

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201691441** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2017.02.28

(51) Int. Cl. *C08G 77/02* (2006.01)
A61K 33/00 (2006.01)
C01B 33/20 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2015.02.13

(54) **МАТЕРИАЛЫ И СПОСОБЫ, ОТНОСЯЩИЕСЯ К КОМПОЗИЦИЯМ
СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ ПОЛИМЕРНЫХ СИЛИКАТОВ**

(31) 1402672.8

(32) 2014.02.14

(33) GB

(86) PCT/GB2015/050409

(87) WO 2015/121666 2015.08.20

(71) Заявитель:
МЕДИКАЛ РИСЁРЧ КАУНСИЛ (GB)

(72) Изобретатель:
**Бастос Карлос Андре Пассос, Пауэлл
Джонатан Джозеф, Фариа Нуно Хорхе
Родригес, Вис Брэдли Майкл (GB)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) В настоящем изобретении описаны стабилизированные и гидратированные полимерные силикатные композиции, причем указанные композиции представляют собой слабо конденсированные композиции, в которых силикаты являются резорбируемыми и способны подвергаться эффективному растворению с обеспечением биодоступной растворимой кремниевой кислоты. В частности, описаны стабилизированные и гидратированные полимерные силикаты, которые пригодны для доставки при внутривенном введении, подходят для лечения рака или системной инфекции или для местного введения, например, в форме твердой или полутвердой мази, подходящей для обработки ран или предотвращения бактериальной инфекции.

A1

201691441

201691441

A1

Материалы и способы, относящиеся к композициям стабилизированных полимерных силикатов

Область техники

5

Настоящее изобретение относится к материалам и способам, относящимся к композициям стабилизированных полимерных силикатов, в частности, к способам получения композиций стабилизированных полимерных силикатов, к композициям, получаемым путем применения указанных способов, и способам их применения, в частности, в терапии.

10

Уровень техники

Кремний представляет собой широко распространённый в окружающей среде элемент, и в настоящее время в западном мире взрослые люди употребляют примерно от 15 до 50 мг кремния в сутки. Естественно, указанное употребление происходит в виде силикатов, в которых кремний связан с атомами кислорода. Кремниевая кислота и диоксид кремния также являются терминами, используемыми для таких структур. Они варьируются от простейшей монокремниевой кислоты, также называемой ортокремниевой, до частиц диоксида кремния. Точная биологическая роль кремния пока не ясна, однако многочисленные данные указывают на важную роль в здоровье соединительной ткани (Jugdaohsingh с соавт., 2008). Тогда как основные соединительные ткани включают кость, суставы, кровеносные сосуды, кожу, волосы и ногти, также существуют весомерные доказательства преимуществ растворимого или полимерного силиката в отношении диеты, пищевых добавок или терапии при широком спектре медицинских состояний, которые включают, но не ограничиваются ими, остеопороз, остеопению и другие нарушения в скелетно-мышечной системе и суставах, рак всех видов, различные патологические состояния кожи, сосудистые, сердечно-сосудистые заболевания и коронарные заболевания сердца, воспалительные заболевания, аутоиммунные заболевания, болезнь Альцгеймера и различные формы когнитивных нарушений, инфекции различных видов, раны и язвы, нарушения

15

20

25

30

работы желудочно-кишечного тракта, печени, почек и нарушения, связанные с иммунной системой, и изменения и нарушения, связанные с гормонами. Положительные питательный и терапевтический эффекты силиката, по-видимому, распространяются на других животных, в частности, других
5 млекопитающих.

Силикат применяли в виде пероральной пищевой добавки, хотя обеспечение состава, который обеспечивает эффективное поглощение (всасывание) после введения дозы, является непростой задачей. Кремний в
10 неорганической форме, встречающейся в природе, растворим в виде ортокремниевой кислоты. Однако, его концентрация, например, в питьевой воде должна быть относительно низкой ($\leq 1,7$ мМ), так как в естественных условиях это максимальная равновесная растворимость водного силиката при значениях pH < 9 для предотвращения начала необратимой полимеризации
15 частиц, которые постепенно конденсируются и/или увеличиваются в размерах, и которые затем нелегко повторно солюбилизировать. Указанное поведение затрудняет разработку силикатных добавок, так как концентрированные формы не растворяются в кишечнике с тем, чтобы обеспечивать всасывание, в то время как разбавленные формы приводят к большим количествам добавки
20 (например, 20-100 мл/сутки), необходимым для употребления.

Как правило, некоторые химические фрагменты, такие как лиганды, можно применять для связывания и приведения в растворенное состояние катионов/анионов, которые иначе выпали бы в осадок при физиологическом
25 значении pH, однако с силикатом ситуация более сложная, поскольку мономер обычно имеет большее сродство к самому себе (то есть подвергается самосборке), чем к любым другим молекулам, и чем выше концентрация кремния, тем труднее становится остановить самосборку силиката в водном растворе. Это привело к альтернативным стратегиям получения биодоступной
30 и терапевтически подходящей целевой силикатной композиции.

В US 5807951 (Nippon Zoki Pharmaceutical Co., Ltd) описан способ получения силикатных полимеров посредством добавления кислоты к раствору

силиката. К силикатным композициям необязательно можно добавлять сахарид или сахарный спирт, в качестве примера использовали лактозу или маннит. Однако способ, описанный в US 5807951, требует заключительного этапа сушки при температуре от 150°C до 250°C для получения сухой лиофилизированной композиции. Однако, как дополнительно описано ниже, применение нагревания и любого другого вида сушки с получением порошка имеет значительный недостаток, поскольку вызывает образование конденсированных силикатов с соответствующей плохой резорбируемостью.

В US 2011/0229577 (Kerek) раскрыты частицы кремниевой кислоты, имеющие «оболочкоподобные» структуры, при этом частицы конденсируются в условиях, при которых pH реакционной смеси сначала снижают, а затем повышают, что приводит к композиции, которая, как указано, находится при pH 2,1 или pH более 9,2.

В Kim с соавт. (*Macromolecules*, 45: 4225–4237, 2012) описано получение расплавов нанокомпозитов, полученных из смеси наночастиц силиката и этанола, смешанной с определённой массы ПЭГ. Образцы нагревали в вакуумной печи для удаления остаточного этанола. Затем вакуумную печь несколько раз продували азотом с последующим вакуумированием камеры для удаления кислорода с получением полимерных нанокомпозитов. Важно отметить, что наночастицы силиката были относительно крупными (44 ± 5 нм). Кроме того, указанные наночастицы синтезировали на основе катализируемого основанием гидролиза и конденсации тетраэтилортосиликата (ТЭОС), что приводит к получению конденсированных силикатов.

Gao с соавт. (*Коллоиды and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 350: 33–37, 2009) осаждали силикаты в присутствии ПЭГ, однако применённый способ требовал первоначального прокаливания при 550°C с получением высококонденсированных материалов, которые отличаются от материалов, описанных в настоящем документе.

Учитывая недостатки известных из уровня техники составов силикатных

композиций, условий, применяемых для получения указанных составов, и способа, которым их необходимо вводить, в данной области остаётся нерешённой проблема улучшения свойств стабилизированных полимерных силикатных кислотных композиций. Было бы полезным обеспечить композиции, в которых силикаты являются резорбируемыми, то есть способными подвергаться эффективному растворению с обеспечением биодоступной растворимой кремниевой кислоты, и при этом чтобы указанные композиции не имели тенденции к образованию конденсированных форм силикатов, как это происходит в уровне техники при сушке композиций. В качестве альтернативы или дополнительно, также было бы полезным, если бы другие компоненты композиций стабилизированных полимерных силикатов подходили для введения субъекту, представляющему собой человека или животное, например, без разбавления или других этапов, необходимых в случае силикатных добавок, известных из уровня техники. В качестве альтернативы или дополнительно, было бы предпочтительно, если бы композиции были способны обеспечивать количества стабилизированных полимерных силикатов, подходящие для применения в терапии, по сравнению с композициями, известными из уровня техники, которые содержат только низкие уровни биодоступного силиката, присутствующего в виде соответствующих резорбируемых полимерных силикатов.

Краткое описание изобретения

В целом, настоящее изобретение направлено на удовлетворение потребности в данной области в обеспечении стабилизированных и гидратированных полимерных силикатов, и относится к композициям, получаемым с применением определённых способов, и способам применения указанных композиций, которые подходят для введения в виде терапевтических агентов и добавок. В частности, настоящее изобретение направлено на обеспечение стабилизированных и гидратированных полимерных силикатов, которые могут быть доставлены внутривенным способом или предназначены для местного введения, например, в форме твёрдой или полутвёрдой мази. Указанные составы могут подходить для лечения ран.

Как хорошо известно в данной области техники, существует равновесие между растворимыми кремниевыми кислотами и всё более конденсированными силикатными композициями. Соответственно, в настоящем изобретении «композиция стабилизированного полимерного силиката» включает

5 полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, имеющие свойства, описанные в настоящем документе, а также растворимые формы кремниевой кислоты и поликремниевой кислоты так, что они находятся в равновесии в композиции или в содержащем её составе.

10 В данной области техники появляются данные, которые свидетельствуют о том, что кремниевая кислота оказывает положительное влияние на здоровье и предотвращение или лечение заболеваний у людей и других животных. В целом, композиции согласно настоящему изобретению включают полимерные силикатные композиции, в которых естественную склонность полимерных

15 силикатов к росту с образованием полисиликатов и частиц силикатов более высокого порядка подавляют посредством включения таких веществ, как органические соединения, которые способны действовать в качестве замедлителей роста, то есть которые подавляют естественную склонность поликремниевой кислоты к росту с образованием гелей и более

20 конденсированных силикатных частиц или полимеров и частиц, больших, чем частицы требуемого размера. Более того, в некоторых аспектах авторы настоящего изобретения обнаружили, что указанный подход означает, что композиции являются стабильными при физиологически приемлемых значениях pH, в частности, нейтральном или слегка кислом pH или слегка

25 щелочном pH.

Дополнительное преимущество способа, описанного в настоящем документе, заключается в том, что с помощью селективного регулирования pH, концентрации кремния и концентрации стабилизатора в процессе синтеза,

30 размер частиц можно варьировать от небольших полимеров диаметром менее 1 нм до 20 нм в диаметре в зависимости от требуемого размера частиц, и что указанную композицию затем можно стабилизировать согласно изложенному изобретению для обеспечения введения субъекту или животному при

выбранном размере частиц. Специалистам в данной области техники будет понятно, что размер частиц относится к диапазону размеров, и число, приведённое в настоящем документе, относится к среднему диаметру, чаще всего среднему диаметру указанного диапазона частиц.

5

Авторы настоящего изобретения обнаружили, что полиалкиленгликоли, такие как ПЭГ, и/или сахара, такие как сахароза, являются полезными стабилизаторами размера и/или модуляторами стабильности слабо конденсированных наносиликатов, которые затем могут находить применение при пероральном, парентеральном или местном введении. В частности, сахароза является предпочтительной при пероральном или парентеральном введении, так как она представляет собой хорошо известную, исключительно безопасную молекулу с длительной историей применения, например, в составе вводимых внутривенно продуктов, содержащих железо. ПЭГ, напротив, особенно хорошо подходит для доставки диоксида кремния при местном введении, так как указанный полимер образует крем или мазь и доступен в диапазоне различных молекулярных масс, что позволяет подстраивать вязкость и другие физические параметры к значениям, которые могут быть желательны в готовой мази. Применение настоящего изобретения в продуктах для местного введения используется в терапии для заживления ран и в качестве противомикробных композиций.

Соответственно, в первом аспекте настоящего изобретения предложен способ получения композиции стабилизированного полимерного силиката, содержащей полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, имеющие средний диаметр 20 нм или менее, где указанный способ включает следующие этапы:

- (a) обеспечение водного раствора растворимого силиката при pH более или равном 9,5;
- (b) снижение pH раствора силиката, для обеспечения полимеризации силиката с получением полимерной кремниевой кислоты и частиц наносиликата; и
- (c) одновременно или последовательно за этапами (a) и/или (b)

добавление к раствору силиката стабилизирующего агента, который содержит полиалкиленгликоль и/или сахар, с получением тем самым стабилизированной силикатной композиции, в которой стабилизирующий агент подавляет формирование конденсированных силикатов;

5 при этом композиция стабилизированного полимерного силиката гидратирована, и при этом способ не включает сушку композиции или её нагревание выше 100°C.

10 В другом аспекте настоящего изобретения предложена композиция стабилизированного полимерного силиката, содержащая полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, имеющие средний диаметр 20 нм или менее, получаемая посредством способа по любому из предыдущих пунктов формулы настоящего изобретения.

15 Наночастицы силиката, которые стабильны во времени (*transiently stable*) *in vivo*, могут играть подходящую роль в повторной активации иммунной системы, например, помогая в лечении инфекций и различных видов рака. Виды рака включают меланому, различные виды рака кожи, рак лёгкого, рак поджелудочной железы, рак толстой кишки, прямой кишки и другие
20 «висцеральные» (*splanchnic*) виды рака, рак желудка, рак молочной железы, лимфому, лейкоз, различные виды рака матки, рак предстательной железы, рак пищевода, различные виды рака костей, различные виды рака мочевого пузыря, рак шейки матки, рак эндометрия, рак головного мозга, различные виды рака глаза, рак яичника, рак яичка, рак печени, рак почки, раковые образования
25 головы и шеи и включают метастатические и первичные раковые образования. Инфекция включает, но не ограничивается ей, инфекцию, вызванную вирусами, ретровирусами и бактериями, такими как микобактерии, грамположительные бактерии и грамотрицательные бактерии, а также гельминтами, паразитами и другими инфекционными агентами.

30

Стабильные во времени наночастицы силиката также могут выступать в качестве резервуара для обеспечения высвобождения кремниевой кислоты, которая сама по себе является эффективной для улучшения здоровья

соединительной ткани, и которую можно применять при остеопорозе, срастании перелома, заболеваниях суставов, заболеваниях кожи, нарушениях в функционировании кровеносных сосудов или для обогащения пищи для обеспечения достаточного поступления силиката.

5

Как таковое, введение можно осуществлять посредством местного нанесения, перорального введения или парентерального введения, последнее, в частности, можно осуществлять посредством внутривенного введения.

10

В другом аспекте настоящего изобретения предложена композиция стабилизированного полимерного силиката, содержащая полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, имеющие средний диаметр 20 нм или менее, определённая в настоящем документе, для применения в способе

15

лечения.

В другом аспекте настоящего изобретения предложена композиция стабилизированного полимерного силиката, содержащая полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, имеющие средний диаметр 20 нм

20

или менее, определённая в настоящем документе, для применения в способе стимулирования заживления ран и/или лечения или предотвращения бактериальной инфекции, при этом указанную композицию готовят для местного введения.

25

В другом аспекте настоящего изобретения предложена силикатсодержащая добавка, содержащая композицию стабилизированного полимерного силиката, содержащую полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, имеющие средний диаметр 20 нм или менее, определённую в настоящем документе, для применения в доставке кремниевой

30

кислоты субъекту, представляющему собой человека или животное. Композицию можно применять для лечения патологических состояний, улучшаемых посредством введения силикатов.

В другом аспекте настоящего изобретения предложено применение композиции стабилизированного полимерного силиката, содержащей полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, имеющие средний диаметр 20 нм или менее, определённой в настоящей документе, в
5 изготовлении лекарственного средства для лечения патологического состояния, улучшаемого посредством введения силиката.

В другом аспекте настоящего изобретения предложено применение композиции стабилизированного полимерного силиката, содержащей
10 полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, имеющие средний диаметр 20 нм или менее, определённой в настоящем документе, в качестве силикатсодержащей добавки.

В другом аспекте настоящего изобретения предложена композиция,
15 содержащая композицию стабилизированного полимерного силиката, содержащую полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, имеющие средний диаметр 20 нм или менее, определённую в настоящем документе, для применения в терапии.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен способ лечения
20 патологического состояния, улучшаемого посредством введения кремниевой кислоты, при этом указанный способ включает введение субъекту, нуждающемуся в лечении, терапевтически эффективного количества композиции, содержащей композицию стабилизированного полимерного
25 силиката, содержащую полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, имеющие средний диаметр 20 нм или менее, определённую в настоящем документе.

В другом аспекте настоящего изобретения предложена
30 силикатсодержащая добавка, содержащая композицию стабилизированного полимерного силиката, содержащую полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, имеющие средний диаметр 20 нм или менее, получаемую посредством способа, описанного в настоящем документе, для

применения в доставке динамически стабильных силикатных полимеров субъекту, представляющему собой человека или животное.

5 В другом аспекте настоящего изобретения предложена композиция стабилизированного полимерного силиката для применения в способе лечения, при этом указанная композиция содержит полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, имеющие средний диаметр 20 нм или менее, и стабилизирующий агент, содержащий сахарозу и/или полиалкиленгликоль, при этом указанную композицию готовят для внутривенного (ВВ) введения с
10 помощью внутривенной капельницы.

В другом аспекте настоящего изобретения предложена композиция стабилизированного полимерного силиката для применения в способе лечения, при этом указанная композиция содержит полимерную кремниевую кислоту и
15 частицы наносиликата, имеющие средний диаметр 20 нм или менее, и стабилизирующий агент, содержащий полиалкиленгликоль, при этом указанную композицию готовят для местного введения, и указанная композиция предназначена для применения в способе стимулирования заживления ран и/или лечения или предотвращения бактериальной инфекции.

20
Варианты реализации настоящего изобретения далее будут описаны в качестве примера, а не в целях ограничения, со ссылками на прилагаемые чертежи. Однако различные дополнительные аспекты и варианты реализации настоящего изобретения будут очевидны специалистам в данной области исходя из настоящего описания.

При использовании в настоящем описании «и/или» следует рассматривать как конкретное описание каждого из двух указанных признаков или компонентов с или без другого. Например, «А и/или В» следует
30 рассматривать как конкретное описание каждого из (i) А, (ii) В и (iii) А и В так же, как если бы каждый из них был описан в настоящем документе по отдельности.

Кроме случаев, когда из контекста следует иное, описания и определения

признаков, изложенные выше, не ограничены каким-либо конкретным аспектом или вариантом реализации настоящего изобретения и в равной степени относятся ко всем аспектам и вариантам реализации, которые описаны.

5

Краткое описание чертежей

Фигура 1. Схематическое представление размера частиц на различных стадиях трех теоретических способов синтеза, показанных штриховой линией.

10 **Фигура 2.** Размер частиц силикатов, содержащих лактозу, перед сушкой. На верхнем графике продемонстрировано отсутствие стабильности материалов после синтеза (70 мМ, рН 8), а на нижнем графике продемонстрировано отсутствие стабильности в моделируемых физиологических условиях (40 мМ, рН 7,0). Материалы, представленные на указанной фигуре, были
15 синтезированы согласно US 5807951 для сравнения с композициями стабилизированных полимерных силикатов согласно настоящему изобретению.

Фигура 3. Скорости растворения малых аморфных наносиликатов (МАНС, SANS) после нагревания при 60°C в течение различных периодов времени.

20 Следует отметить, что нагревание не приводило к изменениям размера частиц (не показано).

Фигура 4. Скорости растворения для малых аморфных наносиликатов (МАНС) до и после обработки в автоклаве (121°C в течение 15 мин).

25

Фигура 5. А) Скорости растворения для малых аморфных наносиликатов (МАНС) и коммерческих конденсированных силикатов (Ludox SM30®) в воде (рН 7,2 ± 0,3). В) Скорости растворения малых аморфных наносиликатов (МАНС), автоклавированных МАНС и стабилизированных ПЭГ сверхмалых
30 аморфных наносиликатов (сМАНС, uSANS), а также нестабилизированных сМАНС.

Фигура 6. Изменение размера частиц при повышении pH нестабилизированной суспензии сверхмалых аморфных наносиликатов (40 мМ) до 7,0

5 **Фигура 7.** Изменение размера частиц при повышении pH нестабилизированной суспензии сверхмалых аморфных наносиликатов (0,5 М) до 4,0.

10 **Фигура 8.** Динамическая стабильность размера частиц суспензии сверхмалых аморфных наносиликатов (сМАНС) (0,5 М), стабилизированных сахарозой (1,5), при pH 4.

15 **Фигура 9.** Стабильность суспензий сверхмалых аморфных наносиликатов (1,4% Si; то есть 0,5 М). Силикатные наночастицы стабилизировали посредством различных соединений при pH 3,5 (А). Также продемонстрировано влияние pH в (В). Число дней, необходимых для образования геля, применяли в качестве приблизительного показателя стабильности. Результаты, продемонстрированные при pH 3,5, включают сравнение стабилизированных сахарозой и нестабилизированных материалов.

20 **Фигура 10.** Стабильность размера частиц стабилизированных сахарозой сверхмалых аморфных наносиликатов (сМАНС) при физиологическом значении pH.

25 **Фигура 11.** Размер частиц малых аморфных наносиликатов (МАНС) до и после замораживания.

Фигура 12. Высвобождение кремния из дисперсных и агломерированных частиц малых аморфных наносиликатов (МАНС) (и те и другие в концентрации 5 мМ) в мази на основе ПЭГ.

30 **Фигура 13.** Высвобождение кремния из частиц малых аморфных наносиликатов (МАНС; 5 мМ Si) и сверхмалых аморфных наносиликатов (сМАНС, 40 и 60 мМ Si) в мази на основе ПЭГ согласно фигуре 12.

Фигура 14. Высвобождение кремния из стабилизированного ПЭГ 200 силиката при рН 3, в котором доведение до рН 7 осуществляли на различных стадиях образования мази на основе ПЭГ. Следует отметить, что силикатный материал сначала стабилизировали с применением ПЭГ 200, а затем добавляли ПЭГ 400 и ПЭГ 3350 с получением мази.

Фигура 15. Снижение длины волны пика с увеличением [Si], что свидетельствует о том, что ДМГП высвобождался из комплекса Fe-ДМГП в присутствии стабилизированных силикатных материалов. Штриховая линия обозначает пик, полученный для свободного ДМГП при отсутствии Fe.

Фигура 16. Сдвиг длины волны пика в зависимости от времени после секвестрации железа стабилизированными и нестабилизированными сверхмалыми аморфными наносиликатами (и те и другие в концентрации 1,5 мМ).

Фигура 17. Кривые роста *E.coli* в зависимости от времени в присутствии различных Si сверхмалых аморфных наносиликатов.

Фигура 18. Эксперимент для демонстрации влияния сушки силикатов, содержащих лактозу, при 200°C, как описано в патенте США № 5 807 951. После 4 часов сушки образовались видимые крупные черные агломераты, резко изменяющие полученный материал.

Фигура 19. Размер частиц малых аморфных наносиликатов и Ludox SM30® в воде. Размер частиц МАНС увеличивали до приближения к размеру частиц Ludox SM30®, так что растворимость можно сравнивать независимо от размера. Размер увеличивали посредством добавления концентрированного солевого раствора (1-2 мл, 1,54 М) к дисперсии наносиликата сразу после регулирования рН. Это осуществляли таким образом, чтобы размер частиц Ludox SM30® был приблизительно аналогичен размеру частиц МАНС для того, чтобы растворение не являлось функцией размера частиц. Перед применением дисперсию выдерживали в течение примерно 24 ч при комнатной температуре.

Фигура 20. Скорости растворения, определённые посредством анализа с помощью молибдата, для дисперсий сМАНС (500 мМ Si, pH 1,5) до и после добавления растворимых ионов металлов.

5

Фигура 21. Скорости растворения, определённые посредством анализа с помощью молибдата, для дисперсии сМАНС (500 мМ Si, pH 1,5) после различных периодов инкубации при pH 10.

10

Подробное описание изобретения

Биологическая роль кремния и химия силикатов

Имеющиеся данные свидетельствует о том, что кремниевые кислоты, будь то мономерные или полимерные, оказывают положительное влияние на здоровье и предотвращение или лечение заболеваний у людей и других животных. Однако, как описано выше, основной трудностью в данной области является то, что кремниевая кислота, мономер которой выражают в виде $\text{Si}(\text{OH})_4$, подвергается самосборке, и при значениях $\text{pH} \leq 9,0$ и концентрациях выше максимальной растворимости водного силиката (1,7 мМ при 25°C, см. фигуру 1 из Jugdaosingh с соавт., выше) она образует нерастворимые формы. Как хорошо известно в данной области техники, существует равновесие между растворимыми кремниевыми кислотами и всё более конденсированными формами силикатов, а именно моно-, ди- и трикремниевыми кислотами, поликремниевыми кислотами и частицами силикатов. Процесс роста из растворов кремниевой кислоты заключается в выделении (evolution), при котором отдельная единица увеличивается в размерах и становится всё более и более выделенной (то есть, менее неустойчивой, растворимой и/или разложимой) и, следовательно, менее способной вернуться к $\text{Si}(\text{OH})_4$ без добавления щёлочи. Рост может включать полимеризацию, агрегацию, агрегацию или увеличение размера вследствие поверхностного осаждения растворимых форм. Рост поликремниевых кислот в подходящих условиях в конечном итоге приводит к образованию геля. Указанные факторы чрезвычайно

затрудняют стабилизацию силикатных композиций в концентрациях выше указанных концентраций водного силиката и при физиологически релевантном рН.

5 Следовательно, дозирование силиката является сложной задачей, поскольку дозировка должна обеспечивать доставку кремния, требуемого для обеспечения желаемого эффекта с точки зрения как концентрации, так и химической формы, и при рН, который совместим с физиологическим здоровьем, и способом, который позволит избежать устойчивых наночастиц
10 силиката, которые могут оказывать неблагоприятное воздействие на здоровье. Следует особо отметить, что при введении дозы обычно происходят три значительных изменения вследствие влияния физиологической среды. Во-первых, будет происходить разбавление физиологическими жидкостями, во-вторых, будет иметь место изменение рН, и, в-третьих, произойдет изменение
15 ионной силы. Суммарный эффект указанных воздействий будет определять поведение дозированного силиката. В этом отношении авторы настоящего изобретения обнаружили, что могут быть достигнуты определённые условия для создания доз метастабильного силиката для введения людям или животным при совместимых значениях рН, и что при изменении химической
20 среды, которое может быть вызвано физиологически релевантной системой, требуемые свойства дозы силиката достигаются или сохраняются.

Композиции стабилизированных полимерных силикатов

25 В настоящем изобретении предложены способы получения композиции стабилизированного полимерного силиката, содержащей полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, в частности указанные частицы имеют средний диаметр 20 нм или менее. В способах согласно настоящему изобретению регулируют полимеризацию силикатов и рост размеров частиц, и
30 полученные частицы становятся стабильными по размерам вследствие комбинации концентрации силикатов, рН и/или стабилизатора. Это схематически представлено на фигуре 1. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения композиции дополнительно можно легировать

катионами металлов, так как авторы настоящего изобретения обнаружили, что это может вызывать рост размеров частиц и может обеспечивать композиции с подходящими дополнительными свойствами. Легирование медью (Cu^{2+}) или серебром (Ag^+) является предпочтительным, так как указанное легирование
5 может обеспечивать составы с антимикробными свойствами.

Стабилизированные и гидратированные полимерные силикатные композиции в дальнейшем могут быть получены согласно применению, для которого предназначена композиция. В случае предназначения для местных
10 способов применения композиции могут быть включены в мазь (например, крем на основе ПЭГ), которая сама по себе может придавать дополнительную стабильность. В случае внутривенных способов введения может быть предпочтительным регулирование pH и концентрации стабилизированной суспензии перед введением, например, посредством разведения в буфере для
15 внутривенного введения. В указанном случае вместо долгосрочной стабильности основной целью может являться стабильность размеров в физиологических условиях в период терапевтического окна, в течение которого композицию вводят субъекту. В некоторых случаях разбавление можно применять, чтобы компенсировать некоторую потерю стабильности, которую
20 вызывает изменение pH, так как композиции кремниевой кислоты являются более стабильными при низких концентрациях кремния. Соответственно, стабилизация может обеспечивать достаточное количество времени для материала, который будет применяться, посредством разбавления в момент применения.

25 Одним из предпочтительных признаков настоящего изобретения является то, что стабилизации и регулирования размеров достигают без использования высоких температур на любой стадии способа. Это может контрастировать с подходом, применённым в патенте США № 5807951, в
30 котором сушка силикатов при 200°C вызывает образование конденсированных форм силикатов, которые после этого являются менее биодоступными. Предпочтительно это означает, что способы согласно настоящему изобретению осуществляют при температуре менее 100°C и более предпочтительно менее

70°C. В качестве альтернативы или дополнительно, предпочтительно, чтобы стабилизация была достигнута без удаления растворителя (то есть, сушки), поскольку это также способствует образованию конденсированных форм силиката. Существуют способы, известные в данной области, для получения

5 стабильных коллоидных силикатов, однако в указанных способах применяется комбинация вызванного воздействием тепла старения, и/или органических растворителей, и/или способов сушки при температурах, превышающих 100°C или даже 200°C. Однако указанные стратегии обеспечивают получение наночастиц, которые являются относительно крупными (обычно крупнее 20 нм)

10 и, что более важно, демонстрируют высокий уровень конденсации. В целом, такие высокие уровни конденсации приводят к более устойчивым частицам по сравнению со слабо конденсированными формами композиций стабилизированных полимерных силикатов согласно настоящему изобретению, обладающим потенциальной длительной токсичностью.

15

Предпочтительно композиции полимерных силикатов согласно настоящему изобретению обладают свойством резорбируемости, что означает, что они представляют собой слабо конденсированные аморфные силикаты, которые при введении способны подвергаться растворению в терапевтически

20 подходящих временных рамках. Аморфная природа полимерных силикатных кислотных композиций и различные уровни конденсации и соответствующее структурное расположение твёрдой фазы, которое может быть продемонстрировано посредством аморфных минеральных фаз, могут быть неразличимы при помощи рентгеноструктурного (XRD) анализа (или его эквивалента). Соответственно, в настоящем изобретении уровень конденсации

25 может быть определён посредством соответствующих анализов на растворимость *in vitro*, в соответствии с которыми слабо конденсированные аморфные наносиликаты демонстрируют более высокие скорости растворения по сравнению с конденсированными аморфными силикатами с эквивалентным

30 размером частиц.

В одном из примеров анализ на растворимость может включать взятие образца композиции полимерного силиката и разведение его в буфере. Для

определения концентрации растворимого силиката, присутствующего в аликвоте буфера, в зависимости от временной динамики (time course) анализа можно применять анализ с помощью молибденовой кислоты. Как продемонстрировано в примерах, композицию можно разводить в 10 мМ буфере HEPES и доводить до pH 6,7-7,0. В иллюстративном анализе с помощью молибденовой кислоты применяются 100 мкл испытываемого раствора или стандарта (полученного от Sigma Aldrich стандарта Si для ICP, 1000 мг/л) и 200 мкл окрашивающего раствора молибденовой кислоты (0,6105 г $\text{NH}_4\text{Mo}_7 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 15 мл 0,5 н. H_2SO_4 , 85 мл H_2O). Анализируемый раствор перемещают в луночный планшет и перемешивают в течение 10 минут. После инкубации может быть измерена оптическая плотность (405 нм), и определена концентрация растворимой кремниевой кислоты с применением градуировочной кривой. В качестве примера, композиция «слабо конденсированного» полимерного силиката будет резорбируемой, например, как определено в анализе на растворимость *in vitro*, в котором по меньшей мере 25% композиции и более предпочтительно по меньшей мере 35% композиции, более предпочтительно по меньшей мере 50% композиции и более предпочтительно по меньшей мере 75% композиции в течение 24 часов растворяется в буфере HEPES.

20

Композиции полимерной кремниевой кислоты согласно настоящему изобретению содержат растворимую поликремниевую кислоту и наночастицы полимерной кремниевой кислоты, имеющие средний диаметр 20 нм или менее и в некоторых случаях средний диаметр, который более предпочтительно составляет менее 10 нм, более предпочтительно менее 5 нм, 4 нм, 3 нм, 2 нм или 1 нм. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения частицы могут находиться в диапазоне от примерно 1 нм до примерно 2 нм, или от примерно 1 нм до примерно 3 нм, или от примерно 1 нм до примерно 4 нм, или от примерно 1 нм до примерно 5 нм, или от примерно 1 нм до примерно 10 нм, или от примерно 1 нм до примерно 15 нм, или от примерно 1 нм до примерно 20 нм, или от примерно 5 нм до примерно 20 нм, или от примерно 5 нм до примерно 15 нм, или от примерно 5 нм до примерно 10 нм, или от примерно 10 нм до примерно 15 нм, или от примерно 10 нм до примерно 20 нм, или от

30

примерно 15 нм до примерно 20 нм.

Нерастворимая природа полимерной кремниевой кислоты и/или частиц наносиликата может быть косвенно подтверждена посредством упомянутого
5 выше анализа с помощью молибденовой кислоты, так как указанный анализ определяет фракцию растворимой кремниевой кислоты. В целом, указанные материалы будут находиться в равновесии с растворимой кремниевой кислотой, при этом типичная концентрация растворимой кремниевой кислоты составляет примерно <2 мМ при pH <9,0. Полимерные силикатные композиции
10 согласно настоящему изобретению могут контрастировать с более конденсированными формами силикатов, включая более крупные наночастицы (например, предпочтительно имеющие средний размер более 50 нм и более предпочтительно более 20 нм), гели поликремниевой кислоты и диоксид кремния (SiO₂), полностью конденсированную форму кремниевой кислоты, в
15 которой группы –ОН практически отсутствуют. Размер частиц поликремниевых кислот можно определить с применением динамического рассеяния света, и предпочтительно, чтобы измерения были выполнены на свежеприготовленных или даже стабилизированных образцах. Как должно быть понятно специалистам в данной области, поликремниевые кислоты будут находиться в
20 равновесии с другими формами силиката. Например, и в зависимости от конкретных условий, они могут включать меньшие количества растворимой кремниевой кислоты.

Композиции полимерной кремниевой кислоты согласно настоящему
25 изобретению гидратируются, иначе говоря, вода присутствует на всех этапах их синтеза и по меньшей мере в некоторой степени (например, по меньшей мере 5 масс. %, более предпочтительно по меньшей мере 10 масс. %, по меньшей мере 20 масс. % воды) предпочтительно также в готовом составе, то есть материалы не подвергают сушке или значительному нагреванию перед
30 получением и последующим введением. Однако следует понимать, что стабилизаторы или другие агенты для получения составов можно применять в таких высоких концентрациях, что они вытесняют молекулы воды из частиц

силикатов. Таким образом, вода может быть вытеснена, хотя состав не высушен.

5 Стабилизация композиций полимерной кремниевой кислоты согласно настоящему изобретению предпочтительно продолжается от их синтеза до их хранения, получения и/или введения (например, нежелательное отсутствие агломерации).

10 Полимерные силикатные композиции согласно настоящему изобретению являются метастабильными, иначе говоря, композиции обладают стабильностью, которая подходит для обеспечения срока годности их целевого применения, и не растут в сколько-нибудь значительной степени. В качестве иллюстрации, предпочтительно, чтобы полимерные силикатные композиции согласно настоящему изобретению были стабильными при хранении, 15 например, являясь стабильными в течение 3 месяцев или более, более предпочтительно в течение 6 месяцев или более, более предпочтительно в течение 12 месяцев или более и более предпочтительно 24 месяцев или более. Таким образом, полимерные силикатные композиции согласно настоящему изобретению можно получать посредством частичной конденсации молекул кремниевой кислоты (или силиката). Указанные материалы являются 20 метастабильными в виде отдельных, неагрегированных кластеров или коллоидов.

25 В настоящем изобретении полимерные силикатные композиции содержат стабилизирующий агент, предпочтительно сахар и/или полиалкиленгликоль. Сахара включают олигосахариды, состоящие из восьми или менее моносахаридов, такие как мономерные, димерные или тримерные сахариды. Предпочтительным сахаром является сахароза. Максимальное число мономерных звеньев в сахаре выбирают таким образом, чтобы его введение не 30 вызывало у субъекта иммунного ответа на введение. Полиалкиленгликоли представляют собой семейство полиэфирных соединений, которые включают полиэтиленгликоль (ПЭГ) и полипропиленгликоль. Примеры стабилизирующих агентов, которые представляют собой сахара (сахариды), включают

мономерные, димерные, тримерные и полимерные сахара (сахарид) или соответствующие сахарные спирты, такие как глюкоза, фруктоза, манноза, сахароза, трейт, эритрит, сорбит, маннитол, галактитол или адонитол. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения, в которых 5 стабилизирующий агент представляет собой сахар, указанный агент представляет собой олигосахарид, отличный от лактозы. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения, в которых применяют сахарный спирт, указанный сахарный спирт отличен от маннитола. В настоящем изобретении применение сахаров в качестве стабилизирующих 10 агентов для композиций, которые вводят внутрь, является предпочтительным, так как они являются безопасными для введения субъектам, представляющим собой людей и животных.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения можно 15 применять комбинации по меньшей мере двух различных сахаров или полиалкиленгликолей, например, два, три, четыре или пять или более сахаров или полиалкиленгликолей, например, посредством добавления их на этапе (а) и/или (b). Стабилизирующие агенты, представляющие собой сахара и/или полиалкиленгликоли, обычно добавляют в концентрации от 0,01 М до 3,0 М, и 20 более предпочтительно от 0,03 до 2,0 М, и наиболее предпочтительно от 0,1 М до 1,5 М. Специалист может провести стандартные испытания для определения того, какие комбинации сахаров и/или полиалкиленгликолей наилучшим образом действуют в той или иной ситуации.

25 Композиции стабилизированных полимерных силикатов согласно настоящему изобретению можно отличить от композиций, предложенных в публикации заявки на патент США № 2003/0206967 (Choi с соавт.), в которой описана композиция, которая содержит метасиликат натрия, буру, тиосульфат натрия, карбонат калия и сахар-рафинад в воде. Это приводит к 30 сильнощелочной композиции, имеющей рН примерно 13, в отличие от значений рН композиций стабилизированных полимерных силикатов согласно настоящему изобретению, которые предпочтительно составляют от 3,0 до 9,0, более предпочтительно от 3,0 до 8,0 и более предпочтительно от 5,5 до 7,5.

Способ, применённый для получения композиций Choi с соавт., отличается от настоящего изобретения, так как в настоящем изобретении композиции получают посредством снижения pH с получением стабильных силикатных полимеров. Учитывая вышеизложенное, предпочтительно, чтобы композиции

5 стабилизированных полимерных силикатов согласно настоящему изобретению не содержали один или более компонентов, представляющих собой метасиликат натрия, буру, тиосульфат натрия, карбонат калия, и предпочтительно не содержали буру.

10 В других аспектах настоящего изобретения в качестве стабилизирующих агентов могут быть применены карбоновые кислоты, и карбоновая кислота может представлять собой C₂₋₁₀ карбоновую кислоту, например, дикарбоновую кислоту, такую как щавелевая кислота, малоновая кислота, глутаровая кислота, винная кислота, янтарная кислота, адипиновая кислота или пимелиновая

15 кислота, или ионизированные формы указанных кислот (то есть, соответствующие карбоксилаты), такие как адипат, или, например, монокарбоновую кислоту, такую как глюконовая кислота. Другими примерами стабилизирующих агентов являются дикарбоновые кислоты, которые могут быть представлены формулой HOOC-R₁-COOH (или ионизированные формы

20 указанных кислот), где R₁ представляет собой необязательно замещённую C₁₋₁₀ алкильную, C₁₋₁₀ алкенильную или C₁₋₁₀ алкинильную группу. В целом, предпочтительным является применение карбоновых кислот, в которых R₁ представляет собой C₁₋₁₀ алкильную группу и более предпочтительно представляет собой C₂₋₆ алкильную группу.

25 В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения композиции полимерной кремниевой кислоты могут быть приведены в контакт с катионами металлов, такими как Ca²⁺, Mg²⁺, Ag⁺, Al³⁺, Cu²⁺, Fe³⁺ и/или Zn²⁺, так как авторы настоящего изобретения обнаружили, что это помогает стабилизировать

30 композиции в целях предотвращения растворения, что может быть предпочтительным в некоторых способах применения, или обеспечивать дополнительные функциональные преимущества (например, антимикробное действие, например, посредством включения Ag⁺ и/или Cu²⁺). Не ограничиваясь

теорией, авторы настоящего изобретения полагают, что катионы покрывают частицы наносиликата посредством взаимодействия со свободными силанольными группами (-ОН), присутствующими в материалах. В качестве рекомендации, предпочтительно, чтобы катион металла был добавлен с обеспечением конечной концентрации от 0,01 М до 1,0 М, и более предпочтительно катион металла был добавлен с обеспечением конечной концентрации от 0,05 М до 0,5 М. Предпочтительно катион металла добавляют с обеспечением отношения Si к металлу от 100:1 до 10:1 и, необязательно, с обеспечением отношения Si к металлу 20:1.

10

Авторы настоящего изобретения также неожиданно обнаружили, что полимерные силикатные кислотные композиции согласно настоящему изобретению можно дополнительно стабилизировать посредством добавления неводного растворителя, такого как спирт. Предпочтительным примером спирта является этанол. В качестве иллюстрации, неводный растворитель можно добавлять в количестве от 10 до 50% об./об., или от 20 до 50% об./об., или от 10 до 20% об./об. Кроме того, в некоторых случаях авторы настоящего изобретения обнаружили, что комбинация сахарозы со спиртом была особенно эффективной для стабилизации композиций.

20

В дальнейшем описании этапов способов согласно настоящему изобретению специалистам в данной области должно быть очевидно, что существует возможность изменять порядок некоторых этапов вышеуказанного способа, и/или для некоторых этапов существует возможность проходить одновременно. Другие этапы являются необязательными, как указано выше и дополнительно объяснено ниже.

25

В работе, приведшей к настоящему изобретению, авторы настоящего изобретения обнаружили, что стабильности полимерных силикатных композиций способствует ряд факторов, включая скорость, с которой снижают рН исходного щелочного раствора силиката, включение стабилизаторов, в частности сахаров или полиалкиленгликолей, добавление катионов металлов и/или добавление неводного растворителя. Соответственно, в способах

30

согласно настоящему изобретению могут быть применены указанные подходы, по отдельности или в любой комбинации, для получения полимерных силикатных композиций, обладающих достаточной стабильностью для применения, например, в качестве добавок или терапевтических агентов.

- 5 Катионы металлов также могут служить для придания композициям антибактериальных свойств (например, посредством добавления Ag^+ или Cu^{2+}) и/или для подавления растворения композиции, как показано на фигуре 20.

10 В некоторых случаях, в частности в случае получения сверхмалых частиц наносиликатов («сМАНС»), скорость, с которой снижают pH щелочного раствора силиката, может оказывать значительное влияние на стабильность полученных полимерных силикатных композиций. Предпочтительно pH снижают (например, до pH не более 4,0 или 3,0) в течение периода менее 60 секунд, более предпочтительно менее 30 секунд, более предпочтительно
15 менее 10 секунд или наиболее предпочтительно менее 5 секунд.

В случае этапа (a) предпочтительно, чтобы концентрация щелочного раствора силиката составляла от 0,05 М до 1,5 М и более предпочтительно составляла от 0,03 до 2,0 М и наиболее предпочтительно от 0,1 М до 1,0 М.
20 Применение растворов со значениями pH, которые выше 9,5, также является предпочтительным для того, чтобы поддерживать растворимость силикатов, и предпочтительно на этапе (a) pH щелочного раствора силиката составляет примерно 10,5 или выше, и ещё более предпочтительно составляет примерно 11,5 или выше. В случае готовых полимерных силикатных композиций
25 концентрация кремния может составлять 2,5 мМ или более, 5,0 мМ или более, 25 мМ или более, 30 мМ или более, 40 мМ или более, 50 мМ или более, 100 мМ или более, 250 мМ или более, 500 мМ или более. В случае готовых композиций стабилизированных полимерных силикатов концентрация кремния может составлять 1,5 М или менее, 1,0 М или менее, 500 мМ или менее и находится в
30 диапазоне между указанными нижними и верхними пределами.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения сниженный pH на этапе (b) оказывает влияние на вид стабилизированных наночастиц

силиката, которые можно получить. Как продемонстрировано в примерах, сМАНС или сверхмалые частицы, которые имеют средний диаметр 5 нм или менее, могут быть образованы посредством быстрого снижения рН от более 10 до 3,0 или менее и обеспечивают концентрации кремния, которые можно
5 применять, до 1 М. В качестве альтернативы, МАНС или малые наночастицы имеют средний диаметр 10 нм или менее и могут быть образованы посредством снижения рН до примерно 7,4. В указанном случае можно применять более низкие концентрации, составляющие примерно 50 мМ или менее. Соответственно, сниженный рН может составлять 7,4 или ниже или 3,0
10 или ниже. Это обеспечивает получение сМАНС при низком рН, как описано, рН, повышаемый для роста сМАНС до МАНС с определённым размером частиц, и размер, стабилизированный посредством вторичного снижения рН, если это потребуется. На определённой стадии указанного способа требуется стабилизатор. Указанные способы являются важной частью данной области.

15

В определённом случае при длительном хранении стабилизированных водных суспензий можно снижать рН и/или разбавлять суспензию. В качестве альтернативы или дополнительно, после длительного хранения при нефизиологическом значении рН и перед введением субъекту суспензию
20 наносиликата можно доводить до физиологического значения рН, и/или разбавлять, и/или добавлять стабилизатор.

В ситуациях, когда силикатные композиции готовят в виде мази или крема, или когда суспензию разбавляют таким образом, что концентрация
25 кремния в ней составляет 100 мМ или менее, может быть предпочтительным, чтобы рН композиции или состава, содержащего указанную композицию, был повышен до физиологического значения рН, предпочтительно до рН от 3,0 до 8,0 и более предпочтительно до рН от 5,5 до 7,5. В целях удобства, это можно осуществлять посредством добавления основания, такого как гидроксид натрия
30 или карбонат натрия. В целом, рН композиции должен быть подходящим для введения, то есть близким к физиологическому значению, например, $7,4 \pm 1,5$. Целью этого является то, что введение субъекту не будет приводить к непредвиденным клиническим исходам, таким как боль или воспаление. Однако

в зависимости от способа введения может быть допустимо, если готовый состав, содержащий композиции стабилизированных полимерных силикатов, имеет рН в диапазоне от 3 до 9.

5 Композиция должна быть подходящим образом стабилизирована, так что размер частиц наносиликатов будет оставаться достаточно стабильным (<20 нм) для целевого применения. Например, в случае состава для внутривенного введения размер частиц раствора, подвергнутого первоначальному хранению, (например, при рН <3 и 100 мМ Si) будет стабильным в течение всего периода хранения, а затем после разбавления забуференным раствором для
10 внутривенного введения указанный размер будет оставаться стабильным сначала в течение нескольких часов перед применением, а затем, после введения, указанные частицы не будут подвергаться агломерации. Стабилизация с помощью ПЭГ в случае местных способов применения также
15 означала бы, что размер частиц в мази был бы достаточно постоянным при хранении и после нанесения.

Получение и способы применения композиций

20 Композиции стабилизированных полимерных силикатов согласно настоящему изобретению могут быть получены для применения в целом ряде биологически релевантных областей, включая получение для применения в качестве фармацевтических или пищевых композиций, и в частности в качестве силикатсодержащей добавки или терапевтических агентов. Композиции
25 согласно настоящему изобретению наряду с одним или более твердофазными материалами согласно настоящему изобретению могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательное вещество, носитель, буфер, стабилизатор или другие вещества, хорошо известные специалистам в данной области. Такие вещества должны быть нетоксичными и не должны
30 препятствовать эффективности композиций стабилизированных полимерных силикатов в зависимости от их целевого применения. Помимо существования способов применения для лечения или предотвращения патологических состояний у субъектов, представляющих собой людей, настоящее изобретение

применяется в области ветеринарии.

В настоящем изобретении предложены композиции, подходящие для
целого ряда различных способов применения, в которых кремниевая кислота
5 предоставляется субъекту.

В одном из способов применения композиции стабилизированных
полимерных силикатов могут быть предназначены для применения в
пероральной доставке кремниевой кислоты субъекту через желудочно-
10 кишечный тракт, в частности, при этом стабилизатор представляет собой сахар.
В указанном аспекте настоящего изобретения предпочтительно композиция
обычно предназначена для непосредственного введения субъекту, то есть не
существует необходимости в этапе разбавления, который будет
осуществляться субъектом перед введением. Предпочтительно стабилизатор
15 выбирают из числа сахаридов, описанных в настоящем документе. Как
правило, сахар можно применять в количестве от 0,01 М до 3,0 М и более
предпочтительно от 0,03 до 3,0 М, ещё более предпочтительно от 0,1 до 3,0 М и
наиболее предпочтительно от 0,01 М до 1,5 М. Более предпочтительно
композиции имеют рН от 1,0 до 6,0, от 1,5 до 5,0, или от 2,2 до 4,0, или от 2,4 до
20 4,0. В других вариантах реализации настоящего изобретения композиции
имеют рН от 1,5, или 2,0, или 2,5 и до 6,0, или 5,5, или 5,0, или 4,5, или 4,0, или
3,5. Концентрация кремния составляет от 0,1 М до 1,5 М. Указанные
композиции можно применять для дополнительного потребления кремния или
для доставки терапевтического силиката, то есть для лечения патологического
25 состояния, улучшаемого посредством доставки терапевтического или пищевого
силиката. Предпочтительно композиция стабилизированного полимерного
силиката при получении для пероральной доставки представляет собой
капсулу, заполненную жидкостью. Указанная композиция может быть
предназначена для лечения патологического состояния в желудочно-кишечном
30 тракте или для осуществления дополнительного потребления кремния. Первое
может включать связывание железа для ослабления токсического действия
железа в толстой кишке. Указанный и другие варианты реализации
пероральной доставки могут требовать энтеросолюбильного или

специализированного покрытия для замедленного высвобождения.

5 В другом способе применения композиции стабилизированных полимерных силикатов могут быть введены субъекту внутривенно посредством разведения в капельнице, обычно капельнице с глюкозой, или солевым раствором, или сахарозой, с или без применения буфера или агента для обеспечения pH, подходящего для введения. В указанном аспекте настоящего изобретения определение доз, подходящих для обеспечения заданных уровней силиката в кровотоке, может быть осуществлено врачами с применением 10 подходов, хорошо известных в данной области.

В альтернативном способе применения композиции стабилизированных полимерных силикатов могут быть приготовлены для местного введения, например, для нанесения на кожу или поверхность ран.

15

Жидкие фармацевтические композиции обычно содержат жидкий носитель, такой как вода, нефтяные, животные или растительные масла, минеральное масло или синтетическое масло. В состав могут входить физиологический солевой раствор, раствор декстрозы или других сахаридов или гликоли, такие как этиленгликоль, пропиленгликоль или полиэтиленгликоль. В случае если силикатсодержащую добавку необходимо поддерживать в твёрдой форме, например, чтобы регулировать доставку компонента материала, может потребоваться соответствующим образом выбирать компоненты состава, например, в случае, если получен жидкий состав 20 материала. Консерванты, стабилизаторы, буферы, антиоксиданты и/или другие добавки могут входить в состав в случае необходимости, например, в вариантах реализации настоящего изобретения, в которых полимерные силикатные композиции подходят для введения субъекту через капельницу.

25

30 В терапевтических способах применения композиции стабилизированных полимерных силикатов согласно настоящему изобретению предпочтительно вводят индивидууму в «профилактически эффективном количестве» или «терапевтически эффективном количестве» (в зависимости от ситуации, хотя

профилактика может считаться терапией), при этом указанное количество является достаточным, чтобы продемонстрировать преимущество для индивидуума (например, в биодоступности). Фактическое вводимое количество, а также скорость и срок (time-course) введения будут зависеть от природы и тяжести заболевания, которое подвергают лечению. Назначение лечения, например, принятие решения о дозировке и т.д., входит в обязанности врачей общей практики и других врачей, и при этом обычно учитываются нарушение, подлежащее лечению, состояние конкретного пациента, место доставки, способ введения и другие факторы, известные специалистам. Примеры методик и протоколов, упомянутых выше, можно найти в Remington's Pharmaceutical Sciences, 20-е изд., 2000, Lippincott, Williams & Wilkins. Композицию можно вводить отдельно или в комбинации с другими лекарственными средствами, одновременно или последовательно в зависимости от патологического состояния, подлежащего лечению.

Композиции согласно настоящему изобретению можно применять в терапевтических областях, в которых желательна доставка силиката, включая лечение широкого спектра медицинских патологических состояний, которые включают, но не ограничиваются ими, остеопороз, остеопению, нарушения в скелетно-мышечной системе и суставах, рак всех видов, патологические состояния кожи, сосудистые заболевания, сердечно-сосудистые заболевания, коронарные заболевания сердца, воспалительные заболевания, аутоиммунные заболевания, болезнь Альцгеймера, когнитивное нарушение, инфекции всех видов, раны, язвы, нарушения работы желудочно-кишечного тракта, заболевание печени, заболевание почек, нарушения, связанные с иммунной системой, или нарушения, связанные с гормонами. Косметические аспекты настоящего изобретения включают косметическое улучшение волос, кожи или ногтей, например, чтобы обеспечивать их улучшенный внешний вид. Композиции согласно настоящему изобретению также можно применять в областях ветеринарной терапии, в которых желательна доставка кремния, включая, но не ограничиваясь ими, лечение ран, язв и различных видов рака. Терапевтические способы применения силикатов предложены в WO 2009/052090, публикации заявки на патент США № 2009/0130230 и публикации

заявки на патент США № 2013/0149396, полностью включённых в настоящее описание посредством ссылок, и в частности композиции согласно настоящему изобретению можно применять для лечения патологических состояний, предложенных в указанных источниках, с дополнительным преимуществом в том, что композиции согласно настоящему изобретению являются стабилизированными.

В другом аспекте полимерные силикатные композиции согласно настоящему изобретению могут быть доставлены перорально не из-за биодоступности кремния, а скорее для удерживания его в просвете дистального отдела кишечника, где всасывание является низким, и для использования высокой аффинности связывания поликремниевой кислоты с некоторыми катионами, в частности катионом железа. Последние данные свидетельствуют о том, что железо в толстой кишке является пермиссивным для развития различных видов рака толстой кишки у предрасположенных индивидуумов (13). Таким образом, в другом варианте реализации настоящего изобретения доставка композиций стабилизированных полимерных силикатов, нацеленная на толстую кишку, в концентрациях, которые, оказавшись в указанной среде, способствуют только постепенному растворению или даже конденсации поликремниевой кислоты, будет приводить к комплексообразованию/деактивации железа в полости и, таким образом, предотвращению или уменьшению образования опухолей в местной среде. Указанный способ применения может подходить для лечения или предотвращения рака толстой кишки.

В условиях инфекции и хронического заболевания, такого как рак, организм обуславливает анемическое состояние частично вследствие пониженной мобилизации железа и пониженного возвратно-поступательного перемещения железа между различными клеточными и внеклеточными пространствами. Железо блокируется в ферритине. Это происходит потому, что свободное железо может усугублять состояние инфекции и течение хронического заболевания, и, таким образом, оно должно быть изолировано. И действительно, одной из часто предлагаемых стратегий в лечении заболеваний

является секвестрация железа с применением хелатирующих агентов, которые фиксируют его в неподвижном состоянии. Обнаружение того, что полимерные силикатные композиции согласно настоящему изобретению (например, МАНС и сМАНС) могут «ликвидировать» (mor up) железо, означает, что в случае, если они подходящим образом приготовлены для введения субъекту, указанные композиции могут иметь клиническое значение в секвестрации железа и помощи в борьбе с заболеваниями. Это может происходить вследствие связывания железа в просвете желудочно-кишечного тракта с предотвращением тем самым поступления железа в организм и/или его токсического действия по отношению к клеткам кишечника, таким как клетки колоректальной области, или может представлять собой системный эффект после парентерального введения в клеточные и/или внеклеточные пространства.

Наночастицы силиката, которые динамически стабильны *in vivo*, могут играть подходящую роль в реактивации иммунной системы, например, для помощи для лечения инфекций и различных видов рака. Виды рака могут включать, но не ограничиваются ими, меланому, различные виды рака кожи, рак лёгкого, рак поджелудочной железы, рак толстой кишки, прямой кишки и другие «чревные» (splanchnic) виды рака, рак желудка, рак молочной железы, лимфому, лейкоз, различные виды рака матки, рак предстательной железы, рак пищевода, различные виды рака костей, различные виды рака мочевого пузыря, рак шейки матки, рак эндометрия, рак головного мозга, различные виды рака глаза, рак яичника, рак яичка, рак печени, рак почки, раковые образования головы и шеи и включают метастатические и первичные раковые образования. Инфекция включает, но не ограничивается ей, инфекцию, вызванную вирусами, ретровирусами и бактериями, такими как микобактерии, грамположительные бактерии и грамотрицательные бактерии, а также гельминтами, паразитами и другими инфекционными агентами.

30

Динамически стабильные наночастицы силиката также могут выступать в качестве резервуара для обеспечения высвобождения кремниевой кислоты, которая сама по себе является эффективной для улучшения здоровья

соединительной ткани, и которую можно применять при остеопорозе, срастании перелома, заболеваниях суставов, заболеваниях кожи, нарушениях в функционировании кровеносных сосудов или для обогащения пищи для обеспечения достаточного поступления силиката.

5

Таким образом, введение можно осуществлять посредством местного применения, перорального введения или парентерального введения, последнее, в частности, можно осуществлять посредством внутривенного введения.

10

Другие медицинские способы применения композиций согласно настоящему изобретению включают лечение гипертонии, диабета, заболеваний костей, сердечно-сосудистых заболеваний, нейродегенеративных патологий, рака всех видов, не указанных выше, гиперкислотности, остеопороза, зубного

15 камня, болезни Альцгеймера, болезни Крейтцфельдта – Якоба, а также заживление ран.

15

Другие медицинские способы применения композиций согласно настоящему изобретению включают лечение кожи, поражённой ожогом, повреждённой в результате ранения или действия патогенов или едких

20 химических веществ, включая лечение солнечного ожога, или любого заболевания кожи, включая псориаз, экзему и дерматит других видов.

20

Полиалкиленгликоли, такие как ПЭГ, особенно хорошо подходят для

25 местной доставки силиката, так как указанный полимер образует мазь и доступен в диапазоне различных молекулярных масс, что позволяет подстраивать вязкость и другие физические параметры к значениям, которые могут быть желательны в готовой мази.

25

30 Специалистам в данной области должно быть понятно, что доставка при местном применении может быть достигнута с применением мазей, не на основе или только частично на основе ПЭГ. В указанном случае после первоначальной стабилизации с применением ПЭГ, описанной в настоящем

30

документе, силикаты включают в мазь не на основе ПЭГ, например, композицию ПЭГ-стабилизированного наносиликата включают в дополнительный, отличный от ПЭГ носитель, такой как гидроксипропилцеллюлоза.

5

Эффективное количество одной или более композиций стабилизированных полимерных силикатов в настоящем изобретении может быть приготовлено для местного нанесения, например, на кожу, зубы, ногти или волосы. Указанные композиции могут находиться в форме кремов, лосьонов, гелей, суспензий, дисперсий, микроэмульсий, нанодисперсий, микросфер, гидрогелей, эмульсий (масло-в-воде и вода-в-масле, а также множественных эмульсий) и многослойных (multilaminar) гелей и т.п. (см, например, The Chemistry and Manufacture of Cosmetics, Schlossman с соавт., 1998) и могут быть получены в виде водных или силиконовых композиций или могут быть получены в виде эмульсий, состоящих из одной или более масляных фаз в водной непрерывной фазе (или водной фазы в масляной фазе). Вид носителя, применяемого в настоящем изобретении, зависит от свойств композиции для местного применения. Носитель может быть твёрдым, полутвёрдым или жидким. Подходящие носители являются жидкими или полутвёрдыми носителями, такими как кремы, лосьоны, гели, палочки, мази, пасты, спреи и муссы. В частности, носитель находится в форме крема, мази, лосьона или геля, более конкретно в указанной форме, которая имеет достаточную густоту или предел текучести для предотвращения седиментации частиц. Носитель может сам по себе быть инертным, или он может обладать своими собственными преимуществами. Носитель также должен быть физически и химически совместим с композициями стабилизированных полимерных силикатов или другими ингредиентами в составе носителя. Примеры носителей включают воду, гидроксипропилцеллюлозу, пропиленгликоль, бутиленгликоль и полиэтиленгликоль или их комбинацию.

30

Материалы и способы

Получение малых аморфных наносиликатов (МАНС, SANS)

25±5 мМ раствор силиката получали из концентрированного исходного
5 раствора силиката натрия. Затем применяли раствор HCl для доведения pH до
6,8 ± 0,2. Снижение pH приводило к получению аморфных коллоидных
силикатов. Раствору давали прийти в равновесие в течение 16-24 часов, в ходе
которых значение его pH увеличилось до 7,1 ± 0,2. Способ, приводящий к
получению композиций стабилизированных полимерных силикатов согласно
10 настоящему изобретению, схематически представлен на фигуре 1.

Методика

Аликвоты разбавляли до концентрации примерно 1 мМ в 10 мМ буфере
HEPES и при необходимости доводили значение pH до 6,7-7 через 25 ч после
15 получения исходного раствора МАНС. Для определения концентрации
растворимого силиката в зависимости от времени применяли анализ с
применением молибденовой кислоты.

Анализ с применением молибденовой кислоты

20 100 мкл испытываемого раствора или стандарта (полученного от Sigma
Aldrich стандарта Si для ICP, 1000 мг/л) и 200 мкл окрашивающего раствора
молибденовой кислоты (0,6105 г NH₄Mo₇ 4H₂O, 15 мл 0,5 н. H₂SO₄, 85 мл H₂O)
переносили в 96-луночный планшет и перемешивали в течение 10 мин. После
инкубации измеряли оптическую плотность (405 нм) и определяли
25 концентрацию растворимой кремниевой кислоты с применением
градуировочной кривой.

Стабилизированные ПЭГ сверхмалые аморфные наносиликаты (сМАНС)

Суспензию наночастиц силикатов (0,5 М Si) получали посредством
30 первоначального разбавления концентрированного раствора силиката натрия
(pH полученного раствора превышал 10,5) и последующего снижения pH до
примерно 1,0 менее чем за 5 секунд посредством болюсного добавления
концентрированной HCl. Затем pH повышали до 3,0 и добавляли 1 М ПЭГ 200.

Указанную суспензию затем (через 24 ч) разбавляли до 1 мМ Si для анализа на растворимость.

Нестабилизированные сверхмалые аморфные наносиликаты (сМАНС)

5 Применяли тот же способ, что и для ПЭГ-стабилизированного материала (0,5 мМ, рН 3), но без добавления ПЭГ.

Изменение размера частиц при повышении рН нестабилизированной суспензии сверхмалых аморфных наносиликатов (сМАНС; 0,5 М) до 7,0

10 Нестабилизированную суспензию сМАНС (0,5 М Si) получали посредством первоначального разбавления концентрированного раствора силиката натрия (рН полученного раствора превышал 10,5) и последующего снижения рН до примерно 1,0 менее чем за 5 секунд посредством болюсного добавления концентрированной HCl с последующим повышением рН до 3,5.
15 Затем суспензию разбавляли до 40 мМ и повышали рН до 7,0, чтобы вызвать контролируемый рост частиц.

Изменение размера частиц при повышении рН нестабилизированной суспензии сверхмалых аморфных наносиликатов (сМАНС) (0,5 М) до 4,0

20 *Способ:* Нестабилизированную суспензию сМАНС (0,5 М Si) получали посредством первоначального разбавления концентрированного раствора силиката натрия (рН полученного раствора превышал 10,5) и последующего снижения рН до примерно 1,0 менее чем за 5 секунд посредством болюсного добавления концентрированной HCl. Затем рН повышали до 4,0, чтобы вызвать
25 контролируемый рост частиц.

Динамическая стабильность размера частиц суспензии сМАНС (0,5 М), стабилизированной с применением ПЭГ, при рН 4,0

30 Нестабилизированную суспензию наночастиц силикатов (0,5 М Si) получали посредством первоначального разбавления концентрированного раствора силиката натрия (рН полученного раствора превышал 10,5) и последующего снижения рН до примерно 1,0 менее чем за 5 секунд

посредством болюсного добавления концентрированной HCl. Затем pH повышали до 4,0 и добавляли 1М ПЭГ.

5 ***Стабильность размера частиц стабилизированных сахарозой сверхмалых аморфных наносиликатов (сМАНС) при физиологическом значении pH***

10 Стабилизированную сахарозой суспензию сМАНС (0,5 М Si) получали посредством разбавления концентрированного раствора силиката натрия (pH полученного раствора превышал 10,5) и добавления сахарозы (таким образом, что конечная композиция содержала 1,5 М сахарозы). Затем pH снижали до примерно 1,0 менее чем за 5 секунд посредством болюсного добавления концентрированной HCl. Затем добавляли гидроксид натрия с получением pH 3,5. Затем указанную суспензию разбавляли до 40 мМ Si и доводили pH до 7 для имитации внутривенного введения.

15

Размер частиц малых аморфных наносиликатов (МАНС) до и после замораживания

20 Свежую суспензию МАНС (30 мМ, лекарственное средство, как на фигуре 3) выдерживали при -20°C в течение 16 часов, и позволяли оттаивать в течение 1-3 часов перед включением в крем на основе ПЭГ.

Высвобождение кремния из дисперсных и агломерированных частиц малых аморфных наносиликатов (МАНС) (и те и другие в концентрации 5 мМ) в креме на основе ПЭГ

25 ***Анализ на высвобождение:*** Содержащие Si кремы на основе ПЭГ (10 г) переносили на дно пробирки Falcon и позволяли оседать в течение по меньшей мере 12 часов. Затем поверх слоя крема добавляли 10 мл 50 мМ бикарбонатного буфера (pH 7) и определяли высвобождение кремния в зависимости от времени методом ИСП-ОЭС (оптической эмиссионной 30 спектрометрии с индуктивно связанной плазмой). Анализ проводили при комнатной температуре ~20°C. Агломерированные материалы получали посредством замораживания и оттаивания, как описано выше.

Включение в крем на основе ПЭГ

Расплавляли ПЭГ 3350 (5,25 г). Суспензию МАНС (2,3 г 30 мМ суспензии) смешивали с ПЭГ 400 (6,15 г) при температуре 65-70°C и добавляли к расплаву ПЭГ. Полученную смесь гомогенизировали и позволяли охлаждаться до комнатной температуры.

Высвобождение кремния из частиц МАНС (5 мМ Si) и сМАНС (40 и 60 мМ Si) в креме на основе ПЭГ

Методика: Та же, что описана на фигуре 12.

Включение сМАНС в крем на основе ПЭГ

Способ 1: Расплавляли ПЭГ 3350 (5,25 г) и добавляли гидроксид натрия, чтобы обеспечить значение рН образовавшегося крема, превышавшее 6. Стабилизированные ПЭГ 200 силикатные наночастицы (2,3 г 0,5 М суспензии) смешивали с ПЭГ 400 (6,15 г) при температуре 65-70°C и добавляли к расплаву ПЭГ. Полученную смесь гомогенизировали и позволяли охлаждаться до комнатной температуры.

Способ 2: Расплавляли ПЭГ 3350 (5,25 г) и добавляли гидроксид натрия, чтобы обеспечить значение рН образовавшегося крема, превышавшее 6. Стабилизированные ПЭГ 200 силикатные наночастицы (2,3 г 0,5 М суспензии) смешивали с ПЭГ 400 (6,15 г) при комнатной температуре и добавляли к расплаву ПЭГ. Полученную смесь гомогенизировали и позволяли охлаждаться до комнатной температуры.

Высвобождение кремния из стабилизированного ПЭГ 200 полимерного силиката в мази на основе ПЭГ

Стабилизированный силикат при рН 3, в котором доведение до рН 7 осуществляли на различных стадиях образования крема на основе ПЭГ.

Методика: Получение мазей на основе ПЭГ включало введение стабилизированной ПЭГ 200 суспензии (0,5 М Si, рН 3,0) в крем на основе ПЭГ, который дополнительно стабилизировал материалы. Крем получали посредством первоначального перемешивания суспензии ПЭГ 400 с

последующим нагреванием до 60-70°C и последующего добавления ПЭГ 3350. Нейтрализацию pH осуществляли посредством добавления NaOH после 1) стабилизации ПЭГ 200 (до ПЭГ 400), или 2) после добавления ПЭГ 400, или 3) с добавлением ПЭГ 3350.

5

Эксперименты по получению и определению испытываемых характеристик композиций стабилизированных полимерных силикатов согласно настоящему изобретению

10 ***Аморфные слабо конденсированные материалы***

Аморфные наносиликаты могут иметь различные уровни конденсации, которые трудно различимы с помощью стандартных методов, таких как РСА (рентгеноструктурный анализ). Авторы настоящего изобретения установили, что воздействие даже умеренных температур (например, 60°C) может со временем привести к повышению конденсации, что приводит к снижению скорости растворения (фигура 3). Указанное нежелательное изменение особенно ярко проявляется при более высоких температурах, таких как температуры, применяемые в процессе сушки или стерилизации, где даже короткие воздействия приводят к резкому снижению лабильности (фигура 4). В противоположность этому описанные в настоящем документе способы синтеза приводят к получению стабильных наночастиц, которые являются лабильными, то есть нестойкими *in vivo* (фигура 5). Для сравнения Ludox SM30® является примером конденсированных силикатных наночастиц. На фигуре 19 продемонстрировано, что в то время как Ludox SM30® и наносиликаты согласно настоящему изобретению имеют аналогичные размеры частиц, их соответствующие различные скорости растворения означают, что скорость растворения не зависит от размера.

25 ***Получение малых аморфных наносиликатов (МАНС)***

30 30±3 мМ раствор силиката получали из концентрированного исходного раствора силиката натрия. Затем применяли раствор HCl для доведения pH до 6,8 ± 0,2. Снижение pH приводило к образованию аморфных полимерных

силикатов. Раствору давали прийти в равновесие в течение 16-24 часов, в ходе которых значение его pH увеличилось до $7,1 \pm 0,2$.

5 *Методика:* После получения готовили суспензию МАНС и сразу же нагревали указанную суспензию до 60°C . В определённые моменты времени отбирали аликвоты и позволяли им охлаждаться до комнатной температуры. Аликвоты разбавляли до примерно 1 мМ в 10 мМ буфере HEPES и доводили значение pH до 6,7-7 через 25 ч после получения исходного раствора МАНС. Для определения концентрации растворимого силиката в зависимости от
10 времени применяли анализ с помощью молибденовой кислоты.

Анализ с помощью молибденовой кислоты: 100 мкл испытываемого раствора или стандарта (полученного от Sigma Aldrich стандарта Si для ICP, 1000 мг/л) и 200 мкл окрашивающего раствора молибденовой кислоты (0,6105 г
15 $\text{NH}_4\text{Mo}_7 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 15 мл 0,5 н. H_2SO_4 , 85 мл H_2O) переносили в 96-луночный планшет и перемешивали в течение 10 мин. После инкубации измеряли оптическую плотность (405 нм) и определяли концентрацию растворимой кремниевой кислоты с применением градуировочной кривой.

20 ***Стабилизированные ПЭГ сверхмалые аморфные наносиликаты (сМАНС)***

Суспензию наночастиц силикатов (0,5 М Si) получали посредством первоначального разбавления концентрированного раствора силиката натрия (pH полученного раствора превышал 10,5) и последующего снижения pH до примерно 1,0 менее чем за 5 секунд посредством болюсного добавления
25 концентрированной HCl. Затем pH повышали до 3,0 и добавляли 1 М ПЭГ. Указанную суспензию затем (через 24 ч) разбавляли до 1 мМ Si для анализа на растворимость.

Нестабилизированные сверхмалые аморфные наносиликаты (сМАНС)

30 Применяли тот же способ, что и для стабилизированного ПЭГ материала (0,5 мМ, pH 3), но без добавления ПЭГ.

Возможность обеспечения заданного размера

С применением способа, описанного в настоящем документе, при снижении pH образуются малые частицы (<5 нм, обычно <3,5 нм). Однако посредством повышения pH могут быть получены частицы больших размеров.

5 На фигуре 6 представлен рост размера частиц при повышении pH суспензии наночастиц. Скорость роста можно эффективно устанавливать посредством выбора соответствующего значения pH и концентраций. На фигуре 7 продемонстрировано, как более медленная скорость роста может быть достигнута только вследствие повышения pH до 4. Как указано выше, рост
10 размера может быть остановлен посредством добавления стабилизатора (например, ПЭГ, фигура 8) или разбавления суспензии.

Динамическая стабильность размера

Замедлители роста увеличивают метастабильность (фигура 9A) в
15 зависимости от pH (фигура 9B). Указанное увеличение стабильности обеспечивает обработку и получение концентрированных аморфных силикатов (например, включение в гели или кремы).

Стабильность размера в физиологических условиях

20 Повышенная дисперсность и стабильность описанных в настоящем документе силикатов делают возможным введение высоких концентраций наночастиц при физиологических значениях pH без риска агрегации. Это обеспечивает целый ряд способов применения, опирающихся на лекарственные средства для парентерального введения, таких как
25 внутривенное (в/в) или пероральное введение, и иллюстрируется стабилизированными сахарозой силикатными наночастицами, которые остаются дисперсными и малыми при физиологических значениях pH (фигура 10).

Включение в твёрдую или полутвёрдую матрицу

Эффективное высвобождение кремния из силикатных частиц в креме требует, чтобы частицы оставались не агломерированными. Для иллюстрации
30 указанного утверждения вызывали агломерацию нестабилизированных

аморфных силикатов посредством замораживания (фигура 11) перед включением в крем на основе ПЭГ. В результате высвобождение кремния в моделированную физиологическую жидкость, находившуюся в контакте с кремом, в случае агломерированных частиц было значительно более низким (фигура 12).

Как указано выше, чтобы сохранить силикаты в слабо конденсированной форме, их следует хранить в виде водных суспензий. Однако включение водных суспензий в кремы приводит к значительной кратности разбавления (обычно в 5-7 раз) силикатного активного вещества. Кроме того, учитывая, что суспензии нестабилизированных аморфных силикатов при физиологическом значении pH (pH 6-8) не являются стабильными в концентрациях выше 40 мМ, их конечная концентрация в креме ограничена ~8 мМ. Однако с применением стратегий стабилизации, описанных в настоящем документе, высокие концентрации аморфных слабо конденсированных наночастиц могут быть включены в кремы на основе ПЭГ и приводят к большему высвобождению активного агента (фигура 13). Авторы настоящего изобретения также обнаружили, что для предотвращения агломерации регулирование pH материала предпочтительно осуществлять, когда частицы полностью стабилизированы всеми компонентами ПЭГ (фигура 14).

Анализ с помощью ПЭМ

Анализ с помощью ПЭМ (просвечивающего электронного микроскопа) проводили с применением мази, приготовленной с применением синтеза на фигуре 14, в котором NaOH добавляли после ПЭГ 3350. Небольшое количество мази суспендировали в этаноле. После обработки ультразвуком каплю указанной суспензии помещали на сетку, и после сушки исследовали с помощью эмиссионной электронной пушки (ЭЭП) просвечивающего электронного микроскопа (ПЭМ) FEI Tecnai F20. Рабочее напряжение ЭЭП-ПЭМ Tecnai F20 составляло 200 кВ, и указанный микроскоп был снабжен ПЗС-камерой Gatan Orius SC600A и энергодисперсионным рентгеновским спектрометром (ЭДРС) Oxford Instruments X-Max. Конечная концентрация Si составляла 83 ммоль/кг, как было определено с применением ЭДРС-

спектроскопии, которая показала присутствие диоксида кремния, а также Си. На изображении, полученном с помощью ПЭМ, представлены наночастицы стабилизированных полимерных силикатов, окруженные матрицей стабилизирующего ПЭГ 3350.

5

Секвестрация железа

Силикатные стабилизированные материалы удаляют Fe из комплекса Fe-ДМГП (1,2-диметил-3-гидрокси-4-пиридион); при 5 мМ Si (отношение Fe: Si составляет 1:625) весь ДМГП отделился от комплекса Fe (фигура 15). Однако со временем ДМГП, по-видимому, снова образует комплекс с железом, как видно по сдвигу в сторону длины волны Fe-ДМГП (289,2 нм) как в случае стабилизированных, так и нестабилизированных силикатов (фигура 16).

10

Противомикробное действие наночастиц Si с наполнителем из меди

Силикатные полимеры с наполнителем из меди продемонстрировали противомикробную активность, но замедлители роста не оказали отрицательного влияния на бактериальную активность меди. Не наблюдалось значительного различия между стабилизированными и нестабилизированными материалами (фигура 17). На практике стабилизация обеспечивала бы более высокие концентрации силиката с наполнителем из меди без какого-либо влияния стабилизатора на эффективность.

15

20

Композиции стабилизированных полимерных силикатов для введения через ЖКТ

Композиции согласно настоящему изобретению могут быть подвергнуты испытанию для определения их поведения в желудочно-кишечном тракте. После воздействия смоделированного процесса пищеварения композиции претерпевают быстрое изменение таким образом, что высвобождается некоторое количество кремниевой кислоты, которая будет поглощена и усвоена организмом, в то время как оставшийся силикат образует более крупные частицы, которые будут безопасно выведены из организма с калом. Таким образом, избегают присутствия устойчивых наночастиц и сопутствующего риска токсичности.

25

30

Композиции стабилизированных полимерных силикатов для внутривенного введения

Постепенное разбавление наночастиц композиций стабилизированных полимерных силикатов, стабилизированных с применением сахарозы при рН 4,0, испытывали в трубке, содержащей солевой раствор при рН 7,4 и находившейся в равновесии с большим объёмом солевого раствора, тем самым имитируя внутривенную инъекцию. Кремниевая кислота образовывалась очень быстро, обеспечивая безопасную доставку при парентеральном введении. В указанных условиях не наблюдалось образования частиц, но даже если это должно было случиться, ретикулоэндотелиальная система эффективно поглощала бы их. Воздействие потенциально токсичных силикатных наночастиц было минимальным.

Композиции стабилизированных полимерных силикатов в составе твёрдой или полутвёрдой матрицы для местного применения

Стабилизированные полимерные силикатные композиции, необязательно легированные медью, согласно настоящему изобретению были включены в гель на основе гидроксиэтилцеллюлозы (2 масс. %) для нанесения на раны. В состав крема необязательно могут быть включены ионы металлов, такие как Cu^{2+} или Ag^+ , для повышения его антибактериальных свойств.

Обработка лактозы посредством нагревания и стабильность размера частиц согласно US 5807951

0,91 г пентагидрата метасиликата натрия растворяли в 10 мл сверхчистой воды. 9,6 г лактозы растворяли в 30 мл сверхчистой воды при 50°C в течение 30 минут. Оба раствора смешивали и доводили рН до 8 с помощью 0,5 М HCl. Готовый материал, содержащий примерно 70 мМ Si, анализировали на размер частиц методом ДРС (динамического рассеяния света) (А). Отбирали аликвоту, разводили до 40 мМ и доводили рН до 7, чтобы имитировать физиологические условия. Для указанной разбавленной суспензии также определяли размер частиц (В). Применяли тот же протокол, что и на фигуре 2, и готовую суспензию с концентрацией Si примерно 70мМ при рН 8 сушили при температуре 200°C.

Регулирование растворения с применением ионов металлов

В дисперсию сМАНС (500 мМ Si, рН 1,5) добавляли растворимые ионы металлов, и указанную дисперсию выдерживали при комнатной температуре в течение 1 ч. На фигуре 20 продемонстрировано, что низкие уровни металлов подавляют растворение сМАНС, что определено посредством анализа с помощью молибдата.

Ссылки:

Все документы, упомянутые в настоящем описании, полностью включены в него посредством ссылок.

- 5 Jugdaohsingh с соавт., Is there a biochemical role for silicon?, в Metal Ions in Biology and Medicine, том 10, стр. 45-55, 2008, John Libbey Eurotext: Монруж.

WO 2009/052090.

Публикация заявки на патент США № 2009/0130230.

10

Публикация заявки на патент США № 2013/0149396.

US 5807951 (Nippon Zoki Pharmaceutical Co., Ltd.)

- 15 Публикация заявки на патент США № 2011/0229577 (Kerek).

Kim с соавт. (Macromolecules, 45: 4225–4237, 2012).

- 20 Gao с соавт. (Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 350: 33–37, 2009).

Формула изобретения

1. Способ получения композиции стабилизированного полимерного силиката, содержащей полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, имеющие средний диаметр 20 нм или менее, где указанный способ включает следующие этапы:

(a) обеспечение водного раствора растворимого силиката при pH более или равном 9,5;

(b) снижение pH раствора силиката для обеспечения полимеризации силиката с получением полимерной кремниевой кислоты и частиц наносиликата; и

(c) одновременно или последовательно с этапами (a) и/или (b) добавление к раствору силиката стабилизирующего агента, который содержит полиалкиленгликоль и/или сахар, с получением тем самым стабилизированной силикатной композиции, в которой стабилизирующий агент ингибирует образование конденсированных силикатов;

при этом композиция стабилизированного полимерного силиката гидратирована, и при этом способ не включает сушку композиции или её нагревание выше 100°C.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что композиция стабилизированного полимерного силиката содержит по меньшей мере 5% воды.

3. Способ по п. 1 или п. 2, отличающийся тем, что указанный способ не включает сушку композиции или её нагревание выше 70°C.

4. Способ по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что композиция стабилизированного полимерного силиката является резорбируемой согласно анализу на растворимость *in vitro*, в котором по меньшей мере 25% и, необязательно, по меньшей мере 35% композиции растворяют в буфере HEPES в течение 24 часов.

5. Способ по п. 4, отличающийся тем, что анализ на растворимость *in vitro* представляет собой анализ с применением молибденовой кислоты для

определения фракции растворимой кремниевой кислоты.

6. Способ по любому из предшествующих пунктов, включающий после этапов (b) и (c) дополнительный этап повышения рН композиции до конечного рН посредством добавления основания, необязательно, ожидания роста среднего размера частиц до требуемого размера, а затем, необязательно, добавления дополнительного стабилизатора и/или снижения рН.

7. Способ по п. 6, отличающийся тем, что конечное значение рН находится в диапазоне от 3,0 до 9,0.

8. Способ по п. 6 или п. 7, отличающийся тем, что основание представляет собой гидроксид натрия или карбонат натрия.

9. Способ по любому из предшествующих пунктов, дополнительно включающий получение композиции стабилизированного полимерного силиката в виде крема или мази для местного введения субъекту.

10. Способ по п. 8 или п. 9, отличающийся тем, что гидроксид натрия добавляют для регулирования рН композиции перед получением композиции стабилизированного полимерного силиката в виде крема или мази посредством смешивания с полиалкиленгликолем.

11. Способ по п. 9 или п. 10, отличающийся тем, что получение композиции стабилизированного полимерного силиката в виде крема или мази включает смешивание указанной композиции с твёрдой или полутвёрдой матрицей.

12. Способ по п. 11, отличающийся тем, что твёрдая или полутвёрдая матрица содержит один или более полимеров, представляющих собой полиалкиленгликоли, или один или более гелей на основе гидроксиэтилцеллюлозы.

13. Способ по любому из пп. 1-8, дополнительно включающий получение

композиции стабилизированного полимерного силиката таким образом, что указанную композицию готовят для перорального введения или парентерального введения кремниевой кислоты субъекту.

14. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что на этапе (а) водный щелочной раствор силиката представляет собой силикат металла 1 группы или 2 группы, такой как силикат натрия или силикат калия.

15. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что на этапе (b) pH снижают до pH менее или равного 4,0 посредством добавления кислоты.

16. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что на этапе (c) pH снижают до pH менее или равного 3,0.

17. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что концентрация раствора силиката составляет от 5 мМ до 3,0 М.

18. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что концентрация раствора силиката составляет от 0,1 М до 1,5 М.

19. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что композиция стабилизированного полимерного силиката является стабильной в течение 1 месяца или более, 2 месяцев или более, 3 месяцев или более, 6 месяцев или более.

20. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что частицы наносиликата имеют средний диаметр 10 нм или менее.

21. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что частицы наносиликата имеют средний диаметр 5 нм или менее.

22. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что

концентрация раствора силиката составляет более 30 мМ.

23. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что на этапе (а) рН раствора щелочного силиката составляет более 11,5.

24. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что на этапе (с) добавляют два, три, четыре или пять стабилизирующих агентов.

25. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что стабилизирующий агент представляет собой сахарозу или полиэтиленгликоль (ПЭГ).

26. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что стабилизирующий агент не является лактозой или маннитолом.

27. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что на этапе (b) рН композиции снижают до рН менее или равного 1,5.

28. Способ по любому из предшествующих пунктов, дополнительно включающий добавление катиона металла к композиции.

29. Способ по п. 28, отличающийся тем, что катион металла представляет собой Cu^{2+} , Ag^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} и/или Zn^{2+} .

30. Способ по п. 28 или 29, отличающийся тем, что катион металла подавляет растворение композиции.

31. Способ по п. 28 или 29, отличающийся тем, что катион металла обеспечивает композицию антибактериальными свойствами.

32. Способ по любому из пп. 29-31, отличающийся тем, что катион металла добавляют для обеспечения отношения Si к металлу от 100:1 до 10:1 и, необязательно, для обеспечения отношения Si к металлу 20:1.

33. Способ по любому из предшествующих пнктов, отличающийся тем, что на этапе (b) рН снижают в течение периода менее 60 секунд, менее 30 секунд, менее 10 секунд или менее 5 секунд.

34. Композиция стабилизированного полимерного силиката, содержащая полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, имеющие средний диаметр 20 нм или менее, получаемая посредством способа по любому из пп. 1-33.

35. Композиция стабилизированного полимерного силиката, содержащая полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, имеющие средний диаметр 20 нм или менее, получаемая посредством способа по любому из пп. 1-33 для применения в способе лечения.

36. Композиция стабилизированного полимерного силиката для применения в способе лечения по п. 35, отличающаяся тем, что указанную композицию готовят для парентерального введения.

37. Композиция стабилизированного полимерного силиката для применения в способе лечения по п. 36, отличающаяся тем, что парентеральное введение представляет собой внутривенное (ВВ), внутривентральное (ВБ) или внутримышечное (ВМ) введение.

38. Композиция стабилизированного полимерного силиката для применения в способе лечения по п. 36 или 37, отличающаяся тем, что парентеральное введение представляет собой внутривенное (ВВ) введение через внутривенную капельницу.

39. Композиция стабилизированного полимерного силиката для применения в способе лечения по любому из пп. 36-38, отличающаяся тем, что стабилизирующий агент представляет собой сахарозу и/или полиэтиленгликоль (ПЭГ).

40. Композиция стабилизированного полимерного силиката для применения в способе лечения по любому из пп. 36-39, отличающаяся тем, что указанную композицию разбавляют или нейтрализуют до физиологически приемлемого рН для введения.

41. Композиция стабилизированного полимерного силиката для применения в способе лечения, причём указанная композиция содержит полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, имеющие средний диаметр 20 нм или менее, и стабилизирующий агент, содержащий сахарозу и/или полиалкиленгликоль, при этом указанную композицию готовят для внутривенного (ВВ) введения через внутривенную капельницу.

42. Композиция стабилизированного полимерного силиката, содержащая полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, имеющие средний диаметр 20 нм или менее, получаемая посредством способа по любому из пп. 1-33, для применения в способе стимулирования заживления ран и/или лечения или предотвращения бактериальной инфекции, при этом указанную композицию готовят для местного введения.

43. Композиция стабилизированного полимерного силиката для применения в способе лечения, причём указанная композиция содержит полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, имеющие средний диаметр 20 нм или менее, и стабилизирующий агент, содержащий полиалкиленгликоль, причём указанную композицию готовят для местного введения, при этом композиция предназначена для применения в способе стимулирования заживления ран и/или лечения или предотвращения бактериальной инфекции.

44. Композиция стабилизированного полимерного силиката для применения в способе лечения по п. 42 или 43, отличающаяся тем, что указанную композицию получают в виде крема или мази, необязательно, при этом крем или мазь содержат полиалкиленгликоль.

45. Композиция стабилизированного полимерного силиката для применения в способе лечения по любому из пп. 42-44, отличающаяся тем, что полиалкиленгликоль представляет собой полиэтиленгликоль (ПЭГ).

46. Композиция стабилизированного полимерного силиката для применения в способе лечения по любому из пп. 34-45, отличающаяся тем, что рН составляет от 3,0 до 9,0.

47. Композиция стабилизированного полимерного силиката для применения в способе лечения по любому из пп. 34-46, отличающаяся тем, что указанная композиция имеет концентрацию кремния 2,5 мМ или более, 5,0 мМ или более, 25 мМ или более, 40 мМ или более.

48. Композиция стабилизированного полимерного силиката для применения в способе лечения по любому из пп. 34-47, отличающаяся тем, что указанная композиция предназначена для лечения субъекта, представляющего собой человека.

49. Композиция стабилизированного полимерного силиката для применения в способе лечения по любому из пп. 34-47 для введения животным.

50. Силикатсодержащая добавка, содержащая композицию стабилизированного полимерного силиката, содержащую полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, имеющие средний диаметр 20 нм или менее, получаемую посредством способа по любому из пп. 1-33, для применения для доставки кремниевой кислоты субъекту, представляющему собой человека или животное.

51. Силикатсодержащая добавка по п. 50, отличающаяся тем, что композиция находится в форме капсулы, заполненной жидкостью.

52. Силикатсодержащая добавка по п. 50 или 51, отличающаяся тем, что композиция предназначена для непосредственного перорального введения.

53. Силикатсодержащая добавка по любому из пп. 50-52, отличающаяся тем, что композиция представляет собой силикатную добавку для улучшения внешнего вида волос, кожи или ногтей.

54. Композиция, содержащая композицию стабилизированного полимерного силиката, содержащую полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, имеющие средний диаметр 20 нм или менее, получаемую посредством способа по любому из пп. 1-33, для применения в терапии.

55. Композиция стабилизированного полимерного силиката для применения в терапии по п. 54 для применения в способе лечения остеопороза, остеопении, нарушений в скелетно-мышечной системе и суставах, рака, патологических состояний кожи, сосудистых заболеваний, сердечно-сосудистых заболеваний, коронарных заболеваний сердца, воспалительных заболеваний, аутоиммунных заболеваний, болезни Альцгеймера, когнитивного нарушения, инфекций, ран, язв, нарушений работы желудочно-кишечного тракта, заболевания печени, заболевания почек, нарушений, связанных с иммунной системой, или нарушений, связанных с гормонами.

56. Композиция стабилизированного полимерного силиката для применения в терапии по п. 54, отличающаяся тем, что указанная композиция предназначена для пероральной доставки для связывания катионов в кишечнике, таких как катион железа.

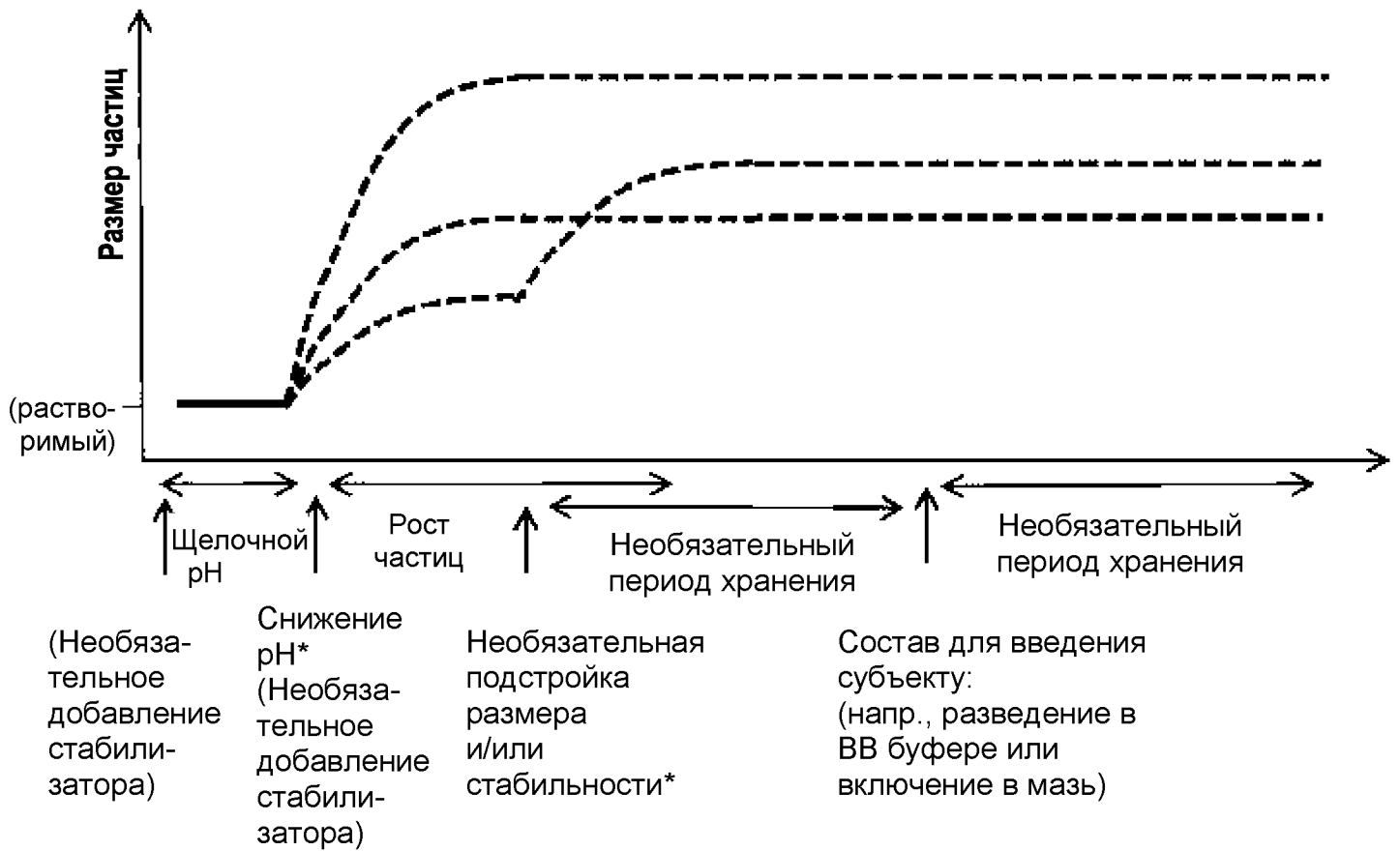
57. Композиция стабилизированного полимерного силиката для применения в терапии по п. 54, отличающаяся тем, что указанная композиция предназначена для внутривенной доставки для лечения рака.

58. Композиция стабилизированного полимерного силиката для применения в терапии по п. 54, отличающаяся тем, что указанная композиция предназначена для внутривенной доставки для лечения инфекций.

59. Силикатсодержащая добавка, содержащая композицию стабилизированного полимерного силиката, содержащую полимерную кремниевую кислоту и частицы наносиликата, имеющие средний диаметр 20 нм или менее, получаемую посредством способа по любому из пп. 1-33, для применения для доставки динамически стабильных силикатных полимеров субъекту, представляющему собой человека или животное.

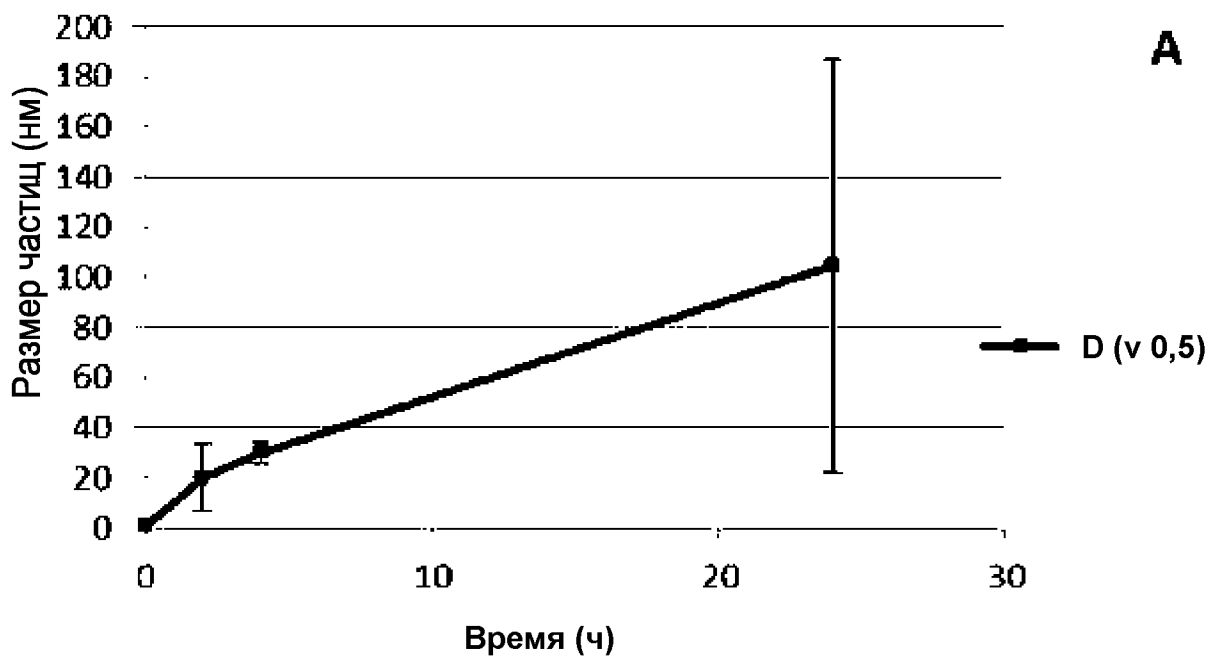
60. Силикатсодержащая добавка, содержащая композицию стабилизированного полимерного силиката, по п. 59, отличающаяся тем, что композиция предназначена для перорального дополнительного потребления и содержит частицы, имеющие средний диаметр 5 нм или менее (uSANS, cMAHC, сверхмалые аморфные наносиликаты).

Фигура 1

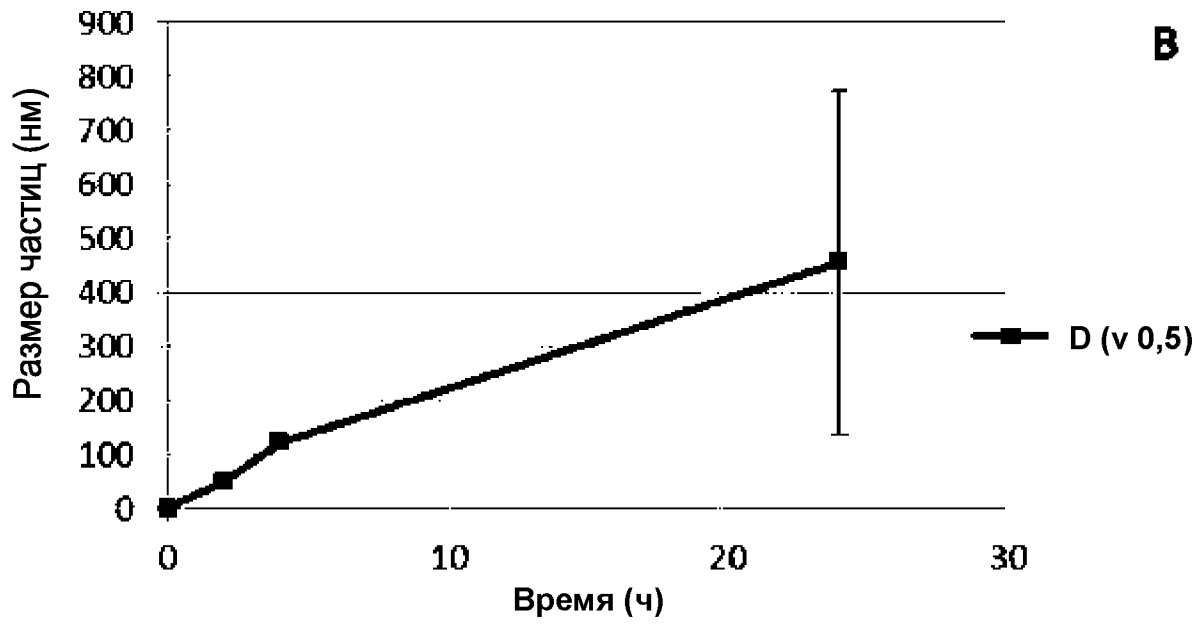


* Эффект, зависящий от [Si], pH и/или стабилизатора

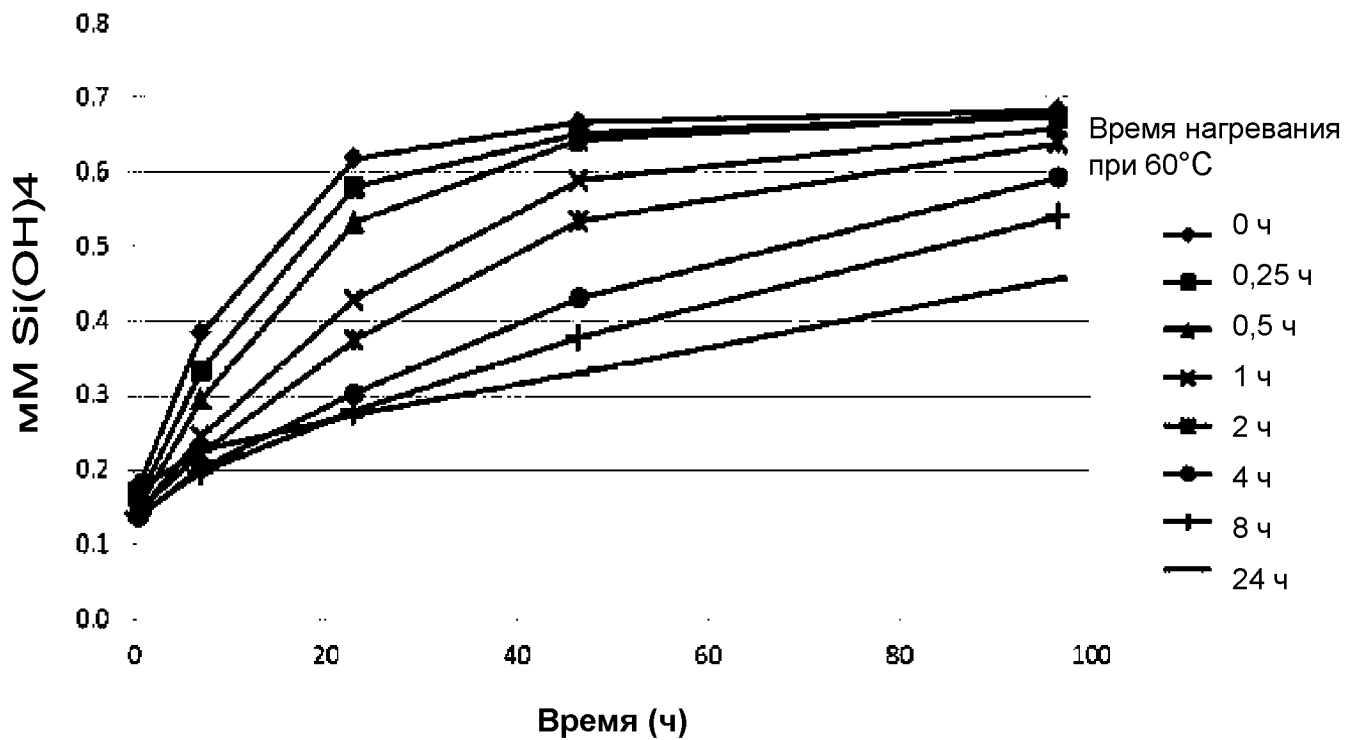
Фигура 2а



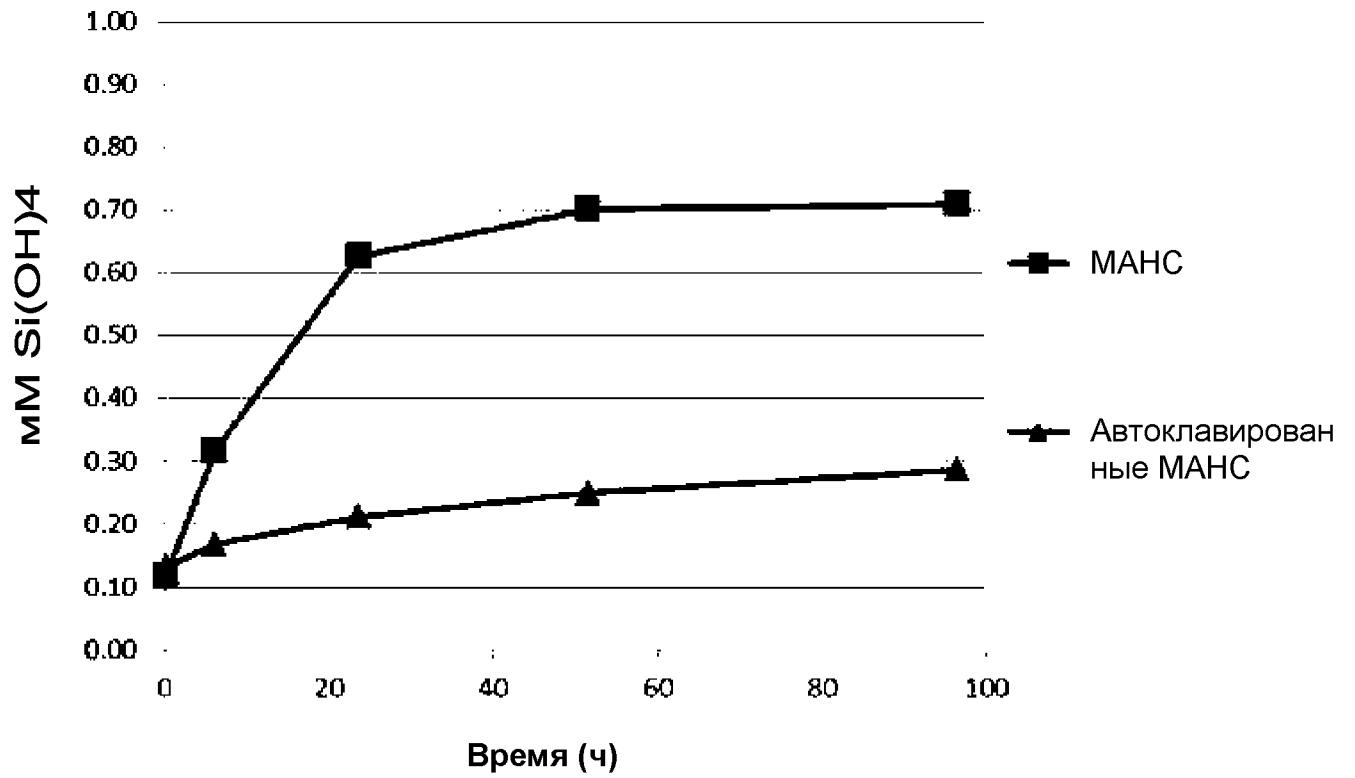
Фигура 2b



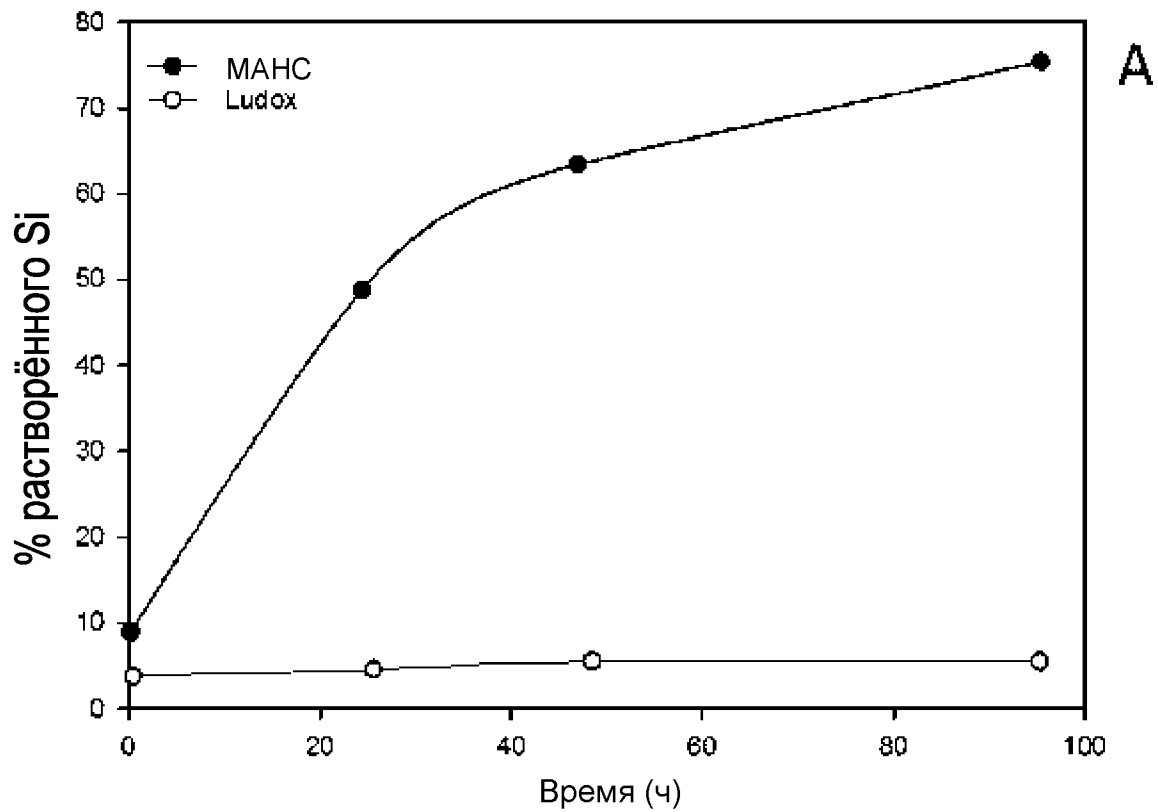
Фигура 3



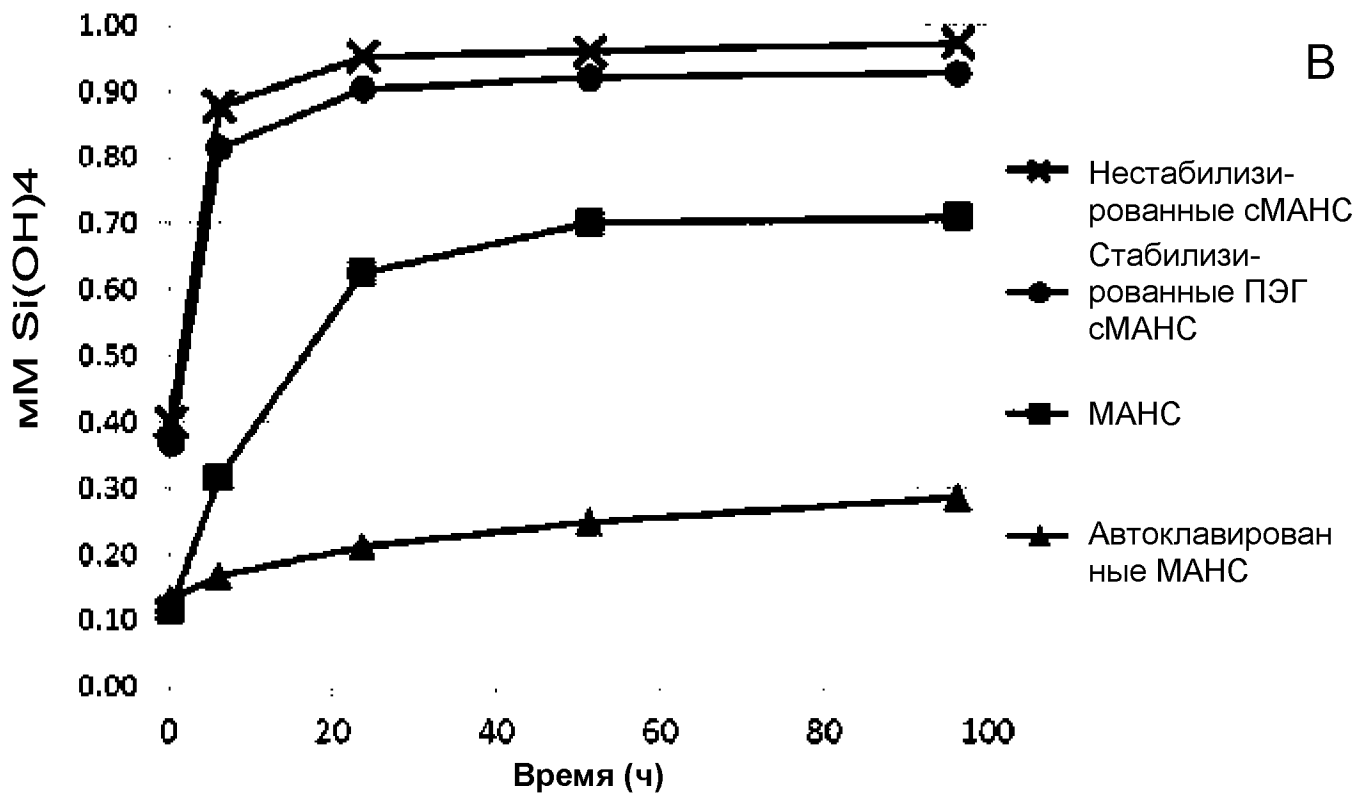
Фигура 4



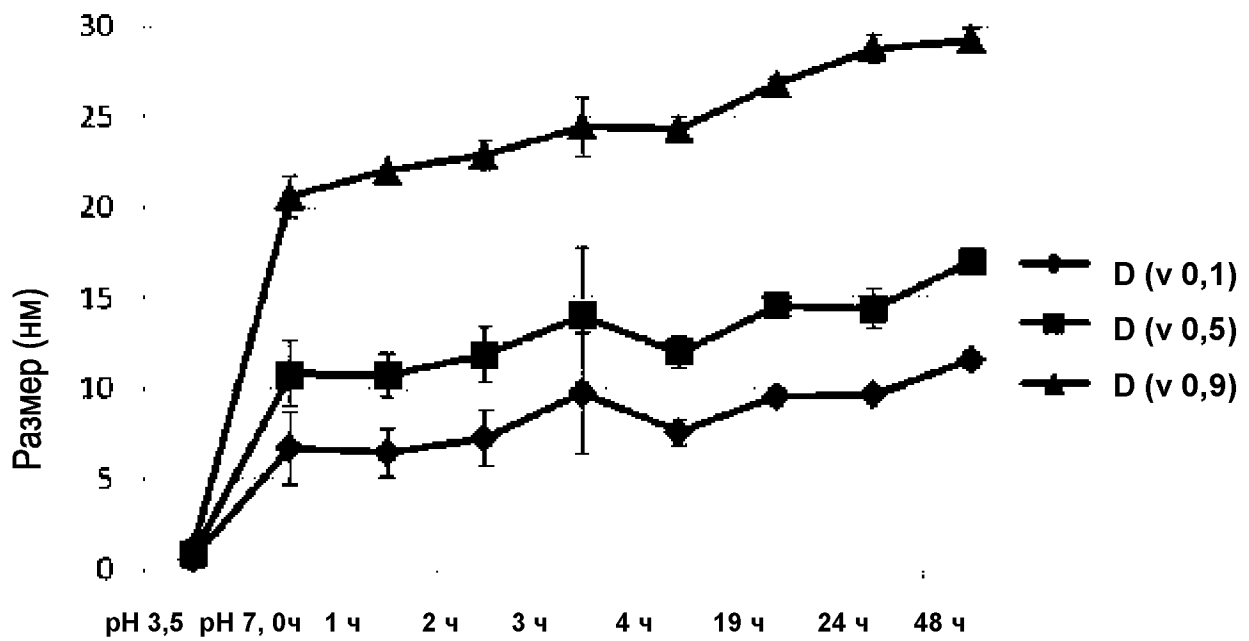
Фигура 5а



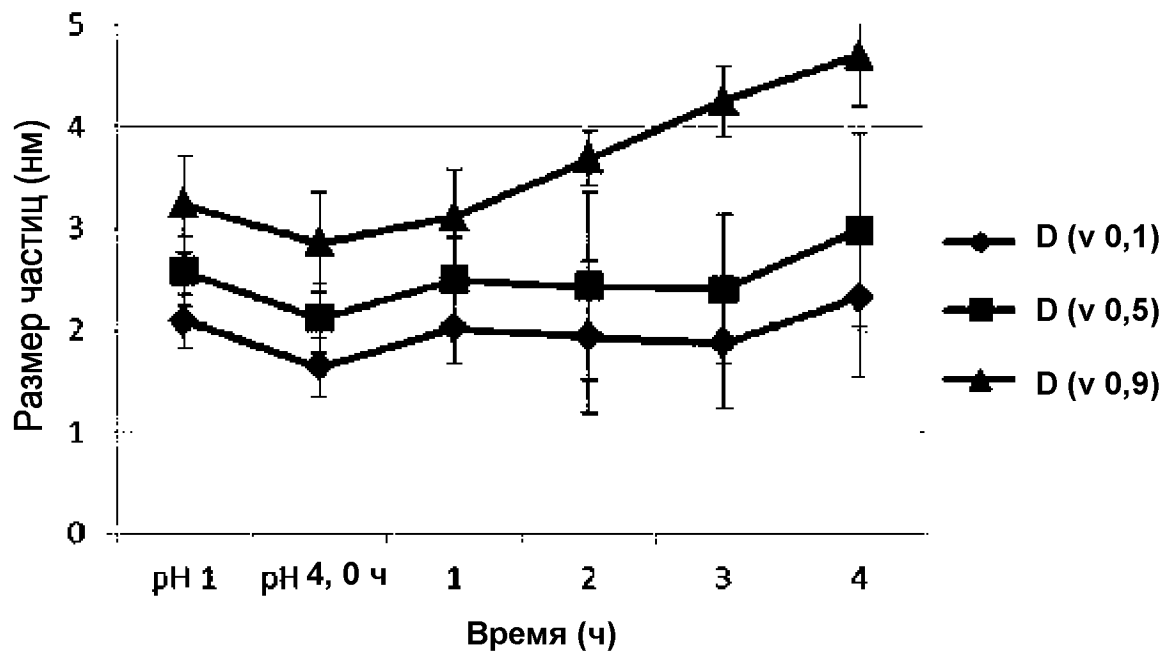
Фигура 5b



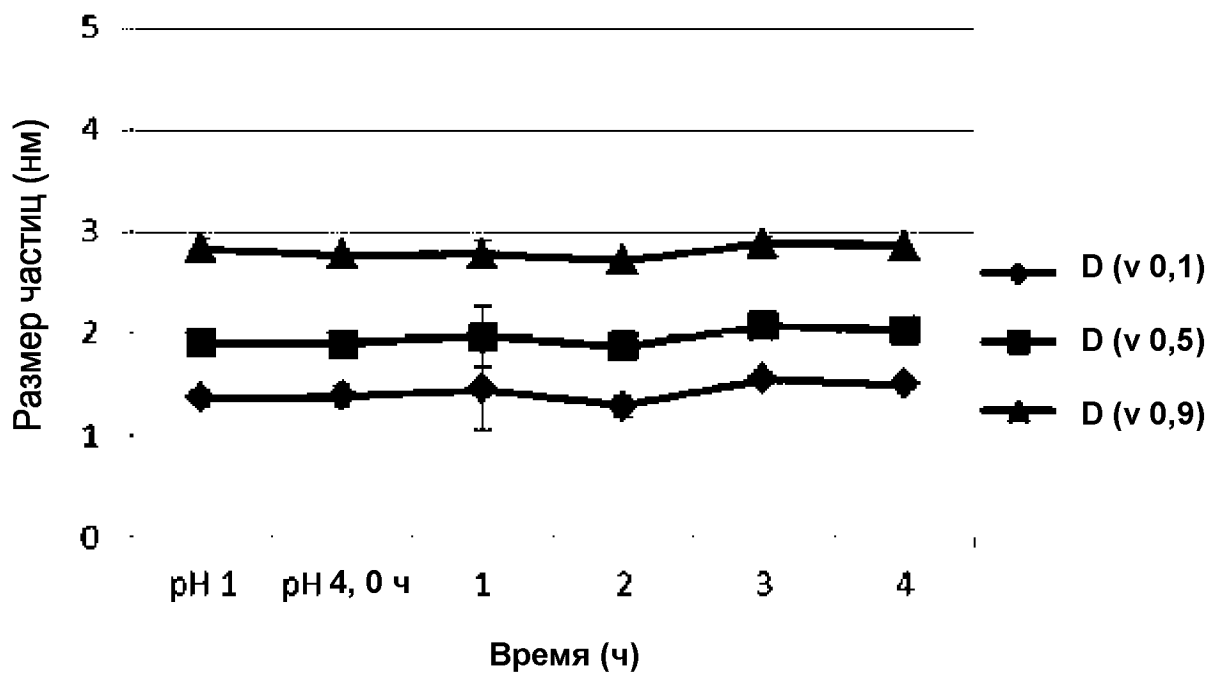
Фигура 6



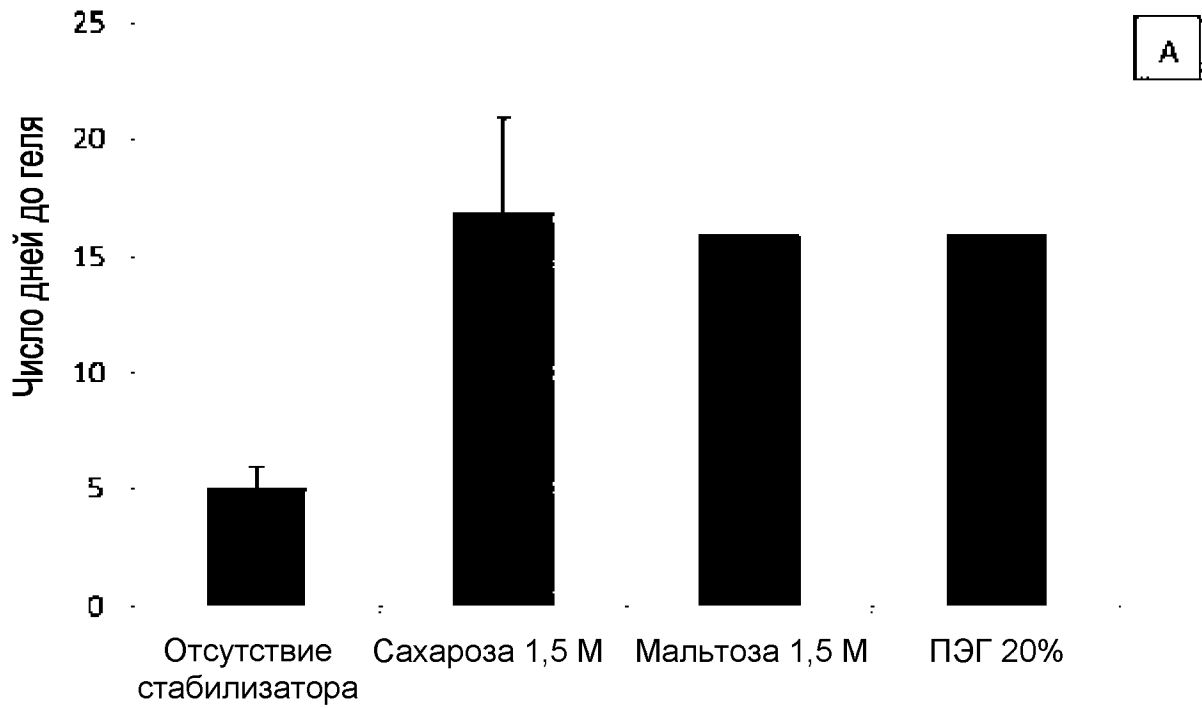
Фигура 7



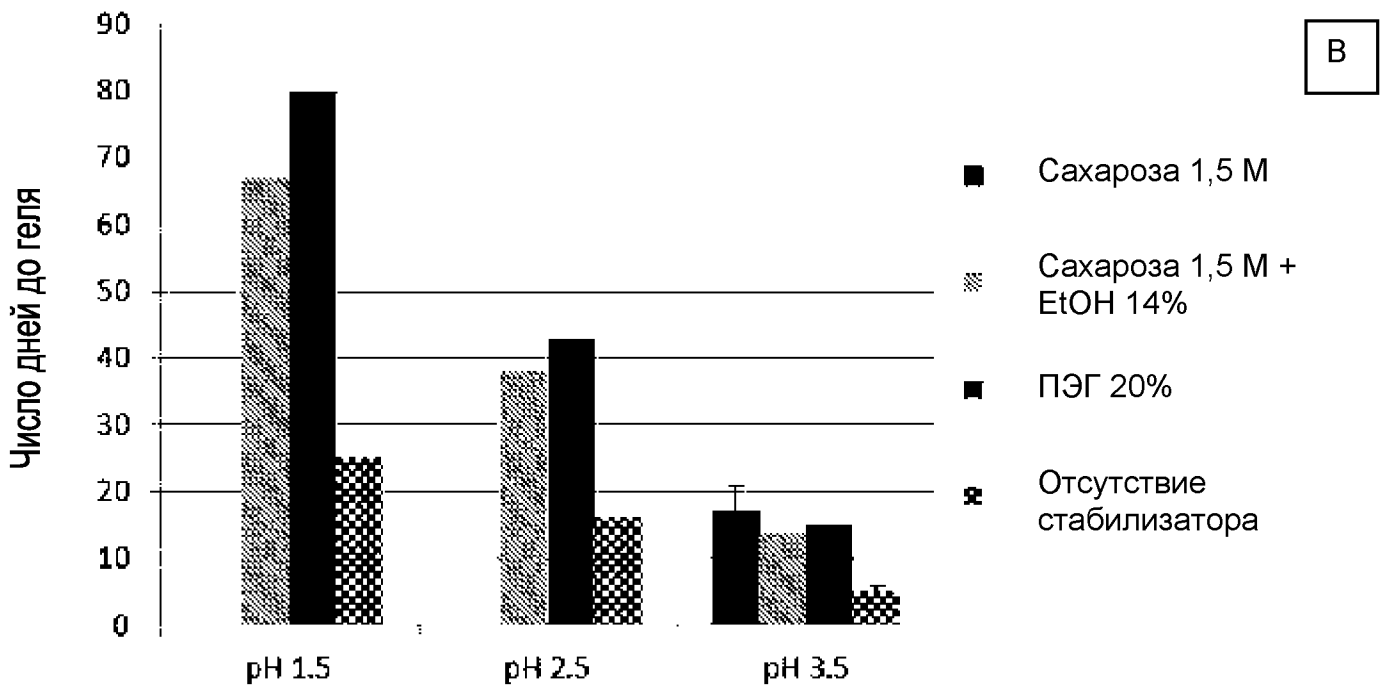
Фигура 8



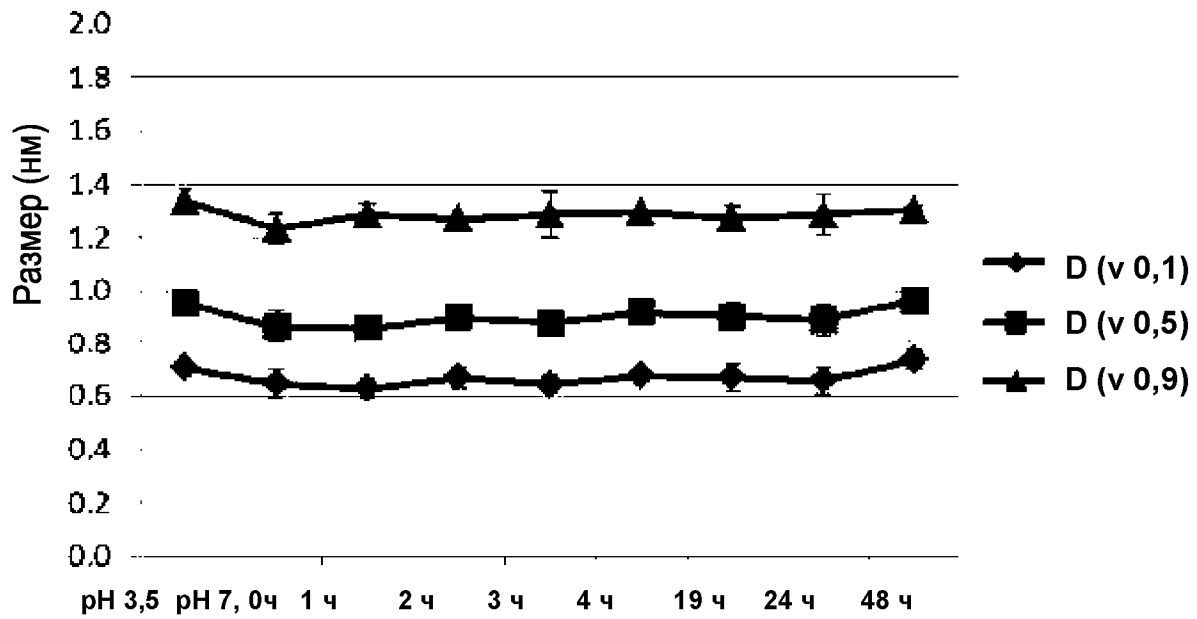
Фигура 9а



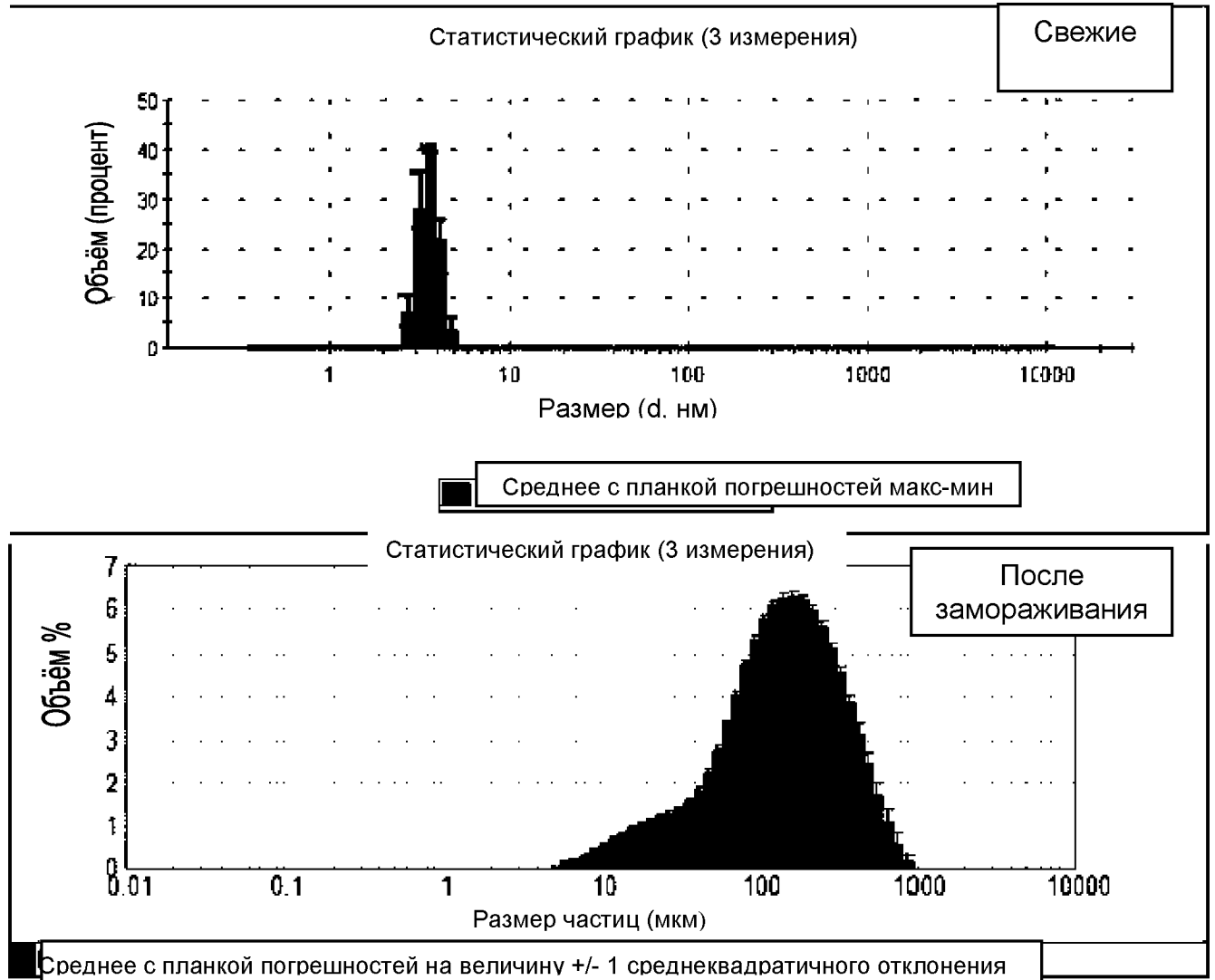
Фигура 9b



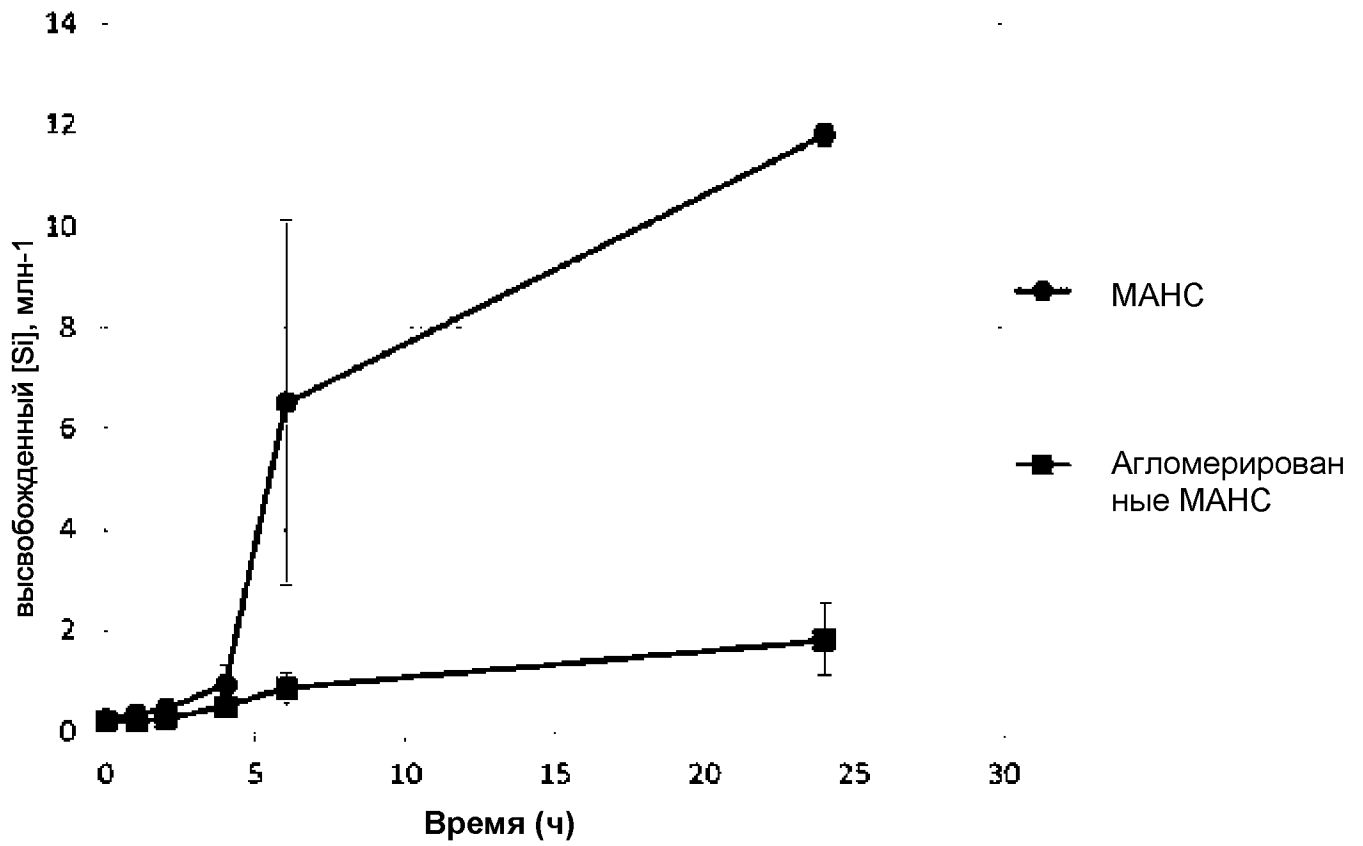
Фигура 10



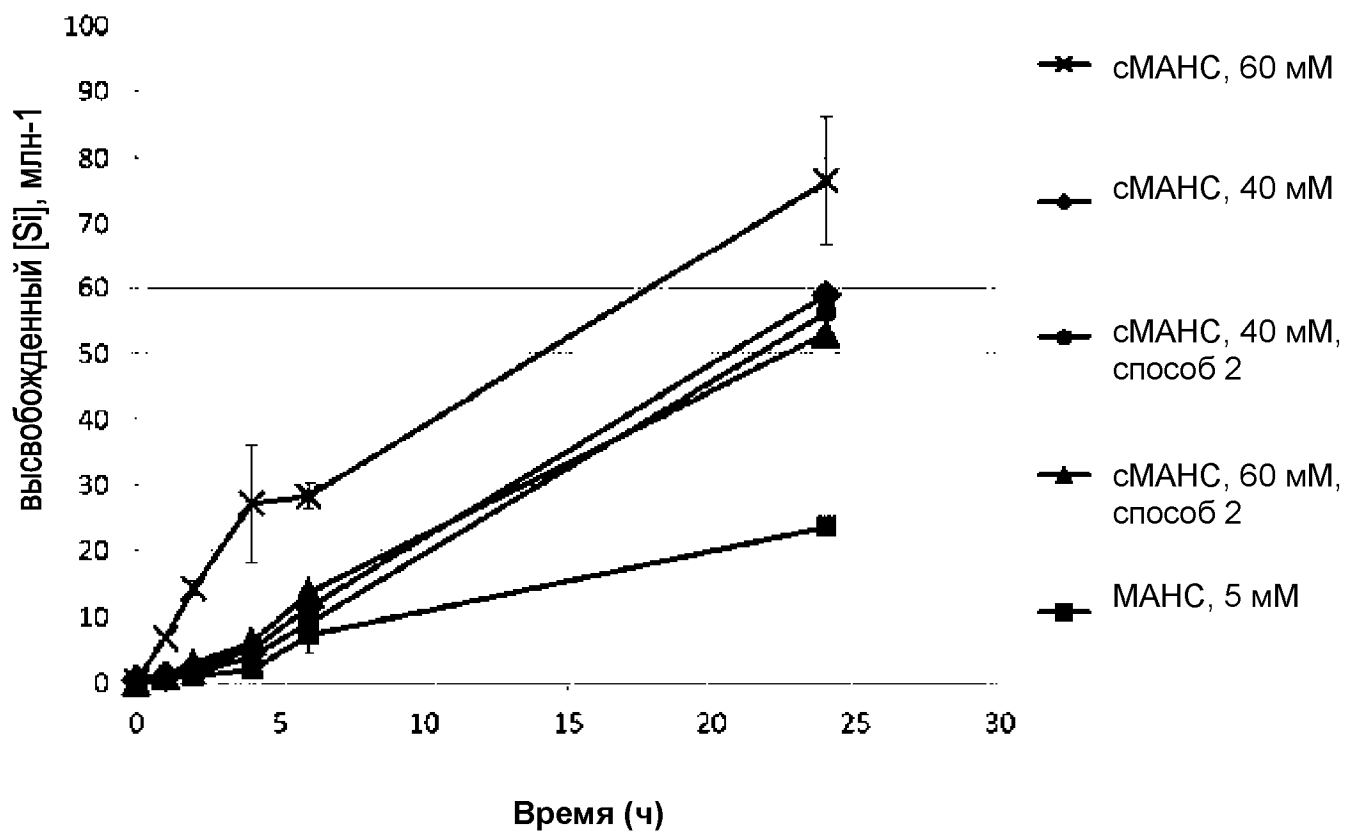
Фигура 11



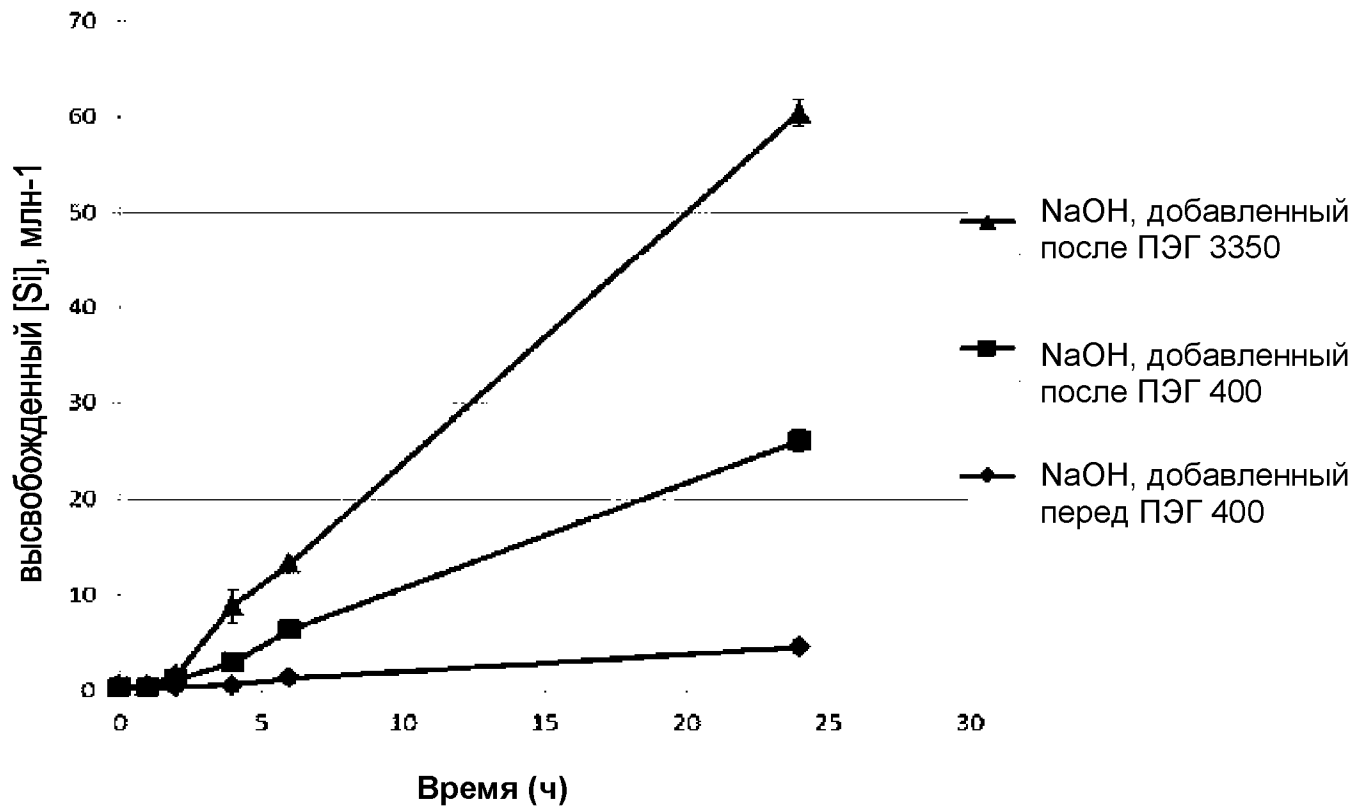
Фигура 12



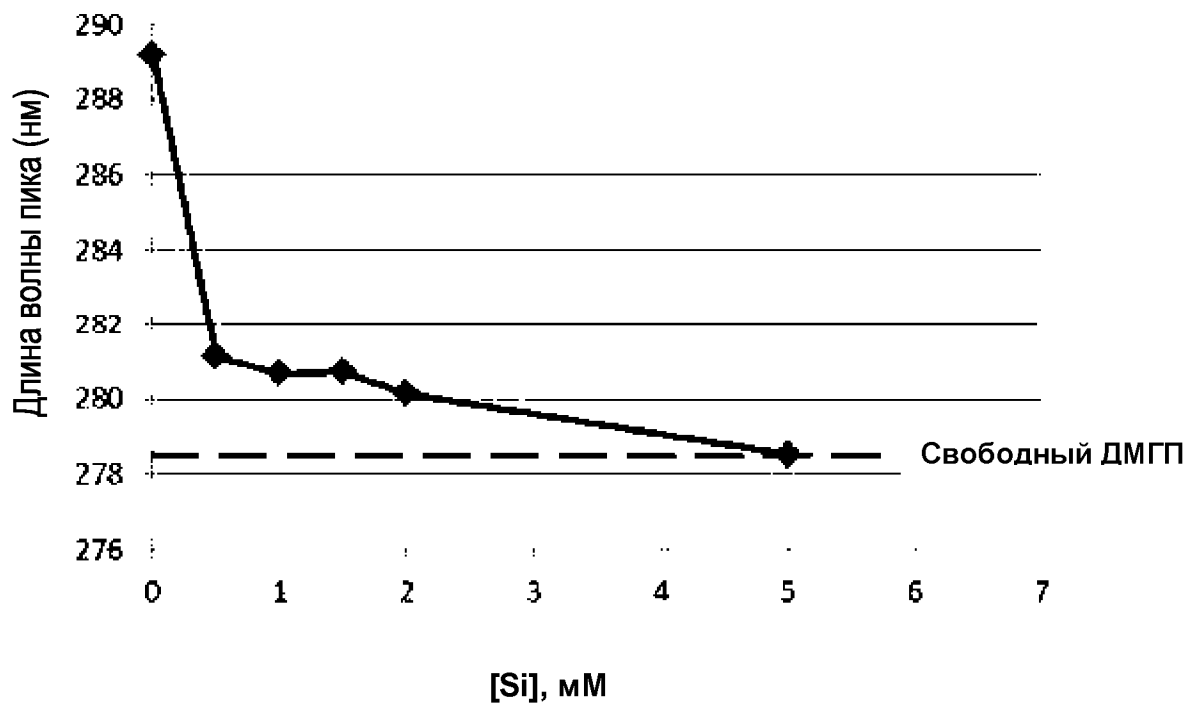
Фигура 13



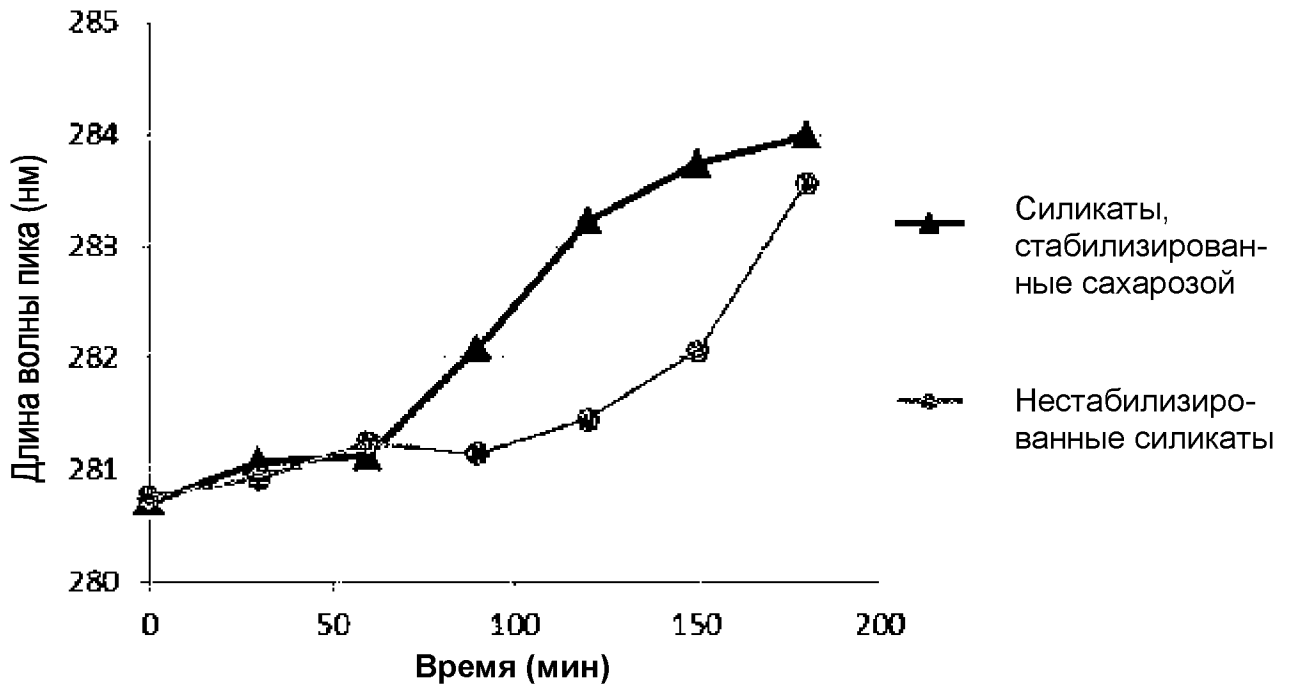
Фигура 14



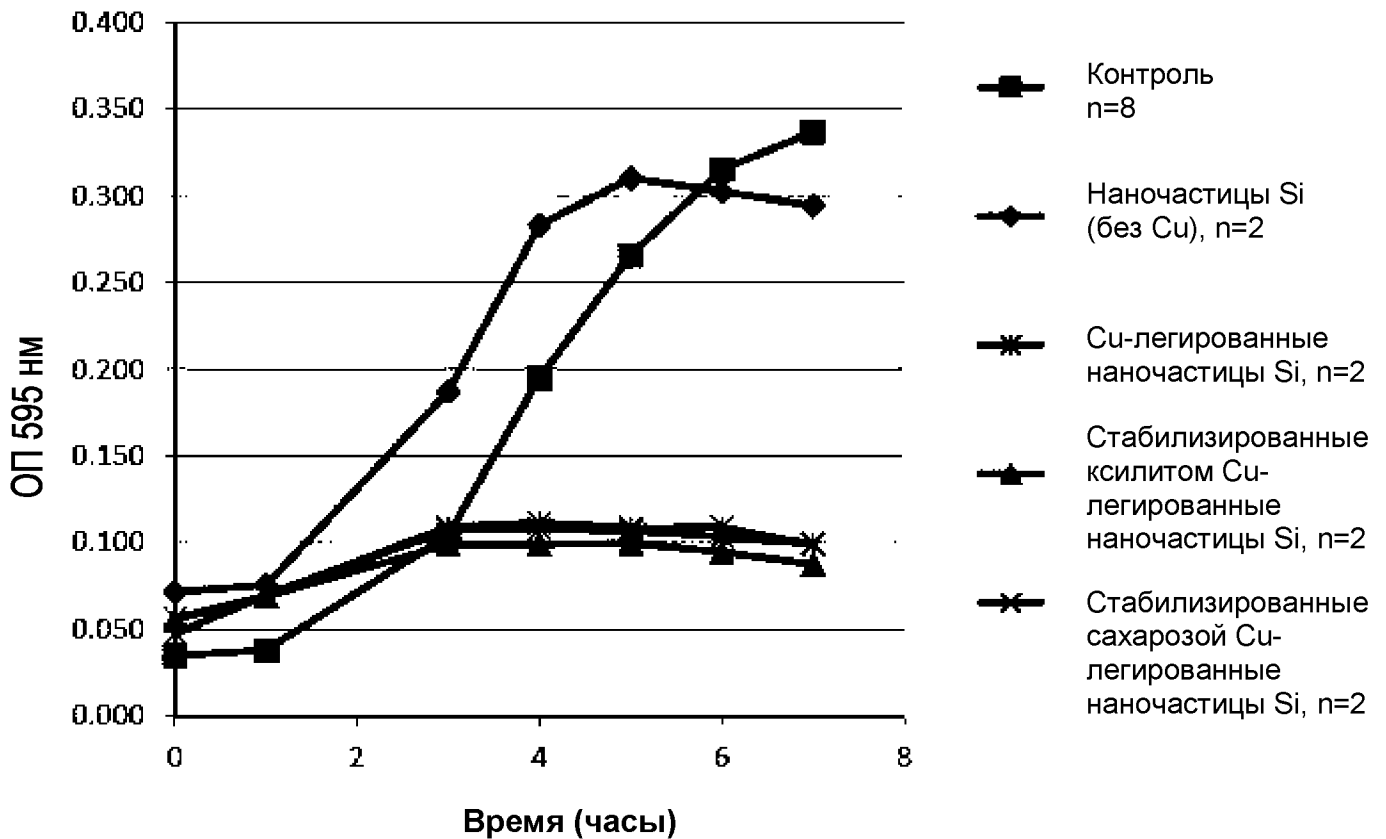
Фигура 15



Фигура 16



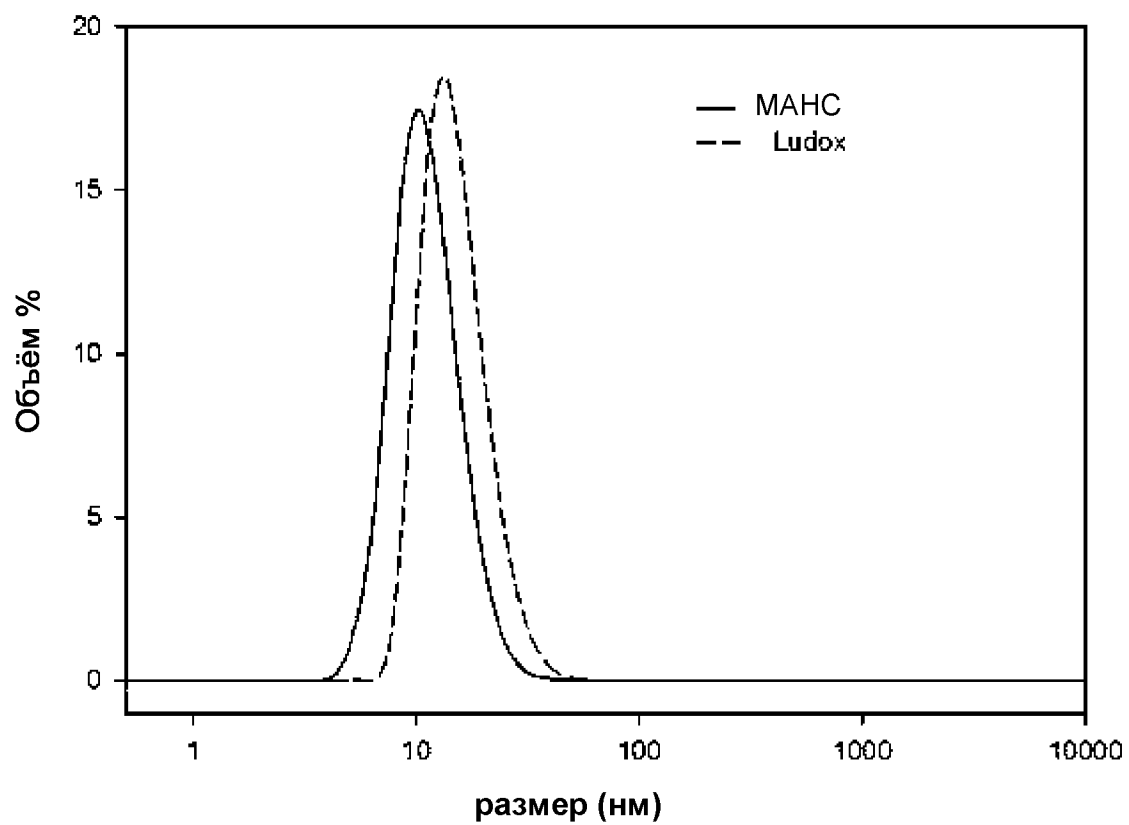
Фигура 17



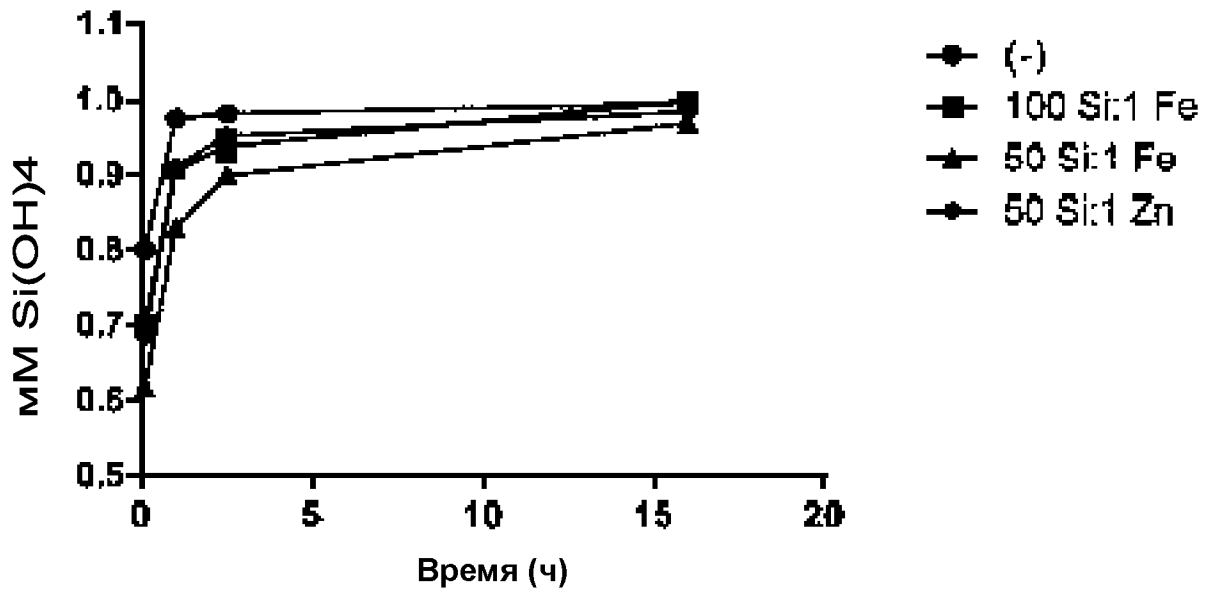
Фигура 18



Фигура 19



Фигура 20



Фигура 21

