



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **123665** (13) **C2**

(51) МПК (2021.01)

A61K 9/00

A61K 9/127 (2006.01)

A61K 47/00

A61K 51/12 (2006.01)

A61K 41/13 (2020.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

<p>(21) Номер заявки: a 2017 06347</p> <p>(22) Дата подання заявки: 24.11.2015</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 13.05.2021</p> <p>(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 14306875.7</p> <p>(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 25.11.2014</p> <p>(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: EP</p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: 10.11.2017, Бюл.№ 21</p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 12.05.2021, Бюл.№ 19</p> <p>(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: PCT/EP2015/077425, 24.11.2015</p>	<p>(72) Винахідник(и): Жермен Маттьє (FR), Мер Марі-Едіт (FR), Поттьє Аньєс (FR), Леві Лоран (FR)</p> <p>(73) Володілець (володільці): КЮРАДІГМ САС, 60 rue de Wattignies, 75012 Paris, France (FR)</p> <p>(74) Представник: Бочаров Максим Анатолійович, реєстр. №367</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2006/127962 A2, 30.11.2006 WO 2012/104275 A2, 09.08.2012 WO 2005/063305 A1, 14.07.2005 EP 2000150 A2, 10.12.2008 WO 2012/104277 A2, 09.08.2012</p>
--	---

(54) ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ, ЇЇ ОДЕРЖАННЯ І ЗАСТОСУВАННЯ

(57) Реферат:

Даний винахід стосується терапевтичного або профілактичного способу підвищення терапевтичної або профілактичної ефективності фармацевтичної сполуки у суб'єкта, який потребує цього, де спосіб включає стадію послідовного введення (i) щонайменше однієї біосумісної наночастинки на основі ліпідів, де найбільший розмір біосумісної наночастинки становить від приблизно 4 до приблизно 500 нм, і величина поверхневого негативного заряду біосумісної наночастинки дорівнює або нижча -10 мВ, і (ii) щонайменше одного носія на основі ліпідів, який містить щонайменше одну фармацевтичну сполуку, де носій не містить або не демонструє полімер, вибраний із декстрану, полісіалової кислоти (PSA), гіалуронової кислоти, хітозану, гепарину, полівінілпіролідону (PVP), полівінілового спирту (ПВС), поліакриламід, полі(етиленгліколю) (ПЕГ) і співполімеру на основі ПЕГ, де фармацевтична сполука інкапсульована або імпрегнована в носій, і де вказану щонайменше одну біосумісну наночастинку вводять суб'єкту з інтервалом від більше ніж 5 хвилин до приблизно 24 годин до

UA 123665 C2

щонайменше одного носія, який містить щонайменше одну фармацевтичну сполуку, і де біосумісну наночастинку не застосовують як таку як фармацевтичну сполуку.

ОПИС

ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ, ДО ЯКОЇ НАЛЕЖИТЬ ВИНАХІД

Винахід належить до фармацевтичної композиції, що містить комбінацію (i) щонайменше однієї біосумісної наночастинки і (ii) щонайменше одного носія, що містить щонайменше одну сполуку, що викликає інтерес, як правило, щонайменше одну фармацевтичну сполуку, що підлягає введенню суб'єкту, що потребує такої щонайменше однієї сполуки, що викликає інтерес, причому комбінація щонайменше однієї біосумісної наночастинки і щонайменше одного носія, що містить щонайменше одну сполуку, що викликає інтерес, посилює ефективність сполуки(лук), що викликає інтерес. Найбільший розмір біосумісної наночастинки звичайно становить від приблизно 4 до приблизно 500 нм, і її абсолютна величина поверхневого заряду становить щонайменше 10 мВ (10 мВ). Носій не містить якого-небудь поверхневого стерично стабілізуючого агента.

Винахід також належить до такої композиції для застосування для введення сполуки(лук), що викликає інтерес, суб'єкту, що потребує цього, причому щонайменше одну наночастинку з одного боку і щонайменше один носій, що містить сполуку, що викликає інтерес, з іншого боку слід вводити вказаному суб'єкту послідовно, звичайно з інтервалом від більше ніж 5 хвилин до приблизно 72 годин одне від одного.

Комбіноване і, як правило, послідовне введення суб'єкту щонайменше однієї біосумісної наночастинки і щонайменше одного носія, що містить сполуку(и), що викликає інтерес, зберігає фармацевтичну (тобто терапевтичну, профілактичну або діагностичну) ефективність вказаної сполуки(лук), що викликає інтерес, при її зниженій токсичності у вказаного суб'єкта або збільшує її фармацевтичну ефективність при еквівалентній або зниженій токсичності у порівнянні з фармацевтичною ефективністю і токсичністю, викликаною вказаною сполукою (сполуками) під час

введення у стандартній фармацевтичній дозі, як правило, за відсутністю якої-небудь біосумісної наночастинки і/або носія.

Фармацевтична композиція за винаходу звичайно дозволяє зменшити щонайменше на 10 % фармацевтичну дозу(и) сполуки(лук), що вводиться, у порівнянні із стандартною фармацевтичною дозою(дозами) вказаної сполуки(лук), як правило, за відсутністю якої-небудь біосумісної наночастинки і/або носія, при збереженні тієї самої фармацевтичної ефективності при еквівалентній токсичності, переважно при зниженій токсичності, для суб'єкта або при збільшенні фармацевтичної ефективності при еквівалентній або зниженій токсичності для суб'єкта.

РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

Використовування нанотехнологій для доставки терапевтичних і діагностичних засобів більш безпечним і ефективним способом для пацієнтів призвело до підвищеного інтересу до цієї галузі впродовж останніх десятиліть. З'явилися системи доставки лікарських засобів, як правило, носії, такі як ліпосоми, емульсії або міцели, призначені для максимізації терапевтичної ефективності лікарських засобів завдяки контролю профілю їх біорозподілення. Ці системи дають можливість інкапсулювати погано розчинний препарат, захистити препарат від руйнування або елімінації і/або змінити циркуляцію в крові і розподілення лікарського засобу.

Спостережуваний швидкий кліренс в крові першого покоління систем доставки лікарських засобів (DDS) (через їх захоплення мононуклеарною фагоцитарною системою (MPS)) підштовхнув до розробки другого покоління DDS, що володіють поверхнею, модифікованою стерично стабілізуючими агентами, вибраними для привнесення властивості "малопомітності" до DDS під час прикріплення до її поверхні. Ці агенти, як правило, являють собою гнучкі і/або гідрофільні полімери, такі як поліетиленгліколеві (ПЕГ) полімери, і, як правило, можуть нести поверхневий заряд, який є слабо негативним або позитивним. Стерична стабілізація відвертає неспецифічне зв'язування поверхні DDS з компонентами крові і знижує її швидке поглинання і кліренс in vivo клітинами мононуклеарної фагоцитарної системи (MPS), що призводить до пролонгованого часу циркуляції DDS у кровотоку [Jain K.R. and Stylianopoulos T. Delivering nanomedicine to solid tumors. Nature Reviews. Clinical Oncology 2010, 7, 653-664]. Ліпосомальні довго циркулюючі системи доставки лікарських препаратів у формі наночастинок (NDDS) є найчастіше досліджуваним типом NDDS; проте синтетичні амфифільні полімери також були використані, щоб стерично стабілізувати інші типи NDDS для зміни їх біорозподілення [Torchilin V.P. Multifunctional, stimuli-sensitive nanoparticulate systems for drug delivery. Nature Reviews. Drug Discovery 2014, 13, 813-827].

Незважаючи на це збільшення часу циркуляції в крові (тобто покращене транспортування в крові), яке вважалося значущим для доставки терапевтичної сполуки до її сайту-мішені, було виявлено, що гнучке і/або гідрофільне полімерне покриття, як правило, ПЕГ-покриття, негативно

впливало на внутрішньоклітинну доставку фармацевтичної сполуки (тобто вивільнення сполуки на її сайт-мішені), що зрештою призвело до втрати активності для системи доставки. Спосіб подолання цього обмеження полягає у використуванні розщеплюваних ПЕГ-систем. Проте зростаюча складність конструкції таких носіїв може створювати труднощі у відтворюваності властивостей поверхні носія, що призводить до неприйнятної мінливості характеристик від партії до парти. Більше того, продовження часу дії цих "малопомітних" DDS було пов'язано з великим числом побічних ефектів. Було виявлено, наприклад, що DOXIL, ПЕГільований ліпосомальний склад, що містить доксорубіцин, є причиною серйозних побічних ефектів, таких як синдром "кисть-стопа" або мукозит. Гідрофільне покриття ліпосом було досліджено як імовірно сприяюче їх накопиченню в екриновій потовій залозі на долонній поверхні кисті і підодшві стопи [Pegylated liposomal doxorubicin-related palmar plantar erythrodysesthesia ((hand-foot syndrome). D. Lorusso із співавт. *Annals of Oncology*. 2007; 18, 1159-1164].

WO 2005/063305 належить до складання, що містить газонаповнену мікробульбашку (з розміром звичайно щонайменше 0,5 мкм) і компонент (з розміром приблизно менше 100 нм), приєднаний до вказаної мікробульбашки. Одержане складання призначено для застосування як фармацевтично активний компонент у діагностично і/або терапевтично активних складах. Два компоненти, тобто газонаповнена мікробульбашка і компонент, приєднаний до мікробульбашки, вводять одночасно звичайно для покращення зображення на ділянці ультразвукової контрастної візуалізації, включаючи прицільну ультразвукову візуалізацію, опосередковану ультразвуком доставку лікарських препаратів і інші методи візуалізації.

Як видно з попереднього рівня техніки і, незважаючи на тривалу медичну потребу, безпечна і ефективна доставка фармацевтичних сполук (включаючи терапевтичні, профілактичні і діагностичні сполуки) до їх сайту(ів)-мішені(ей) залишається проблемою. Існує явна потреба у покращенні ефективності і безпеки сполуки, або, іншими словами, у транспортуванні і вивільненні фармацевтичної сполуки, щоб вказана сполука досягла свого сайту-мішені у суб'єкта у необхідній і достатній кількості, щоб одержати бажаний діагностичний, терапевтичний або профілактичний ефект.

ДОКЛАДНИЙ ОПИС

Наданий винахід у теперішній часі дозволяє оптимізувати ефективність сполуки, що викликає інтерес (що в даному описі також просто іменується як "сполука"), незалежно від її передбачуваного застосування у контексті терапії, профілактики або діагностики. Композиція, описана у даному документі, яка являє собою комбінацію (i) щонайменше однієї біосумісної наночастинки і (ii) щонайменше одного носія, що містить щонайменше одну сполуку, що викликає інтерес, оптимізує фармакокінетичні параметри щонайменше однієї сполуки, що викликає інтерес, і, як наслідок, нині робить можливим розробку фармацевтичних сполук, які не могли бути розроблені інакше, наприклад, із-за їх неприйнятної токсичності. Як правило, біосумісну наночастинку не застосовують як таку як фармацевтичну сполуку, тобто як терапевтичну, профілактичну або діагностичну сполуку.

Типова композиція за винаходом (що у даному писанні звичайно іменується як "фармацевтична композиція") являє собою композицію, що містить комбінацію (i) щонайменше біосумісної наночастинки і (ii) щонайменше носія, що містить щонайменше одну сполуку ("сполуку, що викликає інтерес"), де найбільший або самий великий розмір біосумісної наночастинки звичайно становить від приблизно 4 нм до приблизно 500 нм, і абсолютна величина поверхневого заряду біосумісної наночастинки становить щонайменше 10 мВ, і де носій не містить якого-небудь поверхневого стерично стабілізуючого агента, тобто не містить гнучкий і/або гідрофільний полімер, переважно не містить гідрофільний полімер, що несе слабо негативний або позитивний заряд до поверхні носія, такий як ПЕГ.

Як правило, співвідношення між (щонайменше, однією) біосумісними наночастинками і (щонайменше, одним) носіями, що містять щонайменше одну сполуку, що викликає інтерес, становить від 0,1/1 до 1000/1 або від 0,5/1 до 1000/1, переважно від 0,5/1 до 500/1, ще більш переважно від 0,5/1 до 300/1.

Терміни "приблизно" і "близько", коли вони пов'язані зі значенням, таким як, наприклад, розмір наночастинки або часовий інтервал, вказують на те, що відхилення від вказаного значення, яке було б визнано кваліфікованим фахівцем як невелике відхилення, суттєво не впливає на властивості об'єкту, з яким воно пов'язано, і що вказаний об'єкт залишається в межах суті заявленого винаходу.

Переважним предметом винаходу є фармацевтична композиція, що містить комбінацію (i) щонайменше однієї біосумісної наночастинки і (ii) щонайменше одного носія, що містить щонайменше одну сполуку, що викликає інтерес, як правило щонайменше одну фармацевтичну сполуку, в якій найбільший або самий великий розмір біосумісної наночастинки становить від

приблизно 4 нм до приблизно 500 нм, і абсолютна величина поверхневого заряду біосумісної наночастинки становить щонайменше 10 мВ ($|10 \text{ мВ}|$), і де носій не містить якого-небудь поверхневого стерично стабілізуючого агента, для застосування для введення щонайменше однієї сполуки, що викликає інтерес, суб'єкту, що потребує цього, причому щонайменше одна

5

наночастинка з одного боку і щонайменше один носій, що містить сполуку, що викликає інтерес, з іншого боку слід вводити окремо суб'єкту, що потребує вказаної щонайменше однієї сполуки, що викликає інтерес, звичайно з інтервалом від більше ніж 5 хвилин до приблизно 72 годин одне від одного, і де біосумісну наночастинку не застосовують як таку як фармацевтичну сполуку.

10

Комбіноване і, як правило, послідовне введення суб'єкту щонайменше однієї біосумісної наночастинки і щонайменше одного носія, що містить сполуку(и), що викликає інтерес, шляхом застосування композиції за винаходом, звичайно дає (зберігає) ту саму фармацевтичну (тобто терапевтичну, профілактичну або діагностичну) ефективність сполуки(лук) при її зниженій токсичності для суб'єкта або збільшує фармацевтичну ефективність сполуки(лук) при еквівалентній або зниженій токсичності для суб'єкта (переважно при зниженій токсичності) у порівнянні з фармацевтичною ефективністю і токсичністю, викликану стандартною фармацевтичною дозою вказаної сполуки(лук), як правило, за відсутністю якої-небудь біосумісної наночастинки і/або носія.

15

Фармацевтична композиція за винаходом звичайно дозволяє зменшити щонайменше на

20

10 %, переважно щонайменше на 15 %, фармацевтичну (тобто терапевтичну, профілактичну, або діагностичну) дозу(и) сполуки(лук), що вводиться, у порівнянні зі стандартною фармацевтичною дозою(дозами) вказаної сполуки(лук), як правило, за відсутністю якої-небудь біосумісної наночастинки і/або носія, (i) при збереженні тієї самої фармацевтичної ефективності при еквівалентній токсичності, переважно при зниженій токсичності, для суб'єкта або (ii) при збільшенні фармацевтичної ефективності при еквівалентній або зниженій токсичності для суб'єкта.

25

Біосумісна наночастинка

Оскільки форма частинки може впливати на її "біосумісність", частинки, що мають якісно однорідну форму, є переважними. Таким чином, з фармакокінетичних причин переважними є наночастинки, що є по суті сферичними/круглими або яйцеподібними за формою. Така форма також сприяє взаємодії наночастинок з клітинами або поглинанню ними. Особливо переважна сферична/кругла форма.

30

По суті винаходу термін "наночастинка" належить до продукту, зокрема до синтетичного продукту, з розміром у манометровому діапазоні, звичайно від приблизно 1 нм до приблизно 500 нм, переважно від приблизно 4 нм до приблизно 500 нм, від приблизно 4 і приблизно 4 00 нм, від приблизно 30 нм до приблизно 300 нм, від приблизно 20 нм до приблизно 300 нм, від приблизно 10 нм до приблизно 300 нм, наприклад, від приблизно 4 нм до приблизно 100 нм, наприклад, приблизно 10 нм, 15 нм або 20 нм і приблизно 100 нм, або від приблизно 100 нм до приблизно 500 нм, звичайно від приблизно 100 нм до приблизно 300 нм.

35

Терміни "розмір наночастинки", "самий великий розмір наночастинки" і "найбільший розмір наночастинки" в даному описі звичайно належать до "найбільшого або самого великого розміру наночастинки" або "діаметра наночастинки", коли вона сферична/кругла або яйцеподібна за формою. Трансмісійну електронну мікроскопію (ТЕМ) або Кріо-ТЕМ можна використовувати для вимірювання розміру наночастинки. Крім того, для вимірювання гідродинамічного діаметра наночастинок у розчині можна використовувати динамічне розсіювання світла (DLS). Ці два способи можуть також бути використані один за іншим для порівняння гідродинамічного діаметра наночастинки, виміряного за допомогою DLS, з розміром вказаної наночастинки, виміряним за допомогою TEM або Кріо-ТЕМ, для підтвердження вказаного розміру. Переважним способом є DLS (див. Міжнародний стандарт ISO22412 Аналіз розміру частинок -

45

Динамічне розсіювання світла, Міжнародна організація по стандартизації (ISO) 2008). Для використання у контексті винаходу абсолютний електростатичний поверхневий заряд (що також іменується у даному описі як "заряд" або "поверхневий заряд") біосумісної наночастинки має бути вище $|10 \text{ мВ}|$ (абсолютна величина). Поверхневий заряд наночастинки звичайно визначають вимірюванням дзета-потенціалу у водному середовищі для концентрації наночастинок від 0,2 до 10 г/л, для рН від 6 до 8, і звичайно для концентрацій електролітів у водному середовищі від 0,001 і 0,2 М, наприклад, 0,01 М або 0,15 М.

55

Як правило, біосумісна наночастинка за наданим винаходом має електронний поверхневий заряд щонайменше $|10 \text{ мВ}|$, тобто нижче -10 мВ або вище +10 мВ, наприклад, нижче від -12 мВ або -15 мВ до -20 мВ або вище від +12 мВ або +15 мВ до +20 мВ, звичайно нижче -15 мВ або вище +15 мВ. Переважно, щоб біосумісна наночастинка за наданим винаходом мала абсолютну

60

величину електронного поверхневого заряду ("абсолютна величина поверхневого заряду") більше 10 мВ, причому згаданий заряд ще більш переважно є негативним зарядом.

5 Комбіновані властивості, розмір і поверхневий заряд, наночастинок дозволяють забезпечити короткий час циркуляції наночастинок в крові і екстравазацію у печінку. Отже, шляхом
 10 послідовного введення біосумісних наночастинок за винаходом і носія, що містить сполуку(и), що викликає інтерес, ніякої спільної циркуляції або обмеженої спільної циркуляції двох сполук (тобто біосумісної наночастинок і носія, що містить сполуку(и)) не досягається. Таким чином, комбіновані властивості біосумісних наночастинок, розмір і поверхневий заряд, дозволяють
 15 безпечно використовувати сполуку, що викликає інтерес, при забезпеченні (збереженні) тієї самої фармацевтичної (тобто терапевтичної, профілактичної або діагностичної) ефективності сполуки(лук) при її зниженій токсичності для суб'єкта або, іншими словами, при збільшенні фармацевтичної ефективності сполуки(лук) при її еквівалентній або зниженій токсичності для суб'єкта (переважно зниженій токсичності) у порівнянні з фармацевтичною ефективністю і токсичністю, викликаною стандартною фармацевтичною дозою вказаної сполуки(лук), як
 20 правило, за відсутністю якої-небудь біосумісної наночастинок і/або носія.

За умови, якщо вона заряджена, наночастинок, що використовується у контексті винаходу, може бути органічною або неорганічною. Можна також використовувати суміш органічних і неорганічних наночастинок.

20 Коли вона органічна, наночастинок може являти собою наночастинок на основі ліпідів (гліцероліпиду, фосфоліпиду, стероїдного ліпиду і так далі), таку як тверда ліпідна наночастинок, наночастинок на основі білку, що також іменується в даному описі як "білок-наночастинок" (наприклад, альбумін), наночастинок на основі полімеру ("полімерна наночастинок"), наночастинок на основі співполімеру ("співполімерна наночастинок"), наночастинок на основі вуглецю, вірусоподібну наночастинок (наприклад, вірусний вектор).

25 Органічна наночастинок може також являти собою наносферу (суцільну наночастинок) або нанокапсулу (порожнисту наночастинок), таку як ліпосома, гель, гідрогель, міцела, дендример і так далі. Також може бути використана суміш описаних у даному документі органічних наночастинок.

Полімер або співполімер можуть бути природного або синтетичного походження.

30 Приклади синтетичних (штучних) і природних полімерів або співполімерів, що використовуються у контексті винаходу для одержання органічних наночастинок, можуть бути вибрані з полімолочної кислоти (PLA), полі(лактид-спів-гліколевої)кислоти (PLGA), поліетиленгліколю (PEG), полілактину, полілактиду, складних ефірів поліоксіетилену і жирних кислот, поліпропіленгліколю, полісорбату, полівінілового спирту, поліакриламід, поліметилметакрилату, поліалкілціаноакрилату, полілактат-спів-гліколяту, полі(амідоамін), полі(етиленімін), альгілату, целюлози і целюлозних похідних полімерів, колагену, гіалуронової
 35 кислоти, поліглутамінової кислоти (PGA), актину, полісахариду і желатину.

40 Коли вона неорганічна, і коли її самий великий розмір у основному становить нижче приблизно 10 нм, наприклад, нижче приблизно 8 нм, нижче приблизно 7 нм, у основному становить від приблизно 7 нм до приблизно 4 нм, наприклад, нижче приблизно 6 нм, нижче приблизно 5 нм або нижче приблизно 4 нм, наночастинок може бути виготовлена з будь-якого неорганічного матеріалу. Неорганічний матеріал може, наприклад, містити металевий елемент з 3, 4, 5, 6 періодів періодичної таблиці Менделєєва, включаючи лантаноїди. Коли самий великий розмір наночастинок становить у основному нижче приблизно 10 нм, наночастинок
 45 можуть складатися у більш великі структури. Складання наночастинок у більш велику структуру звичайно може бути викликано взаємодією між наночастинками і біосумісним полімером(полімерами), білком(білками) і так далі. Більш велику структуру можна також одержати шляхом захоплення наночастинок в носії, звичайно суцільному носії, такому як желатинова структура (що також іменується у даному описі як "желатинова наночастинок") або
 50 порожнистому носії, такому як ліпосома. Ці більш великі структури можуть бути також розроблені фахівцем у даній галузі техніки для вивільнення наночастинок після введення *in vivo*.

55 Коли вона неорганічна, і коли самий великий розмір вказаної наночастинок у основному становить щонайменше 10 нм, у основному від 10 до 500 нм, наночастинок може містити щонайменше один з або може складатися з (i) одного або декількох двовалентних металевих елементів, вибраних, наприклад, з Mg, Ca, Ba і Sr, (ii) одного або декількох тривалентних металевих елементів, вибраних, наприклад, з Fe і Al, і (iii) одного або декількох чотиривалентних металевих елементів, включаючи Si.

60 У конкретному варіанті здійснення неорганічний матеріал наночастинок вибирають з (i) одного або декількох двовалентних металевих елементів, вибраних, наприклад, з Mg, Ca, Ba і

Sr, (ii) одного або декількох тривалентних металевих елементів, вибраних, наприклад, з Fe і Al, і (iii) одного або декількох чотиривалентних металевих елементів, включаючи Si.

У наступному конкретному варіанті здійснення неорганічний матеріал наночастинки вибирають з карбонату кальцію (CaCO_3), карбонату магнію (MgCO_3), гідроксиду магнію (Mg(OH)_2), гідроксиду заліза (Fe(OH)_2), оксигідроксиду заліза (FeOOH), оксиду заліза (Fe_3O_4 або Fe_2O_3), оксиду алюмінію (Al_3O_4), гідроксиду алюмінію (Al(OH)_3), оксигідроксиду алюмінію (AlOOH) і оксиду кремнію (SiO_2).

Наночастинки, що використовуються у описаних в даному документі композиціях, мають бути біосумісними, тобто сумісними з живими тканинами. У випадках, коли це обумовлено їх складом, наночастинки відповідно мають бути покриті біосумісним матеріалом, щоб стати придатними для застосування. У конкретному варіанті здійснення винаходу вказана у даному описі наночастинка, таким чином, покрита біосумісним покриттям.

Біосумісний матеріал може являти собою агент, що дозволяє взаємодіяти з біологічною мішенню. Такий агент звичайно приносить позитивний або негативний заряд на поверхню наночастинок, коли абсолютний заряд наночастинки становить щонайменше 10 мВ.

Агент, що утворює позитивний заряд на поверхні наночастинок, може бути вибраний, наприклад, з амінопропілтриетоксисилану або полілізіну. Агент, що утворює негативний заряд на поверхні наночастинок, може бути вибраний, наприклад, з фосфату (наприклад, поліфосфату, метафосфату, пірофосфату і так далі), карбоксилату (наприклад, цитрату або дикарбонової кислоти, зокрема бурштинової кислоти) і сульфату.

У конкретному варіанті здійснення, оскільки абсолютний заряд наночастинки становить щонайменше 10 мВ ($|10 \text{ мВ}|$), наночастинка може бути покрита біосумісним матеріалом, що містить агент, що має стеричну групу, такий агент, який також іменується у даному описі як "поверхневий стерично стабілізуювальний агент".

Такий агент, що має стеричну групу, може бути вибраний, наприклад, з поліетиленгліколю (PEG); поліетиленоксиду; полівінілового спирту; поліакрилату; поліакриламід (полі(N-ізопропілакриламід)); полікарбаміду; біополімера; полісахариду, такого як декстран, ксилан і целюлоза; колагену; цвітер-іонної сполуки, такої як полісульфобетаїн; і так далі.

Біосумісне покриття може переважно являти собою "суцільне покриття" (повний моношар). Це має на увазі наявність дуже високої щільності біосумісних молекул, що створюють відповідний заряд на усій поверхні наночастинки.

Біосумісне покриття може додатково містити агент, що містить, звичайно агент, що дозволяє візуалізувати колір з використанням стандартного обладнання для візуалізації.

Комбіноване введення щонайменше однієї біосумісної наночастинки разом з щонайменше одним носієм, що містить щонайменше одну сполуку, що викликає інтерес, зберігає фармацевтичну (тобто терапевтичну, профілактичну або діагностичну), у основному терапевтичну, ефективність для сполуки(лук), що викликає інтерес, при зниженій токсичності або збільшує фармацевтичну ефективність сполуки(лук), що викликає інтерес, при еквівалентній або зниженій токсичності для суб'єкта, звичайно під час введення суб'єкту, що потребує сполуки(сполуки), що викликає інтерес, з інтервалом від більше ніж 5 хвилин до приблизно 72 годин одне від одного, у порівнянні з фармацевтичною ефективністю і токсичністю, викликану стандартною фармацевтичною, звичайно терапевтичною, дозою(дозами) вказаної сполуки(лук), як правило, за відсутністю якої-небудь біосумісної наночастинки і/або носія.

У конкретному варіанті здійснення комбіноване введення щонайменше однієї біосумісної наночастинки і щонайменше одного носія, що містить щонайменше одну сполуку, що викликає інтерес, дозволяє зменшити щонайменше на 10 %, переважно щонайменше на 15 %, терапевтичну дозу сполуки(лук), що вводиться, звичайно під час введення суб'єкту, що потребує щонайменше однієї сполуки, що викликає інтерес, з інтервалом від більше ніж 5 хвилин до приблизно 72 годин одне від одного, у порівнянні зі стандартною терапевтичною дозою(дозами) вказаної сполуки(лук), як правило, за відсутністю якої-небудь біосумісної наночастинки і/або носія, при збереженні тієї самої терапевтичної ефективності при еквівалентній токсичності або зниженій токсичності (переважно зниженій токсичності) сполуки(лук) для суб'єкта; або при збільшенні терапевтичної ефективності при еквівалентній або зниженій токсичності сполуки(лук) для суб'єкта.

У конкретному варіанті здійснення щонайменше одну наночастинку вводять з декількома носіями, звичайно щонайменше з двома носіями, причому кожний з вказаних носіїв містить щонайменше одну сполуку, що викликає інтерес. Сполуки, що викликають інтерес, що є присутніми у першому носії, можуть бути ідентичними або відрізнятися від присутніх у другому або у іншому окремому носії.

Наночастинка переважно виводиться з суб'єкта, якому вона була введена, звичайно протягом від 1 години до 6 тижнів, наприклад, 1 місяця (4 тижні), протягом від 1 години до 1 місяця, наприклад, від 1 години до 3 тижнів, або від 1 години до 2 тижнів, або від 1 години до 1 тижня, після її введення суб'єкту, що потребує сполуку, що викликає інтерес.

5 Матеріал, з якого складається наночастинка (включаючи її біосумісне покриття, якщо воно є присутнім), має важливе значення для визначення біоперсистентності (тобто здатності збереження в організмі у суб'єкта) наночастинки. Наночастинка може бути віднесена до біорозкладаної (коли вона складається, наприклад, з біорозкладаного полімеру, такого як PLGA або PLA) і/або розчинюваної (наприклад, оксид заліза), або небіорозкладаної і нерозчинюваної.
10 Біорозкладані і розчинювані наночастинки швидше виводяться з суб'єкта, ніж небіорозкладані і/або нерозчинювані наночастинки.

Сполука, що викликає інтерес

Різні молекули або агенти можуть бути використані згідно з наданим винаходом як щонайменше одна сполука, що викликає інтерес, як правило, як щонайменше одна
15 фармацевтична сполука, що викликає інтерес. Ця сполука може бути терапевтичною, профілактичною або діагностичною сполукою, як описано раніше. Вона може бути органічною сполукою або неорганічною сполукою.

Приклади сполуки, що використовується як "сполука, що викликає інтерес", звичайно вибирають з малої молекули, цитотоксичної сполуки і координаційного комплексу перехідного металу.
20

У контексті наданого винаходу мала молекула являє собою низькомолекулярну (<900 дальтон) органічну сполуку з розміром близько 10^{-9} м. Більшість ліків - це малі молекули.

У конкретному варіанті здійснення сполука, що викликає інтерес, яка використовується у контексті наданого винаходу, являє собою малу молекулу націленої дії. Мала молекула націленої дії звичайно інгібує ферментативні домени на мутованих, надекспресованих або інших критичних білках (потенційні мішені у коївексті лікування раку) у злоякісних клітинах. Малі молекули націленої дії включають ті молекули, які націлені на поділ клітин (наприклад, інгібітор аврора-кінази або інгібітор циклін-залежної кінази) або інший біологічний механізм, такий як білковий обмін або модифікація хроматину (наприклад, інгібітор гістон-деацетилази).
25 Прикладами малих молекул націленої дії є іматиніб, рапаміцин, гефітиніб, ерлотиніб, сорафеніб, сунітиніб, нілотиніб, дазатиніб, лапатиніб, бортезоміб, аторвастатин і так далі.

У іншому конкретному варіанті здійснення сполука, що викликає інтерес, яка використовується у контексті наданого винаходу, являє собою цитотоксичну сполуку, наприклад, хіміотерапевтичний засіб. Цитотоксична сполука може бути, наприклад, вибрана з агента, що модифікує ДНК, такого як антрациклін (наприклад, доксорубіцин, даунорубіцин і так далі); алкілуючого агента (наприклад, мелфалану або темозоломіду); і лікарського засобу, що дуже точно перешкоджає визначеним фізіологічним механізмам, таким як полімеризація мікротрубочок (наприклад, таксол, таксол) або синтез метаболітів (наприклад, метотрексат). У конкретному варіанті здійснення цитотоксична сполука є активованою цитотоксичною сполукою.
30 Фотофрин є прикладом такої активованої цитотоксичної сполуки, яка звичайно використовується у контексті фотодинамічної терапії. Фотофрин активується лазерним джерелом для одержання його терапевтичного ефекту.

У іншому конкретному варіанті здійснення сполука, що викликає інтерес, яка використовується у контексті наданого винаходу, являє собою координаційний комплекс перехідного металу. Координаційні комплекси перехідних металів володіють потенційними перевагами у порівнянні з більш поширеними лікарськими засобами на основі органічних речовин, включаючи широкий спектр координаційних чисел і геометрії, доступні окисно-відновні стани, "регульованість" термодинаміки і кінетики заміщення ліганду, а також широку структурну різноманітність. Речовини на основі металів взаємодіють з молекулярними мішенями клітин, впливаючи на біохімічні функції, що призводить у результаті до руйнування злоякісних клітин. Координаційні комплекси перехідних металів звичайно являють собою цитотоксичні засоби (наприклад, координаційні комплекси платини: цисплатин, карбоплатин, оксалоплатин, або координаційні комплекси рутенію або золота), що діють на структури ДНК.
40

Носій

55 Щонайменше, одна сполука, що викликає інтерес, інкапсулюється або імпрегнується у носій або "прищеплюється" (зв'язується) до такого носія згідно зі способами, відомими фахівцю у даній галузі техніки. Схематичні зображення носіїв, що містять щонайменше одну сполуку, що викликає інтерес, наведені на фігурі 1.

Носій може являти собою органічний носій. Органічний носій звичайно вибирають S ліпідного носія (наприклад, гліцероліпиду, фосфоліпиду, стерину і так далі); полімерного носія;
60

співполімерного носія; вуглецевмісного носія; і вірусоподібного носія (наприклад, вірусний вектор).

Полімер або співполімер, що складають носій, можуть бути природного або синтетичного походження.

5 Приклади синтетичних (штучних) і природних полімерів або співполімерів, що використовуються у контексті винаходу для одержання носія, можуть бути вибрані з полімолочної кислоти (PLA), полі(лактид-спів-гліколевої)кислоти (PLGA), полі(глутамінової кислоти) (PGA), полі(капролактону) (PCL), полі(амінокислоти), поліглактину, полілактиду, складних ефірів поліоксіетилену і жирних кислот, полісорбату, полівінілового спирту, поліакриламід, поліметилметакрилату, поліалкілціаноакрилату, полілактат-спів-гліколяту, полі(амідоаміну), полі(етиленіміну), альгілату, целюлози і целюлозних похідних полімерів, колагену, гіалуронової кислоти, актину, полісахариду і желатину.

10 Носій може являти собою неорганічний носій. Неорганічний носій звичайно являє собою наночастинку. Наночастинку звичайно вибирають з наночастинки металу, наночастинки оксиду металу і їх суміші.

Носій може являти собою суцільний носій, такий як наносфера (суцільна наночастинка), або порожнистий носій, такий як нанокапсула (порожниста наночастинка).

20 Переважні носії, наприклад, вибирають з ліпосоми, міцели, полімерного (або "полімеру") носія, гідрогелю, дендримера, гелю, співполімерного носія, білкового носія і неорганічного носія, як визначено у даному описі.

Поверхня носія за наданим винаходом звичайно і переважно не містить (або, іншими словами, позбавлена або не демонструє) якого-небудь поверхневого стерично стабілізуючого агента, тобто якого-небудь гідрофільного і/або гнучкого полімеру. Наприклад, носій за наданим винаходом не містить або не демонструє полімер, вибраний з декстрану, полісіалової кислоти (PSA), гіалуронової кислоти, хітозану, гепарину, полівінілпіролідону (PVP), полівінілового спирту (PVA), поліакриламід, полі(етилгліколю) (PEG) і співполімеру на основі PEG, такого як поллоксамер, поллоксамін або полісорбат. Переважно, носій за винаходом не містить якого-небудь гідрофільного полімеру, який приносить на поверхню носія слабо негативний або позитивний поверхневий заряд, такого як полі(етилгліколь) (PEG) або співполімер на основі PEG, полівініловий спирт (PVA) або полівінілпіролідон (PVP).

30 Фармацевтична композиція за наданим винаходом (пор. фігуру 2b) може бути успішно замінена на існуючі носії (або системи доставки лікарських засобів), що містять або демонструють поверхневий стерично стабілізуючий агент (фігура 2a), звичайно такий як гідрофільний і гнучкий полімер, більш конкретно гідрофільний полімер, який приносить слабо негативний або позитивний поверхневий заряд на поверхню носія (наприклад, поліетилгліколевий полімер), причому така негативно або позитивно заряджена поверхня вважається нейтральною фахівцем у даній галузі техніки.

40 Фармацевтична композиція за наданим винаходом зберігає фармацевтичну (тобто терапевтичну, профілактичну або діагностичну) ефективність сполуки, що викликає інтерес, при її зниженій токсичності у вказаного суб'єкта або збільшує її фармацевтичну ефективність при еквівалентній або зниженій токсичності у порівнянні з фармацевтичною ефективністю і токсичністю, викликаною вказаною сполукою під час введення у стандартній фармацевтичній дозі, як правило, за відсутністю якої-небудь наночастинки і/або носія.

45 Фармацевтична композиція за винаходом звичайно дозволяє зменшити щонайменше на 10 % фармацевтичну дозу сполуки, що вводиться, у порівнянні зі стандартною фармацевтичною дозою вказаної сполуки, як правило, за відсутністю якої-небудь наночастинки і/або носія, при збереженні тієї самої фармацевтичної ефективності при еквівалентній токсичності, переважно при зниженій токсичності для суб'єкта, або при збільшенні фармацевтичної ефективності при еквівалентній або зниженій токсичності для суб'єкта.

50 Носій дозволяє вивільняти сполуку, що викликає інтерес, переважно контрольованим чином. Носій, як правило, може бути розроблений таким чином, щоб вивільняти сполуку(и), що викликає інтерес, із заданою або регульованою швидкістю або у відповідь на зовнішній стимул.

У конкретному варіанті здійснення носій дозволяє вивільняти сполуку(и), що викликає інтерес, як правило, за допомогою контрольованого за часом вивільнення, шляхом дифузії сполуки, що викликає інтерес, з носія, шляхом ерозії і/або розкладання носія.

У іншому конкретному варіанті здійснення носій дозволяє вивільняти сполуку(и), що викликає інтерес, завдяки внутрішньоклітинній або позаклітинній активації, тобто у відповідь на внутрішньоклітинний або позаклітинний стимул, такий як зміну рН або дія ферменту.

60 У іншому конкретному варіанті здійснення носій дозволяє вивільняти сполуку(и), що викликає інтерес, у відповідь на зовнішній стимул. Прикладами зовнішнього стимулу є

електромагнітні випромінювання (наприклад, іонізуюче випромінювання, таке як рентгенівське випромінювання, гамма-випромінювання, або неіонізуюче випромінювання, таке як УФ, видиме світло або інфрачервоне випромінювання), ультразвуки і магнітне поле. Фармацевтична сполука, наприклад, вивільняється з носія, коли вказаний носій піддається дії зовнішнього стимулу, вибраного з електромагнітних випромінювань, ультразвуків і магнітного поля.

Носієм, що не містить якого-небудь поверхневого стерично стабілізуючого агента, може бути, наприклад, ліпосома з температурою фазового переходу мембрани, що знаходиться між 37 °C і 45 °C, що містить дипальмітоїлфосфатидилхолін (DPPC) 62 % мольн., гідрогенізований соєвий фосфатидилхолін (HSPC) 22 % мольн. і холестерин (Chol) 16 % мольн., або дипальмітоїлфосфатидилхолін (DPPC) 90 % мольн. і монопальмітоїлфосфатидилхолін (MPPC) 10 % мольн.

Носієм, що не містить якого-небудь поверхневого стерично стабілізуючого агента, може також бути, наприклад, ліпосома, що містить синтетичний фосфоліпід, такий як 1,3-діамідофосфоліпід, чутливий до напруги зсуву.

Носієм, що не містить якого-небудь поверхневого стерично стабілізуючого агента, може також бути, наприклад, ліпосома, що містить пептид, який змінює свою конформацію (альфа-спіраль на бета-складчастий шар) при дії pH або температури.

Носієм, що не містить якого-небудь поверхневого стерично стабілізуючого агента, може також бути, наприклад, амфотерна ліпосома, що містить 1-пальмітоїл-2-олеїл-3-гліцерино-3-фосфохолін (POPC) і 1,2-діолеїл-3-гліцерино-3-фосфоетаноламін (DOPE) у молярному співвідношенні 3:1 і однакову кількість слабких катіонних і слабких аніонних амфіфілів, і тих і інших одержаних з холестерину, α -(3'-O-холестериноксикарбоніл)- δ -(N-етилморфолін)-сукцинамід (MoChol) і холестерилгемісукцинату (CHEMS).

Фармацевтична композиція за винаходом (що визначається комбінацією щонайменше однієї біосумісної наночастинки і щонайменше одного носія, що містить щонайменше одну сполуку, що викликає інтерес) може бути застосована у багатьох галузях, зокрема у медицині людини або ветеринарії. Дану композицію звичайно застосовують у тварини, переважно у свавця, ще більш переважно у людини, незалежно від його віку або статі.

Фармацевтична композиція за винаходом може бути застосована для профілактики або лікування захворювання або розладу, вибраного з серцево-судинного захворювання, захворювання центральної нервової системи (ЦНС), захворювання шлунково-кишкового тракту, генетичного розладу, гематологічного розладу, гормонального розладу, імунного розладу, інфекційного захворювання, порушення обміну речовин, м'язово-скелетного розладу, раку, респіраторного захворювання і інтоксикації, і так далі, у переважному варіанті здійснення фармацевтична композиція призначена для профілактики або лікування захворювання або розладу, вибраного з серцево-судинного захворювання, захворювання ЦНС, раку, інфекційного захворювання і порушення обміну речовин.

У контексті наданого винаходу щонайменше одну наночастинку і щонайменше один носій, що містить сполуку(и), що викликає інтерес, доцільно вводити суб'єкту, що потребує вказаної сполуки(сполук), що викликає інтерес, з інтервалом від більше ніж 5 хвилин до приблизно 72 годин одне від одного, звичайно від більше ніж 5 хвилин до приблизно 24 годин, переважно від більше ніж 5 хвилин або 30 хвилин до приблизно 12 годин, для оптимізації фармацевтичної ефективності сполуки(лук).

У наданому винаході, коли щонайменше одну наночастинку і щонайменше один носій, що містить сполуку(и), що викликає інтерес, доцільно вводити суб'єкту, що потребує вказаної сполуки, з інтервалом від більше ніж 5 хвилин до приблизно 72 годин одне від одного, абсолютна величина поверхневого заряду щонайменше однієї біосумісної наночастинки становить щонайменше 10 мВ (10 мВ).

У конкретному варіанті здійснення наданого винаходу, коли щонайменше одну наночастинку і щонайменше один носій, що містить сполуку(и), що викликає інтерес, доцільно вводити суб'єкту, що потребує вказаної сполуки, з інтервалом від більше ніж 5 хвилин до приблизно 24 годин одне від одного, абсолютна величина поверхневого заряду щонайменше однієї біосумісної наночастинки переважно становить щонайменше 15 мВ (15 мВ).

У іншому конкретному варіанті здійснення наданого винаходу, коли щонайменше одну наночастинку і щонайменше один носій, що містить сполуку, що викликає інтерес, доцільно вводити суб'єкту, що потребує вказаної сполуки, з інтервалом від більше ніж 5 хвилин до приблизно 12 годин одне від одного, абсолютна величина поверхневого заряду щонайменше однієї біосумісної наночастинки переважно становить щонайменше 20 мВ (20 мВ).

Також у наданому документі описаний спосіб профілактики або лікування суб'єкта, імовірно схильного до захворювання, або що страждає від захворювання, такого як ті, які вказані у

даному документі, де вказаний спосіб включає введення вказаному суб'єкту фармацевтичної композиції за винаходом, як правило, щонайменше однієї біосумісної наночастинки і щонайменше одного носія, що містить щонайменше одну сполуку, що викликає інтерес, як описано у даному документі. Будь-яка щонайменше одна наночастинка або щонайменше один носій, що містить сполуку(и), що викликає інтерес, можуть бути введені суб'єкту першими, якщо тільки щонайменше одна біосумісна наночастинка і щонайменше один носій, що містить сполуку(и), вводять окремо, з інтервалом від більше ніж 5 хвилин до приблизно 72 годин. Введення вказаної щонайменше однієї наночастинки або щонайменше одного носія, що містить сполуку(и), що викликає інтерес, може являти собою однократне введення кожного, багатократні введення кожного, наприклад, декілька послідовних введень кожного. Біосумісна наночастинка може бути введена один раз, і щонайменше один носій, що містить сполуку(и), що викликає інтерес, може бути введений більше одного разу і навпаки.

У конкретному варіанті здійснення щонайменше одну біосумісну наночастинку щонайменше вводять на початку протоколу, що включає декілька введень щонайменше одного носія, що містить сполуку(и), що викликає інтерес, тобто щонайменше під час першого введення вказаного щонайменше одного носія, і до або після його введення.

У іншому конкретному варіанті здійснення біосумісну наночастинку не вводять на початку протоколу, що включає декілька введень щонайменше одного носія, що містить сполуку(и), що викликає інтерес, і не вводять до другого або третього введення вказаного щонайменше одного носія, і до або після його введення.

У контексті цих двох останніх варіантів здійснення щонайменше одну біосумісну наночастинку можна також вводити разом (до або після, як описано раніше) щонайменше з одним носієм, що містить сполуку(и), що викликає інтерес, у процесі частини або усіх подальших введень вказаного щонайменше одного носія. подальших введень вказаного щонайменше одного носія. Біосумісну наночастинку(и) фармацевтичної композиції за винаходом можна вводити будь-яким шляхом, таким як внутрішньовенний (IV), внутрішньоартеріальний, інтраперитонеальний шлях, інтрадермальний шлях, через верхні дихальні шляхи (інгаляція), внутрішньом'язовий шлях і/або пероральний шлях (per os). Переважним способом введення є внутрішньовенний шлях.

Носій(і), що містить сполуку(и) фармацевтичної композиції за винаходом, що викликає інтерес, можна вводити будь-яким шляхом, вибраним з підшкірного шляху, внутрішньовенного (IV) шляху, інтрадермального шляху, внутрішньоартеріального шляху, через верхні дихальні шляхи (інгаляція), інтраперитонеального шляху, внутрішньом'язового шляху, перорального шляху (per os) і декількох різних шляхів серед раніше згаданих. Відповідний шлях(и) буде вибраний практикуючим лікарем залежно від захворювання або розладу, який має бути виявлений, відвернений або вилікуваний.

Наступні приклади ілюструють винахід без обмеження його обсягу.

КОРОТКИЙ ОПИС КРЕСЛЕНЬ

Фігура 1: Схематичне зображення носіїв, що не містять якого-небудь стерично стабілізуючого агента, що містять щонайменше одну сполуку, що викликає інтерес. Носій може бути суцільним носієм (a, b) або порожнистим носієм (c, d). Сполуку, що викликає інтерес, звичайно захоплюють або імпрегнують (a, c) або "прищеплюють" (зв'язують) до носія за допомогою лінкера або за відсутністю якого-небудь лінкера (b, d).

Фігура 2: а) Схематичне зображення носія, що містить щонайменше одну сполуку, що викликає інтерес. Поверхня носія модифікована стерично стабілізуючим агентом.

б) схематичне зображення фармацевтичної композиції згідно з винаходом, що містить комбінацію (i) щонайменше однієї біосумісної наночастинки і (ii) щонайменше одного носія, що містить щонайменше одну сполуку, що викликає інтерес, причому носій не містить якого-небудь стерично стабілізуючого агента.

Фігура 3: Хімічна формула 1,5-дигексадецилового складного ефіру N-(3-карбокси-1-оксопропіл)-L-глутамінової кислоти (SA-ліпід)

ПРИКЛАДИ

Приклад 1: Синтез №1 ліпосом як біосумісні наночастинки

Ліпосоми одержують з використанням способу регідратації ліпідної плівки:

а) Ліпіди солюбілізують у хлороформі. Хлороформ остаточно випаровують під струмом азоту. Регідратацію ліпідної плівки з використанням HEPES 20 мМ і NaCl 140 мМ при рН 7,4 виконують при 50 °С так, щоб концентрація ліпідів становила 5 мМ.

Для одержання заряджених ліпосом використовували наступну ліпідну композицію: DPPC (дипальмітоїлфосфатидилхолін): 86 % мольн./ MPPC (монопальмітоїлфосфатидилхолін):

10 % мольн.; DSPE-PEG (дистеарилфосфатидилетаноламін-[метокси(поліетиленгліколь)-2000]): 4 % мольн.

б) Цикли заморожування-відтавання потім виконують 6 разів, послідовно занурюючи зразок у рідкий азот і у водяну баню, що регулюється при 50 °С.

5 с) Термоциліндричний екструдер (екструдер LIPEX™, Northern Lipids) використовували для калібрування розміру ліпосом при контрольованій температурі і тиску. В усіх випадках екструзію проводили при 50 °С під тиском 10 бар.

10 Розподілення за розмірами свіжоприготовлених ліпосом визначали за допомогою динамічного розсіювання світла (DLS) з використанням приладу Zetasizer NanoZS (Malvern instrument) з HeNe-лазером 633 нм під кутом 90 °С. Суспензію ліпосом розводили у 100 разів в HEPES 20 мМ і NaCl 140 мМ при рН 7,4. Розмір ліпосом (тобто гідродинамічний діаметр) дорівнював приблизно 170 нм (розподілення за інтенсивністю) з індексом полідисперсності (PDI), що дорівнює приблизно 0,1.

15 Як зрозуміло фахівцю у даній галузі техніки, бажаний поверхневий заряд одержували завдяки вибраній ліпідній композиції, і його величина підтверджується вимірюванням дзета-потенціалу з використанням приладу Zetasizer NanoZS (Malvern instrument).

Ліпосоми розводили у 100 разів у воді, і рН одержаної суспензії доводили до рН 7,4. Поверхневий заряд ліпосом дорівнював приблизно - 14 мВ при рН 7,4.

Приклад 2: Синтез №2 ліпосом як біосумісні наночастинки

20 Ліпосоми одержують з використанням способу регідратації ліпідної плівки:

а) Ліпіди солюбілізують у хлороформі. Хлороформ остаточно випаровують під струмом азоту. Регідратацію ліпідної плівки з використанням HEPES 20 мМ і NaCl 140 мМ при рН 7,4 виконують при 65 °С так, щоб концентрація ліпідів становила 25 мМ.

25 Для одержання ліпосом використовували наступну ліпідну композицію: DSPC (дистеароїлфосфатидилхолін): DSPG (дистеароїлфосфатидилгліцерин): CHOL (холестерин) у молярному співвідношенні 7:2:1.

б) Цикли заморожування-відтавання потім виконують 6 разів, послідовно занурюючи зразок у рідкий азот і у водяну баню, що регулюється при 65 °С.

30 с) Термоциліндричний екструдер (екструдер LIPEX™, Northern Lipids) використовували для калібрування розміру ліпосом при контрольованій температурі і тиску. Спочатку, 5 проходів виконували через мембрану з поліефірсульфону (PES) з розміром пор 0,45 мкм при 5 бар, потім 10 проходів через мембрану з PES з розміром пор 0,22 мкм при 10 бар і, нарешті, 10 проходів через мембрану з полівініліденфториду (PVDF) з розміром пор 0,1 мкм при 15 бар.

35 Розподілення за розмірами свіжоприготовлених ліпосом визначали за допомогою динамічного розсіювання світла (DLS) з використанням приладу Zetasizer NanoZS (Malvern instrument) з HeNe-лазером 633 нм під кутом 90 °С. Суспензію ліпосом розводили у 100 разів в HEPES 20 мМ і NaCl 140 мМ при рН 7,4. Розмір ліпосом (тобто гідродинамічний діаметр) дорівнював приблизно 145 нм (розподілення за інтенсивністю) з індексом полідисперсності (PDI), що дорівнює приблизно 0,1.

40 Бажаний поверхневий заряд, який звичайно нижче 10 мВ, одержували завдяки вибраній ліпідній композиції, і його величина підтверджується вимірюванням дзета-потенціалу з використанням приладу Zetasizer NanoZS (Malvern instrument).

45 Приклад 3: спосіб, що дозволяє підвищити ефективність і/або Знизити токсичність після введення суб'єкту сполуки, що викликає інтерес, включеної у фармацевтичну композицію згідно з винаходом, у порівнянні з тією самою дозою сполуки, що викликає інтерес, у монотерапії.

Фармацевтична композиція за пунктом 1, що містить комбінацію (i) щонайменше однієї біосумісної наночастинки і (ii) щонайменше одного носія, що містить доксорубіцин, вводять "голим" мишам, що несуть ксенотрансплантовану пухлину MDA-MB-231-lucD3H2LN, наступним чином:

50 а) - введення першій групі "голих" мишей (шляхом внутрішньовенної ін'єкції) Dox-NP@ (ПЕГільована ліпосомальна композиція доксорубіцину);

- введення другій групі "голих" мишей (шляхом внутрішньовенної ін'єкції) доксорубіцину;

- введення третій групі "голих" мишей (шляхом внутрішньовенної ін'єкції) біосумісних наночастинок;

55 - введення четвертій групі "голих" мишей (шляхом внутрішньовенної ін'єкції) біосумісних наночастинок і, з інтервалом від більше ніж 5 хвилин до приблизно 72 годин після введення біосумісних наночастинок четвертій групі голих мишей, введення (шляхом внутрішньовенної ін'єкції) вказаній четвертій групі "голих" мишей носія, що містить доксорубіцин, де носій не містить якого-небудь стерично стабілізуючого агента;

б) оцінювання будь-якої клінічної ознаки токсичності у "голих" мишей після введення Dox-NPR (перша група), доксорубіцину (друга група), біосумісних наночастинок (третья група) і фармацевтичної композиції (четверта група); і

5 с) вимірювання затримки повторного зростання пухлини після введення Dox-NPR (перша група), доксорубіцину (друга група), біосумісних наночастинок (третья група) і фармацевтичної композиції (четверта група).

Приклад 4: Синтез №3 ліпосом як біосумісні наночастинок

Ліпосоми одержують з використанням способу регідратації ліпідної плівки:

10 а) Ліпіди солюбілізують у хлороформі. Хлороформ остаточно випаровують під струмом азоту з утворенням ліпідної плівки на стінках трубки Ругех. Регідратацію ліпідної плівки з використанням HEPES 25 мМ і NaCl 150 мМ при рН 7,4 виконують при 60 °С так, щоб концентрація ліпідів становила 50 мМ.

15 Для одержання заряджених ліпосом використовували наступну ліпідну композицію: DPPC (дипальмітоїлфосфатидилхолін) 58 % мольн.; HSPC (гідрогенізований соєвий фосфатидилхолін) 21 % мольн.; CHGL (холестерин) 16 % мольн.; POPS (1-пальмітоїл-2-олеоїлфосфатидилсерин) 5 % мольн.

20 б) Цикли заморожування-відтавання потім виконують 6 разів, послідовно занурюючи зразок у рідкий азот і у водяну баню, що регулюється при 60 °С. Ультразвукову обробку розчину ліпосом виконують впродовж 30 с кожні з цикли заморожування-відтавання і безпосередньо перед екструзією.

с) Термоциліндричний екструдер (екструдер LIPEX™, Northern Lipids) використовують для калібрування розміру ліпосом при контрольованій температурі і тиску. Екструзію проводять при 60 °С. Застосовують десять проходів через мембрану з полівініліденфториду (PVDF) з розміром пор 0,1 мкм під тиском 10 бар.

25 Розподілення за розмірами свіжоприготовлених ліпосом визначають за допомогою динамічного розсіювання світла (DLS) з використанням приладу Zetasizer NanoZS (Malvern instrument) з HeNe-лазером 633 нм під кутом 173 °С. Розчин ліпосом розводять у 200 разів в HEPES 25 мМ і NaCl 150 мМ при рН 7,4. Розмір ліпосом (тобто гідродинамічний діаметр) дорівнює приблизно 170 нм (розподілення за інтенсивністю) з індексом полідисперсності (Pdl), що дорівнює приблизно 0,2.

30 Як зрозуміло фахівцю у даній галузі техніки, бажаний поверхневий заряд одержують завдяки вибраній ліпідній композиції, і його величина підтверджується вимірюванням дзета-потенціалу з використанням приладу Zetasizer NanoZS (Malvern instrument). Розчин ліпосом розводять у 200 разів в розчині хлориду натрію з концентрацією 1 мМ, і рН розчину доводять до рН 7. Поверхневий заряд ліпосом дорівнює приблизно - 40 мВ при рН 7, NaCl 1 мМ.

35 Кінцеву ліпідну концентрацію у розчині ліпосом вимірюють колориметричним аналізом (спосіб Бартлетта). Спосіб оснований на визначенні загальної кількості фосфору за допомогою кислотного зброджування фосфоліпиду. Неорганічний фосфат, що вивільняється, піддають взаємодії з молібдатом амонію, причому комплекс дає темно-синій колір. Концентрація ліпідів дорівнює приблизно 50 мМ.

40 Приклад 5: Синтез №4 ліпосом як біосумісні яжнчастинки

Ліпосоми одержують з використанням способу регідратації ліпідної плівки:

45 а) Ліпіди солюбілізують у хлороформі. Хлороформ остаточно випаровують під струмом азоту з утворенням ліпідної плівки на стінках трубки Ругех. Регідратацію ліпідної плівки з використанням HEPES 25 мМ і NaCl 150 мМ при рН 7,4 виконують при 60 °С так, щоб концентрація ліпідів становила 50 мМ.

50 Для одержання заряджених ліпосом використовували наступну ліпідну композицію: DPPC (дипальмітоїлфосфатидилхолін) 45,15 % мольн.; CHOL (холестерин) 45,15 % мольн.; DSPE-PEG (дистеарилфосфатидилетаноламін-[метокси(поліетиленгліколь)-2000]) 0,60 % мольн.; 1,5-дигексадециловий складний ефір N-(3-карбокси-1-оксопропіл)-L-глутамінової кислоти (SA-ліпід) 9,10 % мольн. SA-ліпід приносить групи COOH на поверхню ліпосом.

б) Цикли заморожування-відтавання потім виконують б разів, послідовно занурюючи зразок у рідкий азот і у водяну баню, що регулюється при 60 °С.

55 с) Термоциліндричний екструдер (екструдер LIPEX™, Northern Lipids) використовують для калібрування розміру ліпосом при контрольованій температурі і тиску. Екструзію проводять при 60 °С. Застосовують сім проходів через мембрану з полівініліденфториду (PVDF) з розміром пор 0,45 мкм під тиском 3 бара і десять проходів через мембрану з полівініліденфториду (PVDF) з розміром пор 0,22 мкм під тиском 10 бар. Розподілення за розмірами свіжоприготовлених ліпосом визначають за допомогою динамічного розсіювання світла (DLS) з використанням приладу Zetasizer NanoZS (Malvern instrument) з HeNe-лазером 633 нм під кутом 173 °С. Розчин

60

ліпосом розводять у 200 разів в HEPES 25 мМ і NaCl 150 мМ при рН 7,4. Розмір ліпосом (тобто гідродинамічний діаметр) дорівнює приблизно 230 нм (розподілення за інтенсивністю) з індексом полідисперсності (Pdl), що дорівнює приблизно 0,2.

Як зрозуміло фахівцю у даній галузі техніки, бажаний поверхневий заряд одержують завдяки
5
вибраній ліпідній композиції, і його величина підтверджується вимірюванням дзета-потенціалу з використанням приладу Zetasizer NanoZS (Malvern instrument). Розчин ліпосом розводять у 200 разів в розчині хлориду натрію з концентрацією 1 мМ, і рН розчину доводять до рН 7. Поверхневий заряд ліпосом дорівнює приблизно -60 мВ при рН 7, NaCl 1 мМ.

Кінцеву ліпідну концентрацію у розчині ліпосом вимірюють колориметричним аналізом
10
(спосіб Бартлетта). Спосіб оснований на визначенні загальної кількості фосфору за допомогою кислотного зброджування фосфоліпиду. Неорганічний фосфат, що вивільняється, піддають взаємодії з молібдатом амонію, причому комплекс дає темно-синій колір. Концентрація ліпідів дорівнює приблизно 50 мМ.

Приклад 6: Синтез № 5 ліпосом як біосумісні наночастинки

Ліпосоми одержують, з використанням способу регідратації ліпідної плівки:

а) Ліпіди солюбілізують у хлороформі. Хлороформ остаточно випаровують під струмом азоту з утворенням ліпідної плівки на стінках трубки Ругех. Регідратацію ліпідної плівки використанням HEPES 25 мМ і NaCl 150 мМ при рН 7,4 виконують при 60 °С, і концентрація ліпідів становить 50 мМ. Для одержання заряджених ліпосом використовували наступну ліпідну
20
композицію: DSPC (1,2-дистеароїл-зп-гліцери-3-фосфохолін) 60 % мольн., CHOL (холестерин) 35 % мольн.; і сукциніл PE (1,2-діолеїл-зп-гліцери-3-фосфоетаноламін-N-сукциніл) 5 % мольн.

б) Цикли заморожування-відтавання потім виконують 6 разів, послідовно занурюючи зразок у рідкий азот і у водяну баню, що регулюється при 60 °С. Ультразвукову обробку розчину ліпосом виконують впродовж 30 с кожні з цикли заморожування-відтавання і перед екструзією.

с) Термоциліндричний екструдер (екструдер LIPEX™, Northern Lipids) використовують для калібрування розміру ліпосом при контрольованій температурі і тиску. Екструзію проводять при 60 °С. Застосовують дванадцять проходів через мембрану з полівініліденфториду (PVDF) з розміром пор 0,22 мкм під тиском 12 бар.

д) Кон'югація п-амінофеніл- α -D-манопіранозиду (MAN) з ліпосою сукцинілу PE: поверхню ліпосом сукцинілу PE, модифікують за допомогою похідного манози, ліганда п-амінофеніл- α -D-манопіранозиду (MAN), використовуючи поєднання з карбодіімідом, з утворенням кон'югованої з манозою ліпосоми. MAN ковалентно зв'язаний своєю аміногрупою з карбоксильною групою сукцинілу PE, що є присутньою на поверхні попередньо утвореної ліпосоми сукцинілу PE. Коротко, до попередньо утвореного розчину ліпосоми сукцинілу PE додають EDC (1-етил-3-[3-диметиламінопропіл]карбодіімідгідрохлорид), (молярне співвідношення сукцинілу PE/EDC 1:10) і N-гідрокисукцинімід (NHS) (молярне співвідношення NHS/EDC 1:2,5). Потім рН суспензії доводять до 6 за допомогою 1М NaOH, і одержану суспензію перемішують впродовж 15 хвилин при кімнатній температурі. Потім рН розчину доводять до 7 за допомогою 1М NaOH, і додають водний розчин MAN (молярне співвідношення сукцинілу PE/MAN 1:2) до розчину. рН доводять до 7 за допомогою 1М NaOH, і суспензію перемішують впродовж 2 додаткових годин при кімнатній температурі. Надмірні незв'язані молекули MAN, EDC і NHS вилучають трьома стадіями діалізу з коефіцієнтом розведення (x500, x500, x500), використовуючи целюлозну мембрану 50 кДа.

Слід зазначити, що через можливе розведення під час діалізу розчин ліпосом може бути сконцентрований центрифугуванням (як правило, центрифугою Sigma 3-15K при 5 °С, 1200 об./хв) з використанням мембранної ультрафільтрації на концентраторах Vivaspin з мембраною з поліетиленсульфону (PES) і відсіканням 300 кДа.

Розподілення за розмірами свіжоприготовлених ліпосом визначають за допомогою динамічного розсіювання світла (DLS) з використанням приладу Zetasizer NanoZS (Malvern instrument) з HeNe-лазером 633 нм під кутом 173 °С. Розчин ліпосом розводять у 200 разів в HEPES 25 мМ і NaCl 150 мМ при рН 7,4. Розмір ліпосом (тобто гідродинамічний діаметр) дорівнює приблизно 230 нм (розподілення за інтенсивністю) з індексом полі дисперсності (PDI) приблизно 0,2. Як зрозуміло фахівцю у даній галузі техніки, бажаний поверхневий заряд одержують завдяки вибраній ліпідній композиції, і його величина підтверджується вимірюванням дзета-потенціалу з використанням приладу Zetasizer NanoZS (Malvern instrument), Розчин ліпосом розводять у 200 разів в розчині хлориду натрію з концентрацією 1 мМ і при рН 7. Поверхневий заряд ліпосом дорівнює приблизно -70 мВ при NaCl 1 мМ, рН 7. Кінцеву ліпідну концентрацію у розчині ліпосом вимірюють колориметричним аналізом (спосіб Бартлетта). Спосіб оснований на визначенні загальної кількості фосфору за допомогою кислотного зброджування фосфоліпиду. Неорганічний фосфат, що вивільняється, піддають взаємодії з
60

молібдатом амонію, причому комплекс дає темно-синій колір. Концентрація ліпідів дорівнює приблизно 50 мМ.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

5

1. Терапевтичний або профілактичний спосіб підвищення терапевтичної або профілактичної ефективності фармацевтичної сполуки у суб'єкта, який потребує цього, де спосіб включає стадію послідовного введення (i) щонайменше однієї біосумісної наночастинки на основі ліпідів, де найбільший розмір біосумісної наночастинки становить від приблизно 4 до приблизно 500 нм, і величина поверхневого негативного заряду біосумісної наночастинки дорівнює або нижча - 10 мВ, і (ii) щонайменше одного носія на основі ліпідів, який містить щонайменше одну фармацевтичну сполуку, де носій не містить або не демонструє полімер, вибраний із декстрану, полісіалової кислоти (PSA), гіалуронової кислоти, хітозану, гепарину, полівінілпіролідону (PVP), полівінілового спирту (ПВС), поліакриламід, полі(етиленгліколю) (ПЕГ) і співполімеру на основі ПЕГ, де фармацевтична сполука інкапсульована або імпрегнована в носій, і де вказану щонайменше одну біосумісну наночастинку вводять суб'єкту з інтервалом від більше ніж 5 хвилин до приблизно 24 годин до щонайменше одного носія, який містить щонайменше одну фармацевтичну сполуку, і де біосумісну наночастинку не застосовують як таку як фармацевтичну сполуку.

10

15

20

2. Спосіб за п. 1, де наночастинка додатково покрита біосумісним покриттям.

3. Спосіб за п. 1, де носій являє собою суцільний носій.

4. Спосіб за п. 1, де носій являє собою порожнистий носій.

5. Спосіб за будь-яким із пп. 1-4, де носій являє собою ліпосому.

25

6. Спосіб за п. 5, де ліпосома містить 62 % мольн. дипальмітоїлфосфатидилхоліну (DPPC), 22 % мольн. гідрогенізованого соєвого фосфатидилхоліну (HSPC) і 16 % мольн. холестерину (Chol); 90 % мольн. дипальмітоїлфосфатидилхоліну (DPPC) і 10 % мольн. монопальмітоїлфосфатидилхоліну (MPPC); або 1-пальмітоїл-2-олеїл-sn-гліцero-3-фосфохолін (POPC) і 1,2-діолеїл-sn-гліцero-3-фосфоетаноламін (DOPE) в молярному співвідношенні 3:1 і однакову кількість α -(3'-O-холестериллоксикарбоніл)- δ -(N-етилморфолін)-сукцинамід (MoChol) і холестерилгемісукцинату (CHEMS).

30

7. Спосіб за будь-яким із пп. 1-6, де послідовне введення щонайменше однієї біосумісної наночастинки на основі ліпідів і щонайменше одного носія, який містить фармацевтичну(i) сполуку(и), зберігає терапевтичну ефективність вказаної(их) фармацевтичної(их) сполуки(сполук) при зниженій токсичності або збільшує терапевтичну ефективність вказаної(их) фармацевтичної(их) сполуки(сполук) при еквівалентній або зниженій токсичності для суб'єкта порівняно з терапевтичною ефективністю і токсичністю, викликаною стандартною(ими) терапевтичною(ими) дозою(дозами) вказаної сполуки(сполук) за відсутності будь-якої біосумісної наночастинки і/або носія.

35

40

8. Спосіб за будь-яким із пп. 1-7, де послідовне введення щонайменше однієї біосумісної наночастинки на основі ліпідів і щонайменше одного носія, який містить фармацевтичну(i) сполуку(и), дозволяє зменшити щонайменше на 10 % терапевтичну(i) дозу(и), що вводиться, фармацевтичної(их) сполуки(сполук) при збереженні тієї ж терапевтичної ефективності при еквівалентній токсичності або зниженій токсичності для суб'єкта, або при збільшенні терапевтичної ефективності при еквівалентній або зниженій токсичності для суб'єкта порівняно зі стандартною(ими) терапевтичною(ими) дозою(дозами) вказаної(их) сполуки(сполук) за відсутності якої-небудь біосумісної наночастинки і/або носія.

45

9. Спосіб за будь-яким із пп. 1-8, де наночастинка виводиться із суб'єкта, якому вона була введена, протягом від однієї години і до шести тижнів після її введення суб'єкту.

50

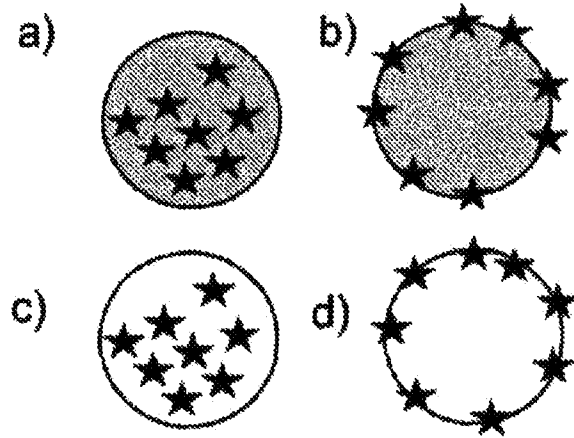
10. Спосіб за будь-яким із пп. 1-9, де фармацевтичну сполуку вибирають з малої молекули, зокрема малої молекули націленої дії, цитотоксичної сполуки і координаційного комплексу перехідного металу.

11. Спосіб за будь-яким із пп. 1-10, де фармацевтична сполука вивільняється із носія шляхом контрольованої за часом дифузії, ерозії і/або розкладання носія.

55

12. Спосіб за будь-яким із пп. 1-10, де фармацевтична сполука вивільняється з носія у відповідь на внутрішньоклітинний або позаклітинний стимул.

13. Спосіб за будь-яким із пп. 1-10, де фармацевтична сполука вивільняється з носія, коли вказаний носій піддається впливу електромагнітних випромінювань, ультразвуку і магнітного поля.

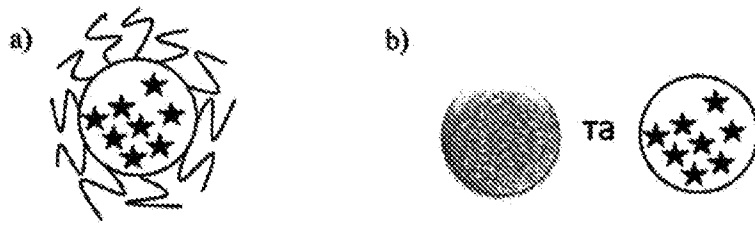


★ Сполука, що викликає інтерес

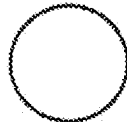
 Суцільний носій

 Порожнистий носій

Фіг. 1



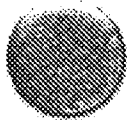
★ **Сполука, що викликає інтерес**



Носій, що не містить стерично стабілізувальний агент

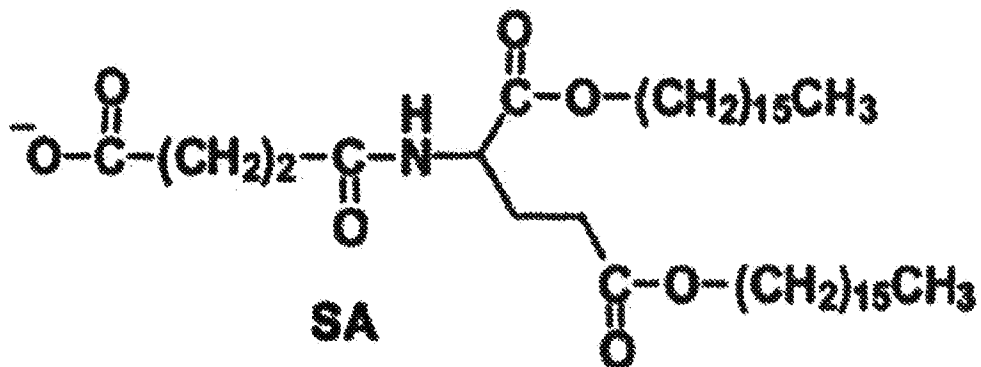


Стерично стабілізувальний агент



Біосумісна наночастинка, що має найбільший розмір від приблизно 4 нм до приблизно 500 нм і абсолютну величину поверхневого заряду щонайменше $|10 \text{ мВ}|$

Фіг. 2



Фіг. 3