

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **238651**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **425546**

(22) Data zgłoszenia: **15.05.2018**

(51) Int.Cl.

A61K 31/20 (2006.01)

A61K 31/295 (2006.01)

A61K 31/337 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(54) **Wziewny preparat farmakologiczny do leczenia zlokalizowanych guzów nowotworowych oraz sposób wytwarzania wziewnego preparatu farmakologicznego do leczenia zlokalizowanych guzów nowotworowych**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

18.11.2019 BUP 24/19

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

20.09.2021 WUP 25/21

(73) Uprawniony z patentu:

**AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA
IM. STANISŁAWA STASZICA W KRAKOWIE,
Kraków, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**ELŻBIETA PAMUŁA, Kraków, PL
WOJCIECH CHRZANOWSKI, Five Dock, AU
KATARZYNA RECZYŃSKA, Kraków, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Patrycja Rosół

PL 238651 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest wziewny preparat farmakologiczny do leczenia zlokalizowanych guzów nowotworowych, który w postaci mikrocząstek zawierających lek cytotatyczny i nanocząstki magnetyczne, może być aplikowany pacjentowi przy użyciu inhalatora wziewnego suchego proszku DPI (z ang. dry powder inhaler) dokładnie do miejsca, gdzie jest zlokalizowany guz, przy zastosowaniu zewnętrznego pola magnetycznego.

Przedmiotem wynalazku jest także sposób wytwarzania wziewnego preparatu farmakologicznego do leczenia zlokalizowanych guzów nowotworowych.

Krajowy Rejestr Nowotworów w Polsce notuje corocznie około 160 tysięcy nowych przypadków nowotworów oraz ponad 15 tysięcy zgonów spowodowanych nowotworami płuc, co opisano m.in. w publikacji J. Didkowska i in. pt. Nowotwory złośliwe w Polsce w 2011 roku, Centrum Onkologii-Instytut, Warszawa, 2013, str. 7. Nowotwory płuc są jednymi z najtrudniejszych do wyleczenia rodzajów nowotworów, ponieważ pomimo dużej podatności na chemio- i radioterapię, charakteryzują się szybkim rozsiewem już we wczesnych fazach rozwoju. Do głównych przyczyn chorób nowotworowych płuc należy długotrwałe czynne lub bierne palenie tytoniu, odpowiedzialne za 80–90% wszystkich zachorowań, uwarunkowania genetyczne, a także ekspozycja na szkodliwe czynniki środowiskowe, zwłaszcza spalin i czynniki zawodowe w postaci toksycznych substancji generowanych przy spalaniu paliw i przetwarzaniu materiałów.

Najczęściej stosowaną metodą leczenia pacjentów z nowotworami płuc jest chemioterapia z użyciem kombinacji leków o różnym działaniu, takich jak np. cisplatyna i etopozyd lub paklitaksel, zwykle podawanych dożylnie. Efekty chemioterapii utrzymują się zazwyczaj od kilku do kilkunastu miesięcy, po czym w 80% przypadków następuje nawrót choroby. Średnia przeżycia pacjentów cierpiących na nowotwory płuc wynosi zaledwie 4–5 miesięcy od momentu postawienia diagnozy.

Zwiększenie dawek leków cytotatycznych w celu poprawienia skuteczności terapii nie jest w stanie znacząco poprawić stanu zdrowia pacjenta, a jedynie dodatkowo obciąża organizm poprzez spotęgowanie efektów ubocznych. Większe szanse na wydłużenie okresu remisji daje skojarzenie chemioterapii z jednoczesnym prowadzeniem radioterapii, przy czym napromieniowywanie klatki piersiowej jest również obciążone poważnymi skutkami ubocznymi. Stosowanie chemio- i/lub radioterapii prowadzi do znaczącego pogorszenia jakości życia pacjenta, a także ogólnego osłabienia organizmu ograniczającego jego zdolności regeneracyjne.

W publikacji A. Ahmad i in., pt. Lung Cancer and Personalized Medicine: Novel Therapies and Clinical Management, 2016, Springer, str. 123–125 opisano nowatorskie metody leczenia nowotworów płuc wykorzystujące przeciwciała monoklonalne, szczepionki przeciwnowotworowe lub terapie immunologiczne mające na celu pobudzenie układu odpornościowego chorego, aby sam zwalczył komórki nowotworowe. Przeprowadzone badania były obiecujące u niewielkiego odsetka pacjentów, jednak w większości przypadków ich efektywność była stosunkowo niska.

Wskazane ograniczenia znanych metod leczenia zmian nowotworowych w układzie oddechowym sprawiają, że poszukuje się nowych systemów dostarczania leków do płuc, przy czym najbardziej optymalna wydaje się być inhalacja, która pozwala na zwiększenie stężenia leku bezpośrednio w chorym miejscu przy jednoczesnym zmniejszeniu ilości leku rozprowadzanego systemowo. Ograniczenie ekspozycji na leki cytotatyczne zapobiega wyniszczeniu całego organizmu, poprawia komfort życia pacjenta i zwiększa jego szanse na wyleczenie.

Do dnia dzisiejszego opracowano już i wdrożono do użytku kilka wziewnych preparatów do leczenia chorób płuc, jednak większość rozwiązań odnosi się do formułacji zawierających antybiotyki służące do leczenia różnego rodzaju infekcji w obrębie dróg oddechowych.

Przykładowo ze zgłoszenia patentowego US20050084455 A1 znana jest wziewna biodegradowalna kompozycja w postaci mikrocząstek, przeznaczona do leczenia gruźlicy. Mikrocząstki te są wykonane z biodegradowalnych polimerów takich jak poli(kwas glikolowy), poli(kwas mlekowy) i kopolimery kwasu mlekowego i glikolowego z dodatkiem leków przeciwgruźliczych. Mikrocząstki mają średnicę w zakresie 1–15 μm i wytwarzane są przy pomocy metody suszenia rozpyłowego, w której lek najpierw rozpuszczany jest w wodzie, mieszany z roztworem polimeru w dichlorometanie, a następnie rozpylany w celu uzyskania mikrocząstek. Metoda ta pozwala na otrzymanie na dużą skalę mikrocząstek załadowanych lekiem o stosunkowo jednorodnej wielkości. Ponieważ w trakcie wytwarzania tych mikrocząstek dostarczany lek musi być rozpuszczony w wodzie, metoda ta nie nadaje się do produkcji nośników leków nierozpuszczalnych lub słabo rozpuszczalnych w wodzie. Dodatkowo, czas degradacji

polimerów, z jakich wykonane są mikrocząstki jest stosunkowo długi, co pozwala na przedłużenie czasu dostarczania leków przeciwwgrzybiczych, natomiast spowalnia ich działanie, co w przypadku dostarczania leków nowotworowych nie jest to wskazane.

Podobnie w opisie patentowym US9554993 B1, ujawniono wziewny system dostarczania leków, zwłaszcza przeciwwgrzybiczych oraz antybiotyków, w postaci mieszaniny mikrocząstek o rozmiarach w zakresie od 0,5 do 50 μm , zbudowanych w co najmniej 10% z matrycy fosfolipidowej z dodatkiem 50% leku oraz maksymalnie 3% substancji rozdmuchującej. Mieszanina w postaci zawiesiny suszona jest rozpyłowo, aby wytworzyć cząstki stałe, a dostarczany lek musi być rozpuszczalny w wodzie.

Z opisu patentowego nr EP0605497 B2 znany jest sposób wytwarzania nanocząstek lipidowych o średnicach w zakresie od 40 do 1000 nm zbudowanych z mono-, di- lub triglicerydów, alkoholi tłuszczowych lub estrów tłuszczowych. Nanocząstki wytwarzane są metodą suszenia rozpyłowego lub za pomocą liofilizacji. Mogą one znaleźć zastosowanie jako uniwersalne nośniki leków, które mogą być dostarczane dożylnie, domięśniowo, podskórnie, dojelitowo lub wziewnie. Jednak w świetle badań dotyczących preparatów wziewnych przedstawionych m.in. w publikacji S.S. Kaur pt. Pulmonary drug delivery system: newer patents, *Pharmaceutical Patent Analyst*, 2017, 6(5): str. 225–244, nośniki o średnicach mniejszych niż 1 μm nie są korzystne do inhalacji, gdyż mogą zostać łatwo usunięte z płuc w trakcie wydechu. Dużo skuteczniejsze jest stosowanie nośników o średnicach powyżej 1 μm , przy czym nie większych niż 10 μm .

Znany jest także z opisu patentowego US5785976 A sposób wytwarzania cząstek o niesferycznym kształcie zbudowanych z wykrystalizowanych tłuszczu, głównie triglicerydów, jako nośników leków nierozpuszczalnych w wodzie i o słabej biodostępności. Powstające cząstki mają kształt wydłużonych igieł, rozmiary w zakresie mikro- i nanometrów, które po procesie liofilizacji mają formę suchego proszku. Proszek ten nie może bezpośrednio być stosowany jako preparat wziewny, a przed użyciem musi być ponownie zdyspergowany w wodzie, buforze lub innym roztworze.

Znany jest z publikacji E. Pamuła, K. Reczyńska, W. Chrzanowski pt. „Inhalable stimuli-sensitive drug delivery system for controlled delivery to lungs”, *World Biomaterials Congress 2016 r.* (https://www.frontiersin.org/10.3389/conf.FBIOE.2016.01.02822/event_abstract) wziewny system dostarczania leku do płuc, który to system jest w postaci kulistych cząstek o średniej wielkości średnicy 2–6 μm i zawiera nanocząstki tlenku żelaza (SPION), paklitaksel (PAX) oraz kwasy tłuszczowe (laurynowy, palmitynowy i stearynowy) oraz ich mieszaniny, o temperaturze topnienia 40–45°C. PAX i SPION zostały zdyspergowane w stopionej fazie lipidowej przy różnych stosunkach SPION/lipid, a stałe mikrocząstki lipidowe wytworzono stosując metodę emulsyfikacji olej w wodzie. Dzięki zawartości nanocząstek tlenku żelaza, lek może być skierowany za pomocą pola magnetycznego do konkretnego miejsca wymagającego leczenia.

W badaniach z dokumentu G. Muzio i in. pt. „Innovative superparamagnetic iron-oxide nanoparticles coated with silica and conjugated with linoleic acid: Effect on tumor cell growth and viability”, *Materials Science and Engineering: C*, vol. 76, 1 July 2017, 439–447 zastosowano jako nośniki terapeutyczne SPIONs pokryte powłoką krzemionkową lub niepowlekanie, sfunkcjonalizowane jednowarstwowym i dwuwarstwowym sprężonym kwasem linołowym. Krzemionka została wykorzystana do ochrony rdzenia magnetycznego przed utlenianiem, poprawy stabilności SPION i dostosowania ich do reaktywności powierzchniowej.

Znane rozwiązania dotyczą dostarczania drogą wziewną głównie antybiotyków, a brak jest doniesień na temat wykorzystania preparatów w formie inhalacyjnej do leczenia nowotworów płuc. Natomiast stosowane metody leczenia nowotworów płuc takie jak chemioterapia lub radioterapia wpływają na cały organizm pacjenta i prowadzą do znaczącego pogorszenia jakości jego życia i ogólnego osłabienia.

Istnieją rozwiązania, w których możliwe jest nakierowywanie leku w miejsce chorobowo zmienione. Przykładowo znane jest z opisu patentowego US20100303916 A1 użycie nanocząstek magnetycznych do dostarczania leków w wybrane obszary płuc, kierowanych za pomocą zewnętrznego pola magnetycznego. Nanocząstki magnetyczne o wydłużonym kształcie z fizycznie lub chemicznie przyłączonym lekiem, za pomocą specjalnej aparatury złożonej z generatora stałego lub zmiennego pola magnetycznego są dostarczane do miejsca zmienionego chorobowo.

Celem niniejszego wynalazku jest opracowanie wziewnego preparatu farmakologicznego do leczenia zlokalizowanych guzów nowotworowych, który w postaci suchego proszku mikrocząstek zawierających lek cytostatyczny i nanocząstki magnetyczne może zostać w sposób kontrolowany zaapliko-

wany pacjentowi, przy użyciu inhalatora suchego proszku DPI dokładnie do miejsca, gdzie jest zlokalizowany guz, przy zastosowaniu zewnętrznego pola magnetycznego, a ponadto zapobiega przedwczesnemu uwolnieniu leku.

Istota wziewnego preparatu farmakologicznego do leczenia zlokalizowanych guzów nowotworowych, w postaci sferycznych mikrocząstek o średnicy w zakresie od 1 do 5 μm , zawierających lek cytotatyczny, który stanowi paklitaksel oraz nasycony kwas tłuszczowy wybrany z grupy obejmującej kwas dodekanowy $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$, kwas tetradekanowy $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$, kwas heksadekanowy $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$, kwas oktadekanowy $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$, o temperaturze topnienia powyżej 37°C i nanocząstki magnetyczne powleczone warstwą krzemionki, według wynalazku, charakteryzuje się tym, że preparat zawiera w ilości co najmniej 70% wagowych: kwas tetradekanowy i kwas heksadekanowy zmieszane w stosunku 58:42 lub kwas tetradekanowy i kwas oktadekanowy zmieszane w stosunku 65:35, 5–10% wagowych nanocząstek magnetycznych tlenku żelaza (III) lub tlenku żelaza (II, III), oraz paklitaksel, zawarty w preparacie w ilości nie większej niż 20% wagowych, przy czym temperatura topnienia mieszaniny kwasów tłuszczowych wynosi 48°C lub 52°C .

Korzystnie preparat zawiera mieszaninę kwasów tłuszczowych w ilości od 70 do 90% wagowych.

Korzystnie również, gdy preparat zawiera paklitaksel w ilości od 5 do 20% wagowych.

Korzystnie średnia średnica mikrocząstek jest w zakresie od 1,5 do 2,5 μm .

Istota sposobu wytwarzania opisanego powyżej wziewnego preparatu farmakologicznego do leczenia zlokalizowanych guzów nowotworowych, w postaci mikrocząstek o średnicy w zakresie od 1 do 5 μm , zawierających lek cytotatyczny który stanowi paklitaksel oraz nasycony kwas tłuszczowy wybrany z grupy obejmującej kwas tetradekanowy $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$, kwas heksadekanowy $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$, kwas oktadekanowy $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$ o temperaturze topnienia powyżej 37°C , i nanocząstki magnetyczne powleczone warstwą krzemionki, przy czym sposób prowadzi się metodą emulsyfikacji, według wynalazku, charakteryzuje się tym, że do co najmniej 70% wagowych: kwasu tetradekanowego i kwasu heksadekanowego zmieszanych w stosunku 58:42 albo kwasu tetradekanowego i kwasu oktadekanowego zmieszanych w stosunku 65:35, dodaje się 5–10% wagowych nanocząstek magnetycznych tlenku żelaza (III) lub tlenku żelaza (II, III), oraz paklitaksel, w ilości nie większej niż 20% wagowych. Całość podgrzewa się do temperatury co najmniej o 20°C wyższej od temperatury topnienia mieszaniny kwasów tłuszczowych i homogenizuje się stopioną mieszaniną ultradźwiękami przez 2–3 minuty, a następnie dodaje ją do uprzednio przygotowanego wodnego roztworu surfaktantu, również podgrzanego do temperatury o co najmniej 20°C wyższej od temperatury topnienia mieszaniny kwasów tłuszczowych, przy czym stosuje się 100–300 mg mieszaniny kwasów tłuszczowych zawierających paklitaksel i nanocząstki magnetyczne na 2 ml roztworu surfaktantu. Następnie poddaje się otrzymaną mieszaninę emulsyfikacji na gorąco przez 30 do 120 sekund i od razu chłodzi się w temperaturze od -40 do -196°C , korzystnie w ciekłym azocie, aby zachować sferyczny kształt i rozmiar otrzymanych mikrocząstek w zakresie od 1 do 5 μm , po czym oczyszcza się mikrocząstki z nadmiaru surfaktantu poprzez płukanie wodą, wirowanie i dekantację, ponownie zamraża w temperaturze od -40 do -196°C i suszy przez liofilizację przez 12–48 godzin.

Korzystnie stosuje się mieszaninę kwasów tłuszczowych w ilości od 70 do 90% wagowych.

Korzystnie również, gdy paklitaksel dodaje się w ilości od 5 do 20% wagowych.

Korzystne jest, gdy średnia średnica otrzymanych mikrocząstek jest w zakresie od 1,5 do 2,5 μm .

Korzystnie jako surfaktant stosuje się roztwór poli(alkoholu winylowego) o średniej masie cząsteczkowej w zakresie od 25 do 70 kDa i o stężeniu nie większym niż 15% wagowych.

Wziewny preparat farmakologiczny, według wynalazku, może być aplikowany pacjentom ze zdiagnozowanymi zlokalizowanymi zmianami nowotworowymi w płucach za pomocą inhalatora suchego proszku DPI i nakierowywany za pomocą zewnętrznego pola magnetycznego w pożądanym miejscu. Takie rozwiązanie poprawia efektywność leczenia poprzez zwiększenie stężenia leku bezpośrednio w miejscach zmienionych chorobowo oraz ograniczenie dostarczania szkodliwych leków cytotatycznych do zdrowych części organizmu pacjenta. Ponadto ilość używanych leków cytotatycznych zostaje znacząco zmniejszona, co pozwala na obniżenie kosztów terapii, ponieważ koszt materiałów zużytych na wyprodukowanie wziewnego preparatu w postaci mikrocząstek jest znacznie mniejszy niż koszt samego leku.

Dodatkowo, dzięki zawartości nanocząstek magnetycznych możliwe jest dostarczenie mikrocząstek w okolice guza oraz kontrolowane uwolnienie leku bezpośrednio do komórek nowotworowych. W trakcie inhalacji mikrocząstki przyciągane są w okolice guza nowotworowego przy pomocy zewnętrznego

nego magnezu. Następnie, poprzez przyłożenie zewnętrznego pola elektromagnetycznego, nanocząstki magnetyczne tlenku żelaza (III) lub tlenku żelaza (II, III) będące składnikiem preparatu, wprawiane są w drgania prowadzące do lokalnego podwyższenia temperatury, stopienia kwasów tłuszczowych tworzących mikrocząstki i szybkiego uwolnienia leku, korzystnie paklitakselu bezpośrednio do guza nowotworowego. Lek cytostatyyczny oddziałuje na komórki nowotworowe doprowadzając do zaburzeń ich podziałów, co prowadzi do ich obumierania, a w konsekwencji do zmniejszenia obszaru płuc zajętego przez nowotwór. Warstwa krzemionki powlekająca nanocząstki magnetyczne ogranicza uwalnianie z nich jonów żelaza oraz polepsza dyspersję nanocząstek wewnątrz mikrocząstek preparatu.

Kwasy tłuszczowe użyte do wytworzenia mikrocząstek są wchłanianie przez komórki nabłonka płucnego i wykorzystywane w różnych procesach metabolicznych. Nie gromadzą się one w drogach oddechowych i nie powodują dodatkowych podrażnień lub stanów zapalnych. Natomiast nanocząstki magnetyczne tlenku żelaza (III) lub tlenku żelaza (II, III) usuwane są z płuc przez układ fagocytarny.

Skład wziewnego preparatu farmakologicznego został tak opracowany, aby temperatura topnienia mikrocząstek była wyższa niż 37°C, co zapobiega stopieniu się ich już w trakcie inhalacji w obszarze górnych dróg oddechowych i przedwczesnemu uwolnieniu leku.

Mikrocząstki preparatu mają właściwości fizyczne korzystne dla inhalacji, a metoda ich wytwarzania pozwala na uzyskiwanie serii materiałów o powtarzalnych właściwościach. Rozmiar mikrocząstek w zakresie od 1 do 5 µm został wybrany ze względu na najlepsze właściwości aerodynamiczne takich mikrocząstek oraz największą efektywność w trakcie inhalacji. Jak wynika z publikacji C. Bosquillon i in., pt. Influence of formulation excipients and physical characteristics of inhalation dry powders on their aerosolization performance, Journal of Controlled Release, 2001. 70(3): str. 329–339, przy tak dobranych rozmiarach mikrocząstek, co najmniej 30% z nich dociera do dolnych dróg oddechowych. Uzyskanie sferycznych mikrocząstek o takich rozmiarach jest możliwe dzięki zastosowaniu metody emulsyfikacji na gorąco w obecności fazy wodnej zawierającej surfaktant.

Zaletą preparatu farmakologicznego w postaci suchego proszku do inhalacji jest również fakt, iż jest on znacznie stabilniejszy niż płynne formułacje leków np. roztwory lub zawiesiny oraz może być on przechowywany przez dłuższy czas w temperaturze około 4°C.

Wziewny preparat farmakologiczny oraz sposób wytwarzania wziewnego preparatu farmakologicznego, według wynalazku, objaśniono poniżej w praktycznych przykładach realizacji oraz schematem czynności przedstawionym na rysunku.

P r z y k ł a d 1

Do próbówki typu Eppendorf o pojemności 2 ml odważono 180 mg (90% wagowych) kwasu dodekanowego $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$ o temperaturze topnienia 45°C, 10 mg (5% wagowych) paklitakselu $\text{C}_{47}\text{H}_{51}\text{NO}_{14}$ oraz 10 mg (5% wagowych) nanocząstek magnetycznych tlenku żelaza (II, III) powleczonych warstwą krzemionki. Składniki umieszczono w łaźni wodnej i ogrzewano w temperaturze 65°C, aż do całkowitego stopienia kwasu dodekanowego. Następnie mieszaninę homogenizowano przy pomocy sonifikatora ultradźwiękowego przez 3 min, po czym dodano ją do 2 ml uprzednio przygotowanego wodnego roztworu surfaktantu w postaci poli(alkoholu winylowego) (PVA) o średniej masie cząsteczkowej 31 kDa i stężeniu 10% wagowych, również podgrzanego do temperatury 65°C. Całość poddano emulsyfikacji na gorąco przez 90 sekund na mieszadło typu vortex, a uzyskaną mikroemulsję od razu schłodzono ciekłym azotem w temperaturze -195,8°C, otrzymując stałe mikrocząstki o kształcie sferycznym i o średniej średnicy 1,9 µm, które następnie oczyszczono z nadmiaru PVA poprzez płukanie wodą, wirowanie i dekantację. Wypłukane mikrocząstki zamrożono w temperaturze -80°C i liofilizowano przez 24 h w celu uzyskania suchego proszku, który przechowuje się w 4°C.

P r z y k ł a d 2

Wziewny preparat farmakologiczny zawiera:

- 85% wagowych kwasu tetradekanowego $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$ i kwasu heksadekanowego $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$, zmieszanych w stosunku wagowym 58:42, o temperaturze topnienia 48°C,
- 10% wagowych paklitakselu $\text{C}_{47}\text{H}_{51}\text{NO}_{14}$,
- 5% wagowych nanocząstek magnetycznych z tlenku żelaza (II, III), powleczonych warstwą krzemionki.

Mikrocząstki mają kształt sferyczny, o średniej średnicy 2,2 µm.

Badanie mobilności magnetycznej wykazało, że magnes o udźwigu 40 kg był w stanie przyciągnąć powyżej 96% mikrocząstek do odległości 14 mm.

Badania *in vitro* wziewnego preparatu farmakologicznego w kontakcie z nowotworowymi komórkami nabłonkowymi płuc (linia A549) pokazały wysoką skuteczność mikrocząstek, a zmniejszenie żywotności komórek było widoczne już po 3 godzinach. Ponadto, równoległe badania porównawcze prowadzone z użyciem mikrocząstek wykonanych z mieszaniny kwasu tetradekanowego i kwasu heksadekanowego i nanocząstek magnetycznych, ale bez dodatku paklitakselu, wykazały brak negatywnego wpływu tej mieszaniny na żywotność komórek.

Przykład 3

W celu otrzymania wziewnego preparatu farmakologicznego o składzie przedstawionym w przykładzie 3, do próbówki typu Eppendorf o pojemności 2 ml odważono 170 mg kwasu tetradekanowego $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$ i kwasu heksadekanowego $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$, zmieszanych w stosunku wagowym 58:42, o temperaturze topnienia 48°C , 20 mg paklitakselu $\text{C}_{47}\text{H}_{51}\text{NO}_{14}$ oraz 10 mg nanocząstek magnetycznych z tlenku żelaza (II, III) powleczonych warstwą krzemionki. Składniki umieszczono w łaźni wodnej i ogrzewano w temperaturze 68°C , aż do całkowitego stopienia mieszaniny kwasów. Następnie całość homogenizowano przy pomocy sonifikatora ultradźwiękowego przez 3 min, po czym dodano ją do 2 ml uprzednio przygotowanego wodnego roztworu surfaktantu w postaci poli(alkoholu winylowego) (PVA) o średniej masie cząsteczkowej 31 kDa i stężeniu 10% wagowych, również podgrzanego do temperatury 68°C . Całość poddano emulsyfikacji na gorąco przez 90 sekund na mieszadle typu vortex, a uzyskaną mikroemulsję od razu schłodzono ciekłym azotem w temperaturze $-195,8^\circ\text{C}$, otrzymując stałe mikrocząstki o kształcie sferycznym i o średniej średnicy $2,2\ \mu\text{m}$, które następnie oczyszczono z nadmiaru PVA poprzez płukanie wodą, wirowanie i dekantację. Wyplukane mikrocząstki zamrożono w temperaturze -80°C i liofilizowano przez 24 h w celu uzyskania suchego proszku, który przechowuje się w 4°C .

Przykład 4

Wziewny preparat farmakologiczny zawiera:

- 90% wagowych kwasu tetradekanowego $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$ i kwasu oktadekanowego $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$, zmieszanych w stosunku wagowym 65:35, o temperaturze topnienia 52°C ,
- 5% wagowych paklitakselu $\text{C}_{47}\text{H}_{51}\text{NO}_{14}$,
- 5% wagowych nanocząstek magnetycznych tlenku żelaza (III), powleczonych warstwą krzemionki.

Mikrocząstki mają kształt sferyczny, o średniej średnicy $2,1\ \mu\text{m}$.

Badanie mobilności magnetycznej wykazało, że magnes o udźwigu 40 kg był w stanie przyciągnąć powyżej 94% mikrocząstek do odległości 13 mm.

Badania *in vitro* wziewnego preparatu farmakologicznego w kontakcie z nowotworowymi komórkami nabłonkowymi płuc (linia A549) pokazały wysoką skuteczność mikrocząstek, a zmniejszenie żywotności komórek było widoczne już po 3 godzinach. Ponadto, równoległe badania porównawcze prowadzone z użyciem mikrocząstek wykonanych z mieszaniny kwasu tetradekanowego, kwasu oktadekanowego i nanocząstek magnetycznych tlenku żelaza (III), ale bez dodatku paklitakselu, wykazały brak negatywnego wpływu tej mieszaniny na żywotność komórek.

Przykład 5

W celu otrzymania wziewnego preparatu farmakologicznego o składzie przedstawionym w przykładzie 5, do próbówki typu Eppendorf o pojemności 2 ml odważono 180 mg kwasu tetradekanowego $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$ i kwasu oktadekanowego $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$, zmieszanych w stosunku wagowym 65:35, o temperaturze topnienia 52°C , 10 mg paklitakselu $\text{C}_{47}\text{H}_{51}\text{NO}_{14}$ oraz 10 mg nanocząstek magnetycznych tlenku żelaza (III) powleczonych warstwą krzemionki. Składniki umieszczono w łaźni wodnej i ogrzewano w temperaturze 72°C , aż do całkowitego stopienia mieszaniny kwasów. Następnie całość homogenizowano przy pomocy sonifikatora ultradźwiękowego przez 3 min, po czym dodano ją do 2 ml uprzednio przygotowanego wodnego roztworu surfaktantu w postaci poli(alkoholu winylowego) (PVA) o średniej masie cząsteczkowej 31 kDa i stężeniu 10% wagowych, również podgrzanego do temperatury 72°C . Całość poddano emulsyfikacji na gorąco przez 90 sekund na mieszadle typu vortex, a uzyskaną mikroemulsję od razu schłodzono ciekłym azotem w temperaturze $-195,8^\circ\text{C}$, otrzymując stałe mikrocząstki o kształcie sferycznym i o średniej średnicy $2,1\ \mu\text{m}$, które następnie oczyszczono z nadmiaru PVA poprzez płukanie wodą, wirowanie i dekantację. Wyplukane mikrocząstki zamrożono w temperaturze -80°C i liofilizowano przez 24 h w celu uzyskania suchego proszku, który przechowuje się w 4°C .

Zastrzeżenia patentowe

1. Wziewny preparat farmakologiczny do leczenia zlokalizowanych guzów nowotworowych, w postaci sferycznych mikrocząstek o średnicy w zakresie od 1 do 5 μm , zawierających lek cytostatyczny, który stanowi paklitaksel oraz nasycony kwas tłuszczowy wybrany z grupy obejmującej kwas tetradekanowy $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$, kwas heksadekanowy $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$, kwas oktadekanowy $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$, o temperaturze topnienia powyżej 37°C i nanocząstki magnetyczne powleczone warstwą krzemionki, **znamienny tym**, że zawiera w ilości co najmniej 70% wagowych: kwas tetradekanowy i kwas heksadekanowy, zmieszane w stosunku 58:42 albo kwas tetradekanowy i kwas oktadekanowy, zmieszane w stosunku 65:35, 5–10% wagowych nanocząstek magnetycznych tlenku żelaza (III) lub tlenku żelaza (II, III), oraz paklitaksel, zawarty w preparacie w ilości nie większej niż 20% wagowych, przy czym temperatura topnienia mieszaniny kwasów tłuszczowych wynosi 48°C lub 52°C .
2. Preparat, według zastrz. 1, **znamienny tym**, że zawiera mieszaninę kwasów tłuszczowych w ilości od 70 do 90% wagowych.
3. Preparat, według zastrz. 1, **znamienny tym**, że zawiera paklitaksel w ilości od 5 do 20% wagowych.
4. Preparat, według zastrz. 1, **znamienny tym**, że średnia średnica mikrocząstek jest w zakresie od 1,5 do 2,5 μm .
5. Sposób wytwarzania wziewnego preparatu farmakologicznego do leczenia zlokalizowanych guzów nowotworowych, określonego w zastrz. 1, w postaci mikrocząstek o średnicy w zakresie od 1 do 5 μm , zawierających lek cytostatyczny, który stanowi paklitaksel oraz nasycony kwas tłuszczowy wybrany z grupy obejmującej kwas tetradekanowy $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$, kwas heksadekanowy $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$, kwas oktadekanowy $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$ o temperaturze topnienia powyżej 37°C , i nanocząstki magnetyczne powleczone warstwą krzemionki, przy czym sposób prowadzi się metodą emulsyfikacji, **znamienny tym**, że do co najmniej 70% wagowych: kwasu tetradekanowego i kwasu heksadekanowego zmieszanych w stosunku 58:42 albo kwasu tetradekanowego i kwasu oktadekanowego zmieszanych w stosunku 65:35, dodaje się 5–10% wagowych nanocząstek magnetycznych tlenku żelaza (III) lub tlenku żelaza (II, III), oraz paklitaksel, w ilości nie większej niż 20% wagowych, całość podgrzewa się do temperatury co najmniej o 20°C wyższej od temperatury topnienia mieszaniny kwasów tłuszczowych i homogenizuje się stopioną mieszaniną ultradźwiękami przez 2–3 minuty, a następnie dodaje ją do uprzednio przygotowanego wodnego roztworu surfaktantu, również podgrzanego do temperatury o co najmniej 20°C wyższej od temperatury topnienia mieszaniny kwasów tłuszczowych, przy czym stosuje się 100–300 mg mieszaniny kwasów tłuszczowych zawierających paklitaksel i nanocząstki magnetyczne na 2 ml roztworu surfaktantu, po czym poddaje się otrzymaną mieszaninę emulsyfikacji na gorąco przez 30 do 120 sekund i od razu chłodzi się w temperaturze od -40 do -196°C , korzystnie w ciekłym azocie, aby zachować sferyczny kształt i rozmiar otrzymanych mikrocząstek w zakresie od 1 do 5 μm , następnie zaś oczyszcza się mikrocząstki z nadmiaru surfaktantu poprzez płukanie wodą, wirowanie i dekantację, ponownie zamraża w temperaturze od -40 do -196°C i suszy przez liofilizację przez 12–48 godzin.
6. Sposób, według zastrz. 5, **znamienny tym**, że stosuje się mieszaninę kwasów tłuszczowych w ilości od 70 do 90% wagowych.
7. Sposób, według zastrz. 5, **znamienny tym**, że paklitaksel dodaje się w ilości od 5 do 20% wagowych.
8. Sposób, według zastrz. 5, **znamienny tym**, że średnia średnica otrzymanych mikrocząstek jest w zakresie od 1,5 do 2,5 μm .
9. Sposób, według zastrz. 5, **znamienny tym**, że jako surfaktant stosuje się roztwór poli(alkoholu winylowego) o średniej masie cząsteczkowej w zakresie od 25 do 70 kDa i o stężeniu nie większym niż 15% wagowych.