



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(51) МПК

A61K 9/50 (2006.01)**A61K 41/00** (2006.01)**A61K 31/00** (2006.01)**A61K 33/26** (2006.01)**A61K 47/48** (2006.01)**A61K 47/02** (2006.01)**A61P 35/00** (2006.01)**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**(21)(22) Заявка: **2008110324/15**, **21.08.2006**(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
21.08.2006

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

19.08.2005 DE 102005039579.1**26.08.2005 US 60/711,407**(43) Дата публикации заявки: **27.09.2009** Бюл. № 27(45) Опубликовано: **27.04.2013** Бюл. № 12(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: **US 6541039 B1**, **01.04.2003**. **WO 02/43708 A2**,
06.06.2002. **US 2005/0058603 A1**, **17.03.2005**. **US**
2005/0090732 A1, **28.04.2005**.(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: **19.03.2008**(86) Заявка РСТ:
DE 2006/001453 (21.08.2006)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2007/019845 (22.02.2007)

Адрес для переписки:

127055, Москва, а/я 11, пат.пов.
Н.К.Попеленскому, рег. № 31

(72) Автор(ы):

ВАЛЬДЕФНЕР Норберт (DE),**ЙОРДАН Андреас (DE),****ШОЛЬЦ Регина (DE)**

(73) Патентообладатель(и):

МэджФос Нанотекнолэдджиз АГ (DE)**(54) СПОСОБ ПРОФИЛАКТИКИ И/ИЛИ ЛЕЧЕНИЯ РАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

(57) Реферат:

Изобретение относится к применению наночастиц при профилактике и/или лечении раковых заболеваний, в котором наночастицы вводят с противораковым терапевтическим средством, при этом наночастицы и противораковое средство одновременно представлены в теле пациента. Наночастицы свободны от связи с противораковым

лекарственным средством и имеют покрытие, которое содержит поликонденсированные аминоксиланы. Одновременное присутствие в организме пациентов наночастиц и противоракового терапевтического средства позволяет повысить активность указанного противоракового средства при одновременном снижении побочных эффектов. 11 з.п. ф-лы, 1 табл., 13 ил., 196 пр.



(51) Int. Cl.

A61K 9/50 (2006.01)**A61K 41/00** (2006.01)**A61K 31/00** (2006.01)**A61K 33/26** (2006.01)**A61K 47/48** (2006.01)**A61K 47/02** (2006.01)**A61P 35/00** (2006.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2008110324/15, 21.08.2006**(24) Effective date for property rights:
21.08.2006

Priority:

(30) Convention priority:
19.08.2005 DE 102005039579.1
26.08.2005 US 60/711,407(43) Application published: **27.09.2009 Bull. 27**(45) Date of publication: **27.04.2013 Bull. 12**(85) Commencement of national phase: **19.03.2008**(86) PCT application:
DE 2006/001453 (21.08.2006)(87) PCT publication:
WO 2007/019845 (22.02.2007)

Mail address:

127055, Moskva, a/ja 11, pat.pov.
N.K.Popelenskomu, reg. № 31

(72) Inventor(s):

VAL'DEFNER Norbert (DE),
JORDAN Andreas (DE),
ShOL'Ts Regina (DE)

(73) Proprietor(s):

MehdzhFos Nanoteknoledzhiz AG (DE)**(54) METHOD OF PREVENTION AND/OR TREATMENT OF CANCEROUS DISEASES**

(57) Abstract:

FIELD: nanotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to the use of nanoparticles for prevention and/or treatment of cancerous diseases, when the nanoparticles are injected with anti-cancer therapeutic agent, and the nanoparticles and anti-cancer agent are simultaneously present in the patient's body. The nanoparticles are free from binding with the anti-

cancer medicinal product and have a coating which contains polycondensated aminosilanes.

EFFECT: simultaneous presence of nanoparticles and the anti-cancer therapeutic agent in the body of patients enables to increase the activity of the said anti-cancer agent with simultaneous reduction of the side effects.

12 cl, 1 tbl, 13 dwg, 196 ex

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к композициям, содержащим наночастицы, и к использованию таких композиций для переноса терапевтически активных веществ в клетки, в частности, в раковые клетки. Химическая конструкция частиц такова, что
5 большое их количество поглощается клетками. Для переноса в клетки не требуется, чтобы между наночастицей и терапевтически активным веществом существовала прямая связь. Фармацевтические композиции, состоящие из наночастиц и противоракового лекарства, способствуют повышению эффективности
10 противоракового лекарства, а также приводят к снижению побочных эффектов.

Уровень техники

Известно, что наночастицы могут поглощаться клетками (в частности, опухолевыми клетками) посредством эндоцитоза. Способ приготовления наночастиц, поглощаемых клетками, упоминается в DE 19726282.1. Можно провести анализ
15 поглощения наночастиц с помощью *in vitro* опытов на очень чистом клеточном материале. В DE 19912798 C1 описываются методы, с помощью которых можно культивировать какую-либо клетку из тканевого материала. Благодаря этим методам химическая конструкция частиц может быть такой, что большое их количество
20 поглощается в определенных опухолевых клетках. Известны также методы увеличения эффективности терапевтических веществ путем присоединения их к наночастицам, как к системам переноса, эти методы являются объектом исследования. Например, в DE 10059151 A вещества присоединяются посредством ионных
25 взаимодействий, где конъюгат собирается в опухолевой ткани. Однако терапевтическое вещество высвобождается не в пределах клеток, а в интерстициальной ткани. Также известен способ переноса наночастиц в опухолевые клетки с помощью антител или пептидов (например, ТАТ пептидов). Однако такой вид переноса приводит только к сравнительно низкому накоплению наночастиц в
30 опухолевых клетках, и, следовательно, он не может использоваться в терапевтических целях.

Раскрытие изобретения

Настоящее изобретение ставит целью предоставление композиций и их использование для лечения и профилактики раковых заболеваний, что обеспечивается
35 посредством фармацевтической композиции согласно пункту 1 формулы изобретения, а также ее применением.

Преимущественные варианты осуществления изобретения охвачены зависимыми пунктами формулы изобретения, представлены примерами, чертежами, а также
40 раскрыты в описании.

Настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, состоящим из наночастиц, обладающих высоким сродством к выродженным клеткам, по меньшей мере, из одного терапевтически активного вещества, в частности противоракового
45 лекарства, и, по меньшей мере, одного фармакологически приемлемого носителя, наполнителя и/или растворителя.

Вещества, традиционно используемые в галеновых (фармацевтических) препаратах, могут также использоваться в качестве фармацевтически приемлемых носителей, наполнителей и/или растворителей, при этом предпочитают использовать жидкую
50 фармацевтическую композицию.

В качестве растворителей можно использовать воду или физиологический солевой раствор. При необходимости можно использовать соразтворители, например этанол в количестве до 10 объемных %.

Более конкретно, упомянутые фармацевтические композиции являются инфузионными или инъекционными растворами. Такие растворы наночастиц, например, в физиологическом растворе пригодны для интерстициального или соответственно внутриопухолевого введения. Более того, внутриа­териальное или внутривенное введение позволяет проводить системную терапию по отношению ко всему телу, в случае нетвердых опухолей и/или в случае тех видов опухолей, которые дают метастазы.

В этом аспекте наночастицы и, по меньшей мере, одно терапевтическое вещество, в частности, по меньшей мере, одно противораковое лекарство, не обязательно содержатся только в одном растворе, предпочтительно в инъекционном или инфузионном растворе. Фармацевтическая композиция согласно изобретению может также состоять из двух растворов, где один раствор содержит наночастицы, а другой раствор содержит, по меньшей мере, одно терапевтически активное вещество, в частности, по меньшей мере, одно противораковое лекарство, при этом оба раствора можно вводить одновременно.

Краткое описание чертежей

Фиг.1 показывает RUSIRS клетки через 3 часа после добавления митомицина в 0.9% растворе NaCl.

Фиг.2 показывает RUSIRS клетки через 3 часа после добавления митомицина в 0.9% растворе NaCl + наночастица.

Фиг.3 показывает RUSIRS клетки через 24 часа после добавления митомицина в 0.9% растворе NaCl.

Фиг.4 показывает RUSIRS клетки через 24 часа после добавления митомицина в 0.9% растворе NaCl + наночастица.

Фиг.5 показывает RUSIRS клетки через 48 часов после добавления митомицина в 0.9% растворе NaCl.

Фиг.6 показывает RUSIRS клетки через 48 часов после добавления митомицина в 0.9% растворе NaCl + наночастица.

Фиг.7 показывает RUSIRS клетки через 48 часов (контрольный образец).

Фиг.8 показывает BT20 клетки через 72 часа как контрольный образец с цефамандолом, но без наночастиц.

Фиг.9 показывает BT20 клетки через 72 часа выдерживания с наночастицами и цефамандолом.

Фиг.10 показывает BT20 клетки через 72 часа выдерживания с наночастицами и цефамандолом.

Фиг.11 показывает WiDr клетки через 72 часа как контрольный образец с цефамандолом, но без наночастиц.

Фиг.12 показывает WiDr клетки через 72 часа выдерживания с наночастицами и цефамандолом.

Фиг.13 показывает WiDr клетки через 72 часа выдерживания с наночастицами и цефамандолом.

Осуществление изобретения

Неожиданно было обнаружено, что наночастицы согласно настоящему изобретению способны переносить терапевтические вещества, в частности противораковые лекарства, в вырожденные клетки, это фактор, который является существенным для изобретения. Термин "вырожденные клетки" относится к онкогенным клеткам, опухолевым клеткам и раковым клеткам, т.е. к клеткам, которые полностью вырождены или находятся на пути к полному вырождению.

Таким образом, термин "вырожденные клетки" относится к клеткам с неконтролируемой пролиферацией. Поэтому терапевтические вещества, в частности противораковые лекарства, в том случае, когда присутствуют наночастицы согласно настоящему изобретению, поглощаются выродженными клетками намного лучше по сравнению с тем случаем, когда наночастицы отсутствуют. Благодаря улучшенной абсорбции терапевтических веществ в выродженныe клетки активность упомянутых веществ, в частности противораковых лекарств, значительно повышается, а побочные эффекты снижаются.

Увеличение активности означает, что одно и то же количество терапевтически активного вещества, в частности противоракового лекарства, в том случае, когда присутствуют наночастицы, действует более эффективно по сравнению с тем случаем, когда наночастицы отсутствуют. Под снижением побочных эффектов терапевтических веществ, в частности противораковых лекарств, подразумевается, что в том случае, когда присутствуют наночастицы, вред по отношению к здоровым клеткам снижается по сравнению с тем случаем, когда наночастицы отсутствуют, в то время как эффективность или количество противоракового лекарства остается на том же уровне.

Таким образом, увеличение эффективности основывается на предварительном условии, что терапевтическое вещество может поглощаться клеткой одновременно с переносом большого объема наночастиц в клетки. Очевидно, инвагинация клеточной мембраны, как следствие образования частиц, приводит, по меньшей мере, к частичному исключению контроля за прохождением через трансмембрану и тем самым к образованию полностью нового канала внедрения для терапевтически активных веществ. В данном аспекте благоприятно, когда можно достигнуть локального увеличения концентрации наночастиц и терапевтического вещества, в частности противоракового лекарства, в интерстициальной ткани. Например, это можно осуществить посредством интерстициального введения смеси или посредством подходящих стратегий накопления, таких как контролируемое выделение, распознавание рецепторов или других биомолекул, которые распознаются лигандами на поверхности частицы (определение цели). Возможно также систематическое применение терапевтических веществ после интерстициального введения наночастиц. Внутриклеточное поглощение наночастиц происходит в течение нескольких часов или дней; следовательно, вещество можно также вводить несколько раз во время протекания фазы эндцитоза. Систематическое введение вещества, в частности, требуется в том случае, если вещество нужно метаболизировать.

Наночастицы должны иметь положительный поверхностный заряд по причине того, что такие наночастицы особенно хорошо поглощаются выродженными клетками, в частности раковыми клетками.

Поверхностный заряд на наночастицах, который является положительным при физиологических условиях, может быть достигнут предоставлением наночастиц вместе с покрытием, которое может положительно поляризоваться и/или положительно ионизироваться.

Такое покрытие, которое может положительно поляризоваться и/или положительно ионизироваться, можно получить покрытием наночастиц веществами, которые могут положительно поляризоваться и/или положительно ионизироваться. Такие вещества могут, например, содержать аминокислоты или протонируемые атомы азота, которые могут находиться в протонированной форме при соответствующем pH.

Под поверхностным положительным зарядом подразумевается положительно заряженная поверхность или поверхность каждой наночастицы, которая может быть

положительно заряженной или положительно поляризованной, где при физиологических условиях поверхность наночастиц должна являться положительно поляризованной или положительно заряженной.

В предпочтительном варианте осуществления поверхность или покрытие, которое положительно заряжено, может положительно заряжаться или может положительно поляризоваться, покрывают защитным слоем, компенсирующим или даже перекомпенсирующим положительные заряды, так что получают внешнюю поверхность с суммарным нейтральным или даже отрицательным зарядом. В случае если покрытие, которое положительно заряжено или может положительно поляризоваться, достаточно стабильно для того, чтобы можно было избежать разложения под действием ткани тела или опухолевой ткани, то упомянутый внешний слой, компенсирующий положительные заряды, не требуется. В предпочтительном варианте осуществления наночастицы предоставляют вместе с покрытием, состоящим из поликонденсированных аminosиланов, и возможно вместе с дополнительным покрытием, содержащим карбоксилатные группы, компенсирующие положительные заряды.

Так как необходимо, чтобы биodeградация протекала медленно, покрытие, которое является положительно заряженным или может положительно поляризоваться или положительно заряжаться, предпочтительно состоит из биологически стабильных или соответственно биологически устойчивых веществ, например из полимеров.

В качестве биологически стабильных полимеров могут использоваться следующие полимеры: полиакриламид, полиакрилонитрилы, полиамиды, полиэфирамиды, полиэтиленамин, полиимиды, поликарбонаты, поликарбоуретаны, поливинилкетоны, поливинилгалогениды, поливинилиденгалогениды, поливиниловые эфиры, полиизобутилены, ароматические поливинилы, поливиниловые эфиры, поливинил пирролидоны, полиоксиметилены, политетраметилен оксид, полиэтилен, полипропилен, политетрафторэтилен, полиуретаны, полиэфирные уретаны, силиконовые полиэфирные уретаны, силиконовые полиуретаны, силиконовые поликарбонатные уретаны, полиолефиновые эластомеры, EPDM резины, фторсиликоны, карбоксиметилхитозаны, полиарилэфирные эфиркетоны, полиэфирные эфиркетоны, полиэтилентерефталат, поливалераты, карбоксиметилцеллюлоза, целлюлоза, вискоза, триацетат вискозы, нитраты целлюлозы, ацетаты целлюлозы, гидроксипропил целлюлоза, бутираты целлюлозы, ацетат-бутираты целлюлозы, этилвиниловые ацетатные сополимеры, полисульфоны, эпоксидные смолы, ABS смолы, силиконы, например полисилоксаны, полидиметилсилоксаны, поливинилгалогениды и сополимеры, эфиры целлюлозы, триацетаты целлюлозы, хитозаны и сополимеры и/или смеси указанных соединений.

Биологически стабильные полимеры должны предоставляться вместе с достаточным количеством групп, которые являются положительно заряженными или могут поляризоваться или положительно заряжаться, таких как аминогруппы или атомы азота. Обычно, положительно заряженное покрытие предоставляется в среднем вместе с, как минимум, 50 катионными группами на наночастицу, предпочтительно, как минимум, со 100 и особенно предпочтительно, как минимум, с 500 катионными группами на наночастицу, при этом группы могут быть положительно поляризованными и/или положительно заряженными, примером которых являются аминогруппы.

В предпочтительных вариантах осуществления упомянутое покрытие состоит из мономерных аminosиланов, таких как

3-аминопропилтриэтоксисилан,
2-аминометил-3-аминопропилтриметоксисилан,
триметоксисилил-пропил-диэтилентриамин или

N-(6-аминогексил)-3-аминопропилтриметоксисилан, которые с целью достижения
5 необходимой стабильности поликонденсируются по известным методикам.

Подходящие методы описываются, например, в DE 19614136 A или DE 19515820 A.

Для того чтобы компенсировать заряд и увеличить клеточную дискриминацию,
положительно заряженный слой или покрытие можно покрыть предпочтительно
10 дополнительным слоем биологически разлагаемых полимеров или соответственно
слоем биodeградируемых веществ.

Предпочтительно используют следующие биodeградируемые полимеры:
поливалеролактоны, поли-ε-декалактон, полилактоновая кислота, полигликолевая
15 кислота, полилактиды, полигликолиды, сополимеры полилактидов и полигликолидов,
поли-ε-капролактон, полигидроксимасляная кислота, полигидроксibuтират,
полигидроксивалерат, полигидроксibuтират-совалераты, поли(1,4-диоксан-2,3-дион),
поли(1,3-диоксан-2-дион), поли-пара-диоксанон, полиангидриды, например
ангидриды полималеиновой кислоты, полигидроксиметакрилаты, фибрин,
20 полицианоакрилаты, поликапролактон диметилакрилат, поли-β-малеиновая кислота,
поликапролактон бутилакрилат, мультиблочные полимеры, например, из
олигокапролактондиолов и олигодиксанондиолов, полиэфир сложноэфирные
мультиблочные полимеры, такие как ПЭГ и поли(бутилентерефталат),
полипивотолактоны, триметилкарбонаты полигликолевой кислоты, поликапролактон
25 гликолиды, поли(γ-этилглутамат), поли(DTH-иминокарбонат), поли(DTE-со-DT-
карбонат), поли(бисфенол А-иминокарбонат), полиортоэфиры, политриметил
карбонат, полииминокарбонаты, поли(N-винил)-пирролидон, поливиниловые спирты,
полиэфирные амиды, гликолизированные полиэфиры, полифосфоэфиры,
30 полифосфазены, поли[(п-карбоксифеноксипропан], полигидроксипентановая
кислота, полиангидриды, полиэтиленоксидпропиленоксид, мягкие полиуретаны,
полиуретаны с аминокислотными остатками в основной цепи, полиэфирные сложные
эфиры, такие как полиэтиленоксид, полиалкиленоксалаты, полиортоэфиры, а также их
сополимеры, липиды, карагенины, фибриноген, крахмал, коллаген, полимеры на
35 основе белков, полиаминокислоты, синтетические аминокислоты, зеин,
модифицированный зеин, полигидроксикарбоксилаты, пектиновая кислота, актиновая
кислота, модифицированный и немодифицированный фибрин и казеин,
карбоксиметилсульфат, альбумин, гиалуроновая кислота, хитозан и его производные,
40 гепарансульфаты и их производные, гепарины, хондроитин-сульфат, декстран, β-
циклодекстрины, альгинаты, гликозаминогликаны, сахараиды, полисахариды,
протеогликаны, гликопротеины, сополимеры с ПЭГ и полипропиленгликолем,
гуммиарабик, гуаровая смола, желатин, коллаген N-гидроксисукцинимид,
фосфолипиды, модификации и сополимеры и/или смеси вышеупомянутых веществ.

Особенно предпочитают полимеры или сополимеры на основе α-
гидроксикарбоновых кислот, такие как полилактоновая кислота, полилактиды,
полигликолевая кислота, полигликолиды и их сополимеры. Кроме того,
предпочтительными являются полиолы (например полиэтиленгликоль), поликислоты,
50 например, полиакриловые кислоты, углеводы и сахар, в частности декстраны.

В других предпочтительных вариантах осуществления изобретенные наночастицы
вдобавок предоставляют вместе с третьим слоем или, соответственно, их покрывают
третьим слоем. Покрытия могут выполнять роль защитной оболочки, барьера или

могут наноситься с целью клеточной дискриминации.

Клеточно-специфичное покрытие увеличивает сродство наночастиц к определенным клеткам, например к определенным бактериальным клеткам или к определенным опухолевым клеткам; вследствие этого оно служит целям клеточной дискриминации. Предпочтительно такие клеточно-специфичные наночастицы накапливаются в клетках, к которым у них имеется повышенное сродство благодаря функционализированной поверхности; вследствие этого такие наночастицы становятся опухоле-специфичными. Благодаря упомянутой технологии можно разработать специфичные к опухолям наночастицы, например, для определенных типов раковых заболеваний.

Для дальнейшего увеличения сродства к определенным типам клеток поликлональные антитела, моноклональные антитела, гуманизированные антитела, антитела человека, химерные антитела, рекомбинантные антитела, биспецифичные антитела, фрагменты антител, аптамеры, Fab фрагменты, Fc фрагменты, пептиды, пептидомиметики, гзп-меры, рибозимы, CpG олигомеры, ДНК-зимы, рибопереклюватели и/или липиды можно присоединить, и/или прикрепить, и/или интегрировать во внешний слой или оболочку наночастиц. Соединения конструируют таким образом, что они способны распознавать определенные клетки, например опухолевые клетки, и еще более увеличивать клеточную дискриминацию наночастиц.

Сами же наночастицы состоят из магнитного материала, предпочтительно ферромагнитного, антиферромагнитного, ферромагнитного, антиферромагнитного или суперпарамагнитного материала, более предпочтительно из оксидов железа, в частности из суперпарамагнитных оксидов железа или из чистого железа с оксидным слоем. Такие наночастицы можно нагревать до температуры выше 50°C. Такие высокие температуры могут достигаться благодаря тому, что до 1000 пг железа и большее его количество в форме наночастиц может поглощаться одной опухолевой клеткой.

Предпочтительно наночастицы состоят из оксидов железа, в частности из магнетита (Fe_3O_4), маггемита ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) или смесей двух указанных оксидов, и они предпочтительно являются супермагнитными. В целом, предпочтительные наночастицы могут быть представлены формулой FeO_x , где X означает число от 1 до 2. Однако также имеется возможность для внедрения наночастиц в немагнитный материал, например в оксид кремния (SiO_2) (см. ниже). Наночастицы предпочтительно имеют диаметр менее 500 нм. Наночастицы предпочтительно имеют средний диаметр 15 нм, или предпочтительно их размеры находятся в диапазоне от 1 до 100 нм, особенно предпочтительно в диапазоне от 10 до 20 нм.

В дополнение к магнитным материалам с формулой FeO_x , где X принимает значения в диапазоне от 1.0 до 2.0, в соответствии с настоящим изобретением можно также использовать материалы с общей формулой $\text{M(II)Fe}_2\text{O}_4$ с $\text{M} = \text{Co}, \text{Mn}, \text{Zn}, \text{Cu}, \text{Cd}, \text{Ba}$ или другие ферриты. Атомы металлов, которые отличаются от атомов железа, предпочтительно содержатся в количестве не более 70% от атомов металла, в частности не более 35% от атомов металла. Наночастицы предпочтительно составляют более 98% от массы оксида железа, содержащего как Fe(III), так и Fe(II) предпочтительно в соотношении от 1:1 до 1:3. Более того, могут применяться также частицы диоксида кремния или полимерные частицы, в которые включены и/или к которым прикреплены магнитные материалы, такие как упомянутые в тексте магнитные материалы.

Ядра используемых наночастиц могут также состоять из немагнитных материалов.

Например, можно использовать наночастицы из полимеров (например, из PLGA, полиакриламида, полибутилцианоакрилата), металлов, а также из всех оксидных материалов (например, MgO, CaO, TiO₂, ZrO₂, SiO₂, Al₂O₃). Вследствие того что
 5 емкость для проведения эндоцитоза не зависит от ядра частиц, но зависит от оболочки, то любой материал, который можно покрыть опухоле-специфичными оболочками по вышеописанным методам, пригоден в соответствии с настоящим изобретением.

Предпочтительно наночастицы или наноразмерные частицы имеют средний
 10 диаметр не более 100 нм, предпочтительно не более 50 нм и особенно предпочтительно не более 30 нм. Предпочтительно средний диаметр частицы составляет 1-40 нм, более предпочтительно 3-30 нм и особенно предпочтительно 5-25 нм.

Удивительно, что такие частицы очень хорошо подходят для переноса
 15 терапевтических веществ в определенные типы клеток, тем самым вызывая существенное увеличение эффективности терапевтических веществ. Упомянутыми терапевтическими веществами предпочтительно являются противораковые лекарства, цитостатики, цитотоксические агенты, антипролиферативные агенты,
 20 противовоспалительные агенты, анти-миграционные агенты, антиангиогенные агенты, противовоспалительные средства, бактерицидные средства и/или ингибиторы микротрубочек.

Алкилирующие средства, антибиотики с цитостатическими свойствами,
 25 антиметаболиты, ингибиторы микротрубочек и ингибиторы топоизомеразы, соединения и другие цитостатики, содержащие платину, такие как аспарагиназа, третиноин, алкалоиды, подофиллотоксины, таксаны и милтефозин[®], гормоны, иммуномодуляторы, моноклональные антитела, сигнальные трансдукторы (молекулы для сигнальной трансдукции) и цитокины, могут использоваться в качестве
 30 цитотоксических и/или цитостатических соединений, т.е. как химические соединения, имеющие цитотоксические и/или цитостатические свойства.

Примеры алкилирующих средств включают, помимо прочих, хлорэтамин, циклофосфамид, трофосфамид, ифосфамид, мелфалан, хлорамбуцил, бусульфам,
 35 тиотепа, кармустин, ломустин, дакарбазин, прокарбазин, темозолумид, тресульфам, эстрамустин и нимустин.

Примеры антибиотиков с цитостатическими свойствами включают даунорубин и липосомальный даунорубин, доксорубин (адриамицин), дактиномицин, митомицин С, блеомицин, эпирубин (4-эпиадриамицин), идарубин, дактиномицин,
 40 митоксантрон, амсакрин и актиномицин D.

Метотрексат, 5-фторурацил, 6-тиогуанин, 6-меркаптопурин, флударубин, кладрибин, пентостатин, гемцитабин, цитарабин, азатиоприн, ралтитрексед, капецитабин, цитозин арабинозид, тиогуанин и меркаптопурин можно привести в
 45 качестве примеров антиметаболитов (антиметаболических агентов).

Винкристин, винбластин, виндезин, этопозид, а также тенипозид принадлежат, в числе прочих, к классу алкалоидов и подофиллотоксинов. Кроме того, соединения, содержащие платину, могут использоваться в соответствии с настоящим изобретением. Цисплатин, карбоплатин и оксалиплатин являются примерами
 50 платиносодержащих соединений. К ингибиторам микротрубочек относятся, например, такие алкалоиды, как алкалоиды барвинка (винкристин, винбластин, виндезин, винорелбин) и паклитаксел (Taxol[®]), а также производные паклитаксела. Примеры ингибиторов топоизомеразы включают этопозид, тенипозид, камптотецин, топотекан

и иринотекан.

Паклитаксел и доцетаксел являются примерами соединений класса таксанов, а в числе других цитостатических соединений (других цитостатиков) находятся, например, гидроксикарбамид (гидроксимочевина), иматиниб, Miltefosin[®], амсакрин, топотекан (ингибитор топоизомеразы-I), пентостатин, бексаротен, третиноин и аспарагиназа. Представителями соединений класса моноклональных антител являются, в числе прочих, трастузумаб (также известный как Herceptin[®]), алемтузумаб (также известный как MabCampath[®]) и ритуксимаб (также известный как MabThera[®]).

В соответствии с настоящим изобретением могут также использоваться гормоны, такие как, например, глюкокортикоиды (преднизон), эстрогены (фосфестрол, эстрамустин), гормон высвобождения лютеинизирующего гормона LHRH (бусерелин, гoserелин, лейпрорелин, трипторелин), флутамид, ципротерона ацетат, тамоксифен, торемифен, аминоклутетимид, форместан, экземестан, летрозол и анастрозол. Среди классов иммуномодуляторов, цитокинов, антител и сигнальных трансдукторов присутствуют интерлейкин-2, интерферон- α , эритропоэтин, гранулоцит-колониестимулирующий фактор (G-CSF), трастузумаб (Herceptin[®]), ритуксимаб (MabThera[®]), гефитиниб (Iressa[®]), ибритумомаб (Zevalin[®]), левамизол, а также ретиноиды.

К дополнительным возможным терапевтическим веществам относятся: актиномицин D, аминоклутетимид, антрациклины, ингибиторы ароматазы, антиэстрогены, ингибиторы ароматазы, антиэстрогены, бусерелин, антагонисты фоллиевой кислоты, гозерелин, гормональные антагонисты, гикамтин, гидроксимочевина, ингибиторы митоза, тамоксифен, тестолактон, сиролимус (рапамицин), эверолимус, пимекролимус, соматостатин, такролимус, рокситромицин, даунамицин, аскомицин, бафиломицин, эритромицин, мидекамицин, джозамицин, конканамицин, кларитромицин, тролеандомицин, фолимицин, церивастатин, симвастатин, ловастатин, флувастатин, аторвастатин, правастатин, питавастатин, 4-гидроксиоксициклофосфамид, трофосфамид, бендамустин, тимозин α -1, акларубицин, флударабин-5'-дигидрофосфат, антагонисты пуриновых и пиримидиновых оснований, гидроксикарбамид, альдеслейкин, пегаспаргаза, летрозол, доксорубицин, азитромицин, спирамицин, цефалантин, эпотилон А и В, митоксантрон, азатиоприн, мофетила микофенолят, с-тус антисмысловый олигонуклеотид, b-тус антисмысловый олигонуклеотид, бетулиновая кислота, камптотецин, производные камптотецина, меланоцитстимулирующий гормон (α -MSH), ингибитор активированных протеинов C, IL, 1- β , фумаровая кислота и ее сложные эфиры, дермицидин, кальципотриол, такальцитол, лапахол, β -лапахон, подофиллотоксин, бетулин, 2-этилгидразид подофилловой кислоты, молграмостим (рекомбинантный человеческий гранулоцито-макрофаг колониестимулирующий фактор, γ hGM-CSF), пегинтерферон α -2b, ленограстим (γ -HuG-CSF), филграстим, макрогол, дакарбазин, цефаломаннин, трастузумаб, экземестан, базиликсимаб, даклизумаб, селектин (цитокиновый антагонист), ингибитор белка переноса холестерина (CETP), кадгерины, цитокининовые ингибиторы, COX-2 ингибитор, ангиопептин, ципрофлоксацин, флуобластин, антагонисты основного фактора роста фибробластов (bFGF), пробукол, простагландины, 1,11-диметоксикантин-6-он, 1-гидрокси-11-метоксикантин-6-он, скополетин, колхицин, NO доноры, тетранитрат пентаэритрита, сиднонимины, S-нитрозопроизводные, стауроспорин, β -эстрадиол, α -эстрадиол, эстриол, эстрон, этинилэстрадиол, фосфэстрол, медроксипрогестерон, ципианаты эстрадиола, бензоаты эстрадиола, траниласт, камебакауин, верапамил, ингибиторы

тирозинкиназы (тирфостины), циклоспорин А, паклитаксел и его производные, такие как 6- α -гидрокси-паклитаксел, баккатин, таксотер, мофебутазон, ацеметацин, дихлофенак, лоназолак, дапсон, о-карбамоил-феноксиуксусная кислота, лидокаин, кетопрофен, мефенаминовая кислота, пироксикам, мелоксикам, хлорохина фосфат, пеницилламин, гидроксихлорохин, ауранофин, ауротиомалат натрия, оксацепрол, целекоксиб, β -ситостерол, адеметионин, миртекаин, полидоканол, нонивамид, левоментол, бензокаин, аэсцин, эллиптицин, D-24851 (Calbiochem), колцемид, цитохалазин А-Е, инданоцин, нокодазол, бацитрацин, антагонисты витронетрин-рецептора, азеластин, свободные нуклеиновые кислоты, нуклеиновые кислоты, встроенные в вирусные переносчики, фрагменты ДНК и РНК, ингибитор-1 плазминогенного активатора, ингибитор-2 плазминогенного активатора, антисмысловые олигонуклеотиды, ингибиторы сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF), инсулиноподобный фактор роста (IGF) 1, активные агенты из группы антибиотиков, такие как цефадроксил, цефазолин, цефаклор, цефокситин, тобрамицин, гентамицин, пенициллины, диклоксациллин, оксациллин, сульфонамиды, метронидазол, антитромботики, аргатробан, аспирин, абсиксимаб, синтетический антитромбин, бивалирудин, кумадин, эноксапарин, GpIIb/IIIa рецептор оболочки тромбоцитов, антитела к ингибитору Ха фактора, гепарин, гирудин, г-гирудин, Phe-Pro-Arg хлорметил кетон (PPACK), протамин, проурокиназа, стрептокиназа, варфарин, урокиназа, сосудорасширяющие средства, дипирамидол, трапидил, нитропруссиды, антагонисты фактора роста, происходящего от тромбоцитов (PDGF), триазолопиримидин, серамин, ингибиторы фермента, конвертирующего ангиотензин (ACE), каптоприл, цилазаприл, лизиноприл, эналаприл, лозартан, ингибиторы тиропротеазы, простаглицлин, вапипрост, интерферон α , β и γ , антагонисты гистамина, блокаторы серотонина, ингибиторы апоптоза, регуляторы апоптоза, NF- κ B или Bcl-xL антисмысловые олигонуклеотиды, галофугинон, нифедипин, токоферол, молзидомин, чайные полифенолы, эпикатехин галлат, эпигаллокатехин галлат, босвеллиевые кислоты и их производные, лефлуномид, анакинра, этанерцепт, сульфазалазин, этопозид, тетрациклин, триамцинолон, мутамицин, прокаинимид, ретиноевая кислота, хинидин, дизопиримид, флекаинид, пропafenон, соталол, амиодарон, природные и синтетически полученные стероиды, такие как бриофиллин А, инотодиол, маквирозид А, галакинозид, мансонин, стрелбозид, гидрокортизон, бетаметазон, дексаметазон, фенпрофен, ибупрофен, индометацин, напроксен, фенилбутазон, ацикловир, ганцикловир, зидовудин, противогрибковые средства, клотримазол, флуцитозин, гризеофульвин, кетоконазол, миконазол, нистатин, тербинафин, хлорохин, мефлохин, хинин, природные терпеноиды, гиппокаэскулин, баррингтогенол-C21-ангелат, 14-дегидроагностистахин, агроскерин, агностистахин, 17-гидроксиагностистахин, оватодиолиды, 4,7-оксициклоанизомелевая кислота, бакхариноиды В1, В2, В3 и В7, тубеимозид, бруцеанол А, В и С, бруцеантинозид С, яданзиозиды N и P, изодеоксиэлефантопин, томенфантопин А и В, коронарин А, В, С и D, урзоловая кислота, гиптатевая кислота А, зеорин, изо-иридогерманал, майтенфолиол, эффузантин А, экзисанин А и В, лонгикаурин В, скульпонеатин С, камебаунин, лейкоменин А и В, 13,18-дегидро-6-альфа-сенециоилоксикапаррин, таксамаирин А и В, регенилол, триптолид, цимарин, апоцимарин, аристолохиевая кислота, аноптерин, гидроксианоптерин, анемонин, протоанемонин, берберин, хелибурина хлорид, цикутоксин, синококулин, комбрестатин А и В, кудраизофлавоны А, куркумин, дигидронитидин, хлорид нитидина, 12-бета-гидроксипрегнадиен-3,20-дион, биллобол, гинкгол, гинкголевая кислота, геленалин, индицин, индицин-N-оксид, лазиокарпин,

инотодиол, гликозид 1а, юстицидин А и В, ларреатин, маллотерин, маллотохроманол, изобутирилмаллотохроманол, маквирозид А, маркантин А, майтансин, ликоридицин, маргетин, панкреатистатин, лириоденин, биспартенолидин, оксоушинсунин, аристолактам-АП, периплокозид А, деоксиспороспермин, психорубин, рицин А, сангвинарин, кислота из пшеницы манву, метилсорбифолин, хромоны спателии, стизофилин, акагерин, дигидрозамбаренсин, гидроксизамбарин, стрихнопентамин, стрихнофиллин, узамбарин, узамбаренсин, дафноретин, ларицирезинол, метоксиларицирезинол, сирингарезинол, умбеллиферон, афромосон, ацетилвизмион В, десацетилвизмион А, визмион А и В.

Итак, для настоящего изобретения существенным является то, что, по меньшей мере, одно терапевтически активное вещество вводится в комбинации с поглощаемыми клетками наночастицами, которые в большей степени поглощаются опухолевыми клетками посредством эндоцитоза. Наночастицы, например, те, что описываются в DE 19726282 А, поглощаются опухолевыми клетками в большей степени, чем обычными клетками. Как можно показать на опытах с наночастицами оксида железа *in vitro*, в определенных опухолевых клеточных линиях железо в количестве более 1000 пг/клетку поглощается в форме наночастиц. С этой целью наночастицы переносятся в клетки в больших объемах, что может быть продемонстрировано электронно-микроскопическим анализом. В настоящее время в *in vitro* опытах было неожиданно обнаружено, что введение фармацевтических соединений упомянутых наночастиц и, по меньшей мере, одного терапевтически активного вещества, в частности цитостатического или противоракового лекарства, приводит к повышению эффективности вводимого вещества. Указанный эффект также наблюдался в том случае, когда между наночастицами и цитостатиком не имеется связи (ковалентной, ионной и адсорбционной). Связь между цитостатиком и наночастицей оказывает влияние только в том случае, когда из-за реакции связывания цитостатик теряет свою эффективность или когда связь настолько сильна, что препятствует высвобождению цитостатика при внутриклеточном поглощении.

Таким образом, фармацевтические композиции, состоящие из упомянутых наночастиц и, по меньшей мере, одного терапевтически активного вещества, прекрасно подходят для профилактики и лечения раковых заболеваний, язв, опухолей, карцином, а также для клеток с нарушенной пролиферацией.

Примерами видов рака и опухолей, при которых могут применяться наночастицы настоящего изобретения, включают следующие: аденокарциномы, хлороидальная меланома, острый лейкоз, акустическая невринома, ампулярная карцинома, анальная карцинома, астроцитомы, базально-клеточная карцинома, рак поджелудочной железы, соединительнотканевая опухоль, рак мочевого пузыря, бронхиальная карцинома, немелкоклеточная бронхиальная карцинома, рак молочной железы, лимфома Буркетта, карцинома туловища, CUP синдром, рак толстого кишечника, рак тонкого кишечника, опухоли тонкого кишечника, рак яичника, эндометриальная карцинома, эпендимомы, рак эпителия, опухоли Юинга, рак желудочно-кишечного тракта, рак желчного пузыря, желчная карцинома, рак матки, рак шейки матки, глиобластомы, гинекологический рак, опухоли уха, носа и горла, гематологические неоплазии, лейкоз ворсистых клеток, рак уретры, рак кожи, опухоли мозга (глиомы), мозговые метастазы, рак яичек, опухоль гипофиза, карциноиды, саркома Капоза, рак гортани, опухоль эмбриональных клеток, рак костей, рак прямой кишки, опухоли головы и шеи (опухоли, расположенные в области шеи, носа и ушей), карцинома толстой кишки, краниофарингиомы, рак в области рта и губ, рак печени, метастазы

печени, лейкоз, опухоль века, рак легких, лимфобластома (Ходжкина и не-Ходжкина), лимфомы, рак желудка, злокачественная меланома, злокачественная неоплазма, малигномы желудочно-кишечного тракта, карцинома груди, рак прямой кишки, медуллобластомы, меланома, менингиомы, болезнь Ходжкина, грибовидный микоз, рак носа, невринома, нейробластома, почечный рак, карцинома почечных клеток, не-Ходжкина лимфомы, олигодендроглиома, карцинома пищевода, остеолитические опухоли и остеобластические опухоли, остеосаркома, яичниковая карцинома, панкреатическая карцинома, карцинома полового члена, плазмоцитомы, карцинома чешуйчатых клеток головы и шеи, карциномы простаты, рак горла, ректальная карцинома, ретинобластома, вагинальный рак, карцинома щитовидной железы, рак легкого по Шнеебергу, рак пищевода, спинобластная карцинома, лимфома Т-клеток (грибовидный микоз), тимомы, карцинома маточных труб, опухоли глаза, уретральная карцинома, урологические опухоли, уротелиальная карцинома, карцинома вульвы, появление бородавок, опухоли мягких тканей, саркома мягких тканей, опухоль Вилма, цервикальная карцинома и рак языка.

Особенно предпочтительны твердые опухоли. Кроме того, карциномы простаты, опухоли мозга, саркомы, цервикальные карциномы, карциномы яичника, карциномы молочной железы, бронхиальные карциномы, меланомы, опухоли головы и шеи, карциномы пищевода, ректальные карциномы, карциномы поджелудочной железы, карциномы мочевого пузыря и карциномы почек, метастазы в печени, в мозге и в лимфоузлах являются особенно предпочтительными.

Кроме того, применение и использование изобретенных композиций в комбинации с традиционной гипертермией, магнитно-жидкостной гипертермией или соответственно термотерапией с магнитными жидкостями, радиотерапией и/или в комбинации с обычной химиотерапией являются особо предпочтительными. Таким образом, традиционные методы лечения рака благоприятно дополняются изобретенными композициями.

Соответственно, настоящее изобретение также направлено к комбинациям изобретенной фармацевтической композиции и гипертермии, термотерапии, радиотерапии и/или химиотерапии.

Примеры таких комбинаций включают использование изобретенной фармацевтической композиции в комбинации с магнитно-жидкостной гипертермией или соответственно термотерапией с магнитными жидкостями. С этой целью периодическое магнитное поле выполняет роль внешнего стимулятора для инициирования различных релаксационных процессов наночастиц при условии, что используются суперпарамагнитные наночастицы. Помимо прочего, указанные процессы приводят к нагреву наночастиц и их окружения. В соответствии с настоящим изобретением упомянутые процессы, иницируемые периодическим магнитным полем, используют для нагрева выроджденных клеток, посредством чего терапевтически активное вещество может вызывать смерть интересующей клетки намного быстрее.

Таким образом, фармацевтические композиции используются как для лечения, так и для профилактики заболеваний, характеризующихся дегенерацией клеток или чужеродными клетками, и при которых могут эффективно использоваться характеристики наночастиц настоящего изобретения, состоящие в том, что частицы способны отличать чужеродные или соответственно выроджденные клетки от здоровых аутологических клеток, и состоящие в том, что можно преимущественно использовать перенос терапевтически активных веществ в указанные клетки. Среди выроджденных клеток особо следует выделить раковые клетки или соответственно

клетки с нарушенной пролиферацией, а также стенозные и рестенозные ткани. Чужеродные клетки включают, в частности, бактериальные клетки.

Эффективность активных ингредиентов повышается при увеличении способности наночастиц переносить активные ингредиенты в вырожденные клетки. Если применение фармацевтической композиции, содержащей наночастицы и терапевтически активное вещество, дополнительно комбинируют с радиотерапией или химиотерапией, либо с гипертермией или гипертермией и химиотерапией, либо с гипертермией и радиотерапией, то эффективность лечения может еще более

улучшиться. В соответствии с настоящим изобретением эффективность активных ингредиентов таким образом увеличивается как следствие повышения локальной, локорегиональной или внутриклеточной концентрации активных ингредиентов, а систематическая токсичность и побочные эффекты терапевтически активных веществ снижаются.

Примеры

Пример 1. Увеличение эффективности цитостатического митомицина (in vitro)

Увеличение эффективности митомицина для лечения опухолевых клеток может быть доказано на опытах in vitro. Опыты in vitro проводят с клеточной линией глиобластомы человека RUSIRS 1 (опухоль мозга). Клетки глиобластомы отбирают из опухолевой ткани больного и культивируют так, как описывается в DE 19912798 C1. 2×10^6 RUSIRS 1 клеток, соответственно, готовят в 75 см³ колбе для клеточной культуры с 25 мл среды для культивирования клеток (D-MEM + 20% FBS + 1.2 мл пирувата) для проверки эффективности смеси митомицин/наночастица. Добавляют 136 мкл магнитной жидкости MFL AS M01 (наночастица оксида железа, покрытая поликонденсированным N-(2-аминометил)-3-(триметоксисилил)пропиламином, производитель: MagForce Nanotechnologies GmbH, Berlin, Germany) ($c_{Fe} = 2$ моль/л) и 390 мкл раствора митомицина (1 мг/мл в 0.9% NaCl) к упомянутой клеточной суспензии. Перед добавлением к клеткам образцы наночастиц нагревают до 37°C в течение 15 минут, а затем дают возможность охладиться до комнатной температуры в течение 10 минут. Контрольный образец с митомицином, но без наночастиц, готовят таким же способом.

Влияние наночастиц на эффективность митомицина можно проиллюстрировать с помощью фиг. 1-6. Клетки, к которым ничего не добавляли, кроме митомицина, показывают значительное поражение через 48 часов выдерживания. Напротив, клетки, которые выдерживали вместе с цитостатиком и частицами, уже показывают значительное поражение через 3 часа. Поглощение наночастиц оксида железа клетками можно доказать по коричневому окрашиванию клетки. Контрольные эксперименты показывают, что наночастицы в одиночку (без митомицина) также поглощаются, но не вызывают сходным образом высокого поражения клеток. Быстрое поражение клеток (через 3 часа) происходит только в том случае, если частица и митомицин присутствуют одновременно. Следовательно, митомицин также переносится посредством эндоцитоза частиц, тем самым вызывая значительное поражение клеток.

Пример 2. Увеличение эффективности антибиотического цефамандола (in vitro)

Цефамандол (CAS No 30034-03-8) используют для борьбы с бактериальными инфекциями. В 2000 году действенность против раковых клеток неожиданно была обнаружена на биоптате метастазов печени (MagForce Nanotechnologies). Однако этот потенциал вещества для борьбы с раковыми клетками считается довольно низким. Наши эксперименты показывают, что разрушения опухолевых клеток (in vitro),

обычно, можно достигнуть только с использованием концентрации 0.5 мг/мл (концентрации в среде для культивирования клеток) или большей концентрации. Однако можно радикально повысить эффективность цефамандола в лечении

5
Эксперименты *in vitro* проводят с клеточными линиями BT20 (карцинома молочной железы) и WiDr (карцинома толстой кишки). Опухолевые клетки отбирают из
опухолевой ткани больного и культивируют так, как описывается в DE 19912798 C1.
2×10⁶ клеток, соответственно, готовят в 75 см³ колбе для клеточной культуры с 25 мл
10 среды для культивирования клеток (RPMI + 10% FBS + 1.2 мл пирувата для WiDr клеток или, соответственно, BME + 10% FBS + пируват + 5 несущественных аминокислот + 5 мл глутамина для BT20 клеток) для проверки эффективности смеси
цефомандол/наночастица. Добавляют 136 мкл магнитной жидкости MFL AS M01
15 (наночастица оксида железа, покрытая поликонденсированным N-(2-аминометил)-3-(триметоксисилил)пропиламином, производитель: MagForce Nanotechnologies GmbH, Berlin, Germany) (с_{Fe}=2 моль/л) и 390 мкл раствора цефамандола (маточный раствор 1 мг/мл в 0.9% NaCl) к упомянутой клеточной суспензии. Поэтому концентрация
цефамандола в среде для культивирования клетки (25 мл) составляет 0.016 мг/мл и
20 таким образом значительно ниже пороговой величины эффективности чистого цефомандола. После 72 часов выдерживания можно наблюдать значительное разрушение клеток, о чем свидетельствуют фиг.7-12. Через 72 часа умирает 30.5% BT20 клеток и 24% WiDr клеток. Ни цефамандол в выбранной концентрации, ни
наночастица в одиночку ни способны вызывать смерть клеток (0% умерших клеток).
25 Только комбинация цефамандола и наночастиц приводит к указанному значительному разрушению опухолевых клеток, которое происходит благодаря переносу цефамандола в клетки.

Пример 3. Приготовление фармацевтической композиции, состоящей из наночастиц,
30 фармакологического активного ингредиента и растворителя.

Около 1 мг цитостатика (или от 1 до 10 ммоль, предпочтительно от 2 до 6 ммоль цитостатика) добавляют к одному мл водной дисперсии суперпарамагнитных наночастиц оксида железа (концентрация железа 2 мл/л).

35 Что касается того, что цитостатик недостаточно растворим в воде, то можно использовать сорастворители в количестве вплоть до 20 объемных % раствора. ДМСО, ДМС, этанол, этиловый эфир уксусной кислоты или другие физиологически приемлемые растворители можно использовать в качестве сорастворителей.

Пример 4

40 1 мг кармустина, или 1 мг цисплатина, или 1 мг эпирубина, или 1.5 мг гемцитабина, или 1 мг иматиниба, или 0.8 мг паклитаксела, или 1.2 мг винбластина, или 1 мг винкристина, или 1 мг адриамина, или 1 мг оксациллина, или 1 мг тетрациклина, или 1 мг темозолумида добавляют к одному мл магнитной
45 жидкости MFL AS M01 (наночастица оксида железа, покрытая поликонденсированным N-(2-аминометил)-3-(триметоксисилил)пропиламином, производитель: MagForce Nanotechnologies GmbH, Berlin, Germany) (с_{Fe}=2 моль/л) и тщательно перемешивают.

Пример 5. Увеличение эффективности цитостатического митоксантрона (*in vitro*)

50 Клетки первичной карциномы простаты культивируют так, как описывается в DE 19912798 C1. 2×10⁶ клеток, соответственно, готовят в 75 см³ колбе для клеточной культуры с 25 мл среды для культивирования клеток для проверки эффективности смеси митоксантрон/наночастица. Добавляют 136 мкл магнитной жидкости MFL AS

M01 (наночастица оксида железа, покрытая поликонденсированным N-(2-аминометил)-3-(триметоксисилил)пропиламином, производитель: MagForce Nanotechnologies GmbH, Berlin, Germany) ($c_{Fe}=2$ моль/л) и 390 мкл раствора митоксантрона (маточный раствор 1 мг/мл в 0.9% NaCl) к упомянутой клеточной суспензии. Значительное разрушение клеток можно наблюдать после 72 часов выдерживания. Наблюдают аналогичный эффект, получавшийся при использовании цитостатиков - эпирубицина и доцетаксела (растворенных в полиоксиэтилированном сорбите; полисорбате 80).

Пример 6. Увеличение эффективности цитостатического 5-фторурацила (in vitro)

Клетки первичной ректальной карциномы культивируют так, как описывается в DE 19912798 C1. 2×10^6 клеток, соответственно, готовят в 75 см^3 колбе для клеточной культуры с 25 мл среды для культивирования клеток для проверки эффективности смеси 5-фторурацил/наночастица. Добавляют 136 мкл магнитной жидкости MFL AS M01 (наночастица оксида железа, покрытая поликонденсированным N-(2-аминометил)-3-(триметоксисилил)пропиламином, производитель: MagForce Nanotechnologies GmbH, Berlin, Germany) ($c_{Fe}=2$ моль/л) и 390 мкл раствора 5-фторурацила (маточный раствор 1 мг/мл в 0.9% NaCl) к упомянутой клеточной суспензии. Значительное разрушение клеток можно наблюдать после 72 часов выдерживания. Наблюдают аналогичный эффект, получавшийся при использовании цитостатиков - иринотекана и оксалиплатина.

Пример 7. Увеличение эффективности цитостатического карбоплатина (in vitro)

Клетки первичной бронхиальной карциномы (немелкоклеточный бронхиальный рак; NSCLC) культивируют так, как описывается в DE 19912798 C1. 2×10^6 клеток, соответственно, готовят в 75 см^3 колбе для клеточной культуры с 25 мл среды для культивирования клеток для проверки эффективности смеси карбоплатин/наночастица. Добавляют 136 мкл магнитной жидкости MFL AS M01 (наночастица оксида железа, покрытая поликонденсированным N-(2-аминометил)-3-(триметоксисилил)пропиламином, производитель: MagForce Nanotechnologies GmbH, Berlin, Germany) ($c_{Fe}=2$ моль/л) и 390 мкл раствора карбоплатина (маточный раствор 1 мг/мл в 0.9% NaCl) к упомянутой клеточной суспензии. Значительное разрушение клеток можно наблюдать после 72 часов выдерживания. Наблюдают аналогичный эффект, получавшийся при использовании цитостатиков - эпирубицина и доцетаксела (растворенных в полиоксиэтилированном сорбите; полисорбате 80).

Пример 8-196

В соответствии с методикой эксперимента согласно примеру 2 следующие 7 клеточных линий тестируют in vitro активными ингредиентами, перечисленными в таблице 1:

- a) клеточная линия глиобластомы человека RUSIRS 1;
- b) клеточные линии карциномы молочной железы BT20;
- c) клеточная линия карциномы толстой кишки WiDR;
- d) клетки бронхиальной карциномы NSCLC;
- e) клетки ректальной карциномы и
- f) клеточная линия карциномы простаты DU 145.

Во всех случаях можно наблюдать повышенную активность цитостатика.

Увеличение активности указывается в круглых скобках после соответствующего цитостатика, где (+) означает увеличение примерно на 5-80%, а (++) означает увеличение на 80-500%.

Таблица 1: увеличение активности цитостатиков

5	клеточная линия глиоб- ластомы человека RUSIRS1	клеточные линии карциномы молочной железы BT20	клеточная линия карциномы толстой кишки WiDR	клетки бронхиаль- ной карциномы NSCLC	клетки ректальной карциномы	клеточная линия карциномы простаты DU 145	клеточная линия нейрог- лиомы H4
10	летрозол (+)	летрозол (+)	летрозол (+)	летрозол (+)	летрозол (+)	летрозол (+)	летрозол (+)
15	тамоксифен (+)	тамоксифен (+)	тамоксифен (++)	тамоксифен (+)		тамоксифен (+)	тамоксифен (+)
	соматостати н (+)		соматостати н (+)	соматостати н (+)	соматостати н (+)	соматостати н (++)	соматостати н (+)
20	такролимус (+)	такролимус (+)		такролимус (+)	такролимус (+)	такролимус (+)	такролимус (++)
25	аскомицин (++)	аскомицин (+)	аскомицин (+)	аскомицин (+)	аскомицин (+)	аскомицин (+)	
	церивастати н (+)	церивастати н (+)	церивастати н (+)	церивастати н (+)	церивастати н (++)	церивастати н (+)	церивастати н (+)
30	симвастатин (+)	симвастатин (+)	симвастатин (+)	симвастатин (++)	симвастатин (+)	симвастатин (+)	симвастатин (+)
35	бендамустин (+)	бендамустин (+)		бендамустин (+)		бендамустин (+)	
	тобрамицин (+)	тобрамицин (+)	тобрамицин (+)	тобрамицин (+)	тобрамицин (+)	тобрамицин (+)	тобрамицин (+)
40	ганцикловир (++)	ганцикловир (+)	ганцикловир (+)	ганцикловир (+)	ганцикловир (+)	ганцикловир (+)	ганцикловир (+)
45	ацикловир (+)	ацикловир (+)	ацикловир (+)	ацикловир (+)	ацикловир (++)	ацикловир (+)	ацикловир (+)
50	ибупрофен (+)	ибупрофен (+)	ибупрофен (++)	ибупрофен (+)	ибупрофен (+)	ибупрофен (+)	ибупрофен (+)

5	клеточная линия глиоб- ластомы человека RUSIRS1	клеточные линии карциномы молочной железы BT20	клеточная линия карциномы толстой кишки WiDR	клетки бронхиаль- ной карциномы NSCLC	клетки ректальной карциномы	клеточная линия карциномы простаты DU 145	клеточная линия нейрог- лиомы H4
10	паклитаксел (+)	паклитаксел (++)	паклитаксел (+)	паклитаксел (+)	паклитаксел (+)	паклитаксел (+)	паклитаксел (+)
15	диклофенак (+)		диклофенак (+)	диклофенак (+)	диклофенак (++)	диклофенак (+)	диклофенак (+)
	азеластин (+)	азеластин (+)			азеластин (+)	азеластин (+)	азеластин (+)
20	оксациллин (+)	оксациллин (+)	оксациллин (++)	оксациллин (+)	оксациллин (+)	оксациллин (++)	оксациллин (+)
25	нифедипин (+)	нифедипин (+)	нифедипин (+)	нифедипин (+)		нифедипин (+)	нифедипин (+)
	лефлуномид (+)	лефлуномид (+)	лефлуномид (+)	лефлуномид (+)	лефлуномид (+)	лефлуномид (+)	лефлуномид (+)
30	тетрациклин (+)	тетрациклин (+)	тетрациклин (+)	тетрациклин (+)	тетрациклин (++)	тетрациклин (++)	тетрациклин (+)
35	рапамицин (+)	рапамицин (++)	рапамицин (+)	рапамицин (+)	рапамицин (++)	рапамицин (+)	рапамицин (+)
	иматиниб (+)	иматиниб (+)	иматиниб (++)	иматиниб (+)	иматиниб (+)	иматиниб (+)	иматиниб (+)
40	винкристин (+)	винкристин (++)	винкристин (+)	винкристин (++)	винкристин (++)	винкристин (+)	винкристин (+)
45	гемцитабин (+)	гемцитабин (+)	гемцитабин (+)	гемцитабин (++)	гемцитабин (+)	гемцитабин (+)	гемцитабин (+)
50	кладрибин (+)	кладрибин (+)	кладрибин (++)	кладрибин (++)		кладрибин (+)	кладрибин (+)

5	клеточная линия глиоб- ластомы человека RUSIRS1	клеточные линии карциномы молочной железы BT20	клеточная линия карциномы толстой кишки WiDR	клетки бронхиаль- ной карциномы NSCLC	клетки ректальной карциномы	клеточная линия карциномы простаты DU 145	клеточная линия нейрог- лиомы H4
10	идарубицин (++)	идарубицин (+)	идарубицин (+)	идарубицин (++)	идарубицин (+)	идарубицин (+)	идарубицин (+)
15	бусульфан (+)		бусульфан (+)	бусульфан (++)		бусульфан (+)	бусульфан (+)
20	хлорамбуцил (+)	хлорамбуцил (+)	хлорамбуцил (++)	хлорамбуцил (+)	хлорамбуцил (+)	хлорамбуцил (+)	хлорамбуцил (+)
25	кармустин (+)	кармустин (+)	кармустин (+)	кармустин (++)	кармустин (+)	кармустин (+)	кармустин (+)
	цисплатин (+)	цисплатин (+)	цисплатин (+)	цисплатин (++)	цисплатин (+)	цисплатин (+)	цисплатин (++)

Формула изобретения

1. Применение наночастиц при профилактике и/или лечении раковых заболеваний, в котором наночастицы вводят с противораковым терапевтическим средством таким образом, что указанные наночастицы и указанное противораковое средство одновременно представлены в теле пациента, причем указанные наночастицы имеют покрытие, которое содержит поликонденсированные аminosиланы, и, по существу, свободны от связи с противораковым лекарственным средством.

2. Применение по п.1, в котором наночастицы являются магнитными и выполнены предпочтительно из магнитного материала, ферромагнитного, антиферромагнитного, антиферримагнитного или суперпарамагнитного материала.

3. Применение по п.1, в котором покрытие окружено защитным слоем, компенсирующим или перекомпенсирующим возникающий на покрытии положительный заряд.

4. Применение по п.1, в котором аminosилан выбран из группы аminosиланов, включающей 3-аминопропилтриэтоксисилана, 2-аминоэтил-3-аминопропилтриметоксисилана, триметоксисилил-пропил-диэтилентриамины, N-(6-аминогексил)-3-аминопропилтриметоксисилана.

5. Применение по любому из пп.1-4, в котором наночастицы обладают дополнительным внешним слоем, содержащим компенсирующие положительный заряд карбоксилатные группы.

6. Применение по п.1, в котором наночастицы состоят из оксида железа, магнетита, маггемита или $M(II)Fe_2O_4$, где M представляет собой Zn, Cu, Co, Ni, Cd, Ba или Mn, причем наночастицы имеют средний диаметр 15 нм, или предпочтительно их размеры находятся в диапазоне от 1 до 100 нм, особенно предпочтительно, в диапазоне от 10

до 20 нм.

7. Применение по п.1, в котором наночастицы используют в комбинации с традиционной гипертермией, магнитно-жидкостной гипертермией, термотерапией с магнитными жидкостями, радиотерапией и/или химиотерапией.

8. Применение по п.1, в котором противораковое терапевтическое средство является средством, выбранным из группы, включающей цитостатик, цитотоксическое средство, антипролиферативное средство, противовоспалительное средство, антимиграционное средство, антиангиогенное средство, противовоспалительное средство, бактерицидное средство, ингибитор микротрубочек.

9. Применение по п.1, в котором противораковое терапевтическое средство, выбирают из группы, включающей актиномицин D, аминоклутетимид, антрациклины, амсакрин, анастрозол, анатагонисты пуриновых и пиримидиновых оснований, антрациклины, ингибиторы ароматазы, аспарагиназу, антиэстрогены, бексаротен, блеомицин, бузерелин, бусульфид, производные камптотецина, капецитабин, карбоплатин, кармустин, хлорамбуцил, цисплатин, кладрибин, циклофосфамид, цитарабин, цитозина арабинозид, алкилирующие цитостатики, дакарбазин, дактиномицин, даунорубин, доцетаксел, доксорубин (адриамицин), доксорубин, липо, эпирубин, эстрамустин, этопозид, экземестан, флударабин, фторурацил, антагонисты фолиевой кислоты, форместан, гемцитабин, глюкокортикоиды, гозерелин, гормоны и гормональные антагонисты, гикамтин, гидроксимочевина, идарубин, ифосфамид, иматиниб, иринотекан, милтефозин, митомицины, ингибиторы митоза, митоксантрон, нимустин, оксалиплатин, пентостатин, прокарбазин, тамоксифен, темозолумид, тенипозид, тестолактон, тиотепал, тиогуанин, ингибиторы топоизомеразы, топотекан, тресульфид, третиноин, трипторелин, трифосфамид, винбластин, винкристин, виндезин, винорелбин, цитостатически активные антибиотики, сиролimus (рапамицин), эверолимус, пимекролимус, соматостатин, такролимус, рокситромицин, аскомицин, бафиломицин, эритромицин, мидакамицин, джозамицин, конканамицин, кларитромицин, тролеандомицин, фолимицин, церивастатин, симвастатин, ловастатин, флувастатин, розувастатин, аторвастатин, правастатин, питавастатин, 4-гидроксиоксициклофосфамид, бендамустин, тимозин α -1, акларубин, флударабин-5'-дигидрофосфат, гидроксикарбамид, альдеслейкин, пегаспаргазу, адриамицин, азитромицин, спирамицин, цефалантин, эпотилон А и В, азатиоприн, мофетила микофенолят, с-мус антисмысловый олигонуклеотид, b-мус антисмысловый олигонуклеотид, бетулиновую кислоту, камптотецин, меланоцитстимулирующий гормон (α -MSH), активированный протеин С, ингибитор IL-1 β , фумаровую кислоту и ее сложные эфиры, дермицидин, кальципотриол, такальцитол, лапахол, β -лапахон, подофиллотоксин, бетулин, 2-этилгидразид подофилловой кислоты, молграмостим (rhGM-CSF), пегинтерферон α -2b, ленограстим (r-HuG-CSF), филграстим, макрогол, цефаломаннин, трастузумаб, базиликсимаб, даклизумаб, селектин (цитокиновый антагонист), CЕТР ингибитор, кадгерин, цитокининовые ингибиторы, COX-2 ингибитор, ангиопептин, ципрофлоксацин, флуробластин, bFGF антагонисты, пробуклол, простагландины, 1,11-диметоксикантин-6-он, 1-гидрокси-11-метоксикантин-6-он, скополетин, колхицин, NO доноры, тетранитрат пентаэритрита, сиднонимин, S-нитрозопроизводные, стауроспорин, β -эстрадиол, α -эстрадиол, эстриол, эстрон, этинилэстрадиол, фосфэстрол, медроксипрогестерон, ципианаты эстрадиола, бензоаты эстрадиола, траниласт, камбакаури, верапамил, ингибиторы тирозинкиназы (тирфостин), циклоспорин А, паклитаксел и его производные, такие как 6- α -гидрокси-паклитаксел,

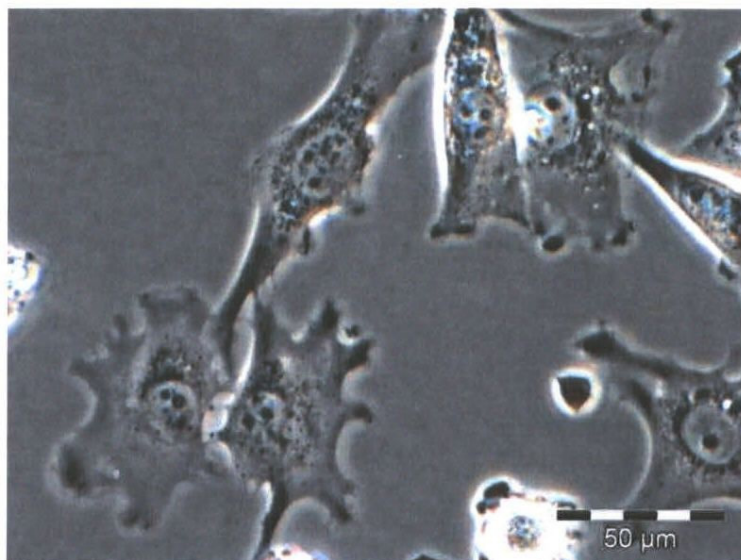
баккатин, таксотер, мофебутазон, ацеметацин, диклофенак, лоназолак, дапсон, о-
 карбамоил-феноксиксусная кислота, лидокаин, кетопрофен, мефенаминовая кислота,
 пироксикам, мелоксикам, хлорохина фосфат, пеницилламин, гидроксихлорохин,
 5 ауранофин, ауротиомалат натрия, оксацепрол, целекоксиб, β -ситостерол, адеметионин,
 миртекаин, полидоканол, нонивамид, левоментол, бензокаин, аэсцин, эллиптицин, D-
 24851 (Calbiochem), колцемид, цитохалазин А-Е, инданоцин, нокодазол, бацитрацин,
 антагонисты витронектин-рецептора, азеластин, свободные нуклеиновые кислоты,
 нуклеиновые кислоты, внедренные в вирусные передатчики, фрагменты ДНК и РНК,
 10 ингибитор-1 плазминогенного активатора, ингибитор-2 плазминогенного активатора,
 антисмысловые олигонуклеотиды, VEGF ингибиторы, IGF 1, активные агенты из
 группы антибиотиков, такие как цефадроксил, цефазолин, цефаклор, цефокситин,
 тобрамицин, гентамицин, пенициллины, диклоксациллин, оксациллин, сульфонамиды,
 метронидазол, антитромботики, аргатробан, аспирин, абсиксимаб, синтетический
 15 антитромбин, бивалирудин, кумадин, эноксапарин, GpIIb/IIIa рецептор оболочки
 тромбоцитов, антитела к ингибитору X_a фактора, гепарин, гирудин, г-гирудин,
 РРАСК, протамин, проурокиназа, стрептокиназа, варфарин, урокиназа,
 сосудорасширяющие средства, дипирамидол, трапидил, нитропруссиды, PDGF
 20 антагонисты, триазолопиримидин, серамин, ACE ингибиторы, каптоприл, цилазаприл,
 лизиноприл, эналаприл, лозартан, ингибиторы тиопротеазы, простаглицлин,
 вапипрост, интерферон α , β и γ , антагонисты гистамина, блокаторы серотонина,
 ингибиторы апоптоза, регуляторы апоптоза, NF-kB или Bcl-xL антисмысловые
 олигонуклеотиды, галофугинон, нифедипин, токоферол, молзидомин, чайные
 25 полифенолы, эпикатехин галлат, эпигаллокатехин галлат, босвеллиевые кислоты и их
 производные, лефлуномид, анакинра, этанерцепт, сульфазалазин, тетрациклин,
 триамцинолон, мутамицин, прокаинимид, ретиноевую кислоту, хинидин, дизопирамид,
 флекаинид, пропafenон, соталол, амиодарон, природные и синтетически полученные
 30 стероиды, такие как бриофиллин А, инотодиол, маквирозид А, галакинозид, мансонин,
 стрелбозид, гидрокортизон, бетаметазон, дексаметазон, фенпрофен, ибупрофен,
 индометацин, напроксен, фенилбутазон, ацикловир, ганцикловир, зидовудин,
 противогрибковые средства, клотримазол, флуцитозин, гризеофульвин, кетоконазол,
 миконазол, нистатин, тербинафин, хлорохин, мефлохин, хинин, природные
 35 терпеноиды, гиппокаэскулин, баррингтогенон-С21-ангелат, 14-дегидроагностистахин,
 агроскерин, агностистахин, 17-гидроксиягностистахин, оватодиолиды, 4, 7-
 оксидиклоанизомелевую кислоту, бакхариноиды В1, В2, В3 и В7, тубеимозид,
 бруцеанол А, В и С, бруцеантинозид С, яданзиозиды N и Р, изодеоксиэлефантопин,
 40 томенфантопин А и В, коронарин А, В, С и D, урзоловую кислоту, гиптатевую
 кислоту А, зеорин, изо-иридогерманал, майтенфолиол, эффусантин А, экзисанин А и
 В, лонгикаурин В, скульпонеатин С, камебаунин, лейкаменин А и В, 13, 18-дегидро-6-
 альфа-сенециоилоксикапаррин, таксамаирин А и В, регенилол, триптолид, цимарин,
 апоцимарин, аристолохиевую кислоту, аноптерин, гидроксиданоптерин, анемонин,
 45 протоанемонин, берберин, хелибурина хлорид, цикутоксин, синококулин,
 комбрестатин А и В, кудраизофлавоноид А, куркумин, дигидронитидин, хлорид
 нитидина, 12-бета-гидроксипрегнадиен-3,20-дион, биллобол, гинкгол, гинкголевую
 кислоту, геленалин, индицин, индицин-N-оксид, лазиокарпин, инотодиол, гликозид 1a,
 50 юстицидин А и В, ларреатин, маллотерин, маллотохроманол,
 изобутирилмаллотохроманол, маркантин А, майтансин, ликоридин, маргетин,
 панкреатистатин, лириоденин, биспартенолидин, оксоушинсунин, аристолактам-АII,
 периплокозид А, галакинозид, деоксипсороспермин, психорубин, рицин А,

сангвинарин, кислота из пшеницы манву, метилсорбинолин, хромоны спателии, стизофилин, акагерин, дигидрозамбаренсин, гидроксизамбарин, стрихнопентамин, стрихнофиллин, узамбарин, узамбаренсин, дафноретин, ларицирезинол, метоксиларицирезинол, сириггарезинол, умбеллиферон, афромосон, ацетилвизмион В, десацетилвизмион А, визмион А и В.

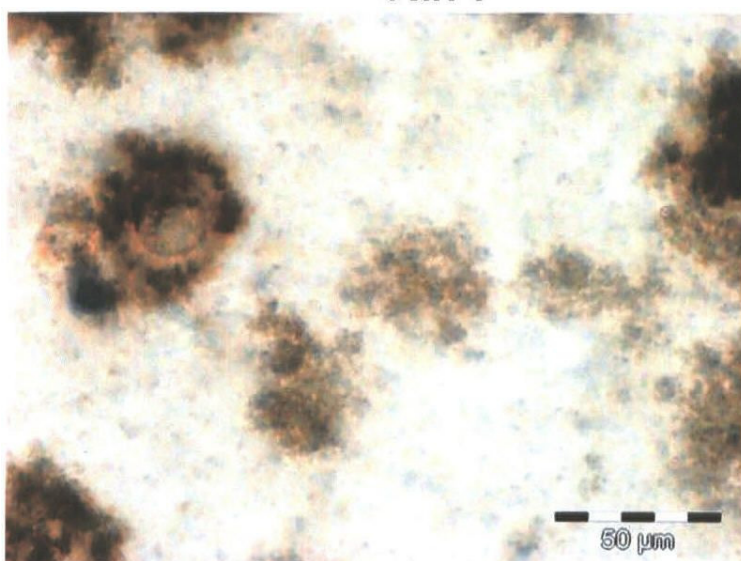
10. Применение по п.1, в котором наночастицы и противораковое терапевтическое средство вводят посредством двух отдельных растворов.

11. Применение по п.1, в котором наночастицы имеют сродство к опухолевым клеткам.

12. Применение по п.1, в котором раковое заболевание выбрано из группы, включающей карциному простаты, опухоль мозга, саркому, цервикальную карциному, карциному яичника, карциному молочной железы, бронхиальную карциному, меланомы, опухоли головы и шеи, карциному пищевода, ректальную карциному, карциному поджелудочной железы, карциному мочевого пузыря и карциному почек, метастазы в печени, в мозге и в лимфоузлах.



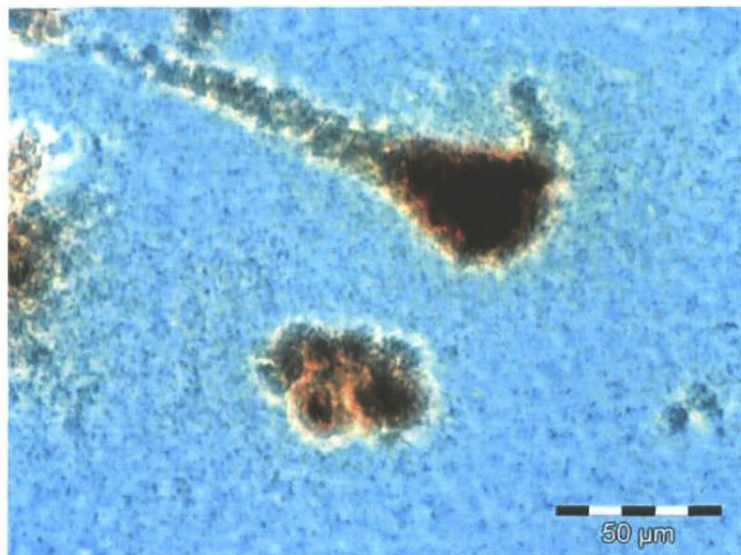
Фиг. 1



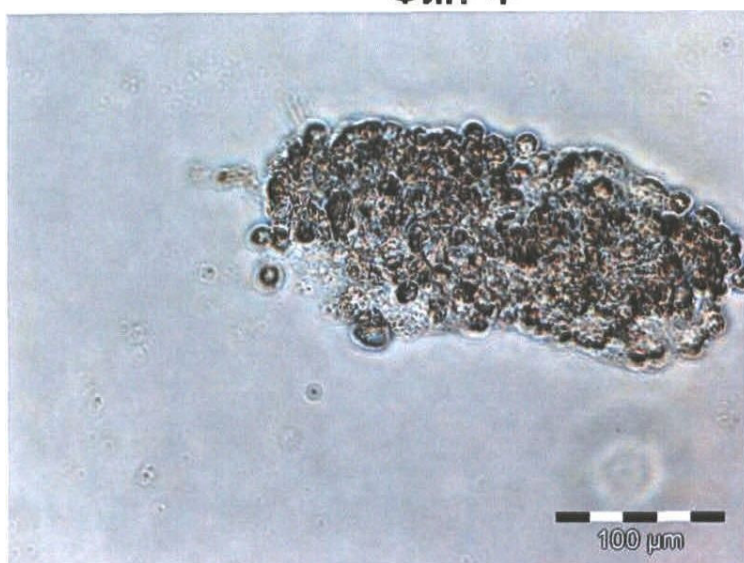
Фиг. 2



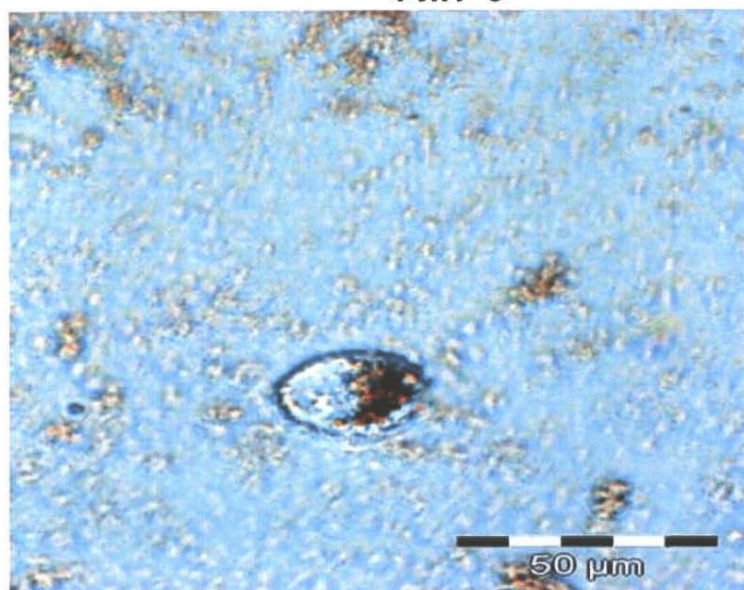
Фиг. 3



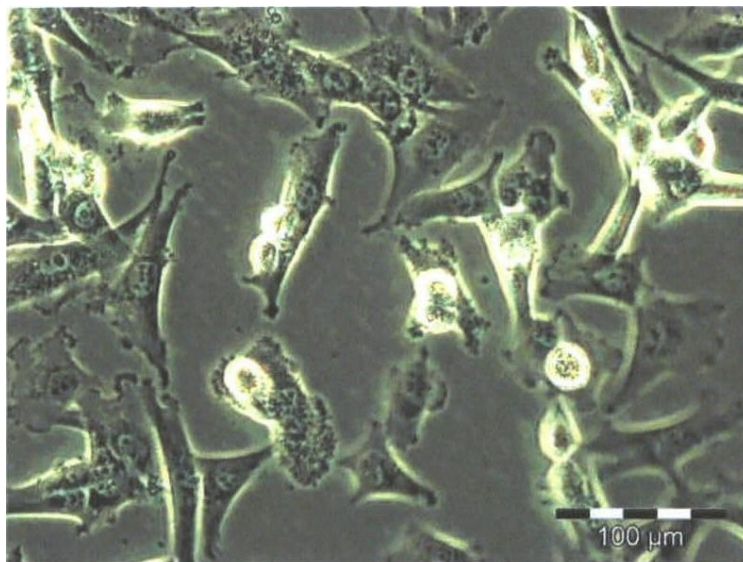
Фиг. 4



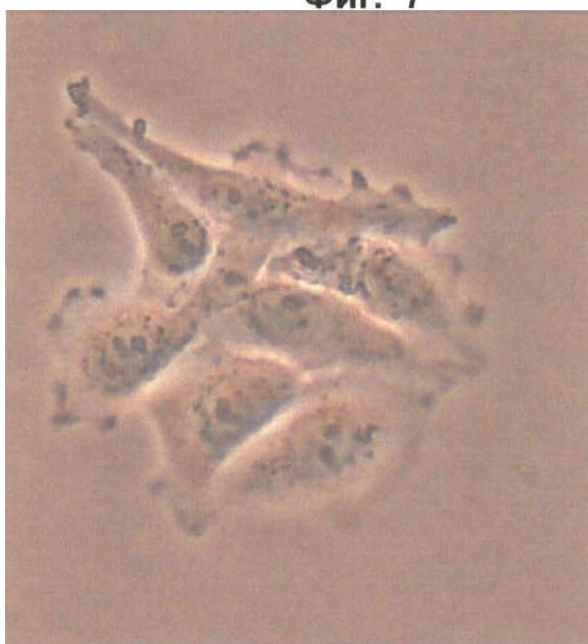
Фиг. 5



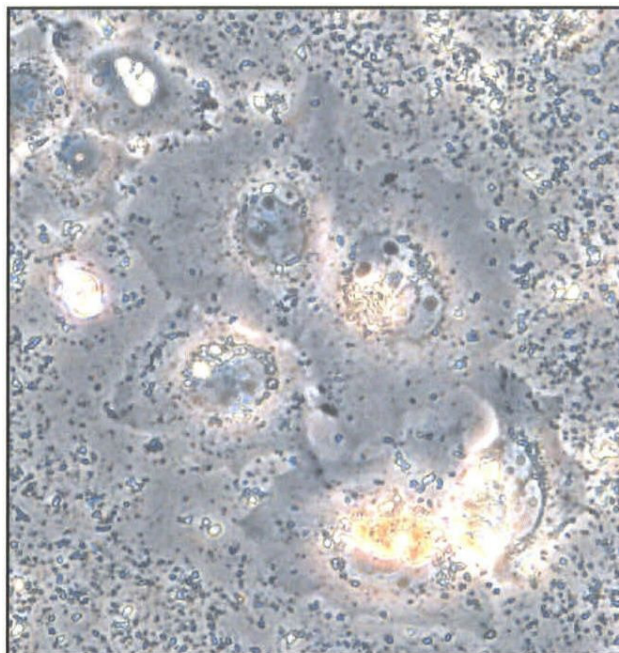
Фиг. 6



Фиг. 7



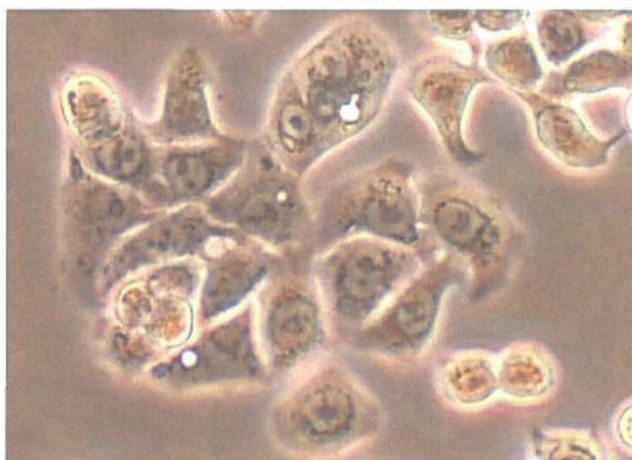
Фиг. 8



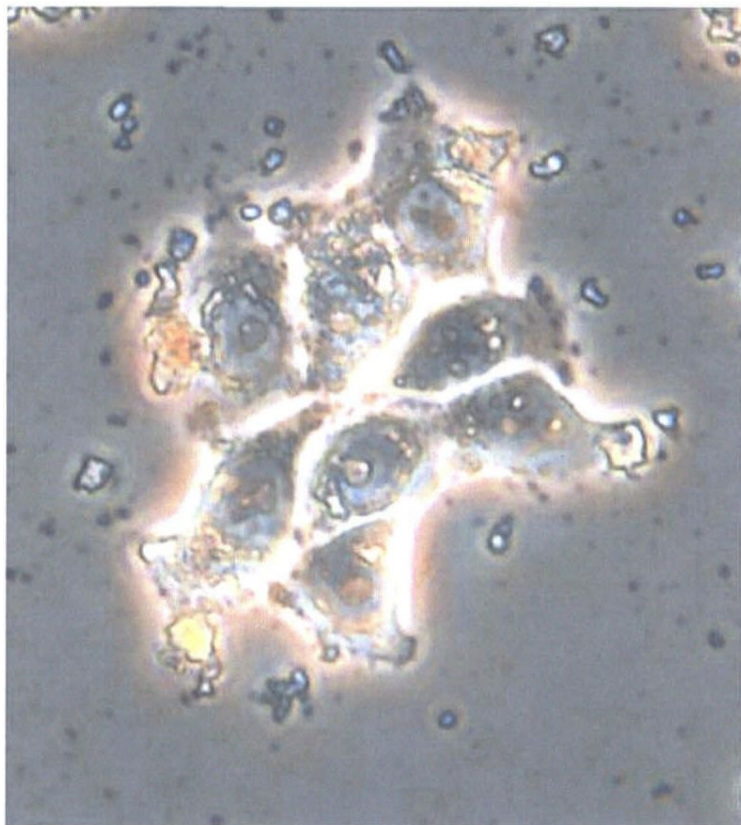
Фиг. 9



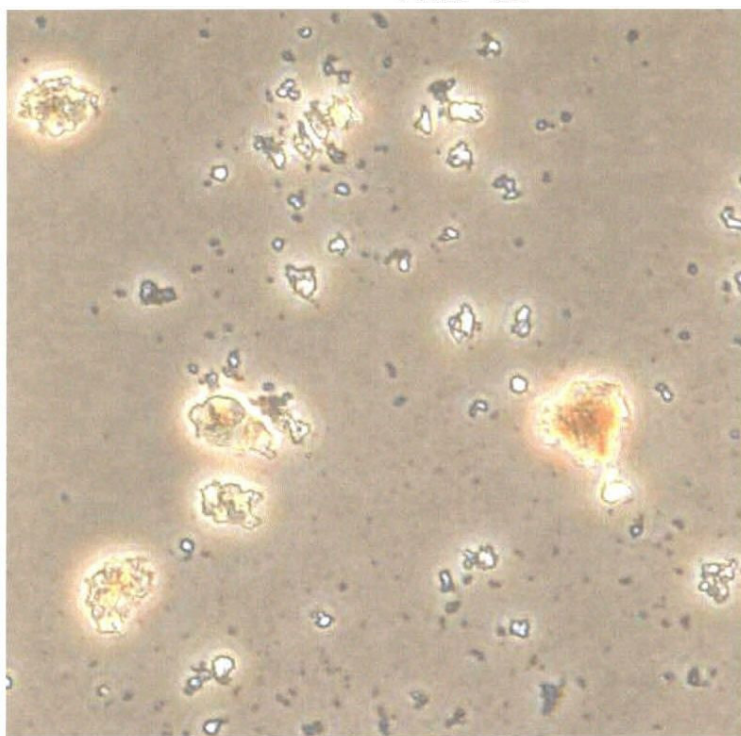
Фиг. 10



Фиг. 11



Фиг. 12



Фиг. 13