN-38

В соответствии с формулами, представленными в Таблице 45, составы SN-38 получают способом Примера 29, за исключением того, что в Состав 13 не добавляют Span 20, и в составах 15 и 16 содержится 6 г и 12 г HSA, соответственно. Измеряют размеры частиц на стадиях получения составов SN-38, и измеряют восстановление API фильтрацией для исследования влияния содержания HSA на составы. Результаты показаны в Таблице 46.

Таблица 45: Композиции составов

Состав	HSA (г)	SN-38 (мг)	Холестерин (мг)	Span 20 (мг)
13	3	300	300	0

14	3	300	300	18
15	6	300	300	18
16	12	300	300	18

Таблица 46: Влияние содержания альбумина на составы SN-38

Образец	Размер частиц после дисперсии/PDI (нм/---)	Размер частиц после гомогенизации под высоким давлением/PDI (нм/---)	Размер частиц после выпаривания/PDI (нм/---)	Размер частиц после TFF/PDI (нм/---)	Размер частиц после фильтрации/PDI (нм/----)	Восстановление API фильтрацией (%)
13	312,3/0,284	228,2/0,277	267,3/0,267	151,17/0,198	134,9/0,183	73,24%
14	216,4/0,251	133,4/0,245	138,8/0,214	127,8/0,188	116,5/0,163	83,46%
15	298,6/0,198	190,7/0,186	160,13/0,134	136,77/0,175	121,9/0,141	70,56%
16	456,8/0,489	242,1 /0,213	264,5/0,200	216,8/0,210	173,5/0,147	61,39%

Результаты показывают, что увеличение количества альбумина в формуле приводит к увеличению размера частиц образца, очевидному снижению потока фильтрации и снижению степени восстановления API фильтрацией. Целесообразно поддерживать соотношение количества HSA:API на уровне 20:1 или ниже. Соотношение выше этого соотношения, особенно до 40:1 или более, приводит не только к образованию наночастиц, которые имеют чрезмерно большой размер, нестабильны и склонны к агрегации, вызывая иммуногенность, но также к трудностям фильтрации, низкому восстановлению API и невозможности крупномасштабного производства.

Пример 34. Фармакодинамическое исследование в модели рака толстой кишки человека SW620 *in vivo*

Цель: проверяют противоопухолевую активность и безопасность составов SN-38 с различными количествами Span 20 и HSA, полученных в Примере 31, в модели подкожного ксенотрансплантата клеточной линии рака толстой кишки человека SW620 (ATCC: CCL-227) у голых мышей BALB/c и сравнивают с коммерчески доступным гидрохлоридом иринотекана (CPT-11) для инъекций.

Таблица 47: Дизайн эксперимента

Контрольный/тестируемый продукт	Количество во мышей	Доза (мг/кг)	Объем дозы (мкл/г)	Путь введения	Схема дозирования
Холостая проба	6	-	10	в/в	QW x 4
СРТ-11	6	60	10	в/в	QW x 4
Состав 9	6	10	10	в/в	QW x 4
Состав 10	6	10	10	в/в	QW x 4
Состав 11	6	10	10	в/в	QW x 4
Состав 12	6	10	10	в/в	QW x 4

Примечания: QW x 4 означает введение один раз в неделю в общей сложности на протяжении 4 недель.

Культура клеток

Культивирование монослоя клеток SW620 *in vitro* осуществляют в среде 1640 с добавлением 10% термоинактивированной фетальной бычьей сыворотки и агара в воздухе, содержащем 5% CO₂, в инкубаторе при 37°C и переваривают два раза в неделю 0,25% панкреатином для переноса. В фазе экспоненциального роста клеток, клетки собирают, подсчитывали и инокулируют.

Инокуляция опухолевых клеток и перенос опухолевой массы

5,0 x 10⁶ опухолевых клеток SW620 суспендируют в 0,1 мл PBS и инокулируют в правые лопатки 5 голых мышей (поколение P1). После того, как опухоль вырастет до 500-800 мм³, мышей с опухолями анестезируют С O₂ и подвергают эвтаназии. Получают опухолевые массы и удаляют окружающие некротические ткани. Опухолевые массы в хорошем состоянии разрезают на небольшие опухолевые массы размером 20-30 мм³ и инокулируют в правую лопатку новой партии голых мышей (поколение P2). Всего инокулируют 40 мышей.

Инокуляция опухолевой массы, деление на группы и дозирование

Противоопухолевую активность тестируемых продуктов оценивают с использованием опухолевых тканей поколения P2 в эксперименте. Когда через 7 дней после инокуляции опухолевых масс средний объем опухоли достигает примерно 159 мм³, мышей с избыточно маленькими или большими объемами опухоли отсеивают, и оставшихся 36 мышей случайным образом делят на группы по объему опухоли и начинают введение.

Результаты показаны на ФИГ. 25 - ФИГ. 27 и в Таблице 48.

Таблица 48

Лекарственно	Доза (мг/кг)	Масса тела (г, среднее ± СОС)			Объем (TV)/массу (TW) опухоли (среднее ± СОС)			
		День 11	День 39	Изменения	TV (мм ³)	TW (мг)	T/C (%)	P Значение

средство			e (%)			День 11	День 39		T V	TW	TV	TW
Холо												
стая	6	-	19,1 ± 0,3	19,6 ± 0,8	+2,5	158 ± 21	1921 ± 168	1466 ± 170	10	100	1,00	1,00
а												
СРТ-11	6	60	18,5 ± 0,6	19,2 ± 0,7	+3,8	157 ± 18	154 ± 57	99 ± 43	8	7	0,00	0,05
Сост ав 9	6	10	18,5 ± 0,6	20,1 ± 0,5	+8,7	163 ± 17	38 ± 15	20 ± 7	2	1	0,00	0,05
Сост ав 10	6	10	19,4 ± 0,2	20,7 ± 0,4	+6,9	158 ± 17	59 ± 12	24 ± 5	3	2	0,00	0,05
Сост ав 11	6	10	19,0 ± 0,6	20,2 ± 0,7	+6,4	158 ± 17	60 ± 7	29 ± 5	3	2	0,00	0,05
Сост ав 12	6	10	17,8 ± 0,6	19,5 ± 0,5	+9,7	158 ± 17	91 ± 17	39 ± 9	5	3	0,00	0,05

Примечания: Т/С (%) означает долю TV или TW в группе лечения (Т) по отношению к холостой контрольной группе (С), и чем меньше его значение, тем лучше эффект ингибирования опухоли.

Результаты показывают, что составы с разными количествами Span 20 и составы без Span 20 имеют лучшую противоопухолевую активность, чем СРТ-11.

Пример 35: Влияние замены смешанного растворителя EtOH/CHCl₃ на смешанный растворитель EtOH/CH₂Cl₂/CHCl₃ на составы

1. Процесс получения:

1) Смешанный растворитель EtOH/CH₂Cl₂/CHCl₃ получают в соответствии с объемным соотношением, указанным в Таблице 49 ниже;

2) Берут 300 мг SN-38, 300 мг холестерина и 18 мг Span 20, добавляют 30 мл смешанного растворителя со стадии 1) и полностью растворяют при нагревании с получением раствора лекарственного средства;

3) Водный раствор HSA общим объемом 370 мл получают с деионизированной водой в качестве водной фазы так, чтобы общее содержание HSA в водной фазе составляло 3 г;

Сдвиговое диспергирование: раствор лекарственного средства со стадии 2) смешивают с водной фазой со стадии 3) и сдвиговое диспергирование осуществляют в течение 10-15 минут для получения неочищенной эмульсии;

4) Неочищенную эмульсию переносят в гомогенизатор высокого давления и гомогенизируют под давлением 1300-1500 бар 5 раз, и гомогенизированный образец

переносят в колбу;

5) Роторное испарение осуществляют при температуре 40-45°C в течение 4-6 мин;

6) EtOH в системе удаляют путем замены жидкости на TFF;

7) Фильтрацию осуществляют через 0,2 мкм PES мембрану шприцевого фильтра, и такие параметры, как размер частиц, восстановление API фильтрацией и загрузка лекарственного средства в образце, определяют до и после фильтрации;

8) Образец хранят в холодильнике при температуре 4°C.

Таблица 49: Влияние различных систем органических растворителей на результат инкапсулирования

Система органических растворителей (об./об.)	Размер частиц до прохождения через мембрану/PDI (нм/---)	Размер частиц после прохождения через мембрану/PDI (нм/---)	Восстановление API фильтрацией (%)	Загрузка лекарственного средства (%)	CHCl ₃ /API в жидкости после прохождения через мембрану
EtOH/CHCl ₃ =7/13	133,4/0,206	112,9/0,171	85,735%	7,411%	7,668 мкг/мг API
EtOH/CH ₂ Cl ₂ /C HCl ₃ =6/7/7	144,6/0,203	121,6/0,121	80,069%	6,875%	3,335 мкг/мг API
EtOH/CH ₂ Cl ₂ /C HCl ₃ =6/4/10	136,1/0,213	113,5/0,161	84,168%	7,515%	4,841 мкг/мг API

2. Результаты:

После доведения системы органических растворителей до соотношения EtOH/CH₂Cl₂/CHCl₃=6/7/7, количество остаточного CHCl₃ очевидно уменьшается, и между тем грубо определенный уровень остаточного CH₂Cl₂ также является низким (2 мкг/мг API). При расчете на основе количества остаточного CHCl₃ в жидкости после фильтрации и максимальной суточной экспозиции (600 мкг) CHCl₃, максимальная клиническая доза составляет >100 мг/м². Ограничение дозы, вызванное остатком CHCl₃, значительно снижено. Однако из-за более низкой растворимости SN-38 в CH₂Cl₂ и более быстрого осаждения кристаллов при диспергировании органической фазы в водной фазе, неочищенный продукт, полученный с использованием смешанного растворителя EtOH/CH₂Cl₂/CHCl₃, имеет больший размер частиц, более низкую степень восстановления API фильтрацией и более низкую загрузку лекарственного средства.

После доведения количества CH₂Cl₂ до соотношения EtOH/CH₂Cl₂/CHCl₃=6/4/10, размер частиц сырого продукта уменьшается, и такие параметры, как восстановление API фильтрацией, соответствуют параметрам продукта, полученного с использованием смешанного растворителя EtOH/CHCl₃. Однако уровень остатка CHCl₃ все равно явно снижается.

Пример 36: Крупномасштабное получение продуктов HSA-SN-38 с добавлением SP20

Процесс получения:

1) Получают 300 мл смешанного органического растворителя, как показано в Таблице 50 ниже;

2) Берут 3 г SN-38, 3 г холестерина и 0,18 г Span 20, добавляют 30 мл смешанного органического растворителя со стадии 1) и полностью растворяют при нагревании с получением раствора лекарственного средства;

3) Берут 150 мл 20% раствора HSA и разводят 3550 мл деионизированной воды до получения водной фазы;

4) Сдвиговое диспергирование и гомогенизация: встроенный резчик (Fluke FDHS3/60) подключают последовательно к гомогенизатору высокого давления (ATS, AH12-150) в непрерывном производственном режиме, и скорость вращения встроенного резчика устанавливают на 8000-10000 об/мин. Водную фазу со стадии 3) и органическую фазу со стадии 2) закачивают в определенном соотношении во встроенный резчик, и затем раствор лекарственного средства подают в гомогенизатор высокого давления и гомогенизируют под давлением 1300-1500 бар в течение 5 раз;

5) Выпаривание: хлороформ и дихлорметан из системы удаляют выпариванием в испарителе с падающей пленкой (температура испарительной трубки составляет 40°C-45°C);

6) Остаточный EtOH в системе удаляют путем замены жидкости на TFF;

7) Добавляют сахарозу в концентрации 80 мг/мл;

8) Фильтрацию осуществляют через 0,2 мкм листовой фильтр, и такие параметры, как размер частиц, восстановление API фильтрацией и загрузка лекарственного средства в образце, определяют до и после фильтрации;

9) Образец разливают по флаконам по 15 мл в каждый флакон, и затем лиофилизируют. Обнаруживают остаточный растворитель в лиофилизированном образце.

Таблица 50: Влияние масштабированного в 10 раз процесса получения на результат инкапсулирования

Образец	Система органических растворителей (об./об.)	Размер партии	Размер частиц до прохождения через мембрану/PDI (нм/---)	Размер частиц после прохождения через мембрану/PDI (нм/---)	Восстановление API фильтрацией (%)	Загрузка лекарственного средства (%)	CHCl ₃ /API в жидкости после прохождения через мембрану	Остаток хлороформа в лиофилизированном порошке (ч/млн)
---------	----------------------------------------------	---------------	----------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------	------------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------

Соста в 17	EtOH/ CHCl ₃ = 7/13	4 л	137,3/ 0,190	132,5/0,1 82	85,961%	7,440%	6,463 мкг/мг API	55
Соста в 18	EtOH/CH ₂ Cl ₂ /CHCl ₃ =6/4/10	4 л	131,4/0,2 05	127,0/0,1 66	86,808%	7,653%	4,448 мкг/мг API	33

Результаты показывают, что уровень остатков хлороформа в продукте, полученном с использованием EtOH/CH₂Cl₂/CHCl₃=6/4/10 в качестве смешанного органического растворителя, явно уменьшается, и свойства продукта, полученного при масштабированном производстве, согласуются с теми, которые получены для мелкомасштабной партии.

Пример 37: Влияние добавления Span 20 на стабильность состава HSA-SN-38 в разное время

Влияние Span 20 на стабильность (мультимер, размер частиц и подобные) альбумина в растворе изучают путем измерения содержания мультимера сывороточного альбумина человека в составе SN-38.

Способ эксперимента:

1) Состав 12 из Примера 31 и Состав 18 из Примера 36 разливают по флаконам и лиофилизируют в вакууме с получением лиофилизированных составов HSA-SN-38. Перед началом эксперимента по изучению стабильности, каждый из задействованных образцов хранят в холодильнике (при 2-8°C) в течение 0 дней, 3 месяцев и 6 месяцев, и затем разводят деионизированной водой так, чтобы концентрации SN-38 были такими же, как концентрации перед лиофилизацией, и затем определяют влажность, значение pH, осмотическое давление, размер частиц и гранулометрический состав, содержание мультимера и холестерина. Результаты показаны в Таблице 50 (Состав 18) и Таблице 51 (Состав 12).

2) Содержание мультимера сывороточного альбумина человека в составах SN-38, полученных различными способами, измеряют с помощью ГПХ-ВЭЖХ. 5 мкл полученных образцов отбирают непосредственно для обнаружения, и условия хроматографии такие, как показано в Таблице 43.

Таблица 51: Результаты параметров стабильности Состав 18

Параметр	Момент времени			
	День 0	3 месяца	6 месяцев	
	1 мг/мл	1 мг/мл	1 мг/мл	0,83 мг/мл
pH	6,6	6,8	6,7	6,6
Влага	1,4%	1,6%	1,9%	
Осмотическое давление	352 мОсмол/кг	346 мОсмол/кг	346 мОсмол/кг	287 мОсмол/кг

Параметр	Момент времени			
	День 0	3 месяца	6 месяцев	
Размер частиц и гранулометрический состав	168 нм d(0,9): 336 нм d(0,5): 192 нм d(0,1): 108 нм	169 нм d90: 338 нм d50: 194 нм d10: 111 нм	172 нм d90: 352 нм d50: 197 нм d10: 107 нм	170 нм d90: 332 нм d50: 193 нм d10: 110 нм
Мультимер сывoroточного альбумина человека	0,8%	1,0%	1,1%	
Содержание холестерина	12,5 мг/флакон	12,6 мг/флакон	12,3 мг/флакон	
Содержание Span 20	<1 мг/флакон	<1 мг/флакон	<1 мг/флакон	

Таблица 52: Результаты параметров стабильности состава 12

Параметр	Момент времени			
	День 0	3 месяца	6 месяцев	
	1 мг/мл	1 мг/мл	1 мг/мл	0,83 мг/мл
pH	6,8	6,7	6,6	6,8
Влага	2,5%	2,7%	2,0%	
Осмотическое давление	312 мОсм/кг	331 мОсм/кг	322 мОсм/кг	329 мОсм/кг
Размер частиц и гранулометрический состав	195 нм d90: 455 нм d50: 254 нм d10: 97,5 нм	252 нм d90: 758 нм d50: 336 нм d10: 90,3 нм	181 нм d90: 376 нм d50: 227 нм d10: 121 нм	180 нм d90: 400 нм d50: 225 нм d10: 116 нм
Мультимер сывoroточного альбумина человека	1,7%	1,0%	1,5%	
Содержание холестерина	15,0 мг/флакон	15,8 мг/флакон	15,8 мг/флакон	

Приведенные выше результаты показывают, что с течением времени состав HSA-SN-38, к которому добавлен Span 20, имеет меньшее изменение размера частиц и изменение мультимера альбумина и является более стабильным.

Пример 38. Фармакодинамическое исследование на модели рака яичника человека SKOV-3 *in vivo*

1. Цель эксперимента: проверка противоопухолевой активности и безопасности Составы 12, полученного в Примере 31, и Составы 18, полученного в Примере 36, на модели подкожного ксенотрансплантата клеточной линии рака яичника человека SKOV-3 (ATCC HTB 77) у голых мышей BALB/c.

2. Способ эксперимента

Опухолевые массы SKOV-3 подкожно инокулируют 40 голым мышам BALB/c. 18 мышей с опухолями отбирают на 13 день (D13) после инокуляции и в среднем делят на 3 группы по 6 мышей в каждой группе. Мышам вводят внутривенную инъекцию в хвост один раз в неделю в течение в общей сложности 4 недель, и конкретная схема дозирования показана в Таблице 53. Терапевтический эффект оценивают на основе относительной скорости ингибирования опухоли (TGI), и безопасность оценивают по изменению массы тела и гибели животных.

Таблица 53: Противоопухолевые эффекты тестируемых составов на модели рака яичников человека SKOV-3

Контрольный/тестируемый продукт	Количество во мышей	Доза (мг/кг)	Объем дозы (мкл/г)	Путь введения	Схема дозирования
Холостая проба	6	-	10	в/в	QW x 4
Состав 12	6	30	10	в/в	QW x 4
Состав 18	6	30	10	в/в	QW x 4

Примечания: QW x 4 означает введение один раз в неделю в общей сложности на протяжении 4 недель.

3. Статистический анализ

Средние значения опухоли разных групп сравнивают с помощью однофакторного ANOVA в эксперименте. Анализ однородности дисперсии показывает значительную разницу в значении F, и после анализа ANOVA проводят множественное сравнение с использованием способа Даннета Т3 (гетерогенная дисперсия). Анализ всех данных проводят с использованием SPSS 17.0. $p < 0,05$ считают показателем значимой разницы.

4. Результаты экспериментов

4.1 Изменение массы тела: как показано на ФИГ. 28.

4.2. Изменение объема опухоли: как показано на ФИГ. 29 и ФИГ. 30.

4.3. В Таблице 54 показаны показатели оценки противоопухолевой эффективности HSA-SN-38 Составы 12 и Составы 18 в модели ксенотрансплантата SKOV-3.

Таблица 54. Эффективность тестируемых составов в модели рака яичников человека SKOV-3

Лекарство	Доза (мг/г)	Масса тела (г, среднее \pm СОС)	Объем (TV)/вес (TW) опухоли (среднее \pm СОС)
-----------	-------------	-----------------------------------	-------------------------------------------------

Исходное средство	Доза (кг)		Изменение (%)	TV (мм ³)		TW (мг)	T/C (%)		P Значение					
	День 6	День 34		День 6	День 34		TV	T	C	TV	TW			
												W		
Холодная проба	6	-	16,9 ± 0,2	18,6 ± 0,5	+9,6	158 ± 11	2264 ± 112	1244 ± 200	10	10	0	0	1,00	1,00
Состав 18	6	30	17,9 ± 0,4	19,1 ± 0,4	+6,9	157 ± 9	134 ± 6	65 ± 7	6	5	,000	,005		
Состав 12	6	30	17,6 ± 0,4	19,1 ± 0,4	+8,8	157 ± 8	221 ± 34	88 ± 16	10	7	,000	,006		

Примечания: T/C (%) означает долю TV или TW группы лечения (T) по отношению к холостой контрольной группе (C), и чем меньше его значение, тем лучше эффект ингибирования опухоли.

Заключение:

Состав 12 и Состав 18 в дозе 30 мг/кг оказывает эффект значительного ингибирования роста опухоли на модели рака яичников человека SKOV-3, и в конечном итоге опухоль по существу устранена. При этом в ходе эксперимента ни одно животное не погибло и других токсических реакций также не наблюдается. Результаты показывают, что состав, содержащий Span 20 (Состав 18), и состав, не содержащий Span 20 (Состав 12), обладают эквивалентной противоопухолевой активностью.

Пример 39: Фармакодинамическое исследование на модели рака толстой кишки человека HCT116 *in vivo*

1. Цель эксперимента: проверяют противоопухолевую активность и безопасность Состав 12, полученного в Примере 31, и Состав 18, полученного в Примере 36, в модели подкожного ксенотрансплантата клеточной линии рака толстой кишки человека HCT116 (ATCC CCL-247) у голых мышей BALB/c.

2. Способ эксперимента

Опухолевые массы HCT116 в хорошем состоянии разрезают на небольшие опухолевые массы размером 20-30 мм³, которые инокулируют в правые лопатки 40 мышей. Когда через 15 дней после инокуляции опухолевых масс, средний объем опухоли достигает примерно 121 мм³, мышей с чрезмерно маленькими или большими объемами опухоли отсеивают, и оставшихся 18 мышей случайным образом объединяют в группы (3 группы по 6 мышей в каждой) по объему опухоли и вводят лекарственные средства (путем внутривенной инъекции) один раз в неделю, в общей сложности 4 недели. Терапевтический эффект оценивают по относительной скорости ингибирования опухоли (TGI), и безопасность оценивают по изменению массы тела и гибели животных. Через неделю после последней дозы у всех мышей берут опухоли, взвешивают и фотографируют.

Таблица 55: Противоопухолевые эффекты тестируемых составов на модели рака толстой кишки человека НСТ116

Контрольный/тестируемый продукт	Количество во мышей	Доза (мг/кг)	Объем дозы (мкл/г)	Путь введения	Схема дозирования
Холостая проба	6	-	10	в/в	QW x 4
Состав 12	6	10	10	в/в	QW x 4
Состав 18	6	10	10	в/в	QW x 4

Примечания: QW x 4 означает введение один раз в неделю в общей сложности на протяжении 4 недель.

3. Статистический анализ

Средние значения опухоли разных групп сравнивают с помощью однофакторного ANOVA в эксперименте. Анализ однородности дисперсии показывает значительную разницу в значении F, и после анализа ANOVA проводят множественное сравнение с использованием способа Даннета Т3 (гетерогенная дисперсия). Анализ всех данных проводят с использованием SPSS 17.0. $p < 0,05$ считают показателем значимой разницы.

4. Результаты экспериментов

4.1 Изменение массы тела: как показано на ФИГ. 31.

4.2. Изменение объема опухоли: как показано на ФИГ. 32 и ФИГ. 33.

Заключение:

Состав 12 и Состав 18 в дозе 10 мг/кг оказывают эффект значительного ингибирования роста опухоли в модели рака толстой кишки человека НСТ116, и опухоль по существу устранена. При этом в ходе эксперимента ни одно животное не погибло и других токсических реакций также не наблюдается.

Эквиваленты и включение посредством ссылки

Композиции, способы и применение настоящей заявки были описаны в настоящем документе со ссылкой на некоторые предпочтительные варианты осуществления. Однако, поскольку на основании раскрытия, описанного в настоящем документе, специалистам в данной области техники очевидны конкретные вариации, не следует считать, что настоящая заявка ограничена ими.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют те же значения, которые обычно понимаются специалистами в данной области техники. В описании и формуле изобретения, если из контекста явно не указано иное, формы единственного числа также включают формы множественного числа.

Более того, в определенной степени, способы настоящей заявки не зависят от конкретного порядка стадий, описанных в настоящем документе, и конкретный порядок стадий, изложенный в формуле изобретения, не должен истолковываться как ограничение формулы изобретения.

Все патентные документы, патентные заявки, ссылки и публикации, цитируемые в

настоящем документе, включены в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция, содержащая SN-38, липид, альбумин и Span 20, отличающаяся тем, что композиция содержит наночастицы, где в наночастицах альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и необязательно по меньшей мере часть липида;

липид:SN-38 составляет примерно (0,1-10):1 (масс.:масс.), примерно (0,5-6):1 (масс.:масс.), примерно (0,5-5):1 (масс.:масс.), примерно (0,5-3):1 (масс.:масс.), примерно (1-4):1 (масс.:масс.), примерно (1,2-4):1 (масс.:масс.), примерно (1,4-2):1 (масс.:масс.), примерно (1,5-2,5):1 (масс.:масс.) или примерно 1:1;

альбумин: SN-38 составляет примерно (1-100):1 (масс.:масс.), примерно (1-50):1 (масс.:масс.), примерно (3-25):1 (масс.:масс.), примерно (5-25):1 (масс.:масс.), примерно (5-20):1 (масс.:масс.), примерно (5-18):1 (масс.:масс.), примерно (6-15):1 (масс.:масс.), примерно (7-15):1 (масс.:масс.), примерно (6-12):1 (масс.:масс.), примерно (7-12):1 (масс.:масс.), примерно (9-11):1 (масс.:масс.) или примерно 10:1 (масс.:масс.); и

Span 20:SN-38 составляет примерно (3-60):100 (масс.:масс.), примерно (4-60):100 (масс.:масс.), примерно (5-60):100 (масс.:масс.), примерно (6-60):100 (масс.:масс.), примерно (7-55):100 (масс.:масс.), примерно (8-50):100 (масс.:масс.), примерно (10-45):100 (масс.:масс.), примерно (12-40):100 (масс.:масс.), примерно (14-35):100 (масс.:масс.), примерно (15-30):100 (масс.:масс.), примерно (16-25):100 (масс.:масс.) или примерно (18-20):100 (масс.:масс.); и

где липид выбран из холестерина, производных холестерина, аналогов холестерина и эфиров жирных кислот, а также любой комбинации двух или нескольких из них.

2. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что альбумин:липид составляет примерно (1-100):1 (масс.:масс.), примерно (2-20):1 (масс.:масс.), примерно (3-15):1 (масс.:масс.), примерно (5-10):1 (масс.:масс.), примерно 7:1 (масс.:масс.) или примерно 10:1 (масс.:масс.).

3. Композиция по п.1 или 2, отличающаяся тем, что в расчете на общее количество SN-38, липида и альбумина в композиции:

SN-38 содержится в количестве от примерно 1% масс./масс. до примерно 25% масс./масс.; и/или

липид содержится в количестве от примерно 1% масс./масс. до примерно 35% масс./масс.; и/или

альбумин содержится в количестве от примерно 50% масс./масс. до примерно 98% масс./масс.;

или,

SN-38 содержится в количестве от примерно 3% масс./масс. до примерно 20% масс./масс.; и/или

липид содержится в количестве от примерно 2% масс./масс. до примерно 30% масс./масс.; и/или

альбумин содержится в количестве от примерно 55% масс./масс. до примерно 95% масс./масс.;

или,

SN-38 содержится в количестве от примерно 3% масс./масс. до примерно 15% масс./масс., примерно 4% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 6,5% масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 7,5% масс./масс., примерно 8% масс./масс., примерно 8,5% масс./масс., примерно 9% масс./масс., примерно 10% масс./масс., примерно 11% масс./масс., примерно 12% масс./масс., примерно 13% масс./масс. или примерно 14% масс./масс.; и/или

липид содержится в количестве от примерно 3% масс./масс. до примерно 30% масс./масс., примерно 4% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 8% масс./масс., примерно 8,5% масс./масс., примерно 9% масс./масс., примерно 9,5% масс./масс., примерно 10% масс./масс., примерно 10,5% масс./масс., примерно 11% масс./масс., примерно 11,5% масс./масс., примерно 12% масс./масс., примерно 12,5% масс./масс., примерно 13% масс./масс., примерно 13,5% масс./масс., примерно 14% масс./масс., примерно 15% масс./масс., примерно 16% масс./масс. примерно 17% масс./масс., примерно 18% масс./масс., примерно 19% масс./масс., примерно 20% масс./масс., примерно 21% масс./масс., примерно 24% масс./масс., примерно 26% масс./масс. или примерно 28% масс./масс.; и/или

альбумин содержится в количестве от примерно 60% масс./масс. до примерно 94% масс./масс., от примерно 64% масс./масс. до примерно 93% масс./масс., от примерно 66% масс./масс. до примерно 92% масс./масс., от примерно 68% масс./масс. до примерно 91% масс./масс., от примерно 70% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., от примерно 75% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., от примерно 76% масс./масс. до примерно 77% масс./масс., примерно 78% масс./масс., примерно 79% масс./масс., примерно 80% масс./масс., примерно 81% масс./масс., примерно 82% масс./масс., примерно 83% масс./масс., примерно 84% масс./масс., примерно 85% масс./масс., примерно 86% масс./масс., примерно 87% масс./масс., примерно 88% масс./масс. или примерно 89% масс./масс.; и/или

Span 20 содержится в количестве от примерно 0,03% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., от примерно 0,06% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., от примерно 0,08% масс./масс. до примерно 9% масс./масс., от примерно 0,1% масс./масс. до примерно 8% масс./масс., от примерно 0,2% масс./масс. до примерно 7% масс./масс., от примерно 0,4% масс./масс. до примерно 6% масс./масс., от примерно 0,6% масс./масс. до примерно 5% масс./масс., от примерно 0,8% масс./масс. до примерно 4% масс./масс. или от примерно 1% масс./масс. до примерно 2% масс./масс., в расчете на общее количество SN-38, липида, альбумина, и Span 20 в композиции.

4. Композиция по любому из пп.1-3, отличающаяся тем, что:

липид:SN-38 составляет примерно (1-10):1 (масс.:масс.), примерно (1-8):1 (масс.:масс.), примерно (1-6):1 (масс.:масс.), примерно (1-5):1 (масс.:масс.), примерно (1-4,5):1 (масс.:масс.), примерно (1-4):1 (масс.:масс.), примерно (1,2-3,8):1 (масс.:масс.), примерно (1,4-3,6):1 (масс.:масс.), примерно (1,6-3,4):1 (масс.:масс.), примерно (1,8-3,2):1 (масс.:масс.), примерно (2-3):1 (масс.:масс.), примерно (2,2-2,8):1 (масс.:масс.), примерно

(2,4-2,6):1 (масс.:масс.), примерно 1:1 (масс.:масс.), примерно 2,5:1 (масс.:масс.), или примерно (0,8-1,8):1 (масс.:масс.), примерно (0,9-1,7):1 (масс.:масс.) или примерно (1-1,4):1; и/или

альбумин:SN-38 составляет примерно (5-40):1 (масс.:масс.), примерно (от 5 до менее 40):1 (масс.:масс.), примерно (5-35):1 (масс.:масс.), примерно (5-30):1 (масс.:масс.), примерно (8-25):1 (масс.:масс.), примерно (10-22,5):1 (масс.:масс.), примерно (12,5-20):1 (масс.:масс.), примерно (15-17,5):1 (масс.:масс.), примерно (16-18):1 (масс.:масс.), примерно 10:1 (масс.:масс.) или примерно (9-21):1 (масс.:масс.), примерно (9-20):1 (масс.:масс.), примерно (11-18):1 (масс.:масс.) или примерно (11,1-17,3):1 (масс.:масс.); и/или

Span 20:SN-38 составляет примерно (5-60):100 (масс.:масс.), примерно (6-60):100 (масс.:масс.), примерно (7-55):100 (масс.:масс.), примерно (8-50):100 (масс.:масс.), примерно (10-45):100 (масс.:масс.), примерно (12-40):100 (масс.:масс.), примерно (14-35):100 (масс.:масс.), примерно (15-30):100 (масс.:масс.), примерно (16-25):100 (масс.:масс.), примерно (18-20):100 (масс.:масс.) или примерно (5-10):100 (масс.:масс.), примерно (5-9):100 (масс.:масс.), примерно (6-8,6):100 (масс.:масс.), примерно (6-8):100 (масс.:масс.) или примерно (6,5-7):100 (масс.:масс.); и/или

альбумин:липид составляет примерно (1-40):1 (масс.:масс.), примерно (от 1 до менее 40):1 (масс.:масс.), примерно (2-35):1 (масс.:масс.), примерно (3-15):1 (масс.:масс.), примерно (5-10):1 (масс.:масс.), примерно (6-8):1 (масс.:масс.) или примерно 7:1 (масс.:масс.) или примерно (6-21):1 (масс.:масс.), примерно (6,7-13):1 (масс.:масс.), примерно (7-13):1 (масс./масс.) или примерно (11-12,7):1 (масс.:масс.).

5. Композиция по любому из пп.1-4, отличающаяся тем, что в расчете на общее количество SN-38, липида и альбумина в композиции:

SN-38 содержится в количестве от примерно 2% масс./масс. до примерно 16% масс./масс.; и/или

липид содержится в количестве от примерно 2% масс./масс. до примерно 35% масс./масс.; и/или

альбумин содержится в количестве от примерно 75% масс./масс. до примерно 96% масс./масс.;

или,

SN-38 содержится в количестве от примерно 2,5% масс./масс. до примерно 15% масс./масс., от примерно 4% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 9,5% масс./масс., от примерно 5% масс./масс. до примерно 9% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс./масс.; и/или

липид в композиции содержится в количестве от примерно 2,5% масс./масс. до примерно 30% масс./масс., от примерно 4% масс./масс. до примерно 12,5% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 12% масс./масс. от примерно 7% масс./масс. до примерно 10% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс./масс.; и/или

масс./масс., примерно 88% масс./масс., примерно 89% масс./масс., примерно 90% масс./масс., примерно 91% масс./масс., примерно 91,3% масс./масс. или примерно 91,5% масс./масс.; и/или

в расчете на общее количество SN-38, липида, альбумина и Span 20 в композиции, Span 20 содержится в количестве от примерно 0,14% масс./масс. до примерно 5% масс./масс., от примерно 0,2% масс./масс. до примерно 2,5% масс./масс., от примерно 0,22% масс./масс. до примерно 2,0% масс./масс., от примерно 0,24% масс./масс. до примерно 2% масс./масс., от примерно 0,26% масс./масс. до примерно 1,5% масс./масс., от примерно 0,28% масс./масс. до примерно 1,0% масс./масс., от примерно 0,3% масс./масс. до примерно 0,9% масс./масс., от примерно 0,32% масс./масс. до примерно 0,8% масс./масс., от примерно 0,34% масс./масс. до примерно 0,7% масс./масс., от примерно 0,36% масс./масс. до примерно 0,6% масс./масс., от примерно 0,38% масс./масс. до примерно 0,58% масс./масс., от примерно 0,4% масс./масс. до примерно 0,56% масс./масс., от примерно 0,42% масс./масс. до примерно 0,54% масс./масс., от примерно 0,44% масс./масс. до примерно 0,52% масс./масс., примерно 0,46% масс./масс., примерно 0,48% масс./масс., примерно 0,5% масс./масс., от примерно 0,2% масс./масс. до примерно 0,8% масс./масс., от примерно 0,24% масс./масс. до примерно 0,7% масс./масс., от примерно 0,26% масс./масс. до примерно 0,7% масс./масс., от примерно 0,3% масс./масс. до примерно 0,65% масс./масс., от примерно 0,36% масс./масс. до примерно 0,6% масс./масс., от примерно 0,4% масс./масс. до примерно 0,58% масс./масс., от примерно 0,44% масс./масс. до примерно 0,56% масс./масс., от примерно 0,48% масс./масс. до примерно 0,54% масс./масс. или от примерно 0,5% масс./масс. до примерно 0,52% масс./масс.

6. Композиция по любому из пп.1-5, отличающаяся тем, что:

производные холестерина выбраны из сложных эфиров, образованных холестерином и органическими кислотами, включая холестеринпальмитат, холестеринкаприлат и их комбинации; и/или

аналоги холестерина выбраны из витамина D2, витамина D3 и их комбинации; и/или сложные эфиры жирных кислот выбраны из глицеридов жирных кислот, таких как глицериды жирных кислот с длинной цепью, включая стеарат глицерина, например, глицерилмоностеарат.

7. Композиция по любому из пп.1-6, отличающаяся тем, что липид представляет собой холестерин.

8. Композиция по п.7, отличающаяся тем, что:

холестерин:SN-38 составляет примерно (1-6):1 (масс.:масс.), примерно (1,2-5):1 (масс.:масс.), примерно (1,4-4):1 (масс.:масс.), примерно 3:1 (масс.:масс.), примерно 2:1 (масс.:масс.), примерно 1:1 (масс.:масс.) или примерно (0,8-1,8):1 (масс.:масс.), примерно (0,9-1,7):1 (масс./масс.) или примерно (1-1,4):1; и/или

альбумин:SN-38 составляет примерно (3-25):1 (масс.:масс.), примерно (4-20):1 (масс.:масс.), примерно (5-15):1 (масс.:масс.), примерно (6-12):1 (масс.:масс.), примерно (7-12):1 (масс.:масс.), примерно (9-11):1 (масс.:масс.) или примерно 10:1 (масс.:масс.), или

примерно (9-21):1 (масс.:масс.), примерно (9-20):1 (масс.:масс.), примерно (11-18):1 (масс.:масс.) или примерно (11,1-17,3):1 (масс.:масс.); и/или

альбумин:холестерин составляет примерно (2-20):1 (масс.:масс.), примерно (3-15):1 (масс.:масс.), примерно (5-10):1 (масс.:масс.) или примерно 7:1 (масс.:масс.), или примерно (6-21):1 (масс.:масс.), примерно (6,7-13):1 (масс.:масс.), примерно (7-13):1 (масс.:масс.), или примерно (11-12,7):1 (масс.:масс.); и/или

в расчете на общее количество SN-38, холестерина и альбумина в композиции,

SN-38 содержится в количестве от примерно 3% масс./масс. до примерно 15% масс./масс., от примерно 4% масс./масс. до примерно 15% масс./масс., от примерно 6% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., или от примерно 8% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., или от примерно 4% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 9,5% масс./масс., от примерно 5% масс./масс. до примерно 9% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс./масс.; и/или

холестерин содержится в количестве от примерно 5% масс./масс. до примерно 25% масс./масс., от примерно 6% масс./масс. до примерно 22% масс./масс., от примерно 15% масс./масс. до примерно 20% масс./масс. или от примерно 4% масс./масс. до примерно 12,5% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., от примерно 7% масс./масс. до примерно 10% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс./масс.; и/или

альбумин содержится в количестве от примерно 64% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., от примерно 70% масс./масс. до примерно 90% масс./масс. или от примерно 78% масс./масс. до примерно 93% масс./масс., от примерно 79% масс./масс. до примерно 91,5% масс./масс., от примерно 80% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., от примерно 82% масс./масс. до примерно 89% масс./масс., от примерно 84% масс./масс. до примерно 88% масс./масс. или от примерно 84,5% масс./масс. до примерно 87,5% масс./масс.; и/или

SN-38, присутствующий в наночастицах, составляет по меньшей мере примерно 3% масс./масс., например, от примерно 3% масс./масс. до примерно 13% масс./масс., от примерно 4% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., примерно 4% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 8% масс./масс., примерно 9% масс./масс., примерно 10% масс./масс. или примерно 11% масс./масс. от общего количества SN-38, холестерина и альбумина в композиции.

9. Композиция по п.7, где:

холестерин:SN-38 составляет примерно (1-3):1 (масс.:масс.), примерно (1,2-2,5):1 (масс.:масс.), примерно (1,4-2):1 (масс.:масс.), примерно (1,5-2):1 (масс.:масс.), примерно (1,3-1,8):1 (масс.:масс.), примерно (1,4-1,6):1 (масс.:масс.), примерно (1,5-1,7):1 (масс.:масс.), примерно (1,2-1,5):1 (масс.:масс.), примерно 1:1 (масс.:масс.), примерно (1,4-1,5):1 (масс.:масс.) или примерно (0,8-1,8):1 (масс.:масс.), примерно (0,9-1,7):1 (масс.:масс.), примерно (1-1,4):1;

альбумин:SN-38 составляет примерно (5-15):1 (масс.:масс.), примерно (5-12):1 (масс.:масс.), примерно (6-12):1 (масс.:масс.) или примерно (7-12):1 (масс.:масс.), примерно

(9-11):1 (масс.:масс.), примерно (10-12):1 (масс.:масс.), примерно 11:1 (масс.:масс.) или примерно (9-21):1 (масс.:масс.), примерно (9-20):1 (масс.:масс.), примерно (11-18):1 (масс.:масс.) или примерно (11,1-17,3):1 (масс.:масс.); и

альбумин:холестерин составляет примерно (3-10):1 (масс.:масс.), примерно (4-8):1 (масс.:масс.), примерно (5-7):1 (масс.:масс.) или примерно (6-21):1 (масс.:масс.), примерно (6,7-13):1 (масс.:масс.), примерно (7-13):1 (масс.:масс.) или примерно (11-12,7):1 (масс./масс.).

10. Композиция по п.7, отличающаяся тем, что:

холестерин:SN-38 составляет примерно (1-5):1 (масс.:масс.), примерно (1-4,5):1 (масс.:масс.), примерно (1-4):1 (масс.:масс.), примерно (1,2-3,8):1 (масс.:масс.), примерно (1,4-3,6):1 (масс.:масс.), примерно (1,6-3,4):1 (масс.:масс.), примерно (1,8-3,2):1 (масс.:масс.), примерно (2-3):1 (масс.:масс.), примерно (2,2-2,8):1 (масс.:масс.), примерно (2,4-2,6):1 (масс.:масс.), примерно 2,5:1 (масс.:масс.), примерно 1:1 (масс.:масс.) или примерно (0,8-1,8):1 (масс.:масс.), примерно (0,9-1,7):1 (масс.:масс.) или примерно (1-1,4):1; и/или

альбумин:SN-38 составляет примерно (5-25):1 (масс.:масс.), примерно (5-20):1 (масс.:масс.), примерно (6-19):1 (масс.:масс.), примерно (7-18):1 (масс.:масс.), примерно (8-16):1 (масс.:масс.), примерно (9-14):1 (масс.:масс.) или примерно (10-12):1 (масс.:масс.), или примерно (9-21):1 (масс.:масс.), примерно (9-20):1 (масс.:масс.), примерно (11-18):1 (масс.:масс.) или примерно (11,1-17,3):1 (масс.:масс.); и/или

альбумин:холестерин составляет примерно (5-25):1 (масс.:масс.), примерно (6-20):1 (масс.:масс.), примерно (7-18):1 (масс.:масс.), примерно (8-16):1 (масс.:масс.), примерно (9-14):1 (масс.:масс.), примерно (10-12):1 (масс.:масс.) или примерно (6-21):1 (масс.:масс.), примерно (6,7-13):1 (масс.:масс.), примерно (7-13):1 (масс.:масс.) или примерно (11-12,7):1 (масс.:масс.); и/или

Span 20:SN-38 составляет примерно (5-40):100 (масс.:масс.), примерно (6-30):100 (масс.:масс.), примерно (7-25):100 (масс.:масс.), примерно (8-20):100 (масс.:масс.), примерно (9-15):100 (масс.:масс.), примерно (10-12):100 (масс.:масс.) или примерно (5-10):100 (масс.:масс.), примерно (5-9):100 (масс.:масс.), примерно (6-8,6):100 (масс.:масс.), примерно (6-8):100 (масс.:масс.) или примерно (6,5-7):100 (масс.:масс.); и/или

в расчете на общее количество SN-38, холестерина и альбумина в композиции,

SN-38 содержится в количестве от примерно 3% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., от примерно 3,5% масс./масс. до примерно 9,5% масс./масс., примерно 4% масс./масс., примерно 4,5% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 5,5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 6,5% масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 7,5% масс./масс., примерно 8% масс./масс., примерно от 8,5% масс./масс., примерно 9% масс./масс. или от примерно 4% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 9,5% масс./масс., от примерно 5% масс./масс. до примерно от 9% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс./масс.; и/или

холестерин содержится в количестве от примерно 4% масс./масс. до примерно 18% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 17,5% масс./масс., примерно 5% масс./масс., примерно 5,5% масс./масс., примерно 6% масс./масс., примерно 6,5% масс./масс., примерно 7% масс./масс., примерно 7,5% масс./масс., примерно 8% масс./масс., 8,5% масс./масс., примерно 9% масс./масс., примерно 9,5% масс./масс. примерно 10% масс./масс., примерно 10,5% масс./масс., примерно 11% масс./масс., примерно 11,5% масс./масс., примерно 12% масс./масс., примерно 12,5% масс./масс., примерно 13% масс./масс., примерно 13,5% масс./масс., примерно 14% масс./масс., примерно 14,5% масс./масс., примерно 15% масс./масс., примерно 15,5% масс./масс., примерно 16% масс./масс., примерно 16,5% масс./масс., примерно 17% масс./масс., или от примерно 4% масс./масс. до примерно 12,5% масс./масс., от примерно 4,5% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., от примерно 7% масс./масс. до примерно 10% масс./масс. или от примерно 7,5% масс./масс. до примерно 8% масс./масс.; и/или

альбумин содержится в количестве от примерно 78% масс./масс. до примерно 92% масс./масс., примерно 79% масс./масс., примерно 80% масс./масс., примерно 81% масс./масс., примерно 82% масс./масс., примерно 83% масс./масс., примерно 84% масс./масс., примерно 85% масс./масс., примерно 86% масс./масс., примерно 87% масс./масс., примерно 88% масс./масс., примерно 89% масс./масс., примерно 90% масс./масс., примерно 91% масс./масс., или от примерно 78% масс./масс. до примерно 93% масс./масс., от примерно 79% масс./масс. до примерно 91,5% масс./масс., от примерно 80% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., от примерно 82% масс./масс. до примерно 89% масс./масс., от примерно 84% масс./масс. до примерно 88% масс./масс. или от примерно 84,5% масс./масс. до примерно 87,5% масс./масс.

11. Композиция по любому из пп.9-10, отличающаяся тем, что:

SN-38, присутствующий в наночастицах, содержится в количестве по меньшей мере от примерно 6% масс./масс. до примерно 12% масс./масс., например, от примерно 7% масс./масс. до примерно 11% масс./масс., от примерно 8% масс./масс. до примерно 10% масс./масс., примерно 8,3% или примерно 9% масс./масс. от общего количества SN-38, холестерина и альбумина в композиции; и/или

SN-38, присутствующий в наночастицах, содержится в количестве от примерно 95% масс./масс. до примерно 99% масс./масс., например, от примерно 96% масс./масс. до примерно 99% масс./масс., от примерно 97% масс./масс. до примерно 99% масс./масс., от примерно 98% масс./масс. до примерно 99% масс./масс., примерно 99% масс./масс. или выше от общего количества SN-38 в композиции.

12. Композиция по любому из пп.1-11, отличающаяся тем, что композиция находится в жидкой, полутвердой или твердой форме;

необязательно, твердая форма представляет собой порошковую форму, предпочтительно, лиофилизированный порошок;

более предпочтительно, SN-38 существует в аморфной и/или нанокристаллической форме в композиции в твердой форме.

13. Композиция по любому из пп.1-12, отличающаяся тем, что композиция не содержит дополнительный стабилизатор; или

предпочтительно, композиция дополнительно содержит дополнительный стабилизатор, например, стабилизатор для лиофилизации, где дополнительный стабилизатор находится в таком количестве, что при восстановлении композиции с образованием водной композиции (включая раствор и эмульсию), дополнительный стабилизатор содержится в количестве по меньшей мере примерно 2% масс./об., например, по меньшей мере примерно 3% масс./об., например, по меньшей мере примерно 5% масс./об., от примерно 5% масс./об. до примерно 30% масс./об., от примерно 10% масс./масс. до примерно 25% масс./масс. или от примерно 15% масс./масс. до примерно 20% масс./масс.; и/или

в расчете на общее количество композиции,

дополнительный стабилизатор содержится в количестве от примерно 60% масс./масс. до примерно 98% масс./масс., например, от примерно 65% масс./масс. до примерно 97% масс./масс., от примерно 68% масс./масс. до примерно 96% масс./масс., от примерно 69% масс./масс. до примерно 95% масс./масс., от примерно 70% масс./масс. до примерно 94% масс./масс., от примерно 71% масс./масс. до примерно 93% масс./масс., от примерно 72% масс./масс. до примерно 92% масс./масс., примерно 73% масс./масс., примерно 74% масс./масс., примерно 75% масс./масс., примерно 76% масс./масс., примерно 77% масс./масс., примерно 78% масс./масс., примерно 79% масс./масс., примерно 80% масс./масс., примерно 81% масс./масс., примерно 82% масс./масс., примерно 83% масс./масс., примерно 84% масс./масс., примерно 85% масс./масс., примерно 86% масс./масс., примерно 87% масс./масс., примерно 88% масс./масс., примерно 89% масс./масс., примерно 90% масс./масс. или примерно 91% масс./масс.;

например, дополнительный стабилизатор содержится в количестве от примерно 70% масс./масс. до примерно 96% масс./масс., от примерно 70% масс./масс. до примерно 90% масс./масс., от примерно 72% масс./масс. до примерно 89% масс./масс., от примерно 74% масс./масс. до примерно 88% масс./масс., от примерно 76% масс./масс. до примерно 87% масс./масс., или от примерно 80% масс./масс. до примерно 96% масс./масс., от примерно 80% масс./масс. до примерно 86% масс./масс., от примерно 81% масс./масс. до примерно 86% масс./масс., от примерно 82% масс./масс. до примерно 85% масс./масс., от примерно 83% масс./масс. до примерно 84% масс./масс. или от примерно 84% масс./масс. до примерно 95% масс./масс.; и/или

дополнительный стабилизатор выбран из альбуминов (таких как сывороточный альбумин человека, рекомбинантный альбумин человека, бычий сывороточный альбумин и сухое обезжиренное молоко), моносахаридов, дисахаридов, полисахаридов, маннита и любой их комбинации, предпочтительно, выбран из маннита, лактозы, мальтозы, трегалозы, декстрана, глюкозы и сахарозы и любой их композиции, предпочтительно, представляет собой сахарозу.

14. Композиция по любому из пп.1-13, отличающаяся тем, что SN-38 с разомкнутым

кольцом в композиции составляет примерно 2% масс./масс. или менее, например, примерно 1,8% масс./масс. или менее, от общего количества SN-38; и/или

мультимер альбумина не существует или по существу не существует в композиции; например, альбумин в мономерной форме в композиции составляет по меньшей мере примерно 95% масс./масс., например, по меньшей мере примерно 96%, по меньшей мере примерно 98%, по меньшей мере примерно 99%, по меньшей мере примерно 99,2%, по меньшей мере примерно 99,4% или по меньшей мере примерно 99,5% от общего количества альбумина.

15. Композиция по любому из пп.1-14, отличающаяся тем, что альбумин выбран из сывороточного альбумина человека (HSA), рекомбинантного альбумина человека (rHA), бычьего сывороточного альбумина и свиного сывороточного альбумина; например, альбумин содержит аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO:1; и

предпочтительно, альбумин выбран из сывороточного альбумина человека (HSA) и рекомбинантного альбумина человека (rHA).

16. Способ получения композиции по любому из пп.1-15, отличающийся тем, что способ включает следующие стадии:

(1) растворение SN-38, липида и Span 20 в органическом растворителе с образованием органической фазы; и получение водного раствора альбумина в виде водной фазы;

(2) смешивание органической фазы и водной фазы с образованием эмульсии, где эмульсия содержит наночастицы, где в наночастицах альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и необязательно по меньшей мере часть липида; и

(3) удаление органического растворителя из эмульсии с получением продукта, содержащего наночастицы;

предпочтительно, способ включает следующие стадии:

(1) растворение SN-38, липида и Span 20 с использованием смешанного органического растворителя, содержащего первый органический растворитель, выбранный из ДМСО и C₁₋₃ спирта (включая метанол, этанол и изопропанол и любую их комбинацию, предпочтительно, этанол (EtOH)) и второй органический растворитель, выбранный из CHCl₃ и смеси CH₂Cl₂ и CHCl₃, с образованием органической фазы, где в смешанном органическом растворителе объемное соотношение второго органического растворителя к ДМСО или C₁₋₃ спирту составляет примерно 1:20 (об./об.) или примерно 20:1 (об./об.), например, от примерно 1:5 до примерно 5:1 (об./об.), от примерно 1:2 до примерно от 4:1 (об./об.), от примерно 1:1 до примерно 4:1 (об./об.), от примерно 1,5:1 (об./об.) до примерно 3:1 (об./об.) или от примерно 2:1 (об./об.) до 7:3 (об./об.); и получение водного раствора альбумина в виде водной фазы;

(2) смешивание органической фазы и водной фазы для получения эмульсии, где эмульсия содержит наночастицы, где в наночастицах альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и необязательно по меньшей мере часть липида;

(3) удаление органического растворителя; и

(4) необязательно, стерилизация продукта, полученного на стадии (3), предпочтительно путем фильтрации через фильтрующую мембрану примерно 0,2 мкм;

где необязательно, второй органический растворитель представляет собой CHCl_3 или смесь CH_2Cl_2 и CHCl_3 , где необязательно объемное соотношение CH_2Cl_2 и CHCl_3 в смеси составляет примерно 2:5-1:1, предпочтительно, примерно 2:5.

17. Способ по п. 16, отличающийся тем, что на стадии (2), соотношение органическая фаза:водная фаза составляет от примерно 1:2 (об./об.) до примерно 1:50 (об./об.), например, от примерно 1:5 (об./об.) до примерно 1:20 (об./об.), от примерно 1:7 (об./об.) до примерно 1:15 (об./об.), от примерно 1:10 (об./об.) до примерно 1:12 (об./об.), например, от примерно 1:5 (об./об.) до примерно 1:12 (об./об.), от примерно 1:5 (об./об.) до примерно 1:12 (об./об.), примерно 1:6 (об./об.), примерно 1:7 (об./об.) или примерно 1:10 (об./об.).

18. Фармацевтическая композиция, содержащая композицию по любому из пп. 1-15 и необязательно, фармацевтически приемлемый носитель.

19. Применение композиции по любому из пп. 1-15 или фармацевтической композиции по п. 17 при производстве лекарственного средства для лечения SN-38-чувствительной опухоли у субъекта, где опухоль предпочтительно выбрана из колоректального рака, мелкоклеточного рака легких, рака лимфы, рака молочной железы (предпочтительно, трижды отрицательного рака молочной железы), рака пищевода, рака желудка, рака печени, рака почки, рака поджелудочной железы, рака матки и рака яичников.

20. Способ получения композиции с улучшенными свойствами, где композиция содержит SN-38, липид и альбумин, где альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и необязательно, по меньшей мере часть липида с образованием наночастиц, и

где способ отличается тем, что Span 20 добавляется в процессе получения композиции;

где необязательно, композиция не содержит дополнительный стабилизатор; и/или

где необязательно, улучшенные свойства включают улучшенную стабильность; где, например, когда композиция находится в жидкой форме, улучшенная стабильность включает: уменьшение образования или содержания мультимера альбумина (например, мультимер альбумина не существует или по существу не существует в композиции, или мультимер альбумина составляет не более 5% масс./масс., например, не более примерно 4%, не более примерно 2%, не более примерно 1,5%, не более примерно 1,2%, не более примерно 1,1%, не более примерно 1% или не более примерно 0,8% от общего количества альбумина) и/или уменьшенный размер наночастиц во время получения, хранения и/или применения композиции;

и/или

где необязательно, композиция такая, как определена в любом из пп. 1-15;

предпочтительно, способ включает следующие стадии:

(1) растворение SN-38, липида и Span 20 в органическом растворителе с образованием органической фазы; и получение водного раствора альбумина в виде водной

фазы;

(2) смешивание органической фазы и водной фазы с образованием эмульсии, где эмульсия содержит наночастицы, где в наночастицах альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и необязательно по меньшей мере часть липида; и

(3) удаление органического растворителя из эмульсии с получением продукта, содержащего наночастицы;

более предпочтительно, способ включает следующие стадии:

(1) растворение SN-38, липида и Span 20 с использованием смешанного органического растворителя, содержащего первый органический растворитель, выбранный из ДМСО и C_{1-3} спирта (включая метанол, этанол и изопропанол и любую их комбинацию, предпочтительно, этанол (EtOH)) и второй органический растворитель, выбранный из $CHCl_3$ и смеси CH_2Cl_2 и $CHCl_3$, с образованием органической фазы, где в смешанном органическом растворителе объемное соотношение второго органического растворителя к ДМСО или C_{1-3} спирту составляет примерно 1:20 (об./об.) или примерно 20:1 (об./об.), например, от примерно 1:5 до примерно 5:1 (об./об.), от примерно 1:2 до примерно от 4:1 (об./об.), от примерно 1:1 до примерно 4:1 (об./об.), от примерно 1,5:1 (об./об.) до примерно 3:1 (об./об.) или от примерно 2:1 (об./об.) до 7:3 (об./об.); и получение водного раствора альбумина в виде водной фазы;

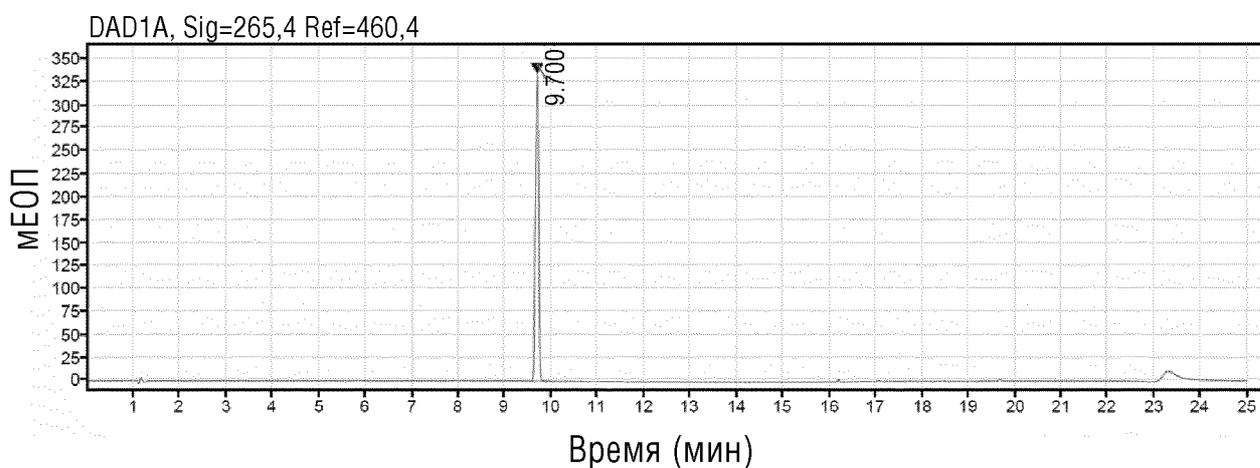
(2) смешивание органической фазы и водной фазы для получения эмульсии, где эмульсия содержит наночастицы, где в наночастицах альбумин инкапсулирует по меньшей мере часть SN-38 и необязательно по меньшей мере часть липида;

(3) удаление органического растворителя; и

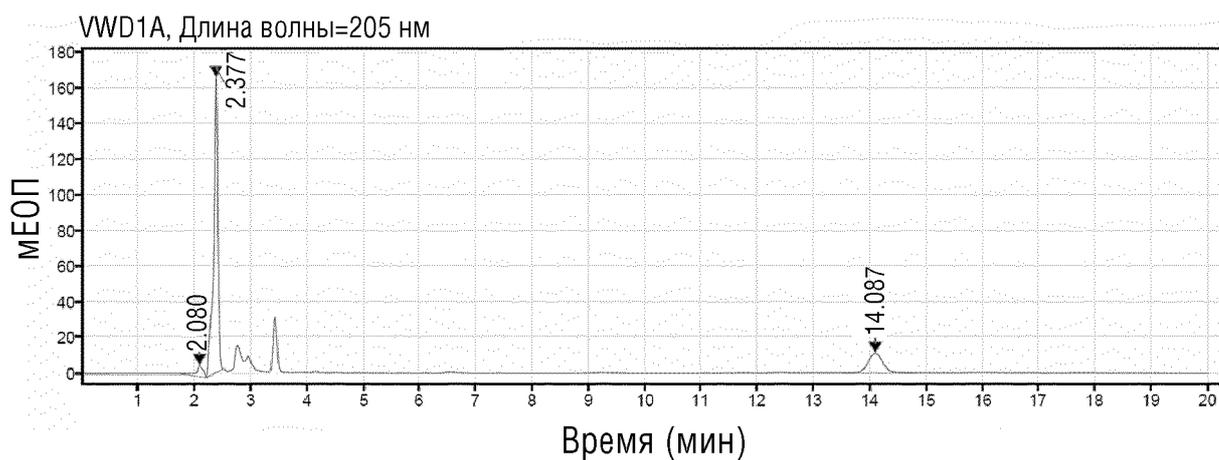
(4) необязательно, стерилизация продукта, полученного на стадии (3), предпочтительно путем фильтрации через фильтрующую мембрану примерно 0,2 мкм;

где необязательно, второй органический растворитель представляет собой $CHCl_3$ или смесь CH_2Cl_2 и $CHCl_3$, где необязательно, объемное соотношение CH_2Cl_2 и $CHCl_3$ в смеси составляет примерно 2:5-1:1, предпочтительно, примерно 2:5.

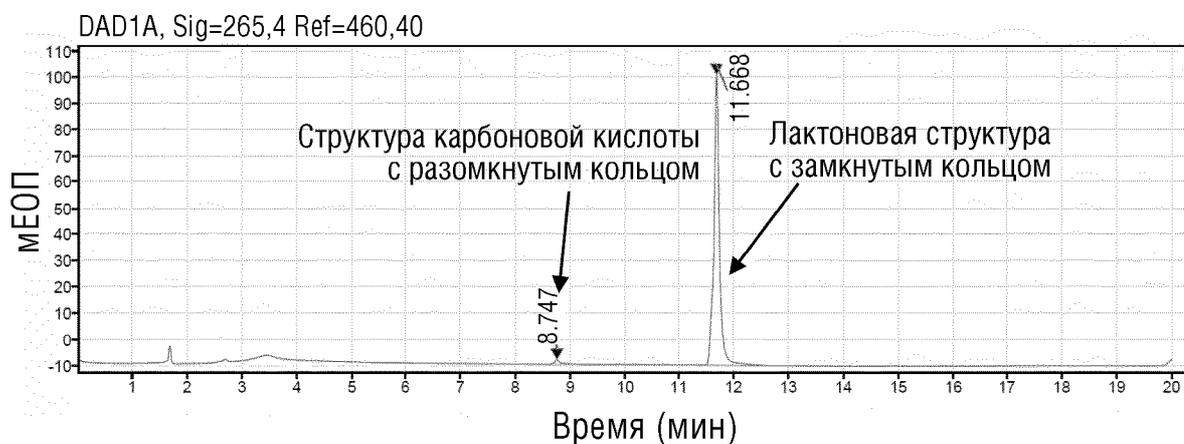
ФИГ.1



ФИГ.2



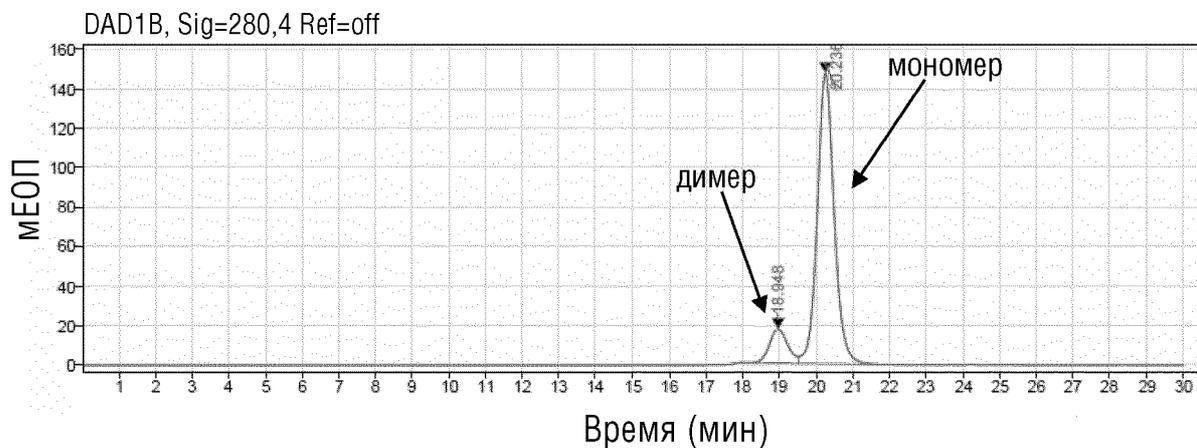
ФИГ.3



Сигнал: DAD1A, Sig=265,4 Ref=460,40

ВУ (мин)	Тип	Ширина (мин)	Площадь	Высота	Площадь%	Наименование
8.747	BB	0.96	15.69	1.66	1.98	
11.668	BB	1.29	776.21	110.48	98.02	
Сумма			791.90			

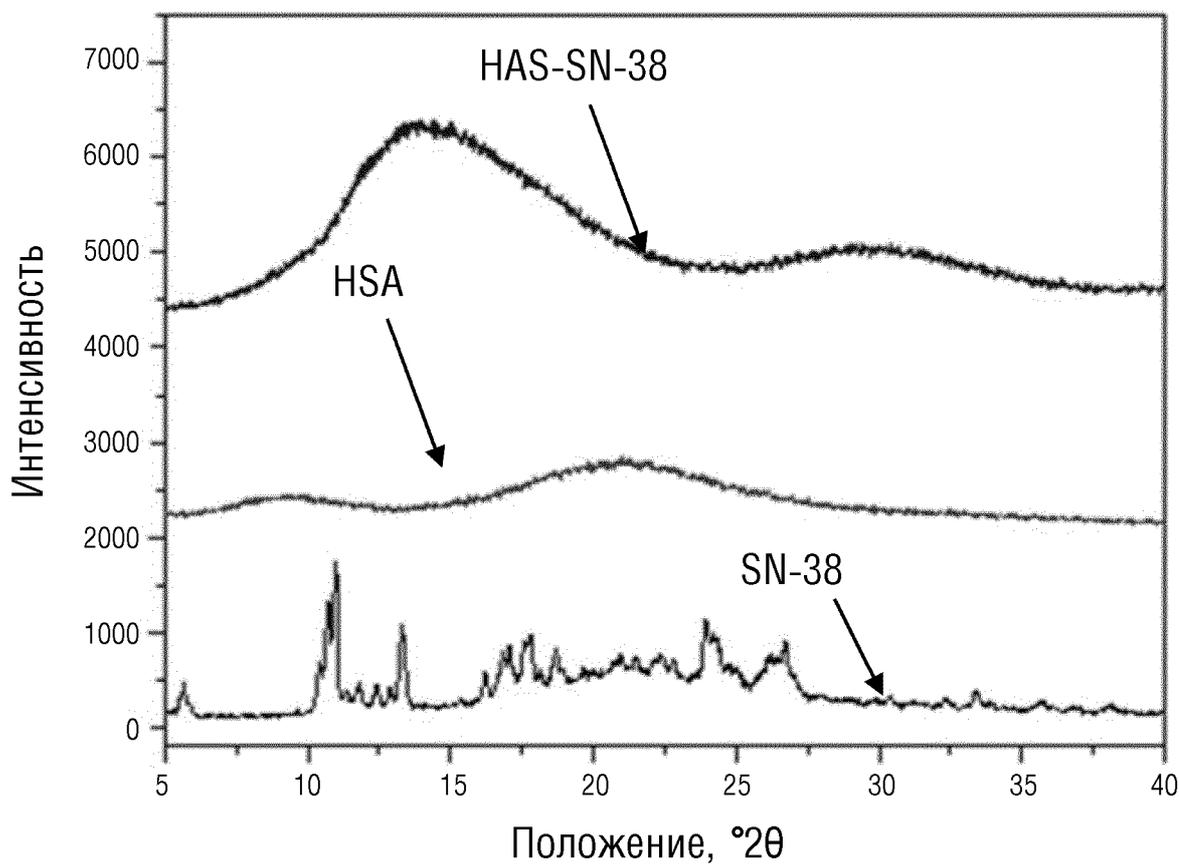
ФИГ.4



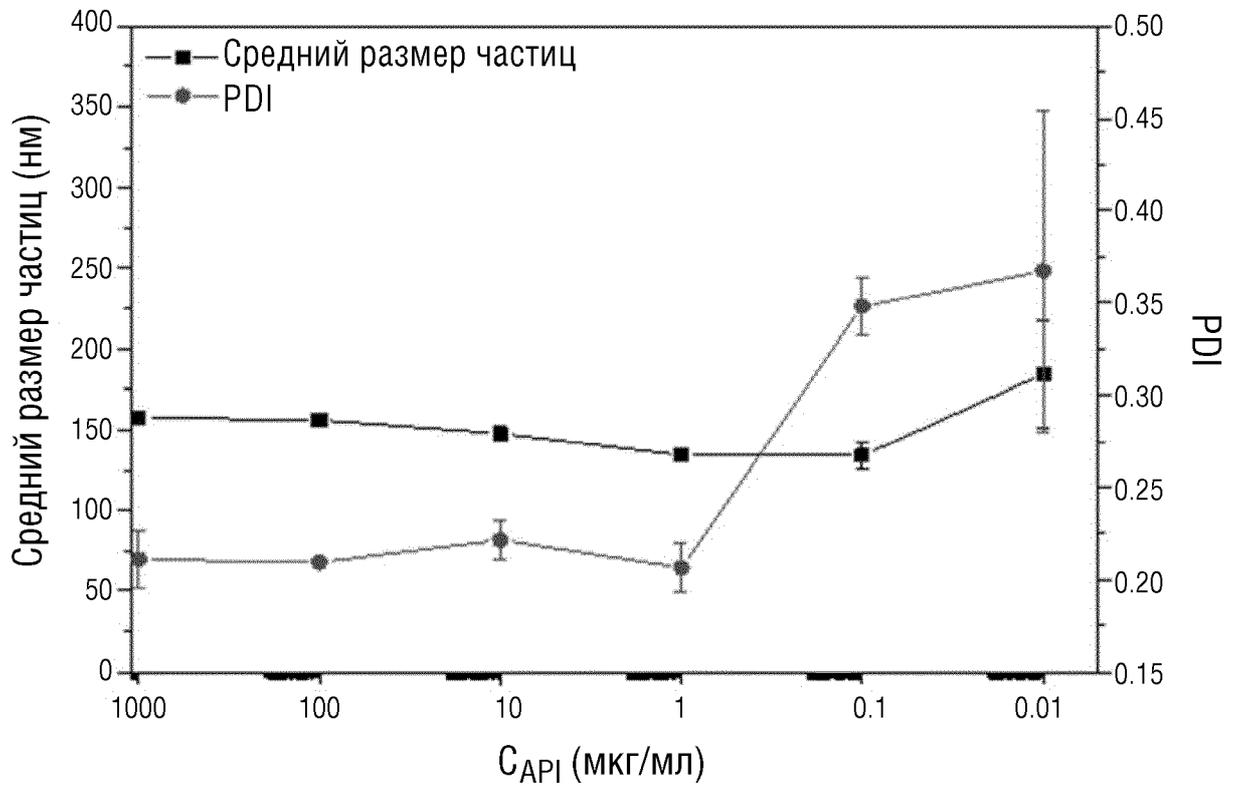
Сигнал: DAD1B, Sig=280,4 Ref=off

ВУ (мин)	Тип	Ширина (мин)	Площадь	Высота	Площадь%	Наименование
18.948	VV	2.25	593.55	17.19	11.20	
20.236	VV	2.10	4708.00	147.65	88.80	
		Сумма	5301.55			

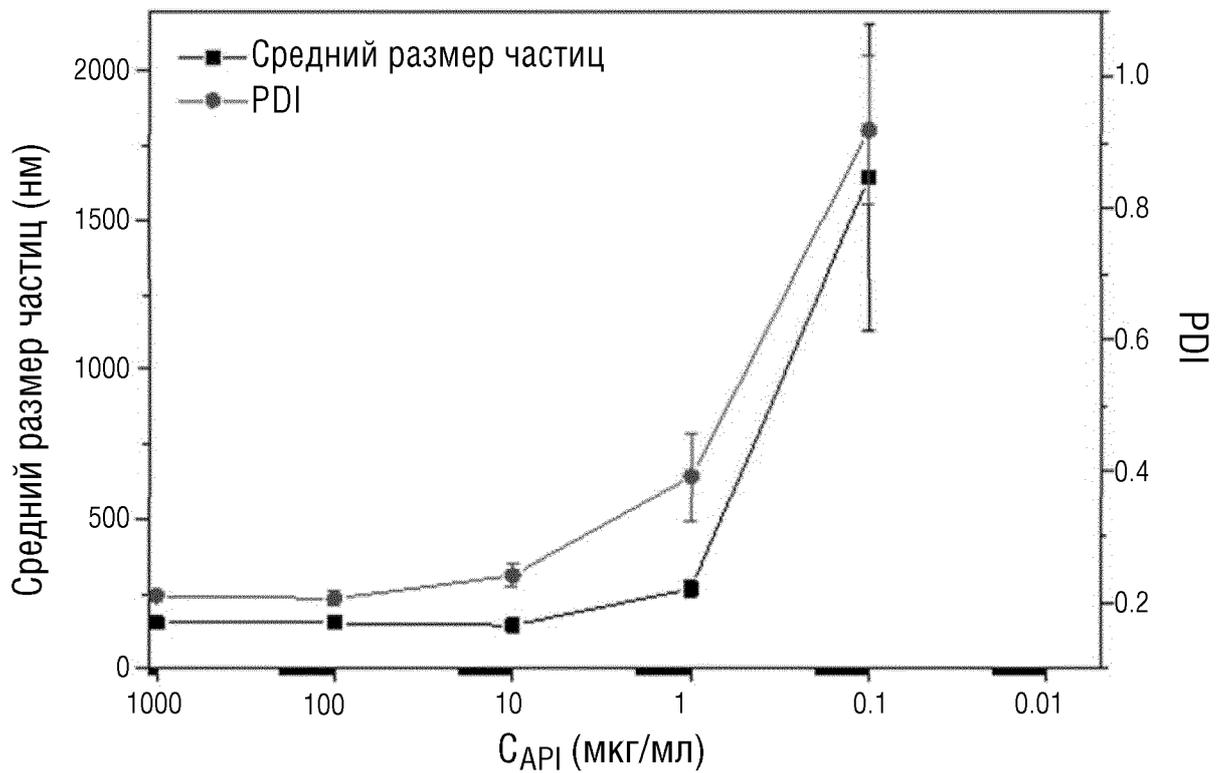
ФИГ.5



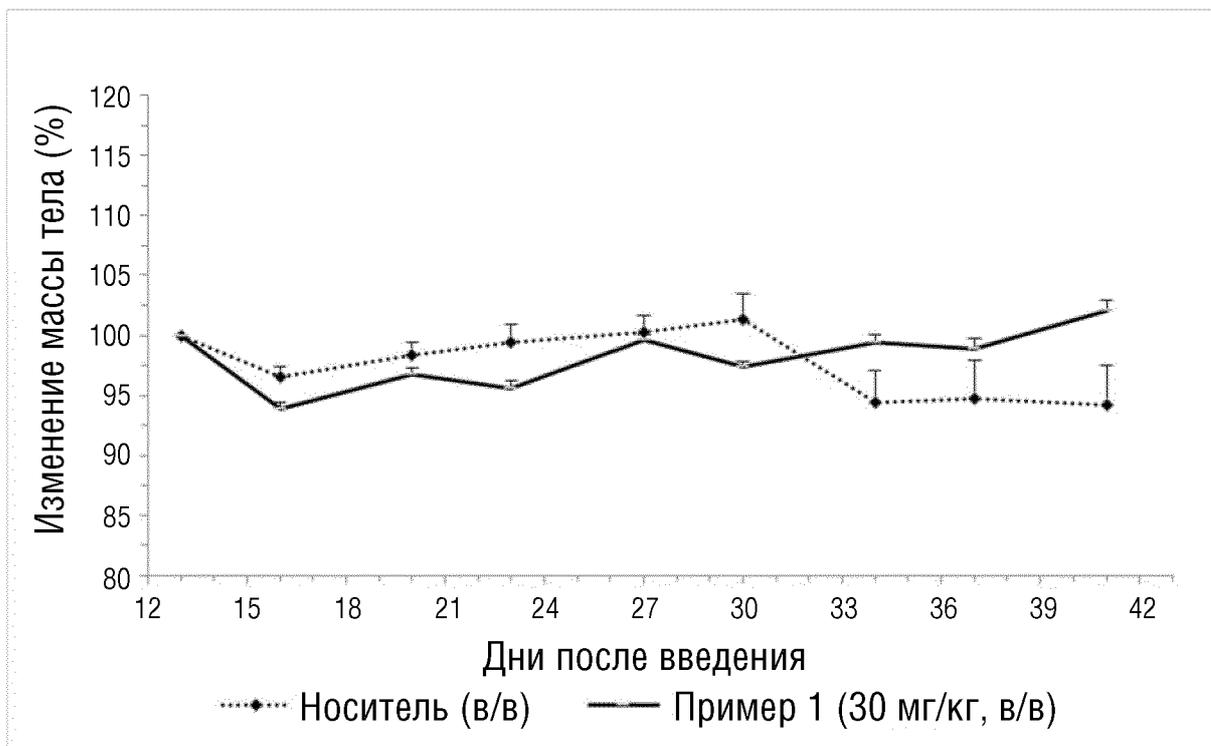
ФИГ.6



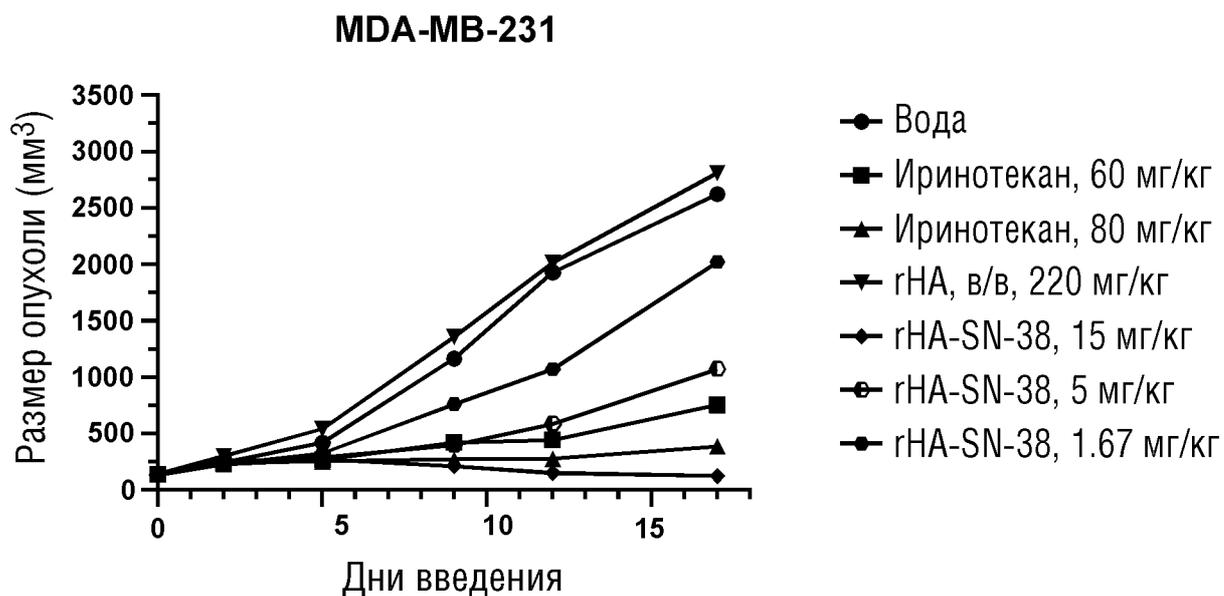
ФИГ.7



ФИГ.8

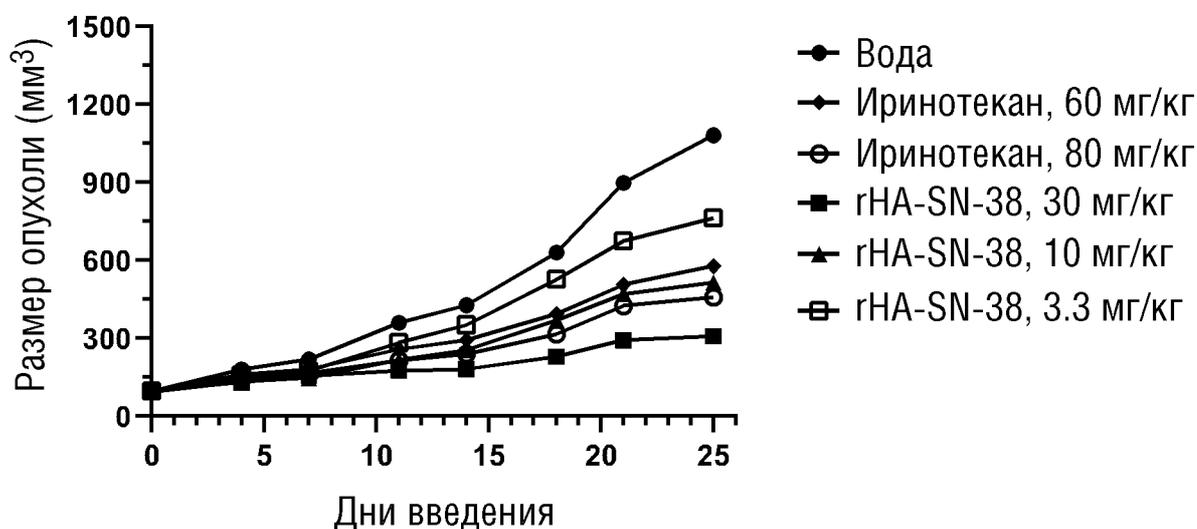


ФИГ.9

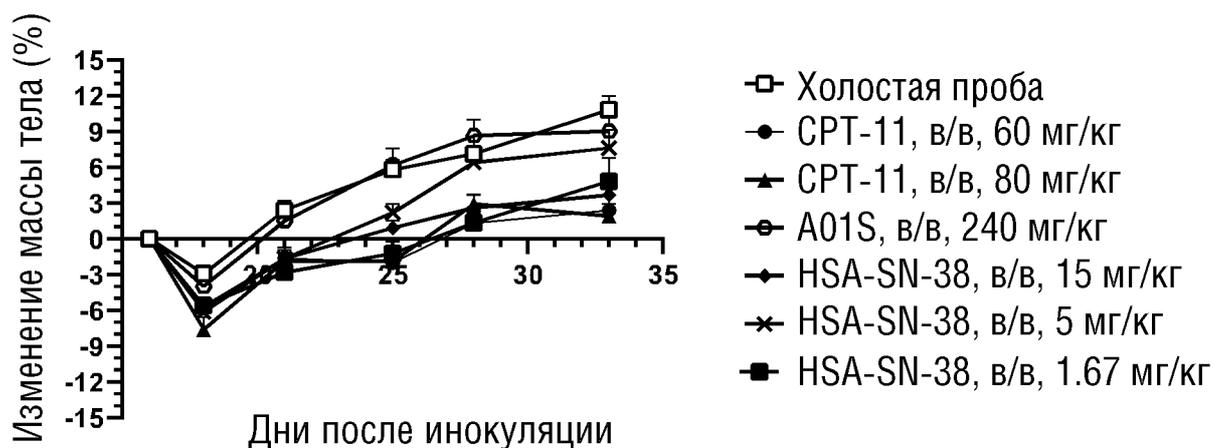


ФИГ.10

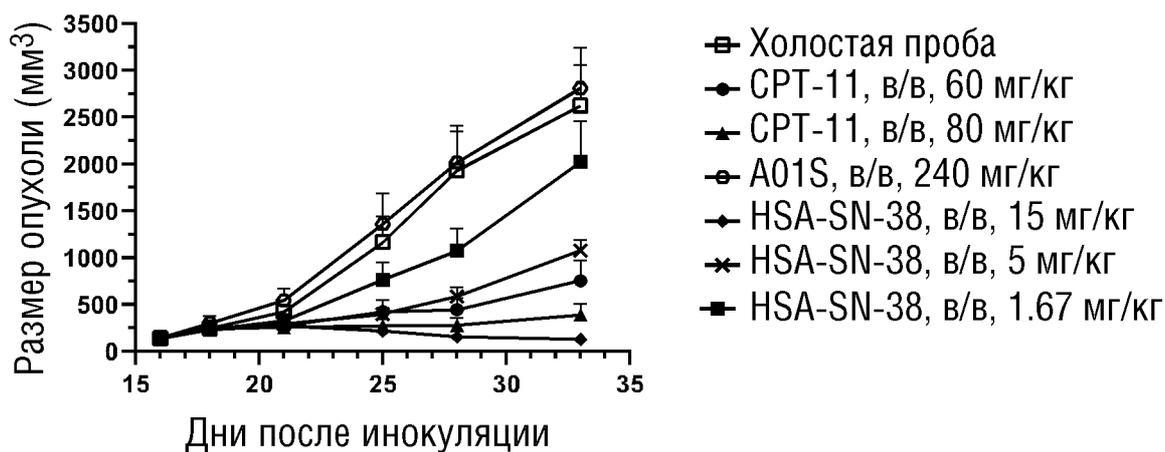
НТ-29



ФИГ.11



ФИГ.12

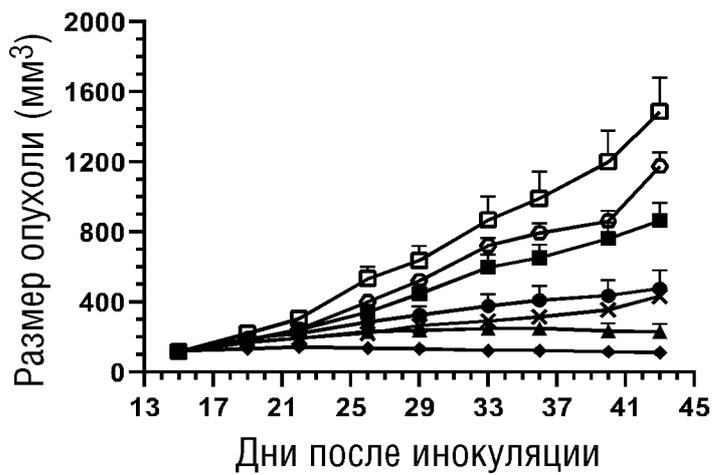


ФИГ.13



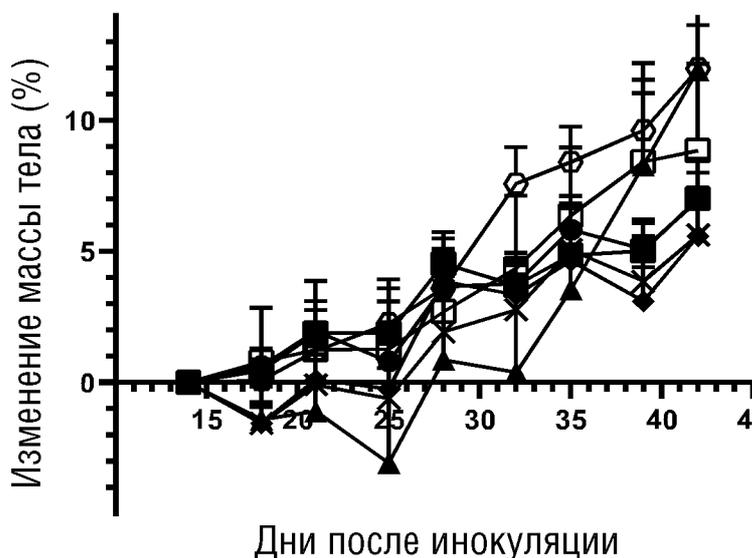
- Холостая проба
- CPT-11, в/в, 60 мг/кг
- ▲ CPT-11, в/в, 80 мг/кг
- A01S, в/в, 450 мг/кг
- ◆ HSA-SN-38, в/в, 30 мг/кг
- × HSA-SN-38, в/в, 10 мг/кг
- HSA-SN-38, в/в, 3.3 мг/кг

ФИГ.14



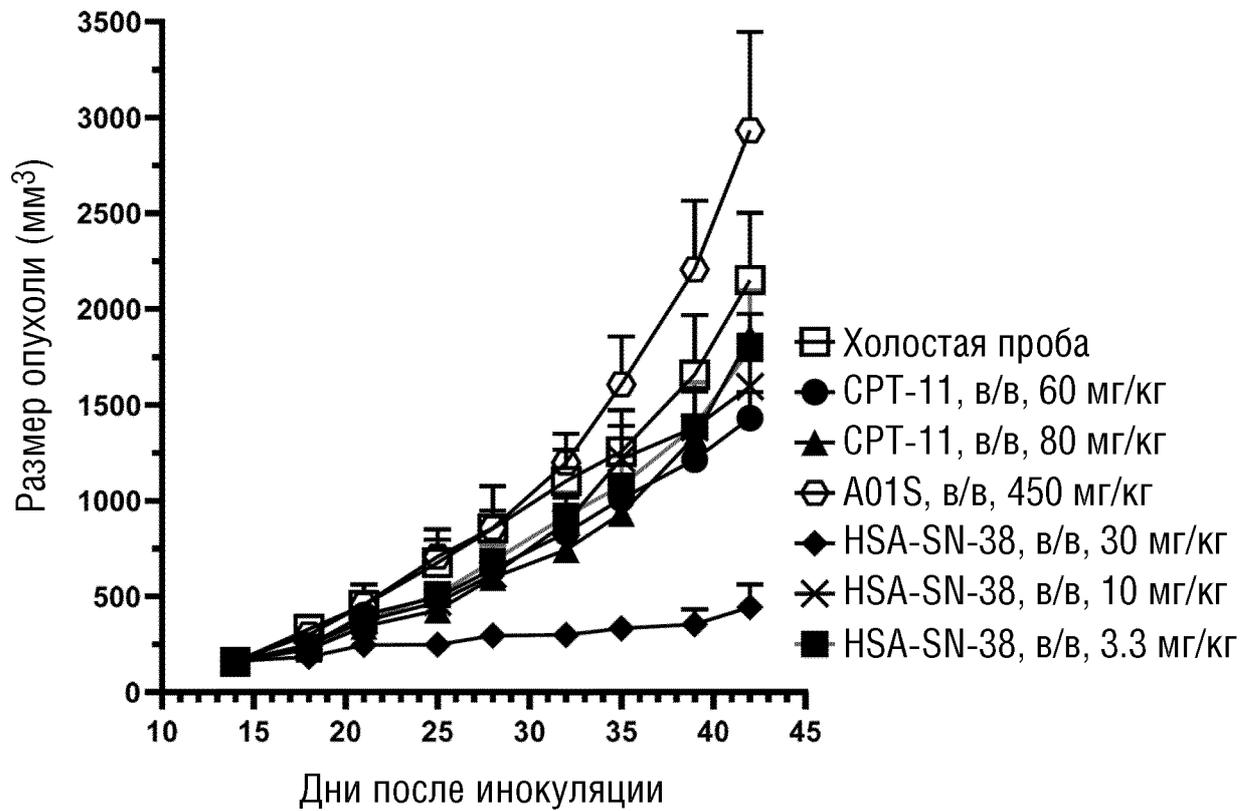
- Холостая проба
- CPT-11, в/в, 60 мг/кг
- ▲ CPT-11, в/в, 80 мг/кг
- A01S, в/в, 450 мг/кг
- ◆ HSA-SN-38, в/в, 30 мг/кг
- × HSA-SN-38, в/в, 10 мг/кг
- HSA-SN-38, в/в, 3.3 мг/кг

ФИГ.15

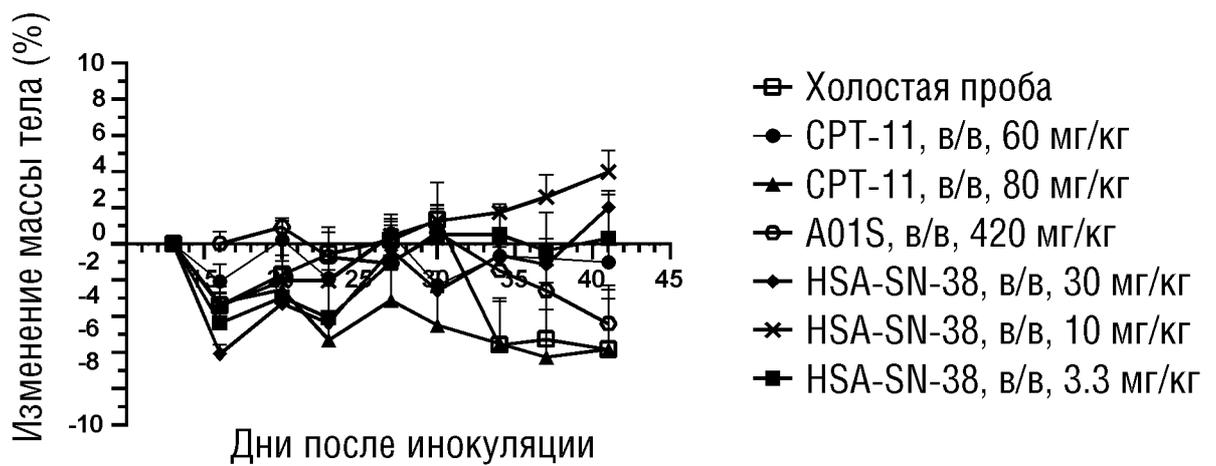


- Холостая проба
- CPT-11, в/в, 60 мг/кг
- ▲ CPT-11, в/в, 80 мг/кг
- A01S, в/в, 450 мг/кг
- ◆ HSA-SN-38, в/в, 30 мг/кг
- × HSA-SN-38, в/в, 10 мг/кг
- HSA-SN-38, в/в, 3.3 мг/кг

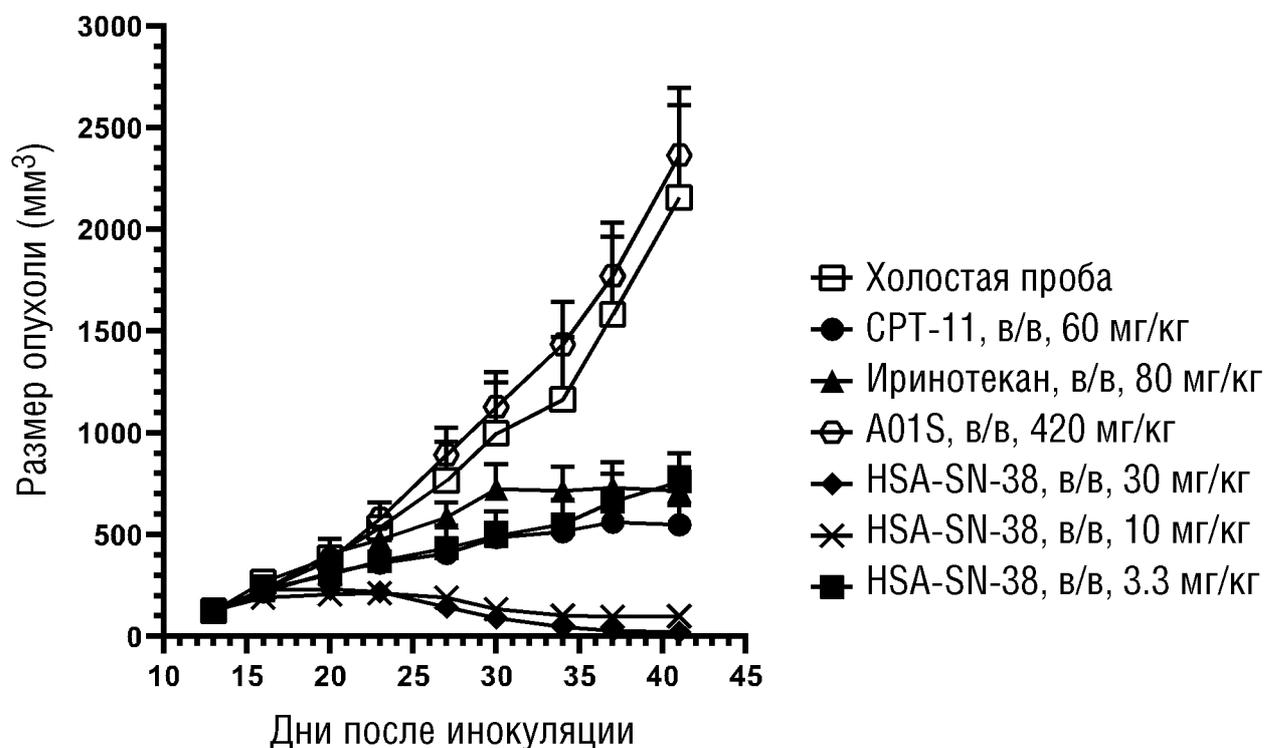
ФИГ.16



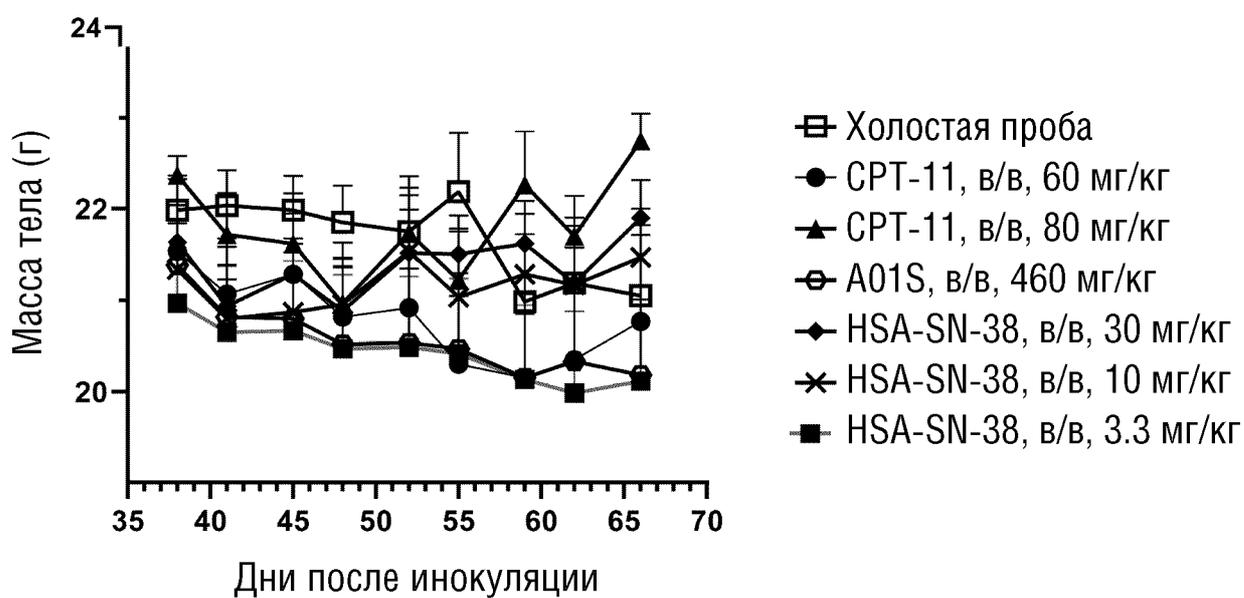
ФИГ.17



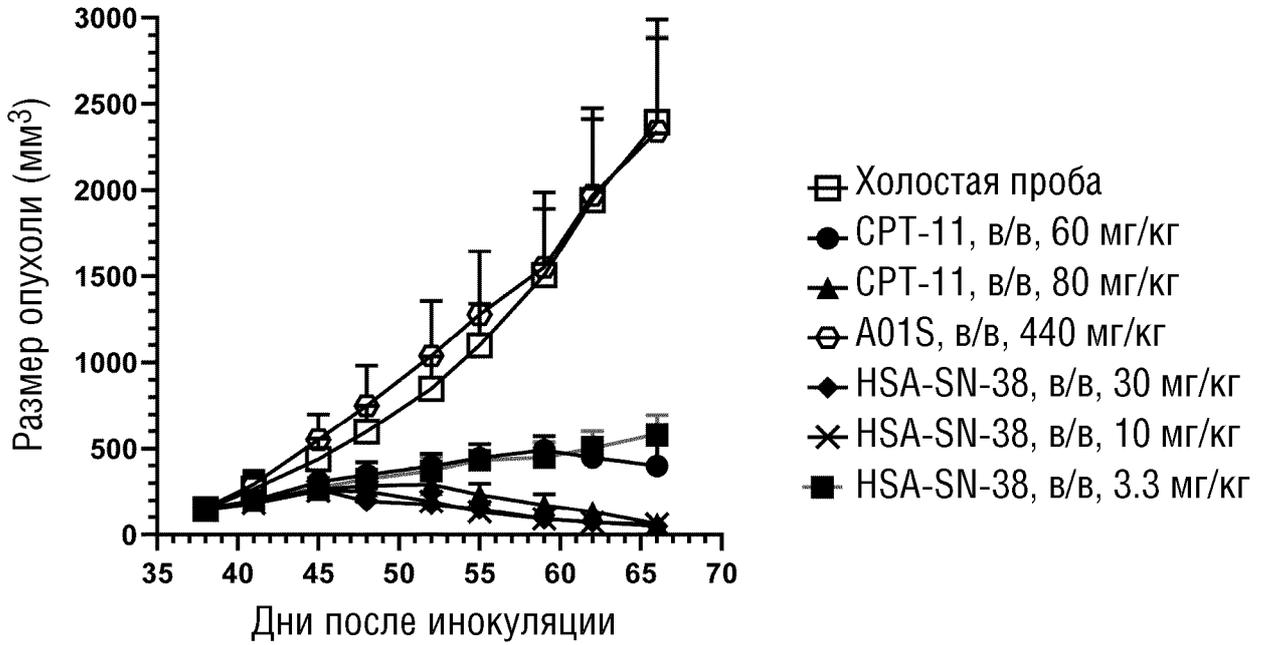
ФИГ.18



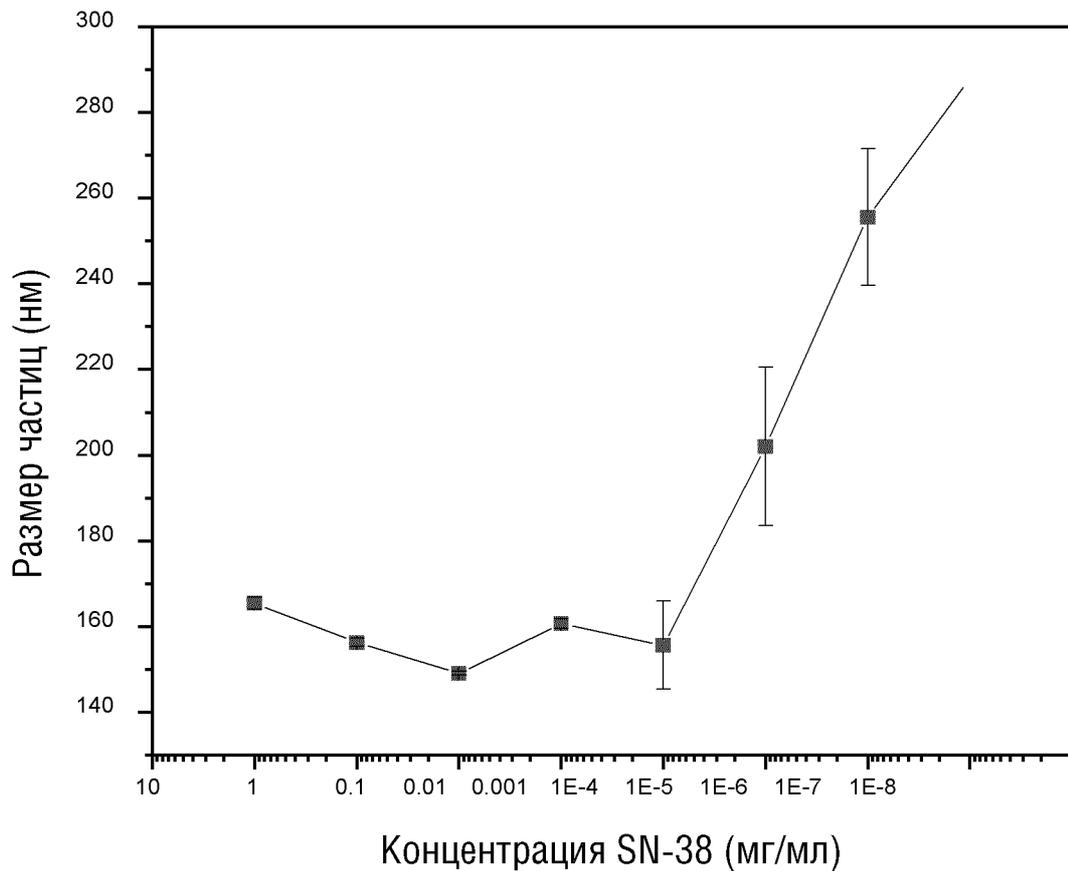
ФИГ.19



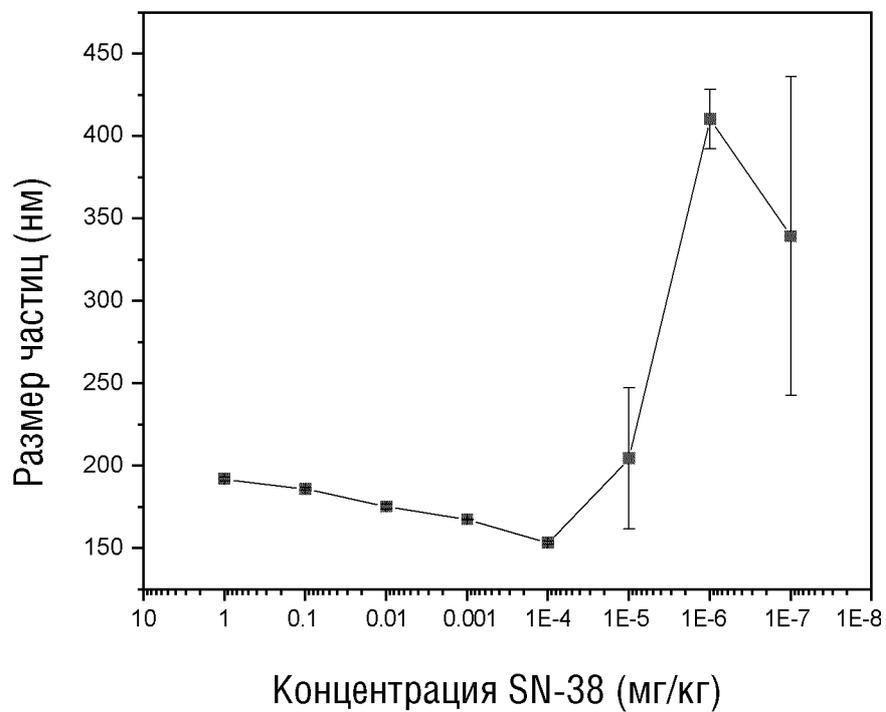
ФИГ.20



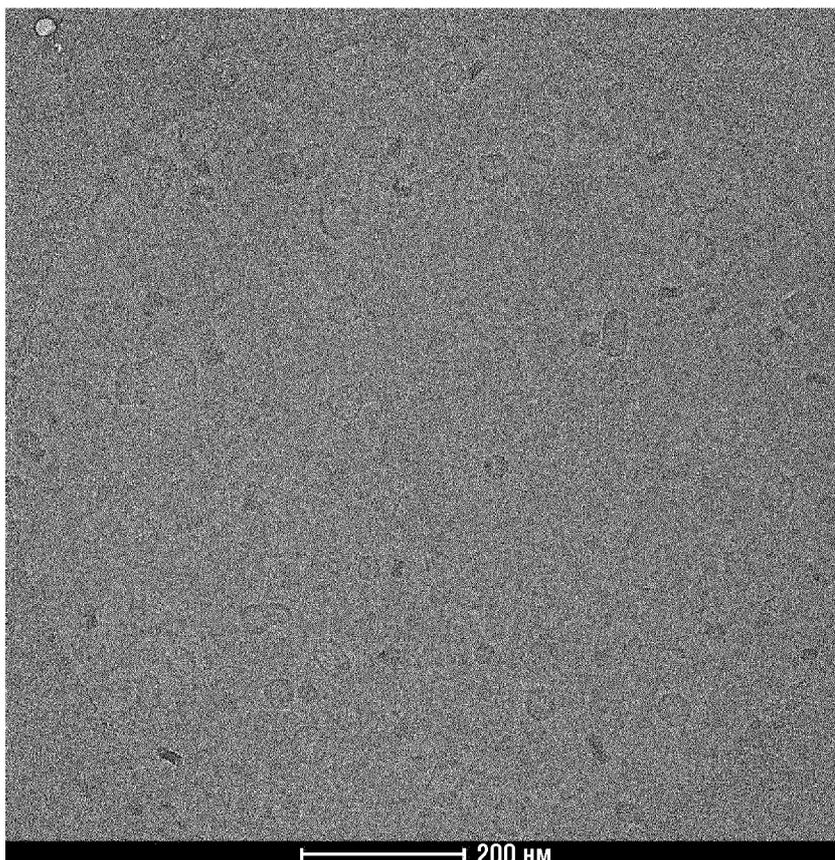
ФИГ.21



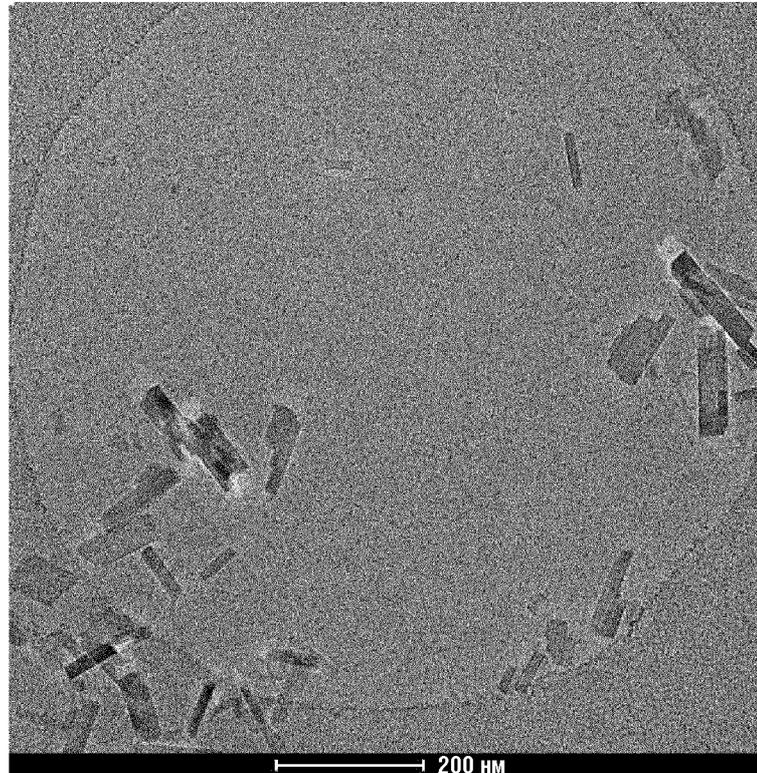
ФИГ.22



ФИГ.23

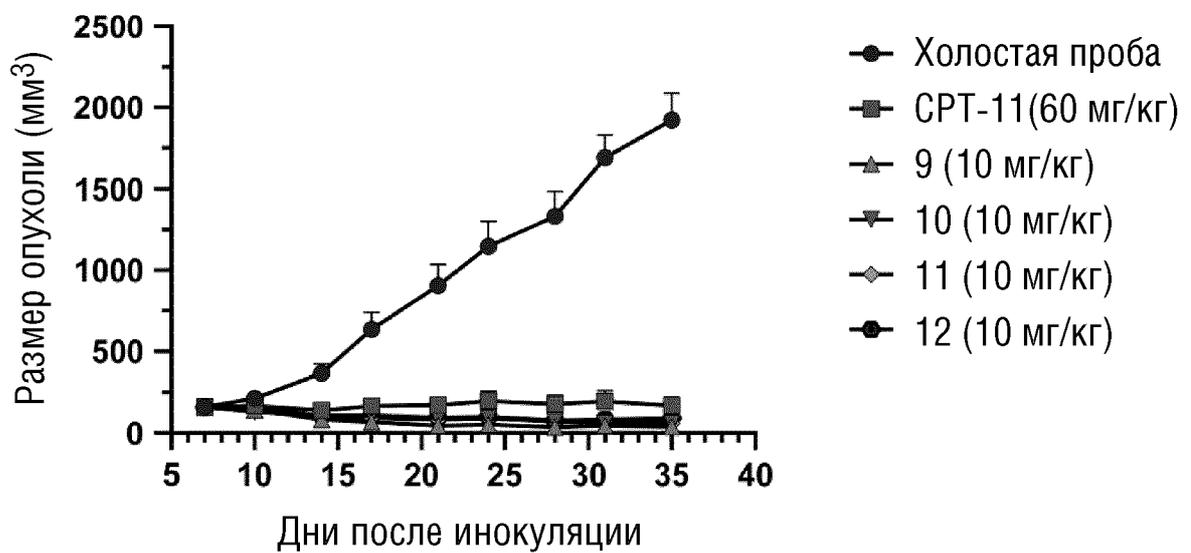


ФИГ.24



ФИГ.25

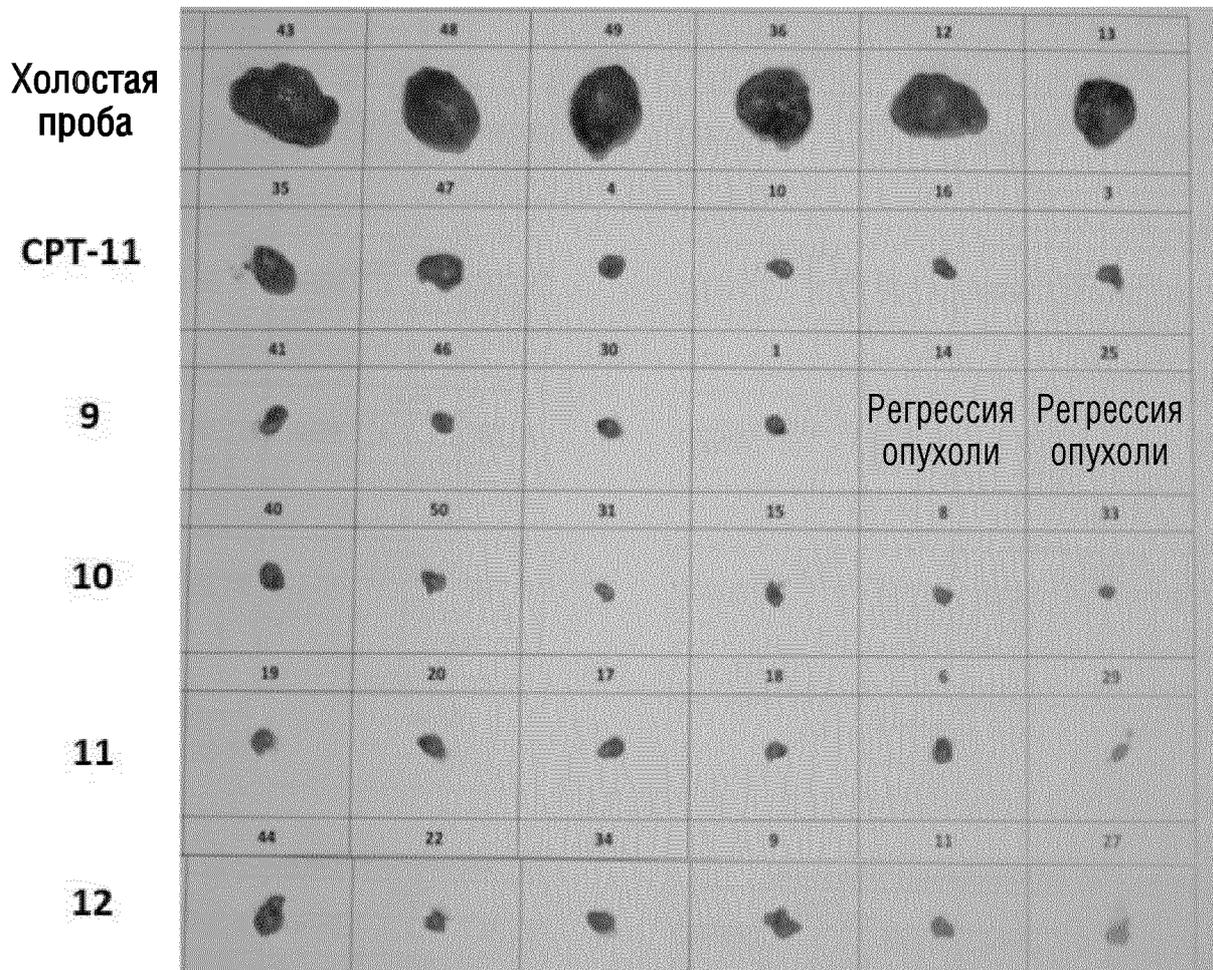
Противоопухолевая активность в модели SW620



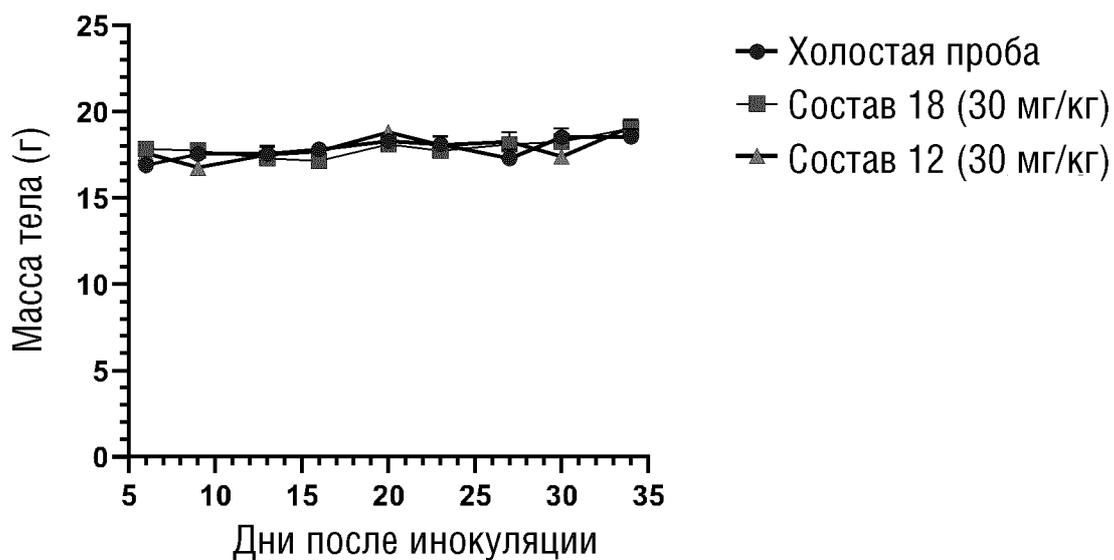
ФИГ.26



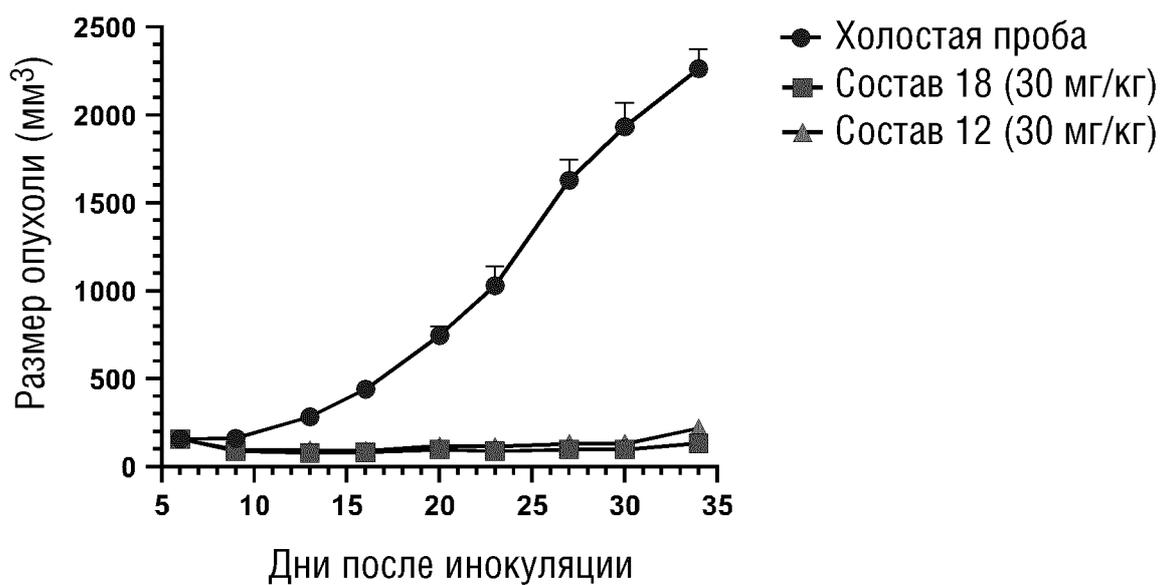
ФИГ.27



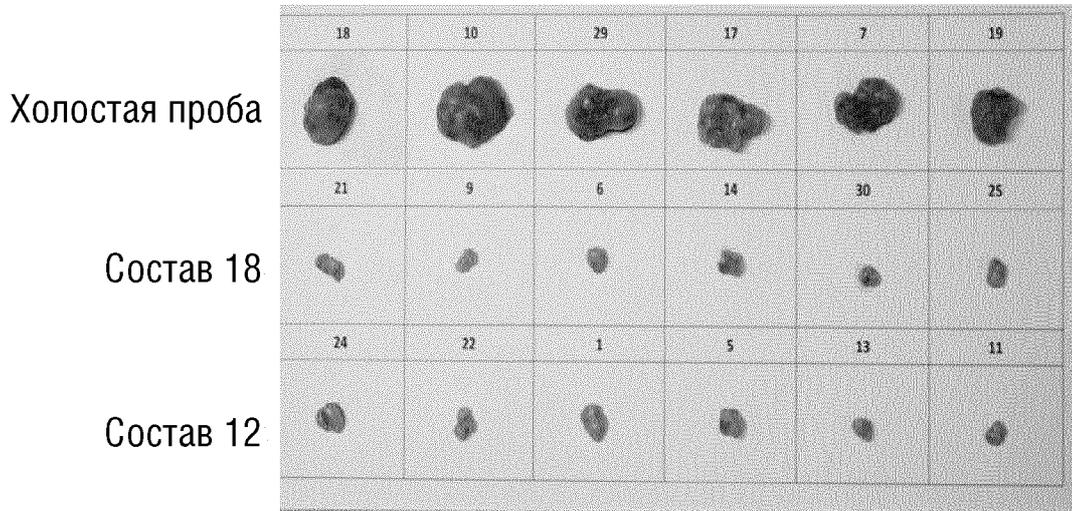
ФИГ.28



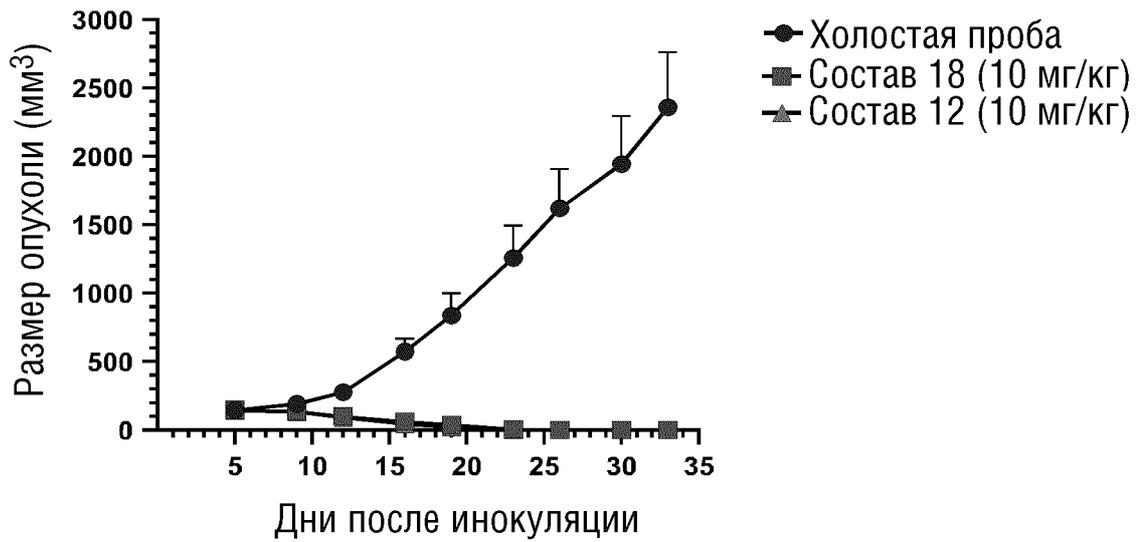
ФИГ.29



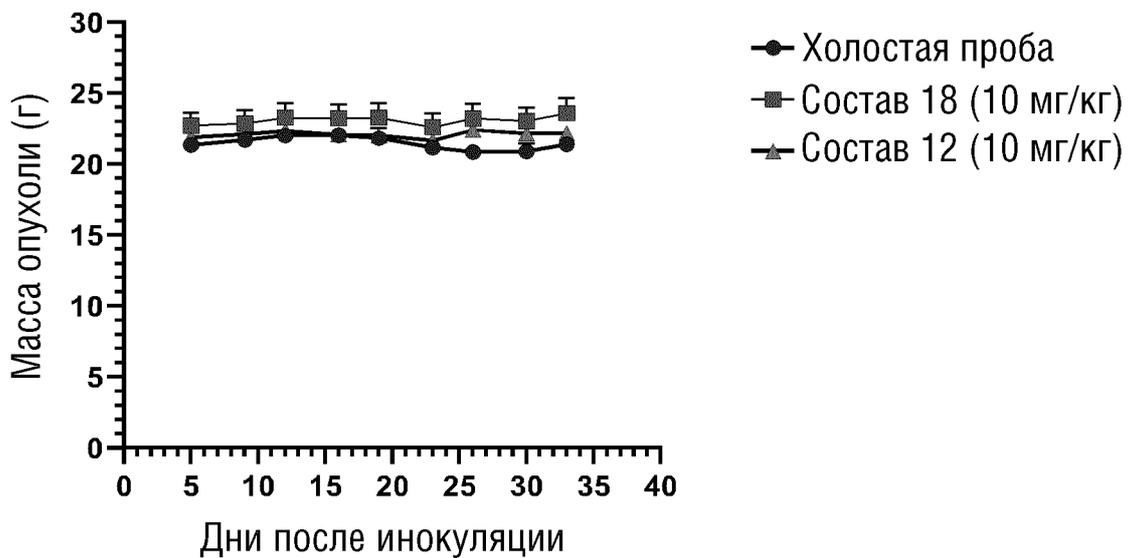
ФИГ.30



ФИГ.31



ФИГ.32

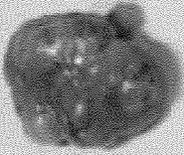
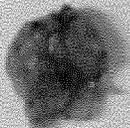


ФИГ.33

Холостая проба

Состав 18

Состав 12

13	9	7	10	8	1
					
12	17	18	19	25	26
Регрессия опухоли	Регрессия опухоли	Регрессия опухоли	Регрессия опухоли	Регрессия опухоли	Регрессия опухоли
2	15	16	20	21	30
Регрессия опухоли	Регрессия опухоли	Регрессия опухоли	Регрессия опухоли	Регрессия опухоли	Регрессия опухоли