



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2019.12.05

(21) Номер заявки
201690029

(22) Дата подачи заявки
2014.06.18

(51) Int. Cl. A61K 9/127 (2006.01)
A61K 31/704 (2006.01)
C07F 9/09 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) СТЕРЕОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ЛИПИДЫ ДЛЯ ЛОКОРЕГИОНАРНОЙ ТЕРАПИИ С ПОМОЩЬЮ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ЦИРКУЛЯЦИИ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ К РАЗДРАЖИТЕЛЯМ НАНОТРАНСПОРТНЫХ СИСТЕМ

(31) 13172469.2

(32) 2013.06.18

(33) EP

(43) 2016.05.31

(86) PCT/EP2014/062849

(87) WO 2014/202680 2014.12.24

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ТЕРМОЗОМЕ ГМБХ (DE)

(72) Изобретатель:
Айбль Хансьорг (DE)

(74) Представитель:
Агуреев А.П., Фелицына С.Б. (RU)

(56) WO-A1-2004026282
WO-A2-02064116

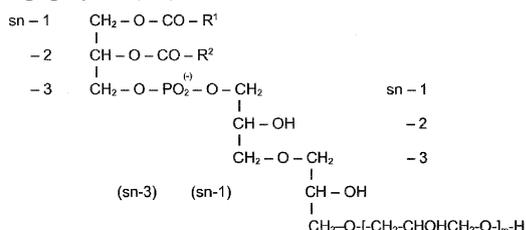
HOSSANN ET AL.: "In vitro stability and content release properties of phosphatidylglycerol containing thermosensitive liposomes", BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA (BBA) - BIOMEMBRANES,

ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 1768, no. 10, 9 October 2007 (2007-10-09), pages 2491-2499, XP022293149, ISSN: 0005-2736, DOI: 10.1016/J.BBAMEM.2007.05.021 cited in the application figure 1b

DERYCKE A.S.L. ET AL.: "Transferrin-Conjugated Liposome Targeting of Photosensitizer ALPcS4 to Rat Bladder Carcinoma Cells", JNCI JOURNAL OF THE NATIONAL CANCER INSTITUTE, vol. 96, no. 21, 2 November 2004 (2004-11-02), pages 1620-1630, XP055140924, ISSN: 0027-8874, DOI: 10.1093/jnci/djh314 the whole document

LANDON C.D. ET AL.: "Nanoscale drug delivery and hyperthermia: The materials design and preclinical and clinical testing of low temperature-sensitive liposomes used in combination with mild hyperthermia in the treatment of local cancer", OPEN NANOMEDICINE JOURNAL 2011 BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS B.V. NLD, vol. 3, no. SPEC. ISSUE, 25 May 2011 (2011-05-25), pages 38-64, XP55140933, ISSN: 1875-9335 page 57
WO-A1-9730058

(57) Изобретение относится к стереоспецифическим липидам для локорегионарной терапии с долговременной циркуляцией чувствительных к раздражителям нанотранспортных липосом. Предпочтительным вариантом осуществления изобретения является термочувствительная липосома для лечения опухолей, особенно опухолей мочевого пузыря и других локализованных опухолей, отличающаяся тем, что указанная липосома содержит по меньшей мере один фосфатидилолигоглицерин формулы (IIa)



где каждый радикал R¹ и R² независимо означает углеводородную функциональную группу, имеющую от 12 до 24 атомов углерода, и m означает целое число от 0 до 50, где связывание между глицеридом и фосфатной группой является стереоспецифическим и находится в форме sn-3 связи, а связывание фосфатной группы с олигоглицерином является стереоспецифическим и находится в виде sn-1 связи.

Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к стереоспецифическим липидам для локорегионарной терапии с долговременной циркуляцией чувствительных к раздражителям нанотранспортных систем.

Уровень техники

В частности, изобретение относится к термочувствительной липосоме для лечения опухолей, особенно опухолей мочевого пузыря и других локализованных опухолей.

Изобретение особенно относится к лечению опухоли мочевого пузыря с помощью долговременной циркуляции термочувствительных липосом. Однако терапевтический подход имеет общую клиническую значимость, поскольку этот подход может быть использован в большинстве случаев для терапии заболеваний человека и животных с использованием локорегионарного выделения лекарственных препаратов, а также особенно в случае других опухолевых заболеваний, которые вызваны локализованной колонизацией опухолевых клеток в органы и ткани тела.

Кроме того, изобретение относится к фосфолипидам, обладающим однородной и естественной конфигурацией, которые, в частности, могут быть использованы как составляющие нанотранспортных систем, согласно изобретению, например, в качестве составляющих липосом.

Предшествующий уровень техники

Карцинома мочевого пузыря представляет собой часто встречающееся онкологическое заболевание. Во всём мире приблизительно 130000 человек ежегодно умирают от карциномы мочевого пузыря. Мужчины заболевают в два раза чаще, чем женщины, причем средний возраст начала болезни составляет 69 лет для мужчин и 73 года для женщин. Приблизительно 95% карцином мочевого пузыря имеют уротелиальное происхождение. Клинически очень важно различать опухоль с низкой степенью злокачественности и высокозлокачественную опухоль, поскольку существует высокий риск рецидива и развития опухоли высокой степени злокачественности. Гистологическое выявление опухоли мочевого пузыря с определением глубины проникновения проводится путем трансуретральной резекции опухоли (TURB). Во всех высокозлокачественных и T1 опухолях (другими словами, с проникновением собственной пластинки слизистой оболочки) необходимо диспансерное наблюдение после первоначальной операции трансуретральной резекции в течение двух-шести недель. Если опухоль поразила мышечный слой, то показано радикальное удаление мочевого пузыря.

Кроме хирургического подхода внутрипузырная хемотерапия, другими словами, капельное введение митомицина С, доксорубицина или эпирубицина, представляет собой надёжный способ лечения опухолей мочевого пузыря. После резекции опухоли низкой степени злокачественности рекомендуется только начальное капельное введение (в течение первых 6 ч после операции), в то время как в случае опухолей с повышенным и промежуточным риском дополнительно рекомендуется поддерживающая терапия с повторной хемотерапией капельного введения. Несколько капельных введений проводятся с недельными интервалами, и это может продолжаться в течение нескольких месяцев. Альтернативой хемотерапии капельного введения является капельное введение бактерии БЦЖ (Calmette-Guerin).

Несмотря на TURB и внутрипузырную хемотерапию, существует значительный риск рецидива для поверхностной карциномы мочевого пузыря. Эффективность внутрипузырной хемотерапии лимитируется ограниченной глубиной проникновения внутрь мочевого пузыря, поскольку уротелиальный слой представляет собой весьма эффективный цитостатический барьер. Рассматривая мочевой пузырь изнутри, видно, что стенка мочевого пузыря состоит из следующей ткани: уротелия, собственной пластинки слизистой оболочки, мышечного покрытия и адвентициальной оболочки. После капельного введения цитостатических препаратов внутрь мочевого пузыря концентрация в ткани снижается полулогарифмически с увеличением глубины ткани. Показано, что у людей при глубине проникновения препарата 500 мкм в ткани еще присутствует только 50% от исходной концентрации (Wientjes M.G. и др. Penetration of mitomycin C in human bladder, Cancer Res. 1993). С использованием собачьей модели показано, что цитотоксическая концентрация митомицина С может быть достигнута только внутри уротелиального слоя, тогда как достаточно высокая концентрация препарата достигается в собственной пластинке слизистой оболочки только в 20% случаев и в мышечном покрытии меньше чем в 20% случаев. Например, в ткани на глубине 2000 мкм детектируется средняя концентрация митомицина С равная 1 мкг/г (n=24). В ткани на глубине 2000-3000 мкм не обнаружено больше митомицина С у 18 из 24 собак (Wientjes M.G. и др. Bladder wall penetration of intravesical mitomycin C in dogs, Cancer Res. 1991). Как результат, эффективность внутрипузырной хемотерапии в значительной степени ограничивается недостаточным проникновением применяемых цитостатических препаратов.

Сущность изобретения

Следовательно, целью изобретения является разработка альтернативной обработки для лечения локализованных заболеваний и предпочтительно опухолей, особенно опухолей мочевого пузыря и других локализованных опухолей.

Согласно изобретению эта цель достигается с помощью чувствительной к раздражителям нанотранспортной системы, используемой в локорегионарной терапии.

Согласно изобретению нанотранспортная система представляет собой липосому. Для изобретения существенно, что нанотранспортные липосомы являются чувствительными к раздражителям. Чувстви-

тельные к раздражителям нанотранспортные липосомы согласно изобретению высвобождают закрытый или связанный активный компонент в ответ на напряжение раздражителя. Подходящими раздражителями или источниками энергии предпочтительно являются теплота, частота радиоволн, например, излучательные поверхностные и глубокие гипертермические системы или системы глубокой гипертермии мочевого пузыря, ультразвук, такой как сильносфокусированный ультразвук (HIFU) или ультразвук низкой интенсивности (LIFU), свет, лазерное излучение, проводимость через нагретый флюид или другие физические принципы, которые приводят к локорегионарному нагреванию и/или дестабилизируют мембраны, особенно мембраны, содержащие фосфолипиды.

С помощью локорегионарной терапии, особенно путем заданного и быстрого высвобождения активных компонентов, заключенных в чувствительных к раздражителям нанотранспортных системах, локализованные заболевания можно обрабатывать заданным образом, без повреждения здоровой ткани. Кроме того, системная нагрузка поддерживается на минимальном уровне за счет заданного высвобождения активных компонентов.

В частности, изобретение относится к чувствительным к раздражителям, предпочтительно термочувствительным липосомам для использования при лечении опухолей и особенно опухолей мочевого пузыря. С использованием термочувствительных липосом активный компонент, заключенный в липосомах, может высвободиться за счет заданного нагревания липосом. Таким образом, указанные термочувствительные липосомы являются особенно подходящими для локальной терапии опухолей и особенно для опухолей мочевого пузыря, или карцином мочевого пузыря. Высвобождение активного компонента, заключенного в липосомах, может быть вызвано в желательном участке тела, например в стенке мочевого пузыря, заданным образом, посредством чего активный компонент, в частности цитостатический препарат, может высвободиться непосредственно в желательном месте.

Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, использованная согласно изобретению, особенно предпочтительно содержит: (i) по меньшей мере один фосфатидилхолин, имеющий температуру основного фазового перехода от 0 до 80°C, и (ii) по меньшей мере один фосфатидилолигоглицерин и/или фосфатидилглицерогликоль и/или по меньшей мере один кардиолипин.

С использованием фосфатидилолигоглицеринов можно приготовить термочувствительные липосомы, имеющие пролонгированное время кругооборота крови (WO 2002/064116 и WO 2004/026282). Эти липосомы являются весьма стабильными в кровотоке, например, при физиологических условиях (37-38°C) и не выделяют или выделяют только в небольшой степени активный компонент, который ранее был заключен в липосоме (Lindner L.H. и др. Novel temperature-sensitive liposomes with prolonged circulation time, Clin. Cancer Res. 2004; Hossann M. и др. In vitro stability and content release properties of phosphatidylglyceroglycerol containing temperature-sensitive liposomes, Biochim. Biophys. Acta. 2007). Большая часть липосом остается в системе кровообращения в течение 2 ч, поэтому липосомы доступны для термически регулируемого высвобождения активного компонента. Благодаря быстрой кинетике выделения из указанных липосом с вызванным термически выделением активного компонента в течение нескольких секунд, предпочтительно менее 15 с, более предпочтительно менее 10 с, ранее заключенный активный компонент может высвободиться немедленно за счет заданного нагревания липосом до температуры больше 39°C, предпочтительно 40-42°C.

В результате высокой стабильности липосом согласно изобретению в большом круге кровообращения только при очень малом неспецифическом выделении активного компонента, указанные липосомы являются весьма подходящими для специфической локальной терапии опухолей, в частности локализованных опухолей и особенно предпочтительно для карциномы мочевого пузыря. После внутривенного введения липосом согласно изобретению высвобождение ранее заключенного активного компонента в желательном месте, например в стенке мочевого пузыря, может быть вызвано путем заданного нагревания желательного места, например стенки мочевого пузыря.

С помощью способа изобретения может быть преодолен естественный барьер уротелия, и впервые может быть достигнут высокий уровень содержания заключенного лекарственного препарата в ткани, а также в мышечном покрытии. Согласно изобретению обрабатываются опухоли, особенно твердые и/или локализованные опухоли. В частности, поверхностные опухоли и метастазы можно обрабатывать липосомами согласно изобретению, поскольку их можно нагревать простым способом. Однако также можно обрабатывать другие опухоли, например опухоли в полых органах. В этом случае нагревание, необходимое для выделения содержимого липосом, может быть осуществлено, например, путем промывания теплой водой. Такими примерами являются опухоли ENT, опухоли лимфатических узлов, легочные опухоли, брюшинные карциномы, плевральные карциномы, карциномы пищевода, карциномы желудка и карциномы мочевого пузыря.

Опухоли мочевого пузыря или карциномы мочевого пузыря наиболее предпочтительно обрабатывают согласно изобретению. Возможна обработка карциномы как на месте, так и на стадии T1, а также на других стадиях карциномы мочевого пузыря, например T2 или T3.

Кроме терапии поверхностной опухоли мочевого пузыря указанный способ также может быть использован для терапии мышечно-инвазивных опухолей для того, чтобы обеспечить предохранение моче-

вого пузыря. Преимущество, которое достигается способом изобретения по сравнению с назначением внутривезикулярной химиотерапии, в выражении улучшенного контроля опухоли и повышенной степени обработки с предохранением мочевого пузыря, связано с низкой степенью системных побочных эффектов; это позволяет предположить, что указанный способ может заменить традиционную внутривезикулярную химиотерапию с капельным введением.

Предпочтительно липосомы согласно изобретению дополнительно содержат активный компонент, в частности цитостатический препарат. Кроме цитостатических препаратов - митомицина С, доксорубицина и эпирубицина, которые традиционно применяются для внутривезикулярной терапии, в этом подходе также могут быть использованы другие цитостатические препараты, такие как гемцитабин, трабектедин и др. Дополнительные подходящие цитостатические препараты представляют собой производные платины, такие как цисплатина, карбоплатина или оксалиплатина. Доксорубицин является наиболее предпочтительным в качестве активного компонента.

Орган, например мочевой пузырь, технически можно нагревать с использованием разнообразных способов. Например, кроме простого промывания мочевого пузыря теплой водой нагревание также может быть осуществлено электромагнитными волнами, ультразвуком или с использованием лазерной технологии.

Чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, в частности термочувствительные липосомы, которые содержат: (i) фосфатидилхолин, имеющий температуру основного фазового перехода от 0 до 80°C, и (ii) по меньшей мере один фосфатидилолигоглицерин, и/или фосфатидилглицерогликоль, и/или кардиолипин, имеют длительный период полураспада в сыворотке крови. Кроме того, содержащее указанных нанотранспортных липосом быстро высвобождается, в частности меньше чем за 10 с, под действием раздражителя, например, когда температура превышает конкретное значение.

Содержимое чувствительных к раздражителям нанотранспортных липосом, особенно термочувствительных липосом, которые являются предпочтительными согласно изобретению, представляет собой фосфатидилхолин. Предпочтительно фосфатидилхолин присутствует в количестве по меньшей мере 1 мас.%, более предпочтительно по меньшей мере 10 мас.%, еще более предпочтительно по меньшей мере 30 мас.% и еще более предпочтительно по меньшей мере от 50 до 99 мас.%, более предпочтительно вплоть до 90 мас.% и особенно предпочтительно вплоть до 80 мас.% в расчете на общую массу чувствительных к раздражителям нанотранспортных липосом.

Путем подбора фосфатидилхолина, имеющего подходящую температуру основного фазового перехода, можно настраивать чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, в частности термочувствительные липосомы. В таблице приведены значения температур основного фазового перехода (T_M) фосфатидилхолинов, для которых основной фазовый переход наблюдается в диапазоне от 0 до 80°C. Как можно видеть из этой таблицы, значения температур основного фазового перехода зависят от длины цепи и от распределения по позициям 1- и 2-глицеро-3-фосфохолина или по позициям 1- и 3-глицеро-2-фосфохолина.

Температуры фазового перехода (T_M) фосфолипидов

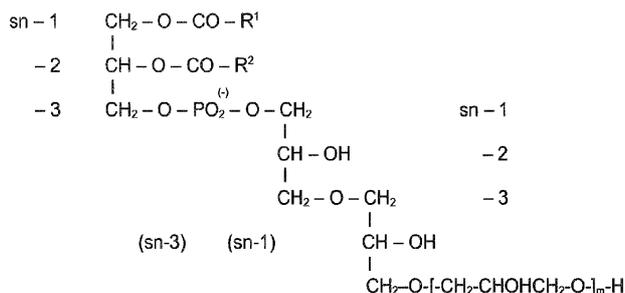
T_M	фосфатидилхолин/фосфатидилдиглицерин/ фосфатидилтриглицерин/фосфатидилтетраглицерин
5°C	1-пальмитоил-2-олеоил-
7°C	1-стеароил-2-олеоил-
11°C	1-пальмитоил-2-лауроил-
14°C	1-бегеноил-2-олеоил-
17°C	1-стеароил-2-лауроил-
19°C	1,3-димиристоил-
23°C	1,2-димиристоил-
27°C	1-пальмитоил-2-миристоил-
33°C	1-стеароил-2-миристоил-
37°C	1-миристоил-2-пальмитоил-
39°C	1,3-дипальмитоил-
41°C	1,2-дипальмитоил-
42°C	1-миристоил-2-стеароил-
46°C	1-стеароил-3-миристоил-
48°C	1-стеароил-2-пальмитоил-
52°C	1-пальмитоил-2-стеароил-
53°C	1,3-дистеароил-
56°C	1,2-дистеароил-
66°C	1,2-диарахиноил-
75°C	1,2-дибегеноил-
80°C	1,2-дилигноцероил-

Приведенные в таблице значения демонстрируют, что с использованием указанных жирных кислот, имеющих неравномерную длину цепи и подходящее распределение по основной структуре глицерина, фактически может быть установлена любая желательная температура в указанном диапазоне от 0 до 80°C. Цепи жирной кислоты и их распределение по позициям 1- и 2-молекулы глицерина контролируют физические характеристики фосфолипидов. Температура фазового перехода не зависит от того, является

имеют температуру фазового перехода около 40°C. Значение T_M чувствительных к раздражителям нанотранспортных липосом можно регулировать до желательной температуры путем добавления фосфатидилхолинов, имеющих значение T_M меньше 40°C, или путем добавления фосфатидилхолинов, имеющих T_M больше 40°C. Было продемонстрировано, что различия в длине алкильной цепочки больше чем на 4 группы CH_2 приводят к фазовому разделению, поэтому такие различия должны быть исключены.

Для других областей применения, которые не зависят от стабильности приблизительно при 37°C, причем активный компонент выделяется при 42°C, могут быть использованы фосфолипиды, которые имеют другие значения T_M - меньше 37°C или больше 45°C.

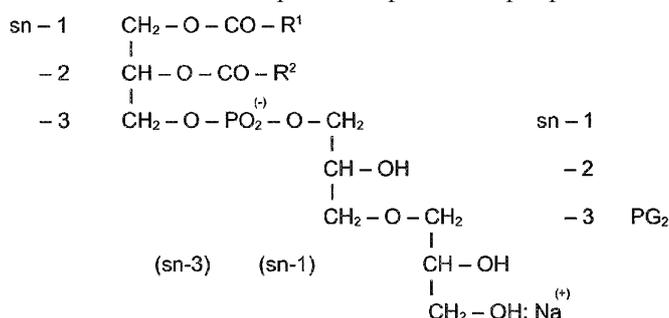
Чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, в частности термочувствительные липосомы согласно изобретению, в качестве дополнительного существенного компонента содержат по меньшей мере один фосфатидилолигоглицерин формулы (IIa). Фосфатидилолигоглицерины формулы (IIa) имеют формулу



где каждый радикал R^1 и R^2 независимо означает углеводородную функциональную группу, имеющую от 12 до 24 атомов углерода, m является целым числом от 0 до 50, причем связь глицерида с фосфатной группой является стереоспецифической и находится в виде sn-3 связи, и связь фосфатной группы с олигоглицерином является стереоспецифической и находится в виде sn-1 связи.

Предпочтительно m означает число от 0 до 8 и наиболее предпочтительно 0 или 1.

Особенно предпочтительным является стереоспецифический фосфатидилдиглицерин



Конфигурация: естественная.

Название: 1,2-диацил-sn-3-глицерофосфо-sn-1-диглицерин; натриевая соль (соответственно также олигоглицерины, в частности три- или тетраглицерины) R^1 , R^2 , жирных кислот; sn, стереоспецифическая нумерация; PG_2 , фосфодиглицерин,

где каждый радикал R^1 и R^2 независимо означает углеводородную функциональную группу, имеющую от 12 до 24 атомов углерода.

Предпочтительно каждый радикал R^1 и R^2 независимо от других предпочтительно представляет собой линейную, насыщенную, или моно-, или полиненасыщенную алкильную функциональную группу, в частности насыщенную алкильную функциональную группу. Дополнительно предпочтительно каждый радикал R^1 и R^2 независимо означает функциональную группу от C_{14} до C_{20} , особенно от C_{14} до C_{18} .

Предпочтительно каждый радикал R^1 и R^2 независимо представляет собой линейную, насыщенную алкильную функциональную группу от C_{12} - до C_{24} -, особенно от C_{12} - до C_{20} -.

Наиболее предпочтительно R^1 и R^2 независимо представляют собой линейную, насыщенную алкильную функциональную группу C_{14} -, C_{16} - или C_{18} -.

В дополнительном варианте осуществления предпочтительно каждый радикал R^1 и R^2 независимо означает функциональную группу от C_{13} до C_{19} , особенно от C_{13} до C_{17} . Наиболее предпочтительно R^1 и R^2 независимо представляют собой линейную, насыщенную алкильную функциональную группу C_{13} -, C_{15} - или C_{17} -.

Наиболее предпочтительным является 1,2-дипальмитоил-sn-3-глицерофосфо-sn-1-диглицерин.

Конфигурация фосфолипидов не влияет на физические свойства чувствительных к раздражителям нанотранспортных липосом, другими словами, физические свойства не изменяются, даже если в структуре находятся рацематы или 1,3-диацилглицерины. Однако они являются менее предпочтительными по другим причинам, поскольку они не могут разлагаться под действием фосфолипаз или могут разлагаться

только в ограниченной степени. В частности, это справедливо для фосфолипидов А, В, С и D, которые ответственны за разложение фосфолипидов. До настоящего времени не проводились какие-либо исследования, например, на тему, могут ли 1,3-дипальмитоилглицеро-2-фосфолипиды разлагаться метаболически. Другими словами, остается невыясненным вопрос, накапливаются ли указанные фосфолипиды в организме, и даже могут ли они быть токсичными.

Следовательно, до клинического применения необходимо удостовериться, что использованные фосфолипиды обладают определенной структурой, определенной в смысле структуры, состава и конфигурации жирной кислоты. В других обстоятельствах необходимо было продемонстрировать альтернативно в длительном исследовании (эксперименты на животных), что неестественные фосфолипиды в выражении структуры и конфигурации не обладают токсичными свойствами, поскольку клиническое применение, особенно при симптомах рака, означает, что терапия должна быть проведена в течение длительного периода.

Следовательно, особенно предпочтительно, чтобы используемые фосфолипиды были однородными и естественными в выражении структуры, конфигурации и состава жирных кислот. Предпочтительно используются только 1,2-диацил-sn-глицеро-3-фосфохолины и 1,2-диацил-sn-глицеро-3-фосфо-sn-1-ди-, -три- или -тетраглицерины.

В частности, это означает, что нанотранспортные системы согласно изобретению не содержат 1,3-диацилглицеро-3-фосфохолины и 1,2-диацилглицеро-3-фосфоолигоглицерины (термин "олиго" означает от 2 до 50, особенно от 2 до 10 глицериновых звеньев).

Согласно изобретению предоставляются или используются особенно стереоспецифические липиды. С использованием предыдущих способов получения, в которых 1,2-диацилглицерин, например 1,2-дипальмитоилглицерин, главным образом, применяется в качестве исходного материала для фосфорилирования, могут быть получены фосфатидилолигоглицерины очень хорошего качества (чистота больше 99%). Однако затем было обнаружено, что структурная чистота приблизительно составляет только 90%; т.е. происходит миграция жирной кислоты из 2-положения в 3-положение в ходе фосфорилирования или частично также во время хранения 1,2-диацилглицерина, например 1,2-дипальмитоилглицерина. 1,3-Диацилглицерин, например 1,3-дипальмитоилглицерин, образуется, по меньшей мере, в количестве приблизительно 10%. Диацилглицерин, например 1,3-дипальмитоилглицерин, образовавшийся путем миграции жирной кислоты, аналогично фосфорилируется и превращается в 1,3-дипальмитоил-2-фосфоолигоглицерин. Физические свойства 1,2- или 1,3-производной являются весьма схожими, так что хроматографическая очистка является возможной, но сложной.

В новых способах устраняется применение 1,2-диацилглицерина, например 1,2-дипальмитоилглицерина, за счет использования защитной группы совершенно новой системы, которая конкретно направлена на получение фосфатидил-олигоглицеринов в химической аналитически и структурно чистой форме и в естественной конфигурации. Ниже описаны структурные звенья, необходимые для этой цели.

Новые пути синтеза обладают тем преимуществом, что используемые структурные звенья совершенно стабильны в условиях реакции. В молекуле не происходит ни разложение, ни миграция заместителей.

Однако дополнительным преимуществом новых процессов является то, что состав жирной кислоты сначала не задается с помощью используемых диацилглицеринов. Это приводит к отдельным стадиям синтеза и фосфорилирования для каждой желательной структуры жирной кислоты.

В новых способах дополнительно исключается отдельное и сложное приготовление 1,2-диацилглицеринов, например 1,2-дипальмитоилглицерина. Две свободные гидроксильные группы высвобождаются из изопропилиден-глицериновой функциональной группы только в конце синтеза. Затем можно получить множество производных жирной кислоты путем простого ацилирования, например, с использованием хлорангидрида пальмитиновой кислоты или других хлорангидридов жирной кислоты. Затем удаляются защитные бензильные группы, как обычно, путем каталитического гидрогенолиза в присутствии Pd/C. После отщепления защитной метильной группы с использованием бромистого лития получается конечный продукт.

Физические свойства чувствительных к раздражителям нанотранспортных липосом согласно изобретению определяются составом жирной кислоты, что обеспечивает совершенно точную термическую чувствительность. С другой стороны, для стабильности сыворотки крови и биологического разложения систем носителя требуется определенная конфигурация. Это может быть осуществлено только путем химического синтеза, но не путем трансэтерификации с помощью фосфолипазы D.

Фосфатидил-олигоглицерины, которые используются, обеспечивают большое время циркуляции в крови чувствительных к раздражителям нанотранспортных липосом. Состав жирной кислоты обеспечивает высвобождение активных компонентов при определенной температуре и их стабильность в сыворотке крови. Также предпочтительными являются молекулы, которые обеспечивают нормальное биологическое разложение, другими словами, предпочтительными являются молекулы с естественной конфигурацией, которые могут разлагаться под действием фосфолипаз, например фосфолипаз А, В и С.

Предпочтительные фосфатидилолигоглицерины, которые обладают указанными свойствами, имеют однородную конфигурацию и находятся в естественной конфигурации (см. общую формулу IIa).

частности термочувствительные липосомы, которые являются стабильными, другими словами, совсем не выделяют активный компонент, в сыворотке крови при 37°C. Однако при 42°C активный компонент быстро высвобождается в течение периода меньше 15 с. Высвобождение активных компонентов, заключенных в липосомах, может происходить, например, заданным образом на стенке мочевого пузыря, таким образом, активный компонент, в частности цитостатический препарат, может высвобождаться непосредственно в желательном месте.

Для использования чувствительных к раздражителям нанотранспортных липосом для заданной терапии локализованных опухолей, прежде всего, имеют критическое значение физические характеристики чувствительных к раздражителям нанотранспортных липосом. Основные условия задаются температурой тела здорового человека 37°C. Чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, содержащие активный компонент, должны быть стабильными при 36-37°C. В случае локального повышения температуры до 42°C в области опухоли активный компонент должен быстро высвобождаться меньше чем за 15 с. Предпочтительно чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы могут быть получены с помощью соответствующих фосфолипидов на основе эфиров жирной кислоты, имеющих длину цепи от C₁₄ до C₁₈ (миристиновая кислота, пальмитиновая кислота, стеариновая кислота; в этой связи см. также таблицу). Температура фазового перехода для этих фосфолипидов лежит в области приблизительно 40°C. Ниже 40°C фосфолипиды, упорядоченные в пластинчатой структуре, находятся в кристаллической фазе; выше указанной температуры они находятся в жидкой фазе. В переходной области, в узком температурном диапазоне между 40 и 42°C активные компоненты самопроизвольно высвобождаются.

Температура основного фазового перехода для (1,2-дипальмитоил)фосфатидилхолина составляет приблизительно 41°C. Этот фосфатидилхолин соответственно может удовлетворять чисто физическим требованиям для клинического применения в липосомах. Однако отсутствует стабильность сыворотки в кровотоке людей и животных, что требуется для клинического применения. Следовательно, один (1,2-дипальмитоил)фосфатидилхолин не является достаточным для достижения терапевтических целей. Поэтому намеченные терапевтические цели не могут быть достигнуты с использованием одного (дипальмитоил)фосфатидилхолина.

Однако с использованием фосфатидилолигоглицеринов можно получить чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, в частности термочувствительные липосомы, имеющие пролонгированное время циркуляции в крови, просто путем добавления фосфатидилдиглицерина или фосфатидилтриглицерина. Простое добавление возможно, поскольку фосфатидилхолина, фосфатидилдиглицерина или фосфатидилтриглицерина, имеющие аналогичную структуру и такое же распределение жирной кислоты в молекуле глицерида, обладают сопоставимыми температурами фазового перехода, например, приблизительно 41°C для соответствующих дипальмитоиловых соединений.

Кроме того, важным моментом является то, что фосфатидилхолины и фосфатидилолигоглицерины образуют идеальные смеси, без фазового разделения, при условии, что длина молекул жирных кислот не отличается больше чем на 4 CH₂ группы. Это является важным предварительным условием, если имеется возможность установить температуру фазового перехода между 23°C (чистый димиристоилфосфатидилхолин) и 41°C (чистый дипальмитоилфосфатидилхолин), что желательно, аналогично между 41 и 56°C (чистый дистеароилфосфатидилхолин). Соответственно, фосфатидилолигоглицерины также могут быть использованы в этих смесях.

В одном варианте осуществления чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, в частности термочувствительные липосомы, имеющие температуру основного фазового перехода приблизительно от 40 до 42°C, образуются из смесей (дипальмитоил)фосфатидилхолина, (дистеароил)фосфатидилхолина и (дипальмитоил)фосфатидил-ди- или -триглицерина, другими словами, из трехкомпонентных систем. 1,2-Дипальмитоилфосфатидилхолин служит основной матрицей для регулирования температуры фазового перехода приблизительно при 42°C, добавка 1,2-дистеароилфосфатидилхолина дает небольшое увеличение температуры фазового перехода, а (1,2-дипальмитоил)фосфатидил-ди- или -триглицерин обеспечивает стабильность в сыворотке крови и стабильность в кровотоке.

Системы, содержащие от 40 до 60 мас.% 1,2-дипальмитоилфосфатидилхолина, от 15 до 25 мас.% 1,2-дистеароилфосфатидилхолина и от 20 до 40 мас.% 1,2-дипальмитоилфосфатидилдиглицерина, являются предпочтительными. Еще более предпочтительно, чтобы все составляющие использовались в стереоспецифической форме.

В дополнительно предпочтительном варианте осуществления также является достаточной двухкомпонентная система (1,2-дипальмитоил)фосфатидилхолина и (1,2-дистеароил)фосфатидил-ди- или -триглицерина.

С использованием чувствительных к раздражителям нанотранспортных липосом, в частности термочувствительных липосом согласно изобретению, активный компонент, заключенный в чувствительных к раздражителям нанотранспортных липосомах, может высвобождаться под действием раздражителя, в частности, путем локального нагревания чувствительных к раздражителям нанотранспортных липосом. Поэтому чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, в частности термочувствительные липосомы, являются особенно подходящими для локальной терапии опухолей, в частности опу-

холи мочевого пузыря или карциномы мочевого пузыря. Высвобождение активного компонента, заключенного в чувствительных к раздражителям нанотранспортных липосомах, может быть вызвано заданным образом в стенке мочевого пузыря, таким образом, активный компонент, в частности цитостатический препарат, может высвобождаться непосредственно в желательном месте. Эти приемы также могут быть использованы для терапии других твердых локализованных опухолей.

Чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, описанные в изобретении, являются особенно подходящими для локального высвобождения активных компонентов за счет перегрева организма. Предпочтительными являются чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, которые обладают термочувствительностью и содержат по меньшей мере один фосфатидилхолин и по меньшей мере один фосфатидилолигоглицерин, в каждом случае имеющий температуру фазового перехода около 40°C. Это означает, что эфиры миристиновой кислоты, пальмитиновой кислоты или стеариновой кислоты являются подходящими в качестве эфиров жирной кислоты. Конечно, другие температуры фазового перехода также могут быть заданы с помощью соответствующих эфиров жирной кислоты (в этой связи см. также таблицу).

Было установлено, что чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, в частности термочувствительные липосомы, которые содержат по меньшей мере один фосфатидилхолин и по меньшей мере один фосфатидилдиглицерин или фосфатидилтриглицерин, имеющий температуру фазового перехода приблизительно 40°C, имеют длительный период полураспада при нормальной температуре приблизительно от 36 до 37°C в кровотоке экспериментальных животных. Заключенные активные компоненты высвобождаются только, когда локальная температура повысится приблизительно до 42°C.

Чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, в частности термочувствительные липосомы, заявленные согласно изобретению, предпочтительно содержат по меньшей мере один фосфатидилхолин и по меньшей мере один фосфатидил-ди-, -три- или -тетраглицерин. Температура фазового перехода определяется требованиями области применения. Предпочтительно температура для клинического применения устанавливается около 42°C, что достигается простым способом, с использованием комбинаций возможных жирных кислот в молекуле глицерида (в этой связи см. также таблицу). Для других областей применения могут представлять интерес различные температуры фазового перехода ниже 40°C, например температуры приблизительно меньше 30°C, что также может быть осуществлено с использованием соответствующих комбинаций жирных кислот (см. таблицу). Указанные чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы представляют интерес, поскольку при прямом введении их в область опухоли они выделяют активный компонент непосредственно в ткани опухоли. Соответственно, чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, имеющие повышенные температуры фазового перехода, также являются важными, поскольку указанные чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы являются весьма стабильными и не выделяют активный компонент непосредственно, но способны медленно высвобождать активный компонент, например, после их поглощения в клетках, причем термический эффект не является необходимым. Следовательно, имеются чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, которые являются вполне стабильными даже при 50°C или выше.

Можно провести различие между тремя предпочтительными вариантами осуществления указанных чувствительных к раздражителям нанотранспортных липосом.

1) Предпочтительно

липосома, состоящая из фосфолипидов, содержит по меньшей мере один фосфатидилхолин и по меньшей мере один фосфатидилолигоглицерин. Цепочки жирной кислоты выбирают таким образом, чтобы добиться температуры фазового перехода приблизительно 42°C. Положение цепочки жирной кислоты в глицеридной молекуле и положение фосфатной функциональной группы является произвольным, именно температура фазового перехода приблизительно 42°C является важной для терапевтического применения в организме, что обычно может быть достигнуто с использованием эфиров жирной кислоты, имеющих длину цепи от C₁₄ до C₁₈ (миристиновая кислота, пальмитиновая и стеариновая кислоты).

2) Более предпочтительно

категория включает липосомы, имеющие 1,2-диацил-sn-3-глицерофосфо-гас-олигоглицерины.

Физические свойства, такие как температура фазового перехода, характеристики идеального смешения, не изменяются. Однако эти молекулы не встречаются в природе и поэтому не подвергаются метаболизму или разложению или очень медленно подвергаются метаболизму или разложению.

3) Еще более предпочтительно

эта категория включает липосомы фосфолипидов, имеющих естественную конфигурацию: эфиры sn-глицеро-3-фосфорной кислоты и sn-1-фосфо-ди-, -три- или -тетраглицеринов. Все физические свойства, такие как температура фазового перехода, характеристики идеального смешения, не изменяются. Конфигурация является естественной, другими словами, обеспечивается биологическое разложение молекул.

Путем подбора фосфатидилхолина, имеющего подходящую температуру основного фазового перехода, можно настраивать чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, в частности термочувствительные липосомы. В таблице приведены температуры основного фазового перехода (T_M)

фосфатидилхолинов, для которых температуры основного фазового перехода находятся в диапазоне от 0 до 80°C. Как можно понять из таблицы, температуры основного фазового перехода зависят от длины цепи и от распределения по позициям 1- и 2- глицеро-3-фосфохолина или по позициям 1- и 3-глицеро-2-фосфохолина.

Предпочтительно фосфатидилхолин в чувствительных к раздражителям нанотранспортных липосомах присутствует в количестве по меньшей мере 10 мас.%, более предпочтительно в количестве по меньшей мере 30 мас.%, еще более предпочтительно в количестве по меньшей мере 50 мас.%, но не больше чем 90 мас.%.

Весьма обобщенно, температуру фазового перехода фосфатидилхолинов можно регулировать, изменяя длину цепи эфиров жирной кислоты, как показано в таблице. Температуру основного фазового перехода (T_M) фосфатидилхолинов можно настраивать для конкретных требований. Для клинической области применения особое значение имеет температура 40°C.

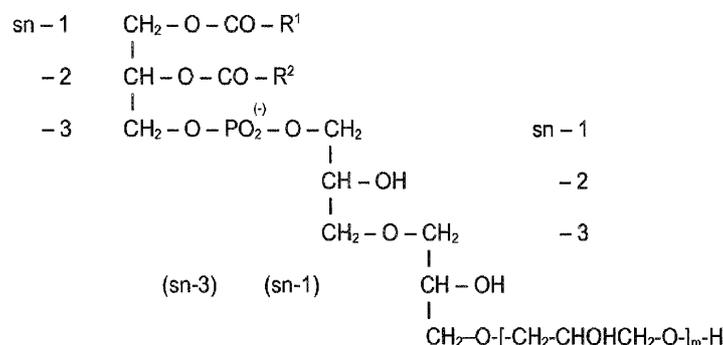
Кроме чисто физических характеристик чувствительных к раздражителям нанотранспортных липосом, другими словами, стабильность при 37°C, но высвобождение активного компонента при 42°C в физиологическом солевом растворе, однако чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы могут быть использованы терапевтически, только если указанные требования также выполняются в присутствии сыворотки крови, а также в модельных экспериментах с подопытными животными.

Указанная стабильность в общем не может быть достигнута, если используются липосомы (дипальмитоил)фосфатидилхолина и (дипальмитоил)фосфатидилглицерина. В этой системе эксперименты на животных показали, что содержимое липосом, активный компонент, высвобождается почти полностью меньше чем за 1 мин.

Требования, необходимые для клинического применения, другими словами, стабильность при 37°C, но высвобождение активного компонента при 42°C, могут быть достигнуты в экспериментах на животных только с использованием новых отрицательно заряженных носителей - фосфатидилолигоглицеринов, в частности фосфатидилдиглицеринов и фосфатидилтриглицеринов.

Однако для клинического применения необходимо учитывать дополнительные соображения. Согласно изобретению фосфатидилдиглицерина и фосфатидилтриглицерина, имеющие эфиры фосфорной кислоты, которые имеют sn-1 связь и, таким образом, конфигурацию естественного происхождения, были получены впервые.

Поэтому в настоящем изобретении также предоставлены стереоспецифические фосфатидилолигоглицерины формулы IIIa



Конфигурация: естественная.

Название: 1,2-диацил-sn-3-глицерофосфо-sn-1-олигоглицерин;

sn, стереоспецифическая нумерация;

где каждый радикал R^1 и R^2 независимо означает углеводородную функциональную группу, имеющую от 12 до 24 атомов углерода, и m представляет собой целое число от 0 до 50, причем соединение глицерида с фосфатной группой является стереоспецифическим и находится в форме sn-3 связи, а соединение фосфатной группы с олигоглицерином является стереоспецифическим и находится в виде sn-1 связи.

Предпочтительно каждый радикал R^1 и R^2 независимо от других представляет собой линейную насыщенную или моно- или полиненасыщенную алкильную функциональную группу, в частности насыщенную алкильную функциональную группу. Кроме того, предпочтительно каждый R^1 и R^2 независимо означает функциональную группу от C_{14} до C_{20} , особенно от C_{14} до C_{18} .

Предпочтительно каждый радикал R^1 и R^2 независимо представляет собой линейную насыщенную алкильную функциональную группу от C_{12} до C_{24} , особенно от C_{12} до C_{20} .

Наиболее предпочтительно R^1 и R^2 независимо означают линейную насыщенную C_{14} , C_{16} или C_{18} -алкильную функциональную группу.

Предпочтительно m является целым числом от 0 до 10 и наиболее предпочтительно 0 или 1.

В случае клинического применения, например, в терапии опухолей большое значение имеет физиологическая толерантность. Чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы в качестве

системы носителя должны легко разлагаться фосфолипазами после того, как высвобождается активный компонент. Поэтому согласно изобретению молекулы, которые имеют sn-1 связь фосфорной кислоты с глицериновыми структурными звеньями наиболее предпочтительно используются в качестве фосфатидилдиглицеринов и аналогов. Преимущество состоит в быстром разложении под действием фосфолипаз.

Таким образом, удовлетворяются требования для клинического применения, в частности для использования в регионарной терапии опухолевых заболеваний, например опухоли мочевого пузыря. Эффективность указанной терапии уже подтверждена в экспериментах на животных.

Согласно изобретению чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, в частности термочувствительные липосомы, предпочтительно свободны от холестерина, поскольку холестерин приводит к рассредоточению температуры фазового перехода, и, таким образом, расширяется диапазон термической трансформации. Особенно предпочтительно чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, в частности термочувствительные липосомы, согласно изобретению содержат холестерин в количестве меньше 0,1 мас.%, более предпочтительно меньше 0,01 мас.%. Особенно предпочтительно чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы не содержат какой-либо холестерин, но полностью свободны от холестерина.

Согласно предпочтительному варианту осуществления чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы согласно изобретению дополнительно содержат меньшие количества алкилфосфохолинов, предпочтительно от 10 до 15 мас.%. Подходящими соединениями являются, например, гексадецилфосфохолин, олеилфосфохолин, а также эфирные лизолецитины. В случае эфирных лизолецитинов, гидроксильная группа в положении 2-глицерина может быть метилированной или может быть свободной. В этом варианте осуществления возможно увеличение высвобождения соединений, заключенных в липосоме, приблизительно от 70%, без содержания алкилфосфохолина, до практически 100%, что приписывается ускорению раскрытия чувствительных к раздражителям нанотранспортных липосом. Кроме того, алкилфосфохолины демонстрируют противоопухолевый эффект, благодаря термической зависимости высвобождения чувствительных к раздражителям нанотранспортных липосом.

Предпочтительно чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, в частности термочувствительные липосомы, согласно изобретению дополнительно содержат активный компонент, особенно активный компонент, подходящий для лечения опухолей мочевого пузыря. Чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы предпочтительно содержат цитостатический препарат, особенно цитостатический препарат, выбранный из группы, состоящей из митомицина С, доксорубицина, эпирубицина, гемцитабина, трабектедина, цисплатины, карбоплатины оксалиплатины.

Термическая чувствительность липосом согласно изобретению определяется фазовым переходом фосфатидилхолинов внутри липосомной мембраны. Если превышает температура фазового перехода, мембрана быстро становится нестабильной, и соответствующее содержание липосомы высвобождается. Согласно изобретению этот эффект используется для лечения опухолей мочевого пузыря. Таким образом, опухоль мочевого пузыря нагревается региоспецифически, например, в контексте регионального перегревания организма. Температура в опухоли увеличивается выше предельной температуры для высвобождения содержимого липосомы. Затем содержимое липосомы высвобождается специфически и почти исключительно в опухоли, таким образом, активные компоненты могут быть эффективно использованы для лечения опухоли.

Следовательно, изобретение дополнительно относится к термочувствительной липосоме, которая описана здесь, в комбинации с перегреванием организма и/или ультразвуком. В этом случае нагревание может быть осуществлено с использованием многих способов, таких как простое промывание мочевого пузыря теплой водой, нагревание с помощью электромагнитных волн, ультразвука или лазера.

Чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, в частности термолабильные липосомы, согласно изобретению получают традиционным способом путем растворения липидов, например, в хлороформе или смеси хлороформ/вода/изопропанол, удаления растворителя, преимущественно в вакуумном роторном испарителе, темперирование липидов с водными растворами компонентов, которые инкапсулируют при температуре выше температуры фазового перехода. Продолжительность темперирующей обработки преимущественно составляет от 30 до 60 мин, но также может быть более краткой или длительной. Гомогенизация проводится путем повторения процессов замораживания/оттаивания, например замораживания и повторного оттаивания от 2 до 5 раз. Окончательно полученную липидную суспензию подвергают экструзии через мембрану с определенным размером пор при температуре выше точки фазового перехода для того, чтобы добиться желательного размера чувствительных к раздражителям нанотранспортных липосом. Подходящими мембранами являются, например, поликарбонатные мембраны с определенным размером пор, таким как от 100 до 200 нм. Окончательно не включенные в капсулу компоненты могут быть отделены, например, на хроматографической колонке или тому подобное.

Высвобождение активных компонентов при локорегионарной терапии не ограничивается обработкой опухолей мочевого пузыря.

Следовательно, изобретение также включает чувствительную к раздражителям нанотранспортную липосому, в частности термочувствительную липосому, для применения при обработке других опухолей,

особенно саркомы мягких тканей, остеосаркомы, карциномы мочевого пузыря (инвазивный рак мышц мочевого пузыря [MIBC] и неинвазивный рак мышц мочевого пузыря [NMIBC]), овариальной карциномы, карциномы желудка, карциномы молочной железы (особенно тройной негативный рак молочной железы [TNBC]), гепатоцеллюлярной карциномы, карциномы матки, карциномы щитовидной железы, опухоли головы и шеи, карциномы предстательной железы, хордомы, десмоидной опухоли, глиобластомы и других опухолевых заболеваний, имеющих предпочтительно локорегионарное распространение.

Предпочтительно указанные нанотранспортные системы содержат активный компонент, подходящий для лечения рассматриваемых опухолей, который затем высвобождается под действием раздражителя внутри или вблизи опухоли.

Подходящими активными компонентами для лечения опухолей являются, например, антрациклины (например, доксорубин, эпирубин), оксазафосфорины (например, гидроксифосфамид), аналоги платины (цисплатина, оксалиплатина, карбоплатина), гемцитабин, 5-фторурацил, паклитаксел, доцетаксел, этопозид, топотекан, винкристин, иринотекан, метотрексат, блеомицин, ингибиторы тирозинкиназы, небольшие молекулы, терапевтические агенты или радиосенсибилизаторы ДНК (в сочетании с радиотерапией).

Кроме того, чувствительные к раздражителям нанотранспортные системы согласно изобретению могут быть использованы при лечении инфекционных заболеваний, в частности инфекционных заболеваний, вызванных бактериями, вирусами, грибами и/или паразитами.

При лечении инфекций медицинских имплантатов, в частности ортопедических протезов, предпочтительным является лечение локализованных инфекций, особенно инфекций глубокой мягкой ткани и/или кости, и/или терапия устойчивых ко многим препаратам патогенных микроорганизмов.

С этой целью чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, в частности термочувствительные липосомы, предпочтительно содержат активный компонент, выбранный, в частности, из антибиотиков, виростатических препаратов, фунгицидов и медицинских препаратов, обладающих противопаразитарным эффектом. Особенно предпочтительный активный компонент выбирают из: антибиотиков, в частности β -лактамов, гликопептидов, поликетидов, аминогликозидных антибиотиков, полипептидных антибиотиков, хинолонов, сульфаниламидных препаратов (например, линезолид, флуклоксацилин, цефазолин, клиндамицин, ванкомицин, тейкопланин, рифампицин, ампициллин, цефтазидим, цефтриаксон, цефепим, пиперацилин, флуорохинолоны, метронидазол, амикацин и др.) и/или виростатических препаратов, в частности ингибиторов входа, ингибиторов проникновения, ингибиторов ДНК-полимеразы, ингибиторов ДНК/РНК-полимеразы, ингибиторов обратной транскриптазы, ингибиторов инозинмонофосфатной дегидрогеназы, ингибиторов протеазы, ингибиторов интегразы, ингибиторов геликазы-примазы, ингибиторов циклофилина, ингибиторов созревания, ингибиторов терминазы, ингибиторов нейраминидазы, и др., и/или фунгицидов, в частности азолов (бензимидазолы (МВС), триазолы, имидазолы), морфолинов, стробилуринов, хинолинов, анилопиримидинов, оксазолидиндионов, амидов карбоновых кислот и др.

Чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, в частности термочувствительные липосомы, согласно изобретению дополнительно могут быть использованы при лечении глазных заболеваний, особенно при лечении воспалительных, дегенеративных, инфекционных и/или неопластических заболеваний глаз, нарушений заживления ран и/или глаукомы.

В дополнительном предпочтительном варианте осуществления чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, в частности термочувствительные липосомы, также могут быть использованы при лечении аутоиммунных заболеваний, в частности при лечении ревматоидного артрита и/или хронических воспалительных заболеваний кишечника. С этой целью чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, особенно термочувствительные липосомы, кроме того, предпочтительно содержат активный компонент, в частности стероид, TNF- α и/или иммунодепрессанты.

Кроме того, изобретение обеспечивает чувствительную к раздражителям нанотранспортную липосому, в частности термочувствительную липосому, для использования в диагностике, особенно для бесконтактного измерения температуры с использованием магнитно-резонансных (MR) контрастных веществ и MR-визуализации. Такие чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, в частности термочувствительные липосомы, предпочтительно содержат в качестве активного компонента компьютерной томографии или MRT контрастные вещества, предпочтительно выбранные из йодсодержащих контрастных веществ или хелатов гадолиния.

Чувствительные к раздражителям нанотранспортные липосомы, в частности термочувствительные липосомы, согласно изобретению дополнительно могут быть использованы при лечении дегенеративных заболеваний, в частности, для локализованного высвобождения противовоспалительных средств, болеутоляющих средств и/или средств предохранения хрящевой ткани. Дополнительными областями применения чувствительных к раздражителям нанотранспортных липосом, особенно термочувствительных липосом, является лечение синдромов слабоумия, болезни Альцгеймера и/или фокальных неврологических психиатрических заболеваний, в частности эпилепсии, а также лечение атеросклероза.

Для лечения тромбозов предпочтительно чувствительные к раздражителям нанотранспортные ли-

посомы, в частности термочувствительные липосомы, содержат по меньшей мере один активный компонент, выбранный из фибринолитических агентов, предпочтительно стрептокиназы, урокиназы и/или алтплазы.

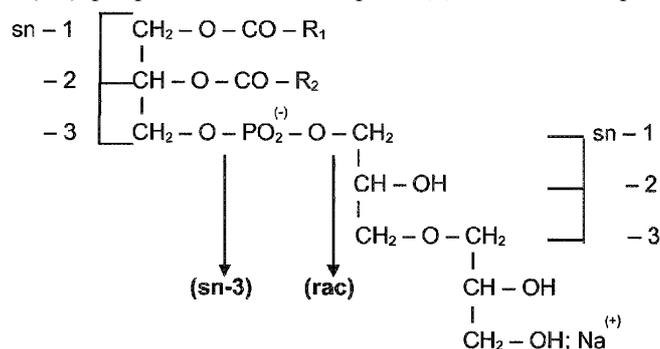
Кроме того, изобретение будет проиллюстрировано прилагаемыми чертежами и следующими примерами.

Пример 1. Синтез фосфатидилолигоглицеринов.

Важные структурные звенья.

- 1) 3-Аллил-2-бензил-sn-G (эндогенный синтез).
- 2) 1-Аллил-2-бензил-sn-G (эндогенный синтез).
- 3) 1,2-Изопропилиден-sn-G (промышленный продукт).
- 4) 2,3-Изопропилиден-sn-G (промышленный продукт).

С использованием указанных структурных звеньев, могут быть разработаны желательные фосфатидилолигоглицерины, имеющие естественную или также неестественную конфигурацию. До настоящего времени в этой области техники были приготовлены и испытаны в липосомах долговременной циркуляции только рацемические (rac) фосфатидилолигоглицерины. До настоящего времени



Конфигурация: рацемическая (неестественная).

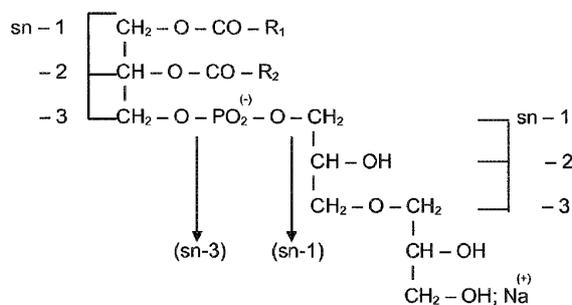
Название: 1,2-диацил-sn-3-глицерофосфо-gac-диглицерин (соответственно три- или тетраглицерины).

Пояснения: R₁, R₂ - насыщенные алкильные функциональные группы;

sn - стереоспецифическая нумерация;

gac - рацемическое связывание; соответственно также три- или тетраглицерины.

Согласно изобретению



Конфигурации: естественная.

Название: 1,2-диацил-sn-3-глицерофосфо-sn-1-диглицерин (соответственно также три- или тетраглицерины).

Пояснения: R₁, R₂ - насыщенные алкильные функциональные группы;

sn - стереоспецифическая нумерация; диглицерины - соответственно также три- или тетраглицерины.

Соединения естественной конфигурации в фосфатных эфирах, другими словами, (sn-3) связывание диацилглицерина, но (sn-1) связывание ди-, три- или тетраглицеринов описаны в изобретении впервые. Эти соединения нельзя получить из лецитина путем трансэтерификации с использованием фосфолипазы D в присутствии глицерина, а только с помощью заданного синтеза. Соединения имеют естественную конфигурацию, другими словами, (sn-3) и (sn-1) связывание.

Кроме того, при получении дополнительных соединений, таких как глицерогликоли, глицероглицерины (разветвленные), глицероглицерогликоли, разработаны маршруты синтеза, которые обеспечивают вещества, содержащие функциональную группу глицерина, который имеет (sn-1) связывание фосфатного эфира с фосфатидилолигоглицерином. Соответственно, эти соединения содержат в структуре по меньшей мере одну глицериновую молекулу, имеющую свободную -ОН группу, которая обеспечивает (sn-1) связывание. Эти соединения являются новыми, поскольку здесь также возможно (sn-3) связы-

вание диацилглицеринового эфира фосфорной кислоты и (sn-1) связывание с глицерингликолем. Кроме того, структура согласно изобретению также является новой, поскольку концевая группа не является глицериновой, а гликолевой или т.п.

Пример 2. Примеры синтеза фосфатидилолигоглицеринов, имеющих однородную и естественную конфигурацию.

Использованные сокращения: P - пальмитиновая кислота; O - олеиновая кислота; S - стеариновая кислота; L - лауриновая кислота; B - бегеновая кислота; M - миристиновая кислота; A - арахидоновая кислота; Li - линоцериновая кислота. PC - фосфохолин; PG₂ - фосфодиглицерин; PG₃ - фосфотриглицерин; PG₄ - фосфотетраглицерин.

Диглицерины

1) 1P-2M-sn-G-3-PO ₄ -sn-1-G ₂ ;Na	(-) (+)	TM ~ 27° C
2) 1S-2M-sn-G-3-PO ₄ -sn-1-G ₂ ;Na	(-) (+)	TM ~ 33° C
3) 1P-2P-sn-G-3-PO ₄ -sn-1-G ₂ ;Na	(-) (+)	TM ~ 41° C
4) 1S-2P-sn-G-3-PO ₄ -sn-1-G ₂ ;Na	(-) (+)	TM ~ 48° C
5) 1S-2S-sn-G-3-PO ₄ -sn-1-G ₂ ;Na	(-) (+)	TM ~ 27° C

Триглицерины

1) 1S-2M-sn-G-3-PO ₄ -sn-1-G ₃ ;Na	(-) (+)	TM ~ 33° C
2) 1P-2P-sn-G-3-PO ₄ -sn-1-G ₃ ;Na	(-) (+)	TM ~ 41° C
3) 1S-2P-sn-G-3-PO ₄ -sn-1-G ₃ ;Na	(-) (+)	TM ~ 48° C

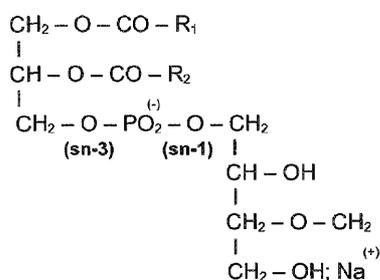
Тетраглицерины

1) 1S-2M-sn-G-3-PO ₄ -sn-1-G ₄ ;Na	(-) (+)	TM ~ 33° C
2) 1P-2P-sn-G-3-PO ₄ -sn-1-G ₄ ;Na	(-) (+)	TM ~ 41° C
3) 1S-2P-sn-G-3-PO ₄ -sn-1-G ₄ ;Na	(-) (+)	TM ~ 48° C
4) 1S-2S-sn-G-3-PO ₄ -sn-1-G ₄ ;Na	(-) (+)	TM ~ 48° C

Пример 3. Примеры синтеза фосфатидил-sn-1-глицеросоединений с естественной конфигурацией (новизна за счет вариации структуры, а также за счет однородной и естественной конфигурации).

Глицерогликоли (G-Gly).

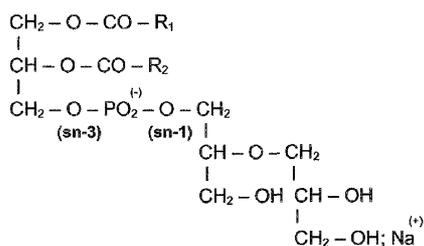
Структура



1) 1P-2P-sn-G-3-PO ₄ -(sn-1)-G-Gly; Na	(-) (+)
2) 1S-2S-sn-G-3-PO ₄ -(sn-1)-G-Gly; Na	(-) (+)

Глицероглицерины (разветвлённые).

Структура

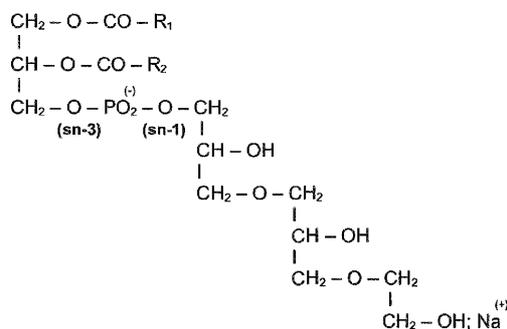


1) 1P-2P-(sn-3)-G-PO₄-(sn-1)-G-G; Na (разветвлённый)

2) 1S-2S-(sn-3)-G-PO₄-(sn-1)-G-G; Na (разветвлённый)

Диглицерогликоли (G₂-Gly).

Структура



1) 1P-2P-(sn-3)-G-PO₄-(sn-1)-G₂-Gly; Na

2) 1S-2S-(sn-3)-G-PO₄-(sn-1)-G₂-Gly; Na

Пример 4. Применение термочувствительных липосом при лечении карциномы мочевого пузыря.

Используются термочувствительные липосомы согласно изобретению, которые содержат 30 мол.% дипальмитоилфосфатидилдиглицерина или дипальмитоилфосфатидилтриглицерина.

На фиг. 1 продемонстрирован принцип внутрисосудистого высвобождения активного компонента из термочувствительных липосом.

Обычно высвобождение активного компонента происходит путем пассивного переноса через липидную мембрану за счет градиента концентрации. При температуре фазового перехода (T_m) фосфолипиды переходят из твердой гелевой фазы ($L\beta$) в жидкую разупорядоченную фазу ($L\alpha$). Фаза $L\alpha$ характеризуется повышенной проницаемостью по сравнению с фазой $L\beta$. Проницаемость становится максимальной при температуре, близкой к температуре фазового перехода T_m , благодаря сосуществованию областей мембраны, в которых находятся обе фазы, посредством чего образуются граничные области, имеющие дефекты упаковки. Содержимое термочувствительных липосом согласно изобретению высвобождается в кровоток, когда липосомы проходят через нагретую ткань. Таким образом, обеспечивается высокая степень высвобождения активного компонента.

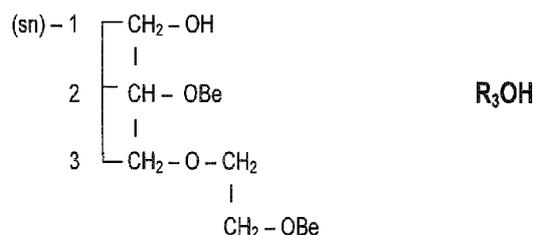
Были проведены эксперименты в организме самок крыс F344, имеющих массу от 170 до 200 г, у которых развился ортотопический рак мочевого пузыря за счет инокуляции клеток AY27. Фармакокинетику и аккумуляцию доксорубина (Dox) оценивали по данным измерений ЖХВД. Рост фокальной опухоли инициировали путем предварительного химического кондиционирования стенки мочевого пузыря с последующим капельным введением клеток AY27. Рост опухоли контролировали методом цитоскопии. Термочувствительные липосомы, содержащие доксорубин (TSL-Dox) или свободный Dox, вводили внутривенно (в.в.) или внутрь мочевого пузыря. Нагревание мочевого пузыря осуществляли с помощью теплой воды.

На фиг. 2 показан фармакокинетический профиль TSL-Dox.

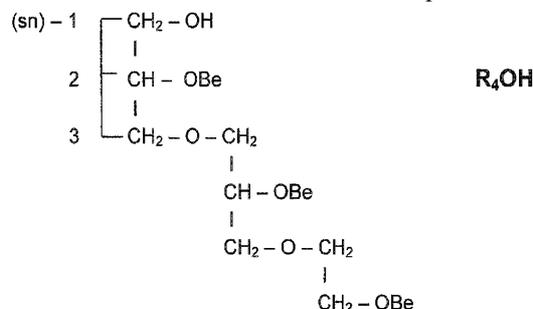
Введение 2 мг/кг TSL-Dox самкам крыс F344 проводят в день 0 с повторным введением спустя 7 или 14 суток. TSL-Dox демонстрирует высокую стабильность в течение 120 мин.

На фиг. 3 показан экспериментальный план модели карциномы мочевого пузыря крысы (модификация Postius, Szelenyi; J. Pharmacol. Methods. 1983, 9: 53-61).

Крысе вставляли в мочевой пузырь два катетера (1). Дозирующий насос (2) закачивает теплую воду



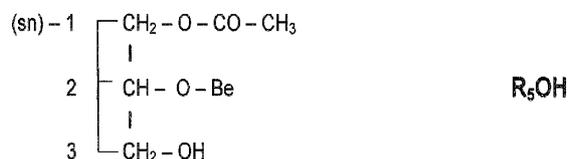
Соответствующим образом, (sn)-1-ОН-2-бензил-3-глицеро-2-бензилглицеробензилгликоль может быть получен из триглицеринов с использованием аналогичной стратегии защитной группы



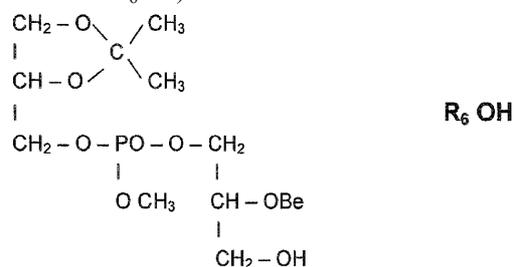
G). (sn)-1-Ацетил-2-бензилглицерин.

Эта защитная группа используется только при получении сложных фосфолипидов, таких как кардиолипин, который содержит два эфира фосфорной кислоты в одной молекуле. Фосфатидильные функциональные группы, присутствующие в молекуле, связаны вместе с помощью глицеринового мостика. Указанное выше структурное звено позволяет получить этот мостик, а также приготовить два эфира фосфорной кислоты в (sn)-3 положении, другими словами, аналогично конфигурации естественного происхождения.

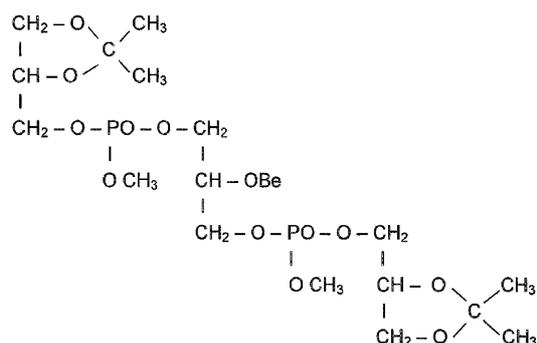
Группа G может быть получена из структурного звена C: детритилирование в положении (sn)-1, перегруппировка аллильной группы в пропенильную, ацетилирование в (sn)-1 положении и кислотное отщепление пропенильной защитной группы дает структурное звено G, имеющее свободное (sn)-3 положение



Для получения кардиолипинов и их аналогов необходимо принимать особые приемы, поскольку в этих молекулах присутствуют два носителя отрицательных зарядов, другими словами, две фосфатные функциональные группы в молекуле. Для этой цели используют уже фосфорилированную функциональную группу R₅ после отщепления ацетильной группы в качестве спирта R₆OH (в связи с этим см. получение триэфиров фосфорной кислоты: приготовление триэфира фосфорной кислоты из R₅OH и приготовление триэфира фосфорной кислоты из R₆OH)



Если R₆OH снова взаимодействует с оксихлоридом фосфора, образуется дифосфат. Затем две функциональные группы фосфорной кислоты соединяются вместе с помощью глицеринового мостика.



Затем в конце синтеза освобождаются четыре гидроксильные группы, защищенные изопропилиденом. Затем проводится традиционное ацелирование известным методом с использованием хлорангидрида жирной кислоты, например хлорида пальмитиновой кислоты или пальмитиновой кислоты. После отщепления защитной группы бензильного эфира путем каталитического гидрогенолиза с использованием палладия на угле (Pd/C) получают целевой продукт путем отщепления метильной группы с использованием бромистого лития.

1-Ацетилпропандиол-(1,3) аналогично может быть использован в качестве мостиковой группы и затем получают деоксикардиолипины аналогично с другими терминальными диолами, такими как гликоль, (1,4)-бутандиол и др. Эти соединения менее интересны согласно концепции изобретения, где предполагается использовать фосфатидильные производные предпочтительно естественного происхождения.

Пример 6. Получение стратегически важных триэфира фосфорной кислоты путем последовательного взаимодействия POCl_3 с тремя различными первичными спиртами.

Получение триэфиров фосфорной кислоты с определенным специфическим положением, в которых ясно выражена конфигурация, было интенсивно исследовано (в связи с этим см. публикации 1-10).

1) Eibl H. Synthesis of glycerophospholipids (Синтез глицерофосфолипидов). *Chem. Phys. Lipids*. 1980 Jun; 26(4): 405-29.

2) Eibl H. Phospholipid synthesis. In: *Liposomes: From physical structure to therapeutic applications*. (Синтез фосфолипидов. В книге Липосомы: от физической структуры к терапевтическому применению). Ред. Knight C.G., Elsevier, Amsterdam 1981; 19-50.

3) Eibl H., Kovatchev S. Preparation of phospholipids and their analogs by phospholipase D. (Получение фосфолипидов и их аналогов с помощью фосфолипазы D). *Methods Enzymol*. Ред. Lowenstein J. M. 1981; 72: 632-9. Academic Press, New York.

4) Eibl H. Phospholipide als funktionelle Bausteine biologischer Membranen (Фосфолипиды как функциональная основа биологических мембран). *Angew. Chem*. 1984 (259): 9188-9198.

5) Eibl H. Phospholipids as functional constituents of biomembranes (Фосфолипиды как функциональные компоненты биологических мембран). *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*. 1984; (23) 257-271.

6) Eibl H. Phospholipid synthesis: Oxazaphospholanes and dioxaphospholanes as intermediates (Фосфолипидный синтез: Оксазафосфоланы и диоксафосфоланы в качестве промежуточных соединений). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1978; 75: 4074-77.

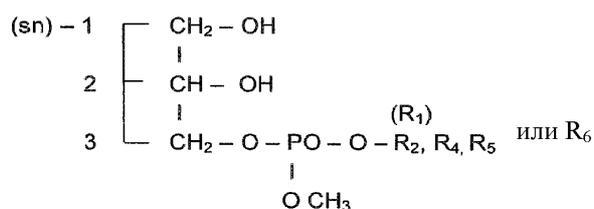
7) Eibl H., Woolley P. Synthesis of enantiomerically pure glyceryl esters and ethers. I. Methods employing the precursor 1,2-isopropylidene-sn-glycerol (Синтез энантиомерно чистых эфиров глицерила и простых эфиров. I. Методы использования предшественника 1,2-изопропилиден-sn-глицерина). *Chem. Phys. Lipids* 1986 (41): 53-63.

8) Eibl H., Woolley P. Synthesis of enantiomerically pure glyceryl esters and ethers. II. Methods employing the precursor 3,4-isopropylidene-D-mannitol. (Синтез энантиомерно чистых эфиров глицерила и простых эфиров. II. Методы использования предшественника 1,2-изопропилиден-D-маннитола). *Chem. Phys. Lipids*. 1988 (47): 47-53.

9) Eibl H., Woolley P. A general synthetic method for enantiomerically pure ester and ether lysophospholipids. (Общий способ синтеза энантиомерно чистых эфиров и простых эфиров лизофосфолипидов). *Chem. Phys. Lipid* 1988 (47): 63-68.

10) Woolley P., Eibl H. Synthesis of enantiomerically pure phospholipids including phosphatidylserine and phosphatidylglycerol (Синтез энантиомерно чистых фосфолипидов, включая фосфатидилсерин и фосфатидилглицерин). *Chem Phys Lipids* 1988 (47): 55-62.

Из описанных здесь структурных звеньев можно приготовить различные фосфатидилолигоглицерины и, соответственно, фосфатидилглицерогликоли. Особенно важно, что функциональные группы жирной кислоты получаются только в конце синтеза из центрального промежуточного соединения, другими словами, в отличие от известных синтезов функциональные группы жирной кислоты не вводятся до конца синтеза. Это возможно за счет получения центрального промежуточного соединения, имеющего две vicinalные гидроксильные группы, например



В заявке на патент Германии № 19605833.3 от 16 февраля 1996 (автор: Н. Eibl; патентообладатель: Max-Planck-Gesellschaft) обсуждаются и точно описаны условия ступенчатой этерификации оксихлорида фосфора с использованием первичных спиртов. В отличие от известных способов, в которых 1,2-диацилглицерин, например 1,2-дипальмитоилглицерин, используется на первой стадии (проблема: миграция жирной кислоты в ходе взаимодействия или в течение хранения 1,2-дипальмитоилглицерина, который необходимо отдельно приготовить заранее), этот синтез начинается с (sn)-1,2-изопропилиденглицерина, имеющего свободное sn-3 положение, который может быть получен в промышленности. Это исключает сложный, отдельный синтез 1,2-диацилглицерина, например 1,2-дипальмитоилглицерина, и указанные выше проблемы, связанные с этим синтезом.

Учитывая эти трудности работы с 1,2-дипальмитоилглицерином на первой стадии фосфорилирования, синтез проводят по-другому. Цель состоит во введении эфиров жирной кислоты только в конце синтеза с помощью свободного vicинального диола. Предпочтительной является следующая последовательность стадий синтеза:

P₁ - первая стадия фосфорилирования оксихлоридом фосфора.

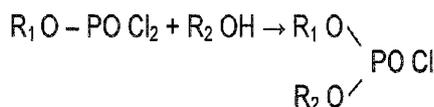
R₁OH - (sn)-1,2-изопропилиденглицерин (свободное sn-3 положение),

POCl₃ + R₁OH → R₁O - POCl₂;

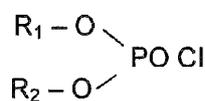
P₂ - вторая стадия фосфорилирования с использованием R₁O - POCl₂.

R₂OH или соответствующие спирты, имеющие свободное sn-1 положение,

R₃OH; R₄OH; R₅OH; R₆OH

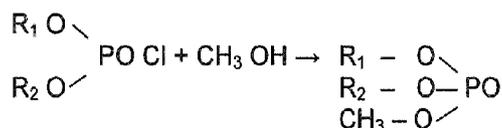


P₃ - третья стадия фосфорилирования



реагентом

Метанолиз с помощью CH₃OH



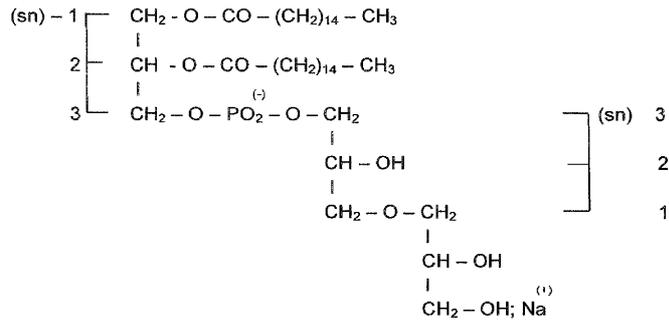
Кроме того, после фосфорилирования с использованием бензилзащищенных глицеринов диэфиры фосфорной кислоты непосредственно не гидролизуются, а превращаются в триэфиры фосфорной кислоты путем метанолиза. Затем освобождение vicинального диола можно осуществить путем кислотного отщепления изопропилиденовой защитной группы. Затем ацилирование гидроксильных групп проводится с использованием известных способов (хлоридом жирной кислоты, например хлоридом пальмитиновой кислоты, или также свободной жирной кислотой).

Затем целевые продукты получают путем каталитического гидрогенолиза на Pd/C с последующим отщеплением метильной группы с использованием бромистого лития.

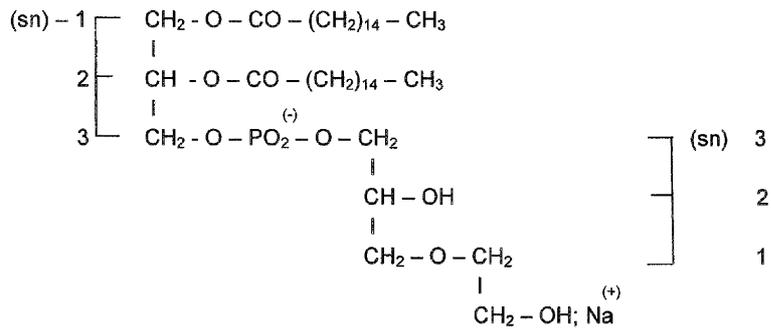
В качестве примера некоторые целевые продукты будут показаны графическими формулами, например, как дипальмитоиловые эфиры.

Фосфатидилдиглицерины и их аналоги.

Фосфатидилдиглицерины и фосфатидилтриглицерины были получены из фосфатидилглицерина, мембранного фосфолипида естественного происхождения. Неожиданно, что введение дополнительной глицериновой функциональной группы, которая присоединяется эфирным мостиком к фосфатидилглицерину, приводит к особым свойствам. Время циркуляции в крови липосом, содержащих фосфолипид, изменяется и существенно удлиняется.



(sn)-1,2-Дипальмитоил-глицеро-3-фосфо-sn-1-глицеро-глицерин, натриевая соль

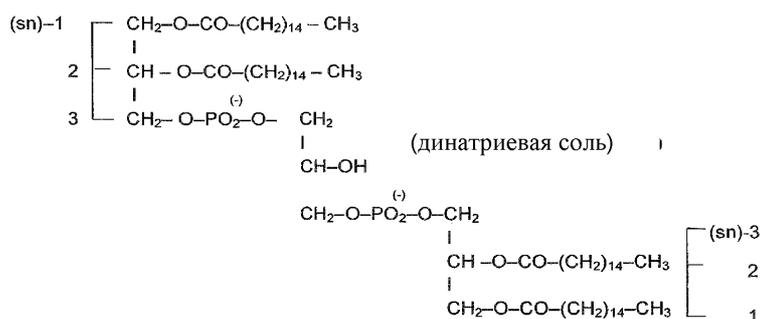


(sn)-1,2-Дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфо-глицерогликоль, натриевая соль

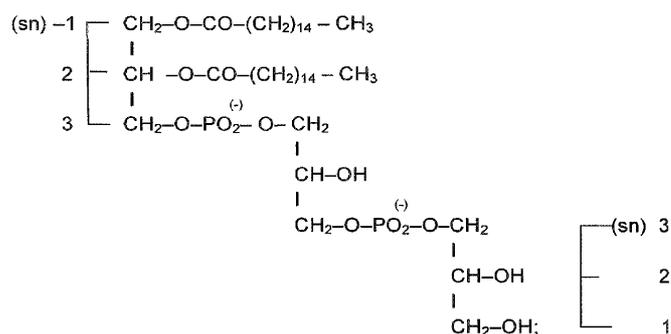
Кардиолипины и их структурные аналоги.

Кардиолипины и их аналоги, которые также находятся в естественных мембранах, к тому же обладают свойствами, которые изменяют время циркуляции, причем время циркуляции липосом в крови увеличивается.

Кроме того, с использованием структурных звеньев, разработанных в изобретении, возможно приготовление кардиолипинов со смешанными цепочками, другими словами, например, также получают структуры, имеющие только три функциональные группы жирной кислоты.



(Тетрапальмитоил)-кардиолипин



динатриевая соль

(sn)-1,2-Дипальмитоил-3-глицерофосфоглицеро-(sn)-3-фосфоглицерин, динатриевая соль.

7. Примеры (sn)-1,2-диацил-3-глицерофосфо-(sn)-1-диглицерина.

1) Дипальмитоиловое соединение, натриевая соль; $C_{41}H_{80}NaO_{12}P$ (молекулярная масса 819,04).2) Димиристоиловое соединение, натриевая соль; $C_{37}H_{72}NaO_{12}P$ (молекулярная масса 762,93).3) Дистеароиловое соединение, натриевая соль; $C_{45}H_{88}NaO_{12}P$ (молекулярная масса 875,14).4) 1-Пальмитоил-2-лауроиловое соединение, натриевая соль; $C_{37}H_{72}NaO_{12}P$ (молекулярная масса 762,93).5) 1-Стеароил-2-лауроиловое соединение, натриевая соль; $C_{39}H_{76}NaO_{12}P$ (молекулярная масса 790,98).6) 1-Стеароил-2-миристоиловое соединение, натриевая соль; $C_{41}H_{80}NaO_{12}P$ (молекулярная масса 819,04).7) 1-Стеароил-2-пальмитоиловое соединение, натриевая соль; $C_{43}H_{84}NaO_{12}P$ (молекулярная масса 847,09).

8. Примеры (sn)-1,2-диацил-3-глицерофосфо-(sn)-1-глицерогликоля.

1) Дипальмитоиловое соединение, натриевая соль; $C_{40}H_{80}NaO_{12}P$ (молекулярная масса 789,04).2) Дистеароиловое соединение, натриевая соль; $C_{44}H_{86}NaO_{12}P$ (молекулярная масса 845,14).3) 1-Стеароил-2-миристоиловое соединение, натриевая соль; $C_{40}H_{78}NaO_{12}P$ (молекулярная масса 789,04).4) 1-Стеароил-2-пальмитоиловое соединение, натриевая соль; $C_{42}H_{82}NaO_{12}P$ (молекулярная масса 817,09).

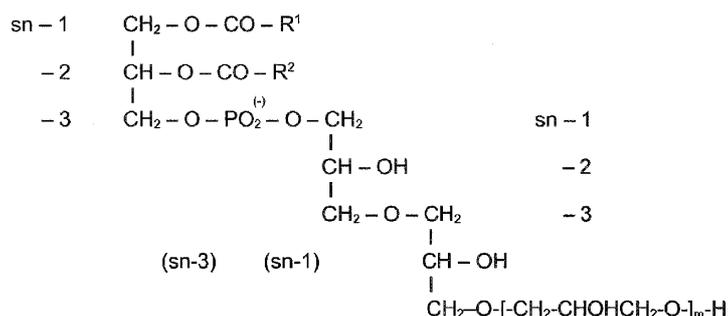
9. Примеры (sn)-1,2-диацил-3-глицерофосфо-(sn)-1-диглицерогликоля.

1) Дипальмитоиловое соединение, натриевая соль; $C_{43}H_{84}NaO_{12}P$ (молекулярная масса 863,12).2) Дистеароиловое соединение, натриевая соль; $C_{47}H_{90}NaO_{12}P$ (молекулярная масса 919,22).

10. Примеры (sn)-1,2-диацил-3-глицерофосфо-(sn)-1-триглицерина.

1) Дипальмитоиловое соединение, натриевая соль; $C_{44}H_{86}NaO_{12}P$ (молекулярная масса 893,12).2) Дистеароиловое соединение, натриевая соль; $C_{48}H_{92}NaO_{12}P$ (молекулярная масса 949,22).

Параграф 1. Чувствительная к раздражителям липосома для локорегионарной терапии, содержащая активный компонент, отличающаяся тем, что указанная липосома содержит по меньшей мере один фосфатидилолигоглицерин формулы (IIa)



где каждый радикал R^1 и R^2 независимо означает углеводородную функциональную группу, имеющую от 12 до 24 атомов углерода, и m означает целое число от 0 до 50, где связывание между глицеридом и фосфатной группой является стереоспецифическим и находится в форме sn-3 связи, а связывание фосфатной группы с олигоглицерином является стереоспецифическим и находится в виде sn-1 связи.

Параграф 2. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома согласно параграфу 1, отличающаяся тем, что указанная липосома представляет собой термочувствительную липосому.

Параграф 3. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно параграфу 1 или 2, отличающаяся тем, что указанная липосома содержит:

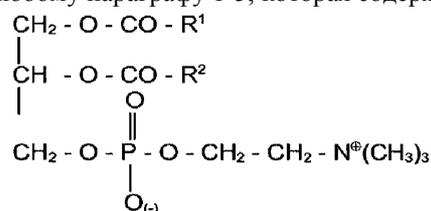
(i) по меньшей мере один фосфатидилхолин, имеющий температуру основного фазового перехода от 0 до 80°C , и

(ii) по меньшей мере один фосфатидилолигоглицерин, и/или по меньшей мере один фосфатидилглицерогликоль, и/или по меньшей мере один кардиолипин.

Параграф 4. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому параграфу 1-3, отличающаяся тем, что радикалы R^1 и R^2 независимо друг от друга представляют собой линейную насыщенную C_{12} - C_{24} -алкильную функциональную группу и n означает 2 или 3 или m означает 0 или 1.

Параграф 5. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому параграфу 1-4, отличающаяся тем, что указанная липосома содержит по меньшей мере один фосфатидилдиглицерин и/или по меньшей мере один фосфатидилтриглицерин.

Параграф 6. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому параграфу 1-5, которая содержит фосфатидилхолин формулы (I)



где каждый радикал R^1 и R^2 независимо означает углеводородную функциональную группу, имеющую от 12 до 24 атомов углерода.

Параграф 7. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому из предшествующих параграфов, отличающаяся тем, что указанная липосома содержит по меньшей мере один фосфатидилхолин, выбранный из группы, состоящей из 1-пальмитоил-2-олеоилглицеро-3-фосфохолина, 1-стеароил-2-олеоил-3-фосфохолина, 1-пальмитоил-2-лауроилглицеро-3-фосфохолина, 1-бегеноил-2-олеоилглицеро-3-фосфохолина, 1-стеароил-2-лауроилглицеро-3-фосфохолина, 1,3-димиристоилглицеро-2-фосфохолина, 1,2-димиристоилглицеро-3-фосфохолина, 1-пальмитоил-2-миристоилглицеро-3-фосфохолина, 1-стеароил-2-миристоилглицеро-3-фосфохолина, 1-миристоил-2-пальмитоилглицеро-3-фосфохолина, 1,3-пальмитоилглицеро-2-фосфохолина, 1,2-дипальмитоилглицеро-3-фосфохолина, 1-миристоил-2-стеароилглицеро-3-фосфохолина, 1-стеароил-3-миристоилглицеро-2-фосфохолина, 1-стеароил-2-пальмитоилглицеро-3-фосфохолина, 1-пальмитоил-3-стеароилглицеро-2-фосфохолина, 1,3-дистеароилглицеро-2-фосфохолина, 1,2-дистеароилглицеро-3-фосфохолина, 1,2-дидигноцероилглицеро-3-фосфохолина и 1,2-дидигноцероилглицеро-3-фосфохолина.

Параграф 8. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому из предшествующих параграфов, отличающаяся тем, что указанная липосома содержит по меньшей мере один фосфатидилхолин, имеющий температуру основного фазового перехода в диапазоне от 35 до 42°C или в диапазоне от 40 до 43°C .

Параграф 9. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно параграфу 7 или 9, отличающаяся тем, что указанная липосома содержит:

жит по меньшей мере один фосфатидилхолин, выбранный из 1,3-дипальмитоилфосфатидилхолина и 1,2-дипальмитоилфосфатидилхолина.

Параграф 10. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому из предшествующих параграфов, отличающаяся тем, что не содержит холестерина.

Параграф 11. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому из предшествующих параграфов для применения при лечении опухолей.

Параграф 12. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, по параграфу 11 для применения при лечении саркомы мягких тканей, остеосаркомы, карциномы мочевого пузыря (инвазивный рак мышц мочевого пузыря [MIBC] и неинвазивный рак мышц мочевого пузыря [NMIBC]), яичниковой карциномы, желудочной карциномы, карциномы молочной железы (особенно тройной негативный рак молочной железы [TNBC]), гепатоцеллюлярной карциномы, карциномы матки, карциномы щитовидной железы, опухоли головы и шеи, карциномы предстательной железы, хордомы, десмоидной опухоли, глиобластомы и других опухолевых заболеваний, имеющих предпочтительно локорегионарное распространение.

Параграф 13. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому параграфу 11 или 12 для применения при лечении опухолей мочевого пузыря.

Параграф 14. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому параграфу 11-13, дополнительно содержащая активный компонент, в частности, выбранный из антрациклинов (например, доксорубин, эпирубин), оксазафосфоринов (например, гидроксифосфамид), платиновых аналогов (цисплатина, оксалиплатина, карбоплатина), гемцитабина, 5-фторурацила, паклитаксела, доцетаксела, этопозида, топотекана, винкристина, иринотекана, метотрексата, блеомицина, ингибиторов тирозинкиназы, небольших молекул, терапевтических агентов ДНК, радиосенсибилизаторов (в сочетании с радиотерапией).

Параграф 15. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому параграфу 1-10 для применения при лечении инфекционных заболеваний.

Параграф 16. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно параграфу 15, отличающаяся тем, что инфекционное заболевание вызвано бактериями, вирусами, грибами и/или паразитами.

Параграф 17. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому параграфу 15 или 16 для лечения инфекций медицинских имплантатов, в частности ортопедических протезов, для лечения локализованных инфекций, особенно инфекций глубокой мягкой ткани и/или кости, и/или для терапии устойчивых ко многим препаратам патогенных микроорганизмов.

Параграф 18. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому параграфу 15-17, дополнительно содержащая активный компонент, особенно выбранный из антибиотиков, виростатических препаратов, фунгицидов и медицинских препаратов, обладающих противопаразитарным эффектом.

Параграф 19. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому параграфу 15-18, отличающаяся тем, что активный компонент выбирают из антибиотиков, в частности β-лактамов, гликопептидов, поликетидов, аминокликозидных антибиотиков, полипептидных антибиотиков, хинолонов, сульфаниламидных препаратов (например, линезолид, флуклосацилин, цефазолин, клиндамицин, ванкомицин, тейкопланин, рифампицин, ампициллин, цефтазидим, цефтриаксон, цефепим, пиперацилин, флуорохинолоны, метронидазол, амикацин и др.), и/или виростатических препаратов, в частности ингибиторов входа, ингибиторов проникновения, ингибиторов ДНК полимеразы, ингибиторов ДНК/РНК полимеразы, ингибиторов обратной транскриптазы, ингибиторов инозинмонофосфатной дегидрогеназы, ингибиторов протеазы, ингибиторов интегразы, ингибиторов геликазы-примазы, ингибиторов циклофилина, ингибиторов созревания, ингибиторов терминазы, ингибиторов нейраминидазы и др., и/или фунгицидов, особенно азолов (бензимидазолов (МВС), триазолов, имидазолов), морфолинов, стробилуринов, хинолинов, анилопиримидинов, оксазолидиндионов-, амидов карбоновых кислот и др.

Параграф 20. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому параграфу 1-10 для применения при лечении глазных заболеваний.

Параграф 21. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно параграфу 20 для лечения воспалительных, дегенеративных, инфекционных и/или неопластических заболеваний глаз, нарушений заживления ран и/или глаукомы.

Параграф 22. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому параграфу 1-10 для применения при лечении аутоиммунных

заболеваний.

Параграф 23. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно параграфу 22 для применения при лечении ревматоидного артрита и/или хронических воспалительных заболеваний кишечника.

Параграф 24. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому параграфу 22 или 23, которая дополнительно содержит активный компонент, особенно стероид, TNF- α и/или иммунодепрессанты.

Параграф 25. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому параграфу 1-10 для применения при диагностике.

Параграф 26. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно параграфу 25 для бесконтактного измерения температуры с использованием MR контрастных веществ и MR-визуализации.

Параграф 27. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому параграфу 25 или 26, которая дополнительно содержит активный компонент, особенно контрастное вещество для компьютерной томографии или MRT, предпочтительно выбранный из йодосодержащих контрастных веществ или хелатов гадолиния.

Параграф 28. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому параграфу 1-10 для применения при лечении дегенеративных заболеваний.

Параграф 29. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно параграфу 28 для локализованного высвобождения противовоспалительных агентов, болеутоляющих средств и/или средств предохранения хрящевой ткани.

Параграф 30. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому параграфу 1-10 для применения при лечении синдромов слабости, болезни Альцгеймера и/или фокальных неврологических психиатрических заболеваний, в частности эпилепсии.

Параграф 31. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому параграфу 1-10 для применения при лечении атеросклероза.

Параграф 32. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому параграфу 1-10 для применения при лечении тромбозов.

Параграф 33. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно параграфу 32, которая дополнительно содержит по меньшей мере один активный компонент, особенно выбранный из фибринолитических агентов, предпочтительно стрептокиназы, урокиназы и/или алтеплазы.

Параграф 34. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома согласно любому из предшествующих параграфов, где чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома изменяется и, в частности, открывается под действием раздражителя с целью высвобождения из нанотранспортной липосомы активного компонента, который может находиться в ней.

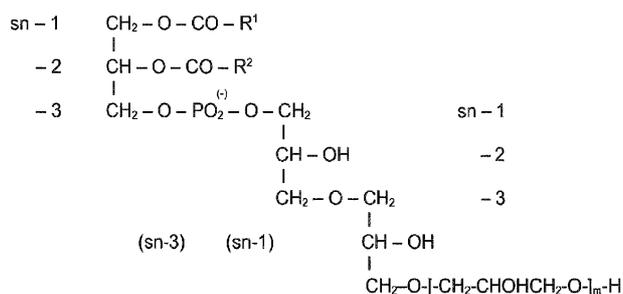
Параграф 35. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома согласно параграфу 33, где раздражитель выбирают из радиочастоты (например, системы излучательной поверхности и глубокого перегрева организма, системы перегрева мочевого пузыря), ультразвука (например, сильно сфокусированный ультразвук [сфокусированный ультразвук высокой интенсивности, HIFU], ультразвук низкой интенсивности [сфокусированный ультразвук низкой интенсивности, LIFU]), света, лазерного источника, проводимости с помощью нагретой жидкости, других физических принципов, которые или приводят к локорегионарному нагреванию, и/или могут нарушать устойчивость мембран, содержащих фосфолипиды.

Параграф 36. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому из предшествующих параграфов 11-13, отличающаяся тем, что указанная липосома дополнительно содержит цитостатический препарат.

Параграф 37. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно параграфу 36, отличающаяся тем, что цитостатический препарат выбирают из группы, состоящей из митомицина С, доксорубицина, эпирубицина, гемцитабина, трабектедина, цисплатины, карбоплатины и оксалиплатины.

Параграф 38. Чувствительная к раздражителям нанотранспортная липосома, в частности термочувствительная липосома, согласно любому из предшествующих параграфов в сочетании с перегреванием организма и/или ультразвуком.

Параграф 39. Стереоспецифический фосфатидилолигоглицерин формулы (IIa)



Конфигурация: естественная.

Название: 1,2-диацил-sn-3-глицерофосфо-sn-1-олигоглицерин;

sn, стереоспецифическая нумерация;

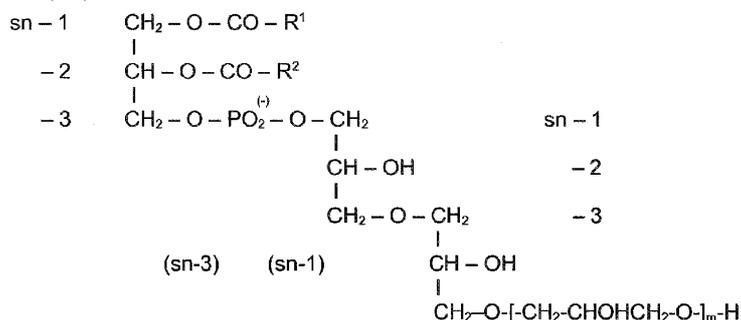
в котором каждый радикал R^1 и R^2 независимо означает углеводородную функциональную группу, имеющую от 12 до 24 атомов углерода, m означает целое число от 0 до 50, где связывание между глицеридом и фосфатной группой является стереоспецифическим и находится в форме sn-3 связи, и связывание фосфатной группы с олигоглицерином является стереоспецифическим и находится в виде sn-1 связи.

Параграф 40. Чувствительная к раздражителям липосома, которая содержит стереоспецифический фосфатидилолигоглицерин формулы (IIa) согласно параграфу 39 для применения при лечении опухолей мочевого пузыря.

Параграф 41. Чувствительная к раздражителям липосома согласно параграфу 40, которая дополнительно содержит фосфатидилхолин формулы (I), имеющая температуру основного фазового перехода от 35 до 40°C, особенно от 40 до 43°C.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Чувствительная к раздражителям липосома для локорегионарной терапии, содержащая активный компонент, отличающаяся тем, что указанная липосома содержит по меньшей мере один фосфатидилолигоглицерин формулы (IIa)



где каждый радикал R^1 и R^2 независимо означает углеводородную функциональную группу, имеющую от 12 до 24 атомов углерода, и m означает целое число от 0 до 50, где связывание между глицеридом и фосфатной группой является стереоспецифическим и находится в форме sn-3 связи, а связывание фосфатной группы с олигоглицерином является стереоспецифическим и находится в виде sn-1 связи.

2. Чувствительная к раздражителям липосома по п.1, отличающаяся тем, что указанная липосома является термочувствительной.

3. Чувствительная к раздражителям липосома по п.1 или 2, отличающаяся тем, что указанная липосома содержит:

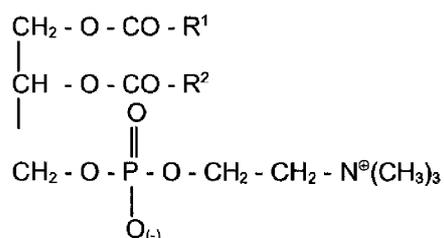
(i) по меньшей мере один фосфатидилхолин, имеющий температуру основного фазового перехода от 0 до 80°C, и

(ii) по меньшей мере один фосфатидилолигоглицерин.

4. Чувствительная к раздражителям липосома по любому из пп.1-3, отличающаяся тем, что R^1 и R^2 независимо друг от друга представляют собой линейную насыщенную $C_{12}-C_{24}$ -алкильную функциональную группу, n означает 2 или 3 или m представляет собой 0 или 1.

5. Чувствительная к раздражителям липосома по любому из пп.1-4, отличающаяся тем, что указанная липосома содержит по меньшей мере один фосфатидилдиглицерин и/или по меньшей мере один фосфатидилтриглицерин.

6. Чувствительная к раздражителям липосома по любому из пп.1-5, которая содержит фосфатидилхолин формулы (I)



где каждый радикал R^1 и R^2 независимо означает углеводородную функциональную группу, имеющую от 12 до 24 атомов углерода.

7. Чувствительная к раздражителям липосома по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная липосома содержит по меньшей мере один фосфатидилхолин, выбранный из группы, состоящей из 1-пальмитоил-2-олеоилглицеро-3-фосфохолина, 1-стеароил-2-олеоил-3-фосфохолина, 1-пальмитоил-2-лауроилглицеро-3-фосфохолина, 1-бегеноил-2-олеоилглицеро-3-фосфохолина, 1-стеароил-2-лауроилглицеро-3-фосфохолина, 1,3-димиристоилглицеро-2-фосфохолина, 1,2-димиристоилглицеро-3-фосфохолина, 1-пальмитоил-2-миристоилглицеро-3-фосфохолина, 1-стеароил-2-миристоилглицеро-3-фосфохолина, 1-миристоил-2-пальмитоилглицеро-3-фосфохолина, 1,3-пальмитоилглицеро-2-фосфохолина, 1,2-дипальмитоилглицеро-3-фосфохолина, 1-миристоил-2-стеароилглицеро-3-фосфохолина, 1-стеароил-3-миристоилглицеро-2-фосфохолина, 1-стеароил-2-пальмитоилглицеро-3-фосфохолина, 1-пальмитоил-2-стеароилглицеро-3-фосфохолина, 1,3-дистеароилглицеро-2-фосфохолина, 1,2-дистеароилглицеро-3-фосфохолина, 1,2-диарахиноилглицеро-3-фосфохолина, 1,2-дибегеноилглицеро-3-фосфохолина и 1,2-дилигноцероилглицеро-3-фосфохолина.

8. Чувствительная к раздражителям липосома по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная липосома содержит по меньшей мере один фосфатидилхолин, имеющий температуру основного фазового перехода в диапазоне от 35 до 42°C или в диапазоне от 40 до 43°C.

9. Чувствительная к раздражителям липосома по п.7 или 8, отличающаяся тем, что указанная липосома содержит по меньшей мере один фосфатидилхолин, выбранный из 1,3-дипальмитоилфосфатидилхолина и 1,2-дипальмитоилфосфатидилхолина.

10. Чувствительная к раздражителям липосома по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что она не содержит холестерина.

11. Чувствительная к раздражителям липосома по любому из предшествующих пунктов для использования в лечении опухолей.

12. Чувствительная к раздражителям липосома по любому из предшествующих пунктов для использования в лечении саркомы мягких тканей, остеосаркомы, карциномы мочевого пузыря, яичниковой карциномы, желудочной карциномы, карциномы молочной железы, гепатоцеллюлярной карциномы, карциномы матки, карциномы щитовидной железы, опухоли головы и шеи, карциномы предстательной железы, хордомы, десмоидной опухоли, глиобластомы и/или других опухолевых заболеваний, предпочтительно имеющих локорегионарное распространение.

13. Чувствительная к раздражителям липосома по любому из предшествующих пунктов для использования в лечении опухолей мочевого пузыря.

14. Чувствительная к раздражителям липосома по любому из пп.11-13, которая содержит активный компонент, выбранный из антрациклинов, оксазафосфоринов, платиновых аналогов, гемцитабина, 5-фторурацила, паклитаксела, доцетаксела, этопозиды, топотекана, винкристина, иринотекана, метотрексата, блеомицина, ингибиторов тирозинкиназы, небольших молекул, терапевтических агентов ДНК и радиосенсибилизаторов, или которая дополнительно содержит цитостатический препарат, в частности, выбранный из группы, состоящей из митомицина С, доксорубина, эпирубина, гемцитабина, трабектедина, цисплатина, карбоплатина и оксалиплатина.

15. Чувствительная к раздражителям липосома по любому из пп.1-10 для использования в лечении инфекционных заболеваний.

16. Чувствительная к раздражителям липосома по п.15, отличающаяся тем, что инфекционное заболевание вызвано бактериями, вирусами, грибами и/или паразитами.

17. Чувствительная к раздражителям липосома по любому из пп.15 или 16 для лечения инфекций медицинских имплантатов, для лечения локализованных инфекций и/или для терапии устойчивых ко многим препаратам патогенных микроорганизмов.

18. Чувствительная к раздражителям липосома по любому из пп.15-17, которая содержит активный компонент, выбранный из антибиотиков, виростатических препаратов, фунгицидов и медицинских препаратов, обладающих противопаразитарным эффектом.

19. Чувствительная к раздражителям липосома по любому из пп.15-18, отличающаяся тем, что активный компонент выбирают из антибиотиков, таких как β -лактамы, гликопептиды, поликетиды, аминогликозидные антибиотики, полипептидные антибиотики, хинолоны, сульфаниламидные препараты, и/или виростатических препаратов, таких как ингибиторы входа, ингибиторы проникновения, ингибиторы ДНК полимеразы, ингибиторы ДНК/РНК полимеразы, ингибиторы обратной транскриптазы, ингиби-

торы инозинмонофосфатной дегидрогеназы, ингибиторы протеазы, ингибиторы интегразы, ингибиторы геликазы-примазы, ингибиторы циклофилина, ингибиторы созревания, ингибиторы терминазы, ингибиторы нейраминидазы и др., и/или фунгицидов, особенно азолов, морфолинов, стробилуринов, хинолинов, анилинопиримидинов, оксазолидиндионов, амидов карбоновых кислот.

20. Чувствительная к раздражителям липосома по любому из пп.1-10 для использования в лечении глазных заболеваний.

21. Чувствительная к раздражителям липосома по п.20 для лечения воспалительных, дегенеративных, инфекционных и/или неопластических заболеваний глаз, нарушений заживления ран и/или глаукомы.

22. Чувствительная к раздражителям липосома по любому из пп.1-10 для использования в лечении аутоиммунных заболеваний.

23. Чувствительная к раздражителям липосома по п.22 для использования в лечении ревматоидного артрита и/или хронических воспалительных заболеваний кишечника.

24. Чувствительная к раздражителям липосома по п.22 или 23, которая содержит стероид, TNF- α и/или иммунодепрессанты.

25. Применение чувствительной к раздражителям липосомы по любому из пп.1-10 в качестве средства для диагностики.

26. Применение по п.25 для бесконтактного измерения температуры с использованием MR контрастных веществ и MR-визуализации.

27. Применение по любому из пп.25 или 26, при котором чувствительная к раздражителям липосома в качестве активного компонента содержит контрастное вещество для компьютерной томографии или MRT, предпочтительно выбранное из йодсодержащих контрастных веществ или хелатов гадолиния.

28. Чувствительная к раздражителям липосома по любому из пп.1-10 для использования в лечении дегенеративных заболеваний.

29. Чувствительная к раздражителям липосома по п.28 для локализованного высвобождения противовоспалительных агентов, болеутоляющих средств и/или средств предохранения хрящевой ткани.

30. Чувствительная к раздражителям липосома по любому из пп.1-10 для использования в лечении синдромов слабоумия, болезни Альцгеймера и/или фокальных неврологических психиатрических заболеваний, особенно эпилепсии.

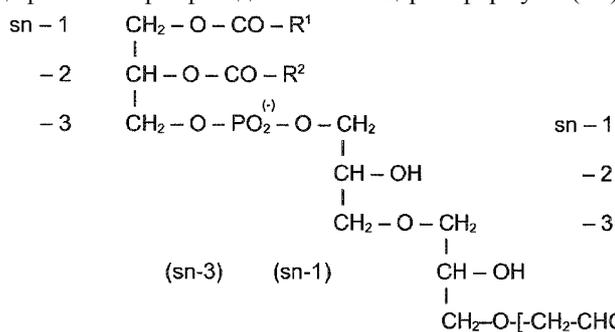
31. Чувствительная к раздражителям липосома по любому из пп.1-10 для использования в лечении атеросклероза.

32. Чувствительная к раздражителям липосома по любому из пп.1-10 для использования в лечении тромбозов.

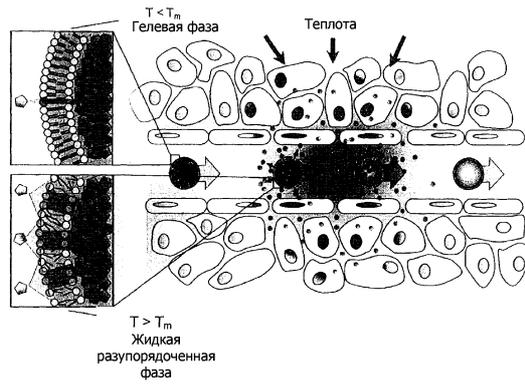
33. Чувствительная к раздражителям липосома по п.32, которая содержит по меньшей мере один активный компонент, выбранный из фибринолитических агентов, предпочтительно стрептокиназы, урокиназы и/или алтеплазы.

34. Применение чувствительной к раздражителям липосомы по любому из пп.1-24, 28-33 в комбинации с перегревом организма и/или ультразвуком для локорегионарной терапии.

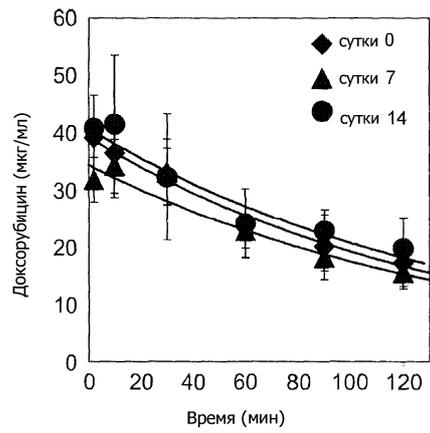
35. Стереоспецифический фосфатидилолигоглицерин формулы (IIa)



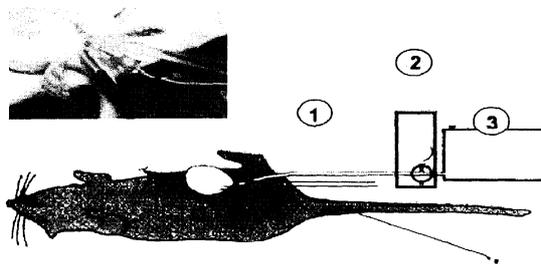
где каждый радикал R^1 и R^2 независимо означает углеводородную функциональную группу, имеющую от 12 до 24 атомов углерода, и m означает целое число от 0 до 50, где связывание между глицеридом и фосфатной группой является стереоспецифическим и находится в форме sn-3 связи, а связывание фосфатной группы с олигоглицерином является стереоспецифическим и находится в виде sn-1 связи.



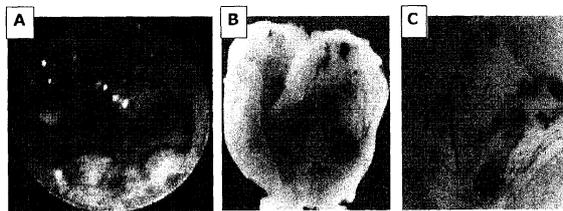
Фиг. 1



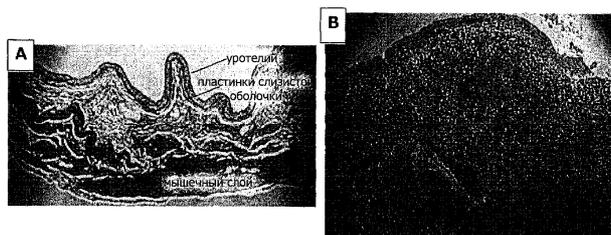
Фиг. 2



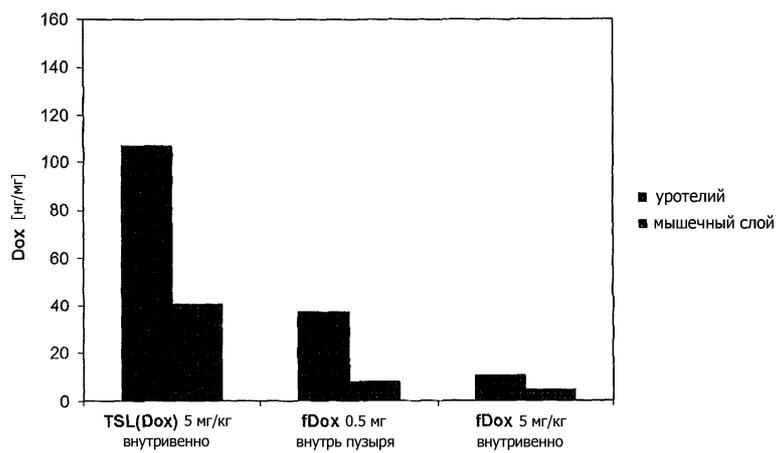
Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6

