

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202092637** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки  
2021.02.12

(51) Int. Cl. *A61K 31/01* (2006.01)  
*A61K 47/22* (2006.01)  
*A61K 47/24* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2019.05.03

---

(54) **КОМПОЗИЦИИ КАРОТИНОИДОВ И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

---

(31) 62/666,699; 62/809,123

(32) 2018.05.03; 2019.02.22

(33) US

(86) PCT/US2019/030625

(87) WO 2019/213538 2019.11.07

(71) Заявитель:  
ЭЛ.И.ЭЙ.ЭФ. ХОЛДИНГС ГРУП  
ЭЛЭЛСИ (US)

(72) Изобретатель:

Нийкиза Клет, Мойо Виктор  
Мандла, Генг Болин, Сюй Чженхун,  
Халифа Каниз, Ким Гвансон (US)

(74) Представитель:

Харин А.В., Стойко Г.В., Буре Н.Н.  
(RU)

---

(57) В данном документе предложены фармацевтические композиции, содержащие каротиноиды, включающие липосомы, которые инкапсулируют каротиноиды, включающие ионизируемые каротиноиды, такие как транс-кроцетин. Предложенные композиции находят применения в лечении заболеваний, нарушений и состояний, связанных, но не ограничиваясь ими, с такими как инфекция, эндотоксемия, воспаление, сепсис, ишемия, гипоксия, шок, инсульт, повреждение легких, заживление ран, травматическое повреждение, реперфузионное повреждение, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание почек, заболевание печени, воспалительное заболевание, метаболическое заболевание, нарушения легких, связанные с кровью нарушения и гиперпролиферативные заболевания, такие как рак. Также предложены способы изготовления, доставки и применения указанных фармацевтических композиций.

**A1**

**202092637**

**202092637**

**A1**

## КОМПОЗИЦИИ КАРОТИНОИДОВ И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] В данной заявке заявлен приоритет предварительных заявок на патент США № 62/666699, поданной 3 мая 2018, и 62/809123, поданной 22 февраля 2019, содержание каждой включено в данный документ в полном объеме.

### УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0002] В нормальных условиях, бактерии и связанные с ними токсины (эндотоксикоз) обычно не должны находиться в крови здоровых людей. Однако, существует все большее признание того, что бактерии все-таки попадают в кровоток при определенных условиях из таких источников, как кишки (синдром негерметичности кишечника) или граница зуба и десен (в основном у пациентов с плохим состоянием здоровья десен). Последствия данного процесса, известного как бактериальная транслокация, представляют собой состояние хронической бактериемии (бактерий) в потоке крови. Бактериальная транслокация приводит к хронической бактериемии, что генерирует эндотоксины, такие как бактериальные липополисахариды, ЛПС, что приводит к хронической слабо выраженной хронической эндотоксемии и, в результате, хронического воспалительного состояния. Данная слабо выраженная хроническая эндотоксемия связанная с бактериальной транслокацией, была также связана с патогенезом многих заболеваний.

[0003] Более тяжелая форма эндотоксемии связана с сепсисом, угрожающим жизни медицинским состоянием, вызванным дерегулированной воспалительной реакцией хозяина на инфекцию. Сепсис является глобальной проблемой здравоохранения, которая поражает приблизительно 30 миллионов людей во всем мире ежегодно. Уровень смертности от сепсиса у взрослых представляет собой около 40 %. Сепсис возникает, когда попытка организма бороться с инфекцией приводит к повреждению тканей и органов иммунной системой. Данный неконтролируемый ответ, как правило, предназначенный для защиты организма, вызывает распространенное воспаление, негерметичные кровеносные сосуды и нарушенную свертываемость крови, приводящие к повреждению органов. В тяжелых случаях падает кровяное давление с последующими множественными отказами органов, и пациент может быстро умереть от септического шока.

[0004] Управление сепсисом является сложной и нерешенной клинической задачей, требующей раннего обнаружения и управления инфекцией, гемодинамическими проблемами и другими дисфункциями органов. Инфекции,

которыми обусловлен сепсис, подвергают лечению противомикробными агентами, наиболее часто, широким спектром антибактериальных, противовирусных и противогрибковых агентов. Современные принципы лечения для управления гемодинамических проблем, связанных с сепсисом и септическим шоком, рекомендуют использовать вазопрессоры с норадреналином в качестве лечения первой линии.

[0005] Несмотря на данные меры, обсуждаемые выше, сепсис остается основной причиной смерти, и остается большая потребность в новых способах лечения сепсиса и связанных с ним заболеваний. Одно наблюдение состоит в том, что большинство методов лечения, направленного на сепсис, как правило, направлены на лечение инфекции и отдельных отказывающихся органов и систем, а не на лечение ключевых обуславливающих патофизиологических драйверов сепсиса. Альтернативный подход может быть направлен на механизмы, которыми обусловлен сепсис, в дополнение к лечению сопутствующей инфекции.

[0006] Сепсис, наряду со многими другими заболеваниями, связан с кислородным голоданием (гипоксией). Основные причины смерти во всем мире связаны в некоторой степени с гипоксией. Примеры включают, но не ограничиваются ими, заболевания коронарных артерий, инсульт, хронические и острые респираторные заболевания. Кроме того, гипоксия является общей чертой многих видов рака и приводит к устойчивости к лучевой терапии, химиотерапии и потенциально к иммунотерапии. Доклинически, купирование гипоксии при раке было связано с улучшенной реакцией на лечение. Это говорит о том, что стратегии в клинике купирования гипоксии могут привести к улучшению результатов при раке.

[0007] Каротиноиды представляют собой класс природных жирорастворимых пигментов, найденных главным образом в растениях, где они функционируют в качестве вспомогательных пигментов и придают ткани защиту через их способность гасить синглетный кислород и свободные радикалы. Каротиноиды, как известно, обладают антиоксидантными свойствами и, следовательно, обеспечивают многочисленные благоприятные воздействия на здоровье, в том числе, снижение потенциального риска сердечно-сосудистых заболеваний, рака, и замедление и/или обращение дегенеративных эффектов старения различных физиологических процессов человека. Однако, каротиноиды, как правило, являются очень липофильными соединениями, и клиническое применение многих каротиноидов ограничено их нестабильностью и низкой биодоступностью.

[0008] Кроцетин представляет собой каротиноид с антиоксидантными свойствами, плохо растворимый в воде. Химически, кроцетин представляет собой молекулу апокаротиноида с 20 атомами углерода, содержащую семь двойных связей и группу карбоновой кислоты на каждом конце. Сообщалось, что введение фармацевтических составов транс кроцетина (свободной кислоты), и его соли, натрий транс кроцетината, в свободной форме (например, неинкапсулированного) является перспективным в лечении заболеваний, вызванных гипоксией, ишемией, и других заболеваний. Тем не менее, ни одно не продемонстрировало клиническую терапевтическую эффективность. Отчасти это происходит из-за того, что композиции транс кроцетина и его натриевой соли, натрий транс кроцетината, были до настоящего времени, ограничены нестабильностью, низкой биодоступностью и коротким периодом полувыведения.

[0009] С учетом преимуществ для здоровья, предоставляемых каротиноидами и низкой биодоступностью и нестабильностью, описанными выше, существует необходимость в предложении фармацевтических композиций, содержащих каротиноиды с улучшенной биодоступностью и стабильностью. Предложены композиции и способы устранения недостатков каротиноидов, описанных выше. Данные композиции и способы дополнительно помогут преодолеть ограничения текущих терапевтических подходов к болезненным состояниям, связанным с эндотоксемией и гипоксией, а также других нерешенных медицинских потребностей. Данные композиции имеют применение как в качестве отдельных агентов, так и в комбинации с другими видами лечения.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0010] В данном описании предложены фармацевтические композиции, содержащие каротиноиды, включающие липосомы, которые инкапсулируют каротиноиды, такие как транс кроцетин, транс норбиксин и их соли. Предложенные композиции имеют применения в лечении заболеваний, нарушений и состояний, связанных, но не ограничиваясь ими, с такими как инфекция, воспаление, сепсис, ишемия, гипоксия, шок, инсульт, травма, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание почек, заболевание печени, воспалительное заболевание, метаболическое заболевание, заболевание легких, нейродегенеративное заболевание, заболевание иммунной системы и гиперпролиферативные заболевания, такие как рак. Также предложены способы изготовления, доставки и применения фармацевтических композиций, как и наборы, содержащие данные композиции.

[0011] Описанные фармацевтические композиции предназначены для усиленной доставки каротиноидов, включающих ионизируемые полиеновые каротиноиды, такие как транс кроцетин, с плохой фармакокинетикой и биораспределением. В данном описании также предложены композиции липосом, которые показывают высокую эффективность инкапсуляции (>98 %), высокое соотношение лекарственного средства к липиду и/или повышенное удержание лекарственного средства. Предложенные фармацевтические композиции имеют применения в лечении заболеваний, нарушений и состояний, связанных, но не ограничиваясь ими, с такими как инфекция, воспаление, сепсис, ишемия, гипоксия, анемия, рана, травма, инсульт, шок, диабет, заживление ран, повреждение (например, реперфузионное повреждение, повреждение нервов, повреждение почек, повреждение печени и повреждение легких) и гиперпролиферативные заболевания, такие как рак, а также состояния, связанные с лечением данных заболеваний и нарушений (например, анемия, нейтропения и иммуносупрессия). Также предложены способы изготовления, доставки и применение указанных композиций.

[0012] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена:

[1] фармацевтическая композиция, содержащая ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу: Полиеновый Каротиноид-Q, где,

указанный Полиеновый Каротиноид содержит

(a) 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 3-5, 6-8, 9-10 или более 9 сопряженных двойных связей,

(b) замещения метилом или низшим алкилом (C2-C3), и

(c) 1, 2, 3 или более 3 ионизируемых групп; и

Q представляет собой поливалентный противоион;

[2] фармацевтическая композиция, содержащая ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу:

Q-R<sub>1</sub>-Полиеновый Каротиноид-R<sub>2</sub>-Q, где,

указанный Полиеновый Каротиноид содержит

(a) 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 3-5, 6-8, 9-10 или более 9 сопряженных двойных связей,

(b) замещения метилом или низшим алкилом (C2-C3), и

(c) 1, 2, 3 или более 3 ионизируемых групп;

$R_1$  и  $R_2$  представляют собой ионизируемые группы, например, одинаковые ионизируемые группы или различные ионизируемые группы; и

Q представляет собой поливалентный противоион;

[3] фармацевтическая композиция по п. [1] или [2], в которой указанный Полиеновый Каротиноид содержит 1, 2, 3 или более 3 анионных ионизируемых групп;

[4] фармацевтическая композиция по п. [3], в которой указанный Полиеновый Каротиноид содержит по меньшей мере одну анионную ионизируемую группу, выбранную из: карбоксильной группы, сульфонатной группы, сульфатной группы, фосфонатной, фосфатной группы и гидроксаматной группы;

[5] фармацевтическая композиция по п. [1] или [2], в которой указанный Полиеновый Каротиноид содержит 1, 2, 3 или более 3 катионных ионизируемых групп (например, первичную, вторичную или третичную аминогруппу, группу четвертичного аммония, холиновую группу, гуанидиновую группу или имидазоловую группу);

[6] фармацевтическая композиция, содержащая ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу: Q-транс-кроцетин-Q, где,

Q представляет собой поливалентный катионный противоион;

[7] фармацевтическая композиция, содержащая ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу: Q-норбиксин-Q, где,

Q представляет собой поливалентный катионный противоион;

[8] фармацевтическая композиция по любому из пп. [1]-[7], в которой указанный поливалентный противоион (Q) представляет собой поливалентный катион (например, двухвалентный катион, такой как катион двухвалентного металла или двухвалентный органический катион, или трехвалентный катион, такой как  $Fe^{3+}$ );

[9] фармацевтическая композиция по п. [8], в которой указанный поливалентный катион представляет собой по меньшей мере один двухвалентный катион, выбранный из  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  и  $Fe^{2+}$ , двухвалентный органический катион, такой как протонированный диамин, или трехвалентный катион, такой как  $Fe^{3+}$ ;

[10] фармацевтическая композиция по п. [6], которая содержит магний транс-кроцетинат (МТС) или кальций транс-кроцетинат (СТС);

[11] фармацевтическая композиция по п. [7], которая содержит магний транс-норбиксинат (MTN) или кальций транс-норбиксинат (CTN);

[12] средство доставки, содержащее фармацевтическую композицию по любому из пп. [1]-[11];

[13] средство доставки по п. [12], которое представляет собой липосому;

[14] фармацевтическая композиция, содержащая липосому, инкапсулирующую ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу:

Полиеновый Каротиноид-Q, где,

указанный Полиеновый Каротиноид содержит

(a) 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 3-5, 6-8, 9-10 или более 9 сопряженных двойных связей,

(b) замещения метилом или низшим алкилом (C2-C3), и

(c) 1, 2, 3 или более 3 ионизируемых групп; и

Q представляет собой (i) поливалентный противоион или (ii) одновалентный противоион;

[15] фармацевтическая композиция, содержащая липосому, инкапсулирующую ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу:

Q-R<sub>1</sub>-Полиеновый Каротиноид-R<sub>2</sub>-Q, где

указанный Полиеновый Каротиноид содержит

(a) 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 3-5, 6-8, 9-10 или более 9 сопряженных двойных связей,

(b) замещения метилом или низшим алкилом (C2-C3), и

(c) 1, 2, 3 или более 3 ионизируемых групп;

R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> представляют собой ионизируемые группы, например, одинаковые ионизируемые группы или различные ионизируемые группы; и

Q представляет собой (i) поливалентный противоион или (ii) одновалентный противоион;

[16] фармацевтическая композиция по п. [14] или [15], в которой указанный Полиеновый Каротиноид содержит анионные ионизируемые группы;

[17] фармацевтическая композиция по п. [16], в которой указанный Полиеновый Каротиноид содержит по меньшей мере одну анионную ионизируемую группу, выбранную из: карбоксильной группы, сульфонатной

группы, сульфатной группы, фосфонатной, фосфатной группы и гидроксаматной группы;

[18] фармацевтическая композиция по п. [14] или [15], в которой указанный Полиеновый Каротиноид содержит катионные ионизируемые группы (например, первичную, вторичную или третичную аминогруппу, группу четвертичного аммония, холиновую группу, гуанидиновую группу или имидазоловую группу),

[19] фармацевтическая композиция, содержащая липосому, инкапсулирующую ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу:

Q-транс-кроцетин-Q, где,

Q представляет собой (i) поливалентный катионный противоион или (ii) одновалентный катион;

[20] фармацевтическая композиция, содержащая липосому, инкапсулирующую ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу: Q-транс-норбиксин-Q, где,

Q представляет собой (i) поливалентный катионный противоион или (ii) одновалентный катион;

[21] фармацевтическая композиция, содержащая липосому, инкапсулирующую ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу:

Q-R<sub>3</sub>-Полиеновый Каротиноид-R<sub>4</sub>-Q, где,

указанный Полиеновый Каротиноид содержит 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 3-5, 6-8, 9-10 или более 9 сопряженных двойных связей, необязательно замещенных от 1 до n метиловыми или низшими C1-C3 алкильными замещениями, где n = от 1 до 4; и

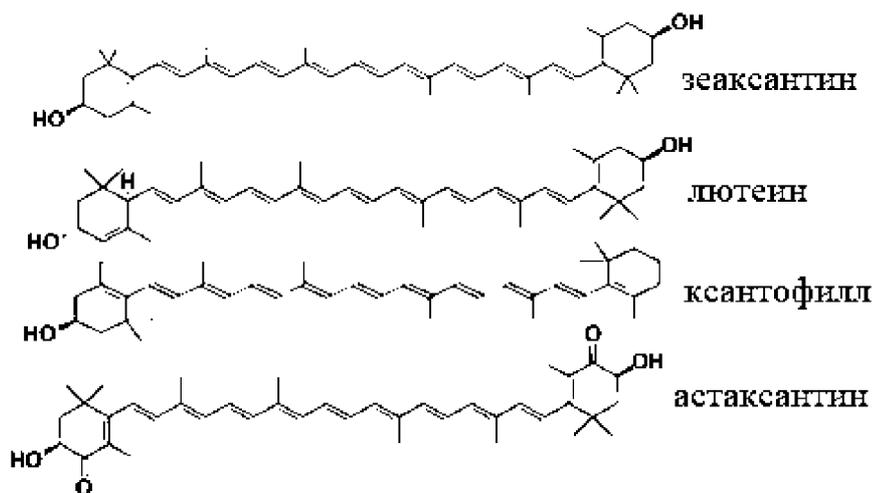
R<sub>3</sub> и/или R<sub>4</sub> представляет собой моноциклическую и/или полярную группу (например, одинаковую или различную моноциклическую и/или полярную группу); и

Q представляет собой (i) поливалентный противоион или (ii) одновалентный противоион;

[22] фармацевтическая композиция, содержащая липосому, инкапсулирующую каротиноид с двумя присоединенными полярными группами, которые могут быть одинаковыми или различными полярными группами, и имеющий формулу:

QA-Полиеновый Каротиноид-AQ, где,

указанный Полиеновый Каротиноид содержит 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 3-5, 6-8, 9-10 или более 9 сопряженных двойных связей, необязательно замещенных от 1 до n метиловыми или низшими C1-C3 алкильными замещениями, где n = от 1 до 4; и QA взятая вместе и AQ взятая вместе представляет собой моноциклическую функциональную группу, (например, одинаковую или различную моноциклическую функциональную группу), необязательно выбранную из моноциклической функциональной группы, присутствующей в астаксантине, лютеине, ксантофилле и зеаксантине;



[23] фармацевтическая композиция по любому из пп. [14]-[21], в которой Q представляет собой поливалентный противоион (например, поливалентный катион, такой как катион двухвалентного металла или двухвалентный органический катион);

[24] фармацевтическая композиция по п. [23], в которой Q представляет собой по меньшей мере один двухвалентный катион, выбранный из  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$ , двухвалентный органический катион, такой как протонированный диамин, или трехвалентный катион, такой как  $\text{Fe}^{3+}$ ;

[25] фармацевтическая композиция по любому из пп. [14]-[21], в которой Q представляет собой одновалентный противоион (например, катион одновалентного металла или одновалентный органический катион);

[26] фармацевтическая композиция по п. [25], в которой Q представляет собой по меньшей мере один одновалентный противоион, выбранный из  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Li}^+$  и  $\text{K}^+$ , или одновалентный органический катион, такой как протонированный амин;

[27] фармацевтическая композиция по п. [19], которая содержит магний транс-кроцетинат (МТС) или кальций транс-кроцетинат (СТС);

[28] фармацевтическая композиция по п. [20], которая содержит магний транс-норбиксинат (MTN) или кальций транс-норбиксинат (СТN);

[29] фармацевтическая композиция по любому из пп. [13]-[28], в которой указанное соотношение ионизируемого каротиноида/липида составляет от 1 до 1000 г/моль, от около 10 до около 150 г/моль, от около 20 до около 100 г/моль или любой диапазон между этими значениями;

[30] фармацевтическая композиция по любому из пп. [13]-[29], в которой указанные липосомы содержат, по меньшей мере, от 0,1 % до 97 % по массе (мас./мас.) ионизируемого каротиноида или любой диапазон между этими значениями;

[31] фармацевтическая композиция по любому из пп. [13]-[30], в которой указанная липосома имеет диаметр от 20 нм до 500 нм, от 20 нм до 200 нм, от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями;

[32] фармацевтическая композиция по любому из пп. [13]-[31], в которой указанная липосома образована из компонентов липосом;

[33] фармацевтическая композиция по п. [32], в которой указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один из анионного липида, катионного липида и нейтрального липида;

[34] фармацевтическая композиция по п. [32] или [33], в которой указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один, выбранный из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-FITC; DSPE-PEG-малеимида; HSPC; HSPC-PEG; холестерина; холестерин-PEG; и холестерин-малеимида;

[35] фармацевтическая композиция по любому из пп. [13]-[34], в которой указанная липосома содержит окисленный фосфолипид, такой как ОхРАРС;

[36] фармацевтическая композиция по п. [35], в которой указанный ОхРАРС представляет собой окисленный фосфолипид, содержащий фрагментированные оксигенированные sn-2 остатки, окисленный фосфолипид, содержащий полноразмерные оксигенированные sn-2 остатки, и/или окисленный фосфолипид, содержащий пятиуглеродный sn-2 остаток, несущий омега-альдегидные или омега-карбоксильные группы;

[37] фармацевтическая композиция по п. [35], в которой указанная липосома содержит ОхРАРС, выбранный из группы, включающей HODiA-PC, KODiA-PC, HOOA-PC и KOOA-PC, 1-пальмитоил-2-(5,6-эпоксиизопростан E2)-sn-глицеро-3-фосфохолин (5,6 PEIPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксициклопентенон)-sn-глицеро-3-фосфохолин (PEPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксиизопростан E2)-sn-глицеро-4-фосфохолин (PEIPC), 1-пальмитоил-2-глутароил-sn-глицеро-3-фосфохолин (PGPC); 1-пальмитоил-2-(9'-оксононаноил)-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-арахидоноил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-миристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-гексадецил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-азелаоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; и 1-пальмитоил-2-ацетоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; или указанный ОхРАРС представляет собой эпоксиизопростансодержащий фосфолипид;

[38] фармацевтическая композиция по п. [37], в которой указанная липосома содержит PGPC;

[39] фармацевтическая композиция по любому из пп. [13]-[38], в которой указанная липосома содержит от 0 % до 100 %, от 0,1 % до 30 %, от 1 % до 25 %, от 5 % до 20 % или от 7 % до 15 % ОхРАРС (например, около 10 % ОхРАРС), или любой диапазон между этими значениями;

[40] фармацевтическая композиция по любому из пп. [13]-[39], в которой указанная липосома содержит HSPE, холестерин, PEG-DSPE-2000 и ОхРАРС при мольном соотношении от 2 до 5: от 1 до 4: от 0,01 до 0,3: от 0,05 до 1,5;

[41] фармацевтическая композиция по любому из пп. [13]-[40], в которой указанная липосома является пэгиллированной;

[42] фармацевтическая композиция по любому из пп. [13]-[41], где один или более компонентов липосом дополнительно содержат стерический стабилизатор;

[43] фармацевтическая композиция по п. [42], в которой указанный стерический стабилизатор представляет собой по меньшей мере один, выбранный из группы, включающей полиэтиленгликоль (ПЭГ); поли-L-лизин (PLL); моносиалоганглиозид (GM1); поли(винилпирролидон) (PVP); поли(акриламид) (PAA); поли(2-метил-2-оксазолин); поли(2-этил-2-оксазолин); фосфатидилполиглицерин; поли[N-(2-гидроксипропил)метакриламид];

амфифильные поли-N-винилпирролидоны; полимер на основе L-аминокислоты; олигоглицерин, сополимер, содержащий полиэтиленгликоль и оксид полипропилена, Полоксамер 188 и поливиниловый спирт;

[44] фармацевтическая композиция по п. [43], в которой указанный стерический стабилизатор представляет собой ПЭГ, и указанный ПЭГ имеет среднечисловую молекулярную массу ( $M_n$ ) от 200 до 5000 Дальтон;

[45] фармацевтическая композиция по любому из пп. [13]-[44], в которой указанная липосома является анионной или нейтральной;

[46] фармацевтическая композиция по любому из пп. [13]-[44], в которой указанная липосома имеет дзета-потенциал от -150 до 150 мВ или от -50 до 50 мВ, или любой диапазон между этими значениями;

[47] фармацевтическая композиция по любому из пп. [13]-[45], в которой указанная липосома имеет дзета-потенциал менее или равен нулю (например, от -150 до 0 или от -50 до 0 мВ, или любой диапазон между этими значениями);

[48] фармацевтическая композиция по любому из пп. [13]-[47], в которой указанная липосома имеет дзета-потенциал более 0 (например, от 0,2 до 150 мВ или от 1 до 50 мВ, или любой диапазон между этими значениями);

[49] фармацевтическая композиция по любому из пп. [13]-[45] или [48], в которой указанная липосома является катионной;

[50] фармацевтическая композиция по любому из пп. [1]-[49], дополнительно содержащая фармацевтически приемлемый носитель;

[51] фармацевтическая композиция по любому из пп. [1]-[50], которая содержит изотонический агент, такой как декстроза, маннит, глицерин, хлорид калия или хлорид натрия, необязательно, при концентрации более 0,1 % или в концентрации от 0,3 % до 2,5 %, или любой диапазон между этими значениями;

[52] фармацевтическая композиция по п. [51], которая содержит трегалозу или декстрозу;

[53] фармацевтическая композиция по п. [52], которая содержит от 1 % до 50 % трегалозы;

[54] фармацевтическая композиция по п. [51], которая содержит декстрозу, необязательно, от 1 % до 50 % декстрозы;

[55] фармацевтическая композиция по любому из пп. [1]-[54], которая содержит 5 % декстрозы в растворе с буфером HEPES;

[56] фармацевтическая композиция по любому из пп. [1]-[55], которая содержит буфер, такой как забуференный HEPES солевой раствор (HBS) или подобный раствор в концентрации от 1 до 200 мМ и рН от 2 до 8, или любые диапазоны между этими значениями;

[57] фармацевтическая композиция по любому из пп. [1]-[56], в которой указанный фармацевтически приемлемый носитель содержит общую концентрацию ацетатных солей поливалентных металлов, таких как ацетат магния или ацетат кальция, от 0,1 мМ до 2000 мМ или от 50 мМ до 500 мМ, или любой диапазон между этими значениями;

[58] фармацевтическая композиция по любому из пп. [1]-[57], которая имеет рН 5-8 или рН 6-7, или любой диапазон между этими значениями;

[59] фармацевтическая композиция по любому из пп. [13]-[58], в которой указанная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000, менее 10000 или менее 5000 молекул ионизируемого каротиноида;

[60] фармацевтическая композиция по любому из пп. [13]-[59], в которой указанная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 500 до 5000 молекул указанного ионизируемого каротиноида, или любой диапазон между этими значениями;

[61] фармацевтическая композиция по любому из пп. [13]-[60], в которой указанная липосома дополнительно содержит таргетирующий фрагмент, и причем указанный таргетирующий фрагмент имеет специфическое сродство к поверхностному антигену на клетке-мишени, представляющей интерес;

[62] фармацевтическая композиция по п. [61], в которой указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы, причем необязательно указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы ковалентной связью;

[63] фармацевтическая композиция по п. [61] или [62], в которой указанный таргетирующий фрагмент представляет собой полипептид;

[64] фармацевтическая композиция по любому из пп. [61]-[63], в которой указанный таргетирующий фрагмент представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела;

[65] фармацевтическая композиция по любому из пп. [61]-[64], в которой указанный таргетирующий фрагмент связывает поверхностный антиген с константой диссоциации ( $K_d$ ) в диапазоне от  $50 \times 10^{-12}$  до  $10 \times 10^{-6}$  определенной анализом BIACORE®;

[66] фармацевтическая композиция по любому из пп. [61]-[65], в которой указанный таргетирующий фрагмент специфически связывает один или более фолатных рецепторов, выбранных из: фолатного рецептора альфа (FR- $\alpha$ ), фолатного рецептора бета (FR- $\beta$ ) и фолатного рецептора дельта (FR- $\delta$ );

[67] фармацевтическая композиция по любому из пп. [61]-[66], в которой указанный таргетирующий фрагмент включает одно или более, выбранного из следующего: антитело, гуманизованное антитело, антигенсвязывающий фрагмент антитела, одноцепочечное антитело, однодоменное антитело, биспецифическое антитело, синтетическое антитело, пэгилированное антитело и мультимерное антитело;

[68] фармацевтическая композиция по любому из пп. [62]-[67], в которой каждая пэгилированная липосома содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями;

[69] фармацевтическая композиция по любому из пп. [13]-[67], дополнительно содержащая один или более из FАВР, иммуностимулирующего агента, иммуносуппрессирующего агента, детектируемого маркера и малеимида, причем указанный FАВР, иммуностимулирующий агент, иммуносуппрессирующий агент, детектируемый маркер или малеимид присоединен к указанному ПЭГ или наружной части липосомы;

[70] фармацевтическая композиция по п. [69], содержащая по меньшей мере один иммуностимулирующий агент, выбранный из группы, включающей: белковый иммуностимулирующий агент; полинуклеотидный иммуностимулирующий агент; химический иммуностимулирующий агент; гаптен; и адъювант;

[71] фармацевтическая композиция по п. [69] или [60], в которой указанный иммуностимулирующий агент представляет собой по меньшей мере один, выбранный из: флуоресцеина; флуоресцеина изотиоцианата (FITC); DNP; бета-глюкана; бета-1,3-глюкана; бета-1,6-глюкана; резолвина (например, резолвин D, такой как Dn-6DPA или Dn-3DPA, резолвин E или резолвин

семейства T); и модулирующего агента Toll-подобного рецептора (TLR), такого как окисленный липопротеин низкой плотности (например, ОХРАС, РGРС) или эритран-подобный липид (например, Е5564);

[72] фармацевтическая композиция по любому из пп. [69]-[71], содержащая FАВР;

[73] фармацевтическая композиция по любому из пп. [69]-[72], дополнительно содержащая гаптен;

[74] фармацевтическая композиция по п. [73], в которой указанный гаптен включает один или более из флуоресцеина или бета-1,6-глюкана;

[75] фармацевтическая композиция по любому из пп. [1]-[74], дополнительно содержащая по меньшей мере один криопротектор, выбранный из группы, включающей маннит; трегалозу; сорбит; и сахарозу;

[76] таргетированная композиция, содержащая фармацевтическую композицию по любому из пп. [1]-[75];

[77] нетаргетированная композиция липосом, содержащая фармацевтическую композицию по любому из пп. [13]-[60] или [69]-[75];

[78] фармацевтическая композиция по любому из пп. [1]-[77], для применения в лечении заболевания или состояния у субъекта;

[79] применение фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[78], в производстве лекарственного средства для лечения заболевания у субъекта;

[80] способ лечения или предупреждения заболевания у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79];

[81] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние связано с эндотоксемией;

[82] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние представляет собой сепсис;

[83] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанный субъект представляет собой жертву ожога;

[84] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние представляет собой инфекцию (например, бактериальную инфекцию, такую как инфекция *P. aeruginosa*, инфекция *S. aureus* (например, МРЗС) или состояние, связанное с ней, или энтерококковую инфекцию (например, VRE), грибковую инфекцию (например, кандидозную инфекцию (например, инвазивный кандидоз) или состояние, связанное с ней, или паразитарную инфекцию или состояние, связанное с ней, такое как малярия (или связанное состояние, такое как церебральная малярия, тяжелая анемия, ацидоз, острая почечная недостаточность и ОРДС), шистосомоз и африканский трипаносомоз человека, и состояния, связанные с ними; вирусную инфекцию или состояние, связанное с ней, такое как лихорадка Эбола, Денге и Марбург (или связанное состояние, такое как грипп, корь и вирусная геморрагическая лихорадка)

[85] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние представляет собой бактериемию;

[86] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние представляет собой заболевание или состояние печени (например, цирроз, неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП), неалкогольный стеатогепатит (НАСГ); алкогольную жировую болезнь печени, острое поражение печени и цирроз печени);

[87] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние представляет собой заболевание или состояние легких (например, острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС), легочный фиброз, легочное кровотечение, повреждение легких, рак легких, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) и другие респираторные нарушения);

[88] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние представляет собой заболевание почек (например, индуцированное липополисахаридным препаратом или токсином острое повреждение почек (ОПП) и конечная стадия заболевания почек);

[89] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние представляет собой аутоиммунное нарушение (например, псориаз, муковисцидоз и ревматоидный артрит);

[90] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние представляет собой склероз (например, системный склероз);

[91] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанный субъект представляет собой критически больного пациента;

[92] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанный субъект имеет риск развития сепсиса;

[93] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние представляет собой слабо выраженное эндотоксемическое заболевание;

[94] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние представляет собой воспаление (например, системное воспаление, слабо выраженное воспаление, острое воспаление и хроническое воспалительное заболевание);

[95] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние представляет собой воспалительное заболевание кишечника (например, болезнь Крона и язвенный колит);

[96] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанный субъект является иммунодефицитным;

[97] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанный субъект принимает химиотерапию и/или является иммуносуппримированным (например, лихорадящие пациенты с нейтропенией);

[98] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние представляет собой метаболическое заболевание;

[99] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние представляет собой резистентность к инсулину;

[100] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние представляет собой диабет или связанные состояния, такие как гангрена, диабетический некроз, диабетическая нейропатия, диабетическое сосудистое заболевание (например, микрососудистое заболевание, такое как ретинопатия и нефропатия, и диабетические язвы);

[101] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние представляет собой диабет 2-го типа;

[102] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние представляет собой сердечно-сосудистое заболевание (например, заболевание коронарных артерий, такое как инфаркт миокарда, внезапная сердечная смерть, остановка сердца и дыхания, гипертония, артериальная гипертензия легких, атеросклероз, окклюзионное заболевание артерий, болезнь Рейно, болезнь периферических сосудов, другие васкулопатии, такие как болезнь Бюргера, артрит Такаясу и синдром после остановки сердца (СПОС), хроническая венозная недостаточность, болезнь сердца, застойная сердечная недостаточность, хронические язвы кожи);

[103] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние характеризуется ишемией или гипоксией (например, ишемическое реперфузионное повреждение, переходящая ишемия головного мозга, ишемия-реперфузия головного мозга, ишемический инсульт, геморрагический инсульт, черепно-мозговая травма, мигрень (например, хроническая мигрень или тяжелая мигрень), желудочно-кишечная ишемия, болезнь почек, эмболия легочной артерии, острая дыхательная недостаточность, неонатальный респираторный дистресс-синдром, акушерские чрезвычайные ситуации для снижения перинатальной коморбидности (такие как, пре/эклампсия и состояния, которые приводят к церебральному параличу), инфаркт миокарда, острая ишемия конечностей или брыжейки, цирроз сердца, хроническое заболевание

периферических сосудов, застойная сердечная недостаточность, атеросклеротический стеноз, анемия, тромбоз, эмболия, дегенерация желтого пятна, нейродегенеративное заболевание (такое как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона или боковой амиотрофический склероз (БАС)), апноэ во время сна, а также операционное или травматическое повреждение);

[104] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние представляет собой сердечный приступ или инсульт (например, ишемический и геморрагический инсульт);

[105] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние представляет собой шок (например, кардиогенный шок, гиповолемический шок, септический шок, нейрогенный шок и анафилактический шок);

[106] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние связано с дефицитом оксида азота (например, серповидноклеточная анемия, пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ), гемолитическая анемия, талассемия, другое нарушение красных кровяных клеток, пурпура, такая как тромботическая тромбоцитарная пурпура (ТТП), гемолитический уремический синдром (ГУС), идиопатическая тромбоцитопения (ИТП), другое нарушение тромбоцитов, аномалия коагуляции, такая как диссеминированная внутрисосудистая коагулопатия (ДВК), молниеносная пурпура, гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ), гиперлейкоцитоз и синдром гипервязкости, или состояние, связанное с ними;

[107] фармацевтическая композиция по п. [78], применение по п. [79] или способ по п. [80], причем указанное заболевание или состояние представляет собой эндотоксемию, такую как эндотоксемия, связанная с состояниями, такими как периодонтальная болезнь (например, периодонтит или воспаление десен), хронический алкоголизм, хроническое курение, трансплантация, неонатальный некротический энтероколит или неонатальная инфекция уха;

[108] способ снижения системных уровней ЛПС, эндотоксина и/или другого триггера системного воспаления у субъекта, нуждающегося в этом,

включающий введение субъекту фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[78];

[109] способ по любому из пп. [80]-[108], в котором указанную фармацевтическую композицию вводят в комбинированной терапии с другим терапевтическим агентом;

[110] способ получения композиции липосом по любому из пп. [13]-[77], включающий: образование смеси, содержащей: компоненты липосом в растворе; гомогенизирование полученной смеси с образованием липосом в растворе; и обработка смеси с образованием липосом, содержащих ионизируемый каротиноид;

[111] способ по п. [110], в котором указанная стадия обработки включает одну или более стадий: гидратация тонкой пленки, экструзия, прямоточное смешивание, методика инъекции этанола, методика замораживания-оттаивания, обращенно-фазовое испарение, динамическая микрофлюидизация высокого давления, микрофлюидное смешивание, двойное эмульгирование, лиофилизационное двойное эмульгирование, 3D принтинг, методика мембранного контактора и перемешивание;

[112] способ по п. [110] или [111], в котором указанная стадия обработки включает одну или более стадий модификации размера липосом одной или более из стадий экструзии, микрофлюидизации высокого давления и/или обработки ультразвуком;

[113] способ получения фармацевтической композиции, включающий:

(a) получение раствора липосом, содержащего липосомы в растворе соли слабой кислоты поливалентного металла;

(b) добавление ионизируемого каротиноида по любому из пп. [1]-[7], [10] или [11] к указанному раствору липосом; и

(c) выдерживание ионизируемого каротиноида в растворе липосом в течение достаточного времени для проникновения каротиноида в липосомы;

[114] способ по п. [113], в котором указанная слабая кислота представляет собой органическую кислоту (например, органическую кислоту, выбранную из уксусной кислоты, глюконовой кислоты, винной кислоты, глутаминовой кислоты, лимонной кислоты, муравьиной кислоты и глициновой кислоты);

[115] способ по пп. [113] или [114], в котором указанный поливалентный металл выбран из двухвалентного металла (например, двухвалентного металла, выбранного из  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$ ) или трехвалентного металла, такого как  $\text{Fe}^{3+}$ ;

[116] способ по любому из пп. [113]-[115], в котором указанная слабая кислота представляет собой уксусную кислоту, и указанный поливалентный металл представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$  или  $\text{Mg}^{2+}$  (т. е., указанная соль слабой кислоты поливалентного металла представляет собой ацетат кальция или ацетат магния, соответственно);

[117] фармацевтическая композиция, полученная способом по любому из пп. [109]-[115];

[118] способ получения фармацевтической композиции, содержащей липосому, инкапсулирующую транс-кроцетин, включающий:

- (a) получение раствора липосом, содержащего липосомы, и раствора, содержащего соль слабой кислоты поливалентного металла;
- (b) добавление транс-кроцетина к указанному раствору липосом; и
- (c) выдерживание транс-кроцетина в растворе липосом в течение достаточного времени для проникновения транс-кроцетина в липосомы;

[119] способ по п. [118], в котором указанная слабая кислота представляет собой органическую кислоту (например, уксусную кислоту, глюконовую кислоту, винную кислоту, глутаминовую кислоту, лимонную кислоту, муравьиную кислоту и глициновую кислоту);

[120] способ по п. [118] или [119], в котором указанный поливалентный металл представляет собой двухвалентный металл (например, двухвалентный металл, выбранный из  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$ ) или трехвалентный металл, такой как  $\text{Fe}^{3+}$ ; и/или

[121] способ по любому из пп. [118]-[120], в котором указанная слабая кислота представляет собой уксусную кислоту, и указанный поливалентный металл представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$  или  $\text{Mg}^{2+}$ ; и/или

[122] фармацевтическая композиция, полученная способом по любому из пп. [117]-[120];

[0013] Тем не менее другие отличительные признаки и преимущества композиций и способов, описанных в данном документе, станут более очевидными из

последующего подробного описания при изучении вместе с прилагаемыми графическими материалами.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0014] На ФИГ. 1А, ФИГ. 1В, ФИГ. 1С и ФИГ. 1D проиллюстрированы типичные ионизируемые Полиеновые Каротиноиды предложенных фармацевтических композиций.

[0015] На ФИГ. 2 проиллюстрирована стабильность липосомы Кальций транс-кроцетината (СТС-LP) при 4 °С в течение 6 месяцев. Указанные тестируемые препараты СТС-LP имеют соотношения лекарственное средство/липид (D/L) 80, 60 и 40. Каждый тестируемый препарат СТС-LP показал ничтожное вымывание (изменение в соотношении D/L) в течение 6-месячного периода оценки.

[0016] На ФИГ. 3 проиллюстрирована воспроизводимость партий Липосомального СТС. Четыре партии липосомального СТС были воспроизводимыми и стабильными при 4 °С по крайней мере до 7 месяцев.

[0017] На ФИГ. 4 проиллюстрирована стабильность липосомы Магний транс-кроцетината (МТС-LP) при 4 °С в течение 6 месяцев. Указанные тестируемые препараты МТС-LP имеют соотношения лекарственное средство/липид (D/L) 80, 60 и 40. Каждый тестируемый препарат МТС-LP показал ничтожное вымывание (изменение в соотношении D/L) в течение 2-месячного периода оценки.

[0018] На ФИГ. 5 проиллюстрировано Исследование Выживаемости 1 (TP-936): исследование эффективности СТС-LP в мышинной модели сепсиса CLP. Кривая выживаемости мышей обрабатываемых тестируемыми препаратами (a) липосомальный СТС (D/L 80) + антибиотик, (b) липосомальный СТС (D/L 80) и PGPC + антибиотик, (c) солевой раствор + антибиотик и (d) плацебо. Тестируемые препараты (a) и (b) (в комбинации с имипенемом) продемонстрировали тенденцию к снижению смертности по сравнению с контролем, обработанным имипенемом (c).

[0019] На ФИГ. 6 проиллюстрировано Исследование Выживаемости 2 (TP-967): исследование сепсиса CLP у мышей. Кривая выживаемости мышей обрабатываемых тестируемыми препаратами (a) липосомальный PGPC + антибиотик, (b) липосомальный (PGPC и СТС) (D/L 80) + антибиотик, (c) липосомальный СТС (D/L 80) + антибиотик и (d) солевой раствор + антибиотик. Тестируемый препарат (c) продемонстрировал тенденцию к снижению смертности по сравнению с контролем, обработанным имипенемом (d).

[0020] На ФИГ. 7 проиллюстрировано Исследование Выживаемости 3 (TP-986): исследование сепсиса CLP у мышей. Кривая выживаемости мышей обрабатываемых тестируемыми препаратами (a) липосомальный СТС (D/L 80) (1 мг/кг) + антибиотик, (b) липосомальный СТС (D/L 80) (5 мг/кг) + антибиотик, (c) липосомальный СТС (D/L 80) (25 мг/кг) + антибиотик, (d) липосомальный СТС (D/L 80) (50 мг/кг) + антибиотик и (e) солевой раствор + антибиотик. Каждый из тестируемых препаратов (a), (c) и (d) продемонстрировал тенденцию к снижению смертности по сравнению с контролем, обработанным имипенемом (e). Тестируемый препарат (b) (липосомальный СТС (D/L 80) (5 мг/кг) + антибиотик) продемонстрировал статистически значимое снижение смертности по сравнению с контролем, обработанным имипенемом (d) ( $P=0.0321$ ).

### ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0021] Заявители неожиданно обнаружили, что фармацевтические композиции, такие как липосомы, содержащие поливалентные ионизируемые соли каротиноидов, содержащие поливалентные противоионы, существенно улучшает фармакокинетику (например, период полувыведения, стабильность и биодоступность) и резко увеличивает экспозицию лекарственного средства путем длительного высвобождения ионизируемых каротиноидов по сравнению, например, со свободными кислотами каротиноидов и ионизируемыми солями каротиноидов, содержащими одновалентные противоионы.

#### Определения

[0022] Если не указано иное, все употребляемые в данном документе технические и научные термины имеют то же значение, которое обычно подразумевается средним специалистом в данной области техники, к которой относится данное изобретение. Хотя при практической реализации или тестировании предложенных композиций можно использовать способы и материалы, сходные или эквивалентные тем, которые описаны в данном документе, в данном документе описаны пригодные способы и материалы. Каждая публикация, заявка на патент, патент и другая ссылка, упомянутая в данном документе, является включенной в данный документ посредством ссылки в полном объеме. В случае противоречия данное описание, включая определения, имеет приоритет. Кроме того, данные материалы, способы и примеры являются только иллюстративными и не предназначены для ограничения.

[0023] Другие признаки и преимущества данных композиций и способов будут очевидны из следующего подробного описания, графических материалов и формулы изобретения.

[0024] Следует понимать, что в тех случаях, когда варианты реализации изобретения описаны в данном документе с формулировкой «содержащий», в противном случае также предложены аналогичные варианты реализации изобретения, описанные в терминах «состоящий из» и/или «состоящий в основном из». Однако при использовании в формуле изобретения в качестве переходных фраз, каждая из них должна интерпретироваться отдельно и в соответствующем юридическом и фактическом контексте (например, в формуле изобретения переходная фраза «содержащий» считается более открытой фразой, тогда как «состоящий из» является более исключительным и «состоящим по существу из» является переходной формой).

[0025] Как используется в данном документе, формы единственного числа включают ссылки на множественное число, если контекст явно не указывает иное. формы единственного числа также включают среднее статистическое композиции, характеристик или размера частиц среди множества частиц (например, средний диаметр липосомы, средний дзета-потенциал липосомы, среднее число таргетизирующих фрагментов на липосоме в растворе липосом, среднее число инкапсулированных каротиноидов). Средний размер частиц и дзета-потенциал липосом в фармацевтической композиции обычно могут быть измерены способами, известными в данной области техники, такими как динамическое рассеяние света. Среднее количество терапевтического агента в композиции наночастиц может обычно быть измерено, например, абсорбционной спектроскопией (например, УФ-спектроскопией).

[0026] Как используется в данном документе, термины «приблизительно» и «около» применительно к одному или более значениям, представляющим интерес, относятся к значению, которое аналогично установленному эталонному значению. В определенных вариантах реализации изобретения термин «приблизительно» или «около» относится к диапазону значений, которые попадают в пределы 25 %, 20 %, 19 %, 18 %, 17 %, 16 %, 15 %, 14 %, 13 %, 12 %, 11 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 % или менее в любую сторону (больше или меньше) от установленного эталонного значения, если не указано иное или иное не очевидно из контекста (за исключением случаев, когда такое число превышало бы 100 % от возможного значения). Например, при использовании в контексте количества данного соединения в

липидном компоненте композиции наночастиц, «около» может означать +/-10 % от приведенного значения. Например, композиция наночастиц, в том числе липидного компонента, содержащая около 40 % данного соединения, может содержать 30-50 % указанного соединения.

[0027] Термин «и/или», используемый в такой фразе, как «А и/или В», предназначен для включения как А, так и В; А или В; А (отдельно) и В (отдельно). Аналогично, термин «и/или», используемый в такой фразе, как «А, В и/или С», предназначен для охвата каждого из следующих вариантов реализации изобретения: А, В и С; А, В или С; А или С; А или В; В или С; А и С; А и В; В и С; А (один); В (один); и С (один).

[0028] Когда варианты реализации по данному описанию описаны в терминах групп Маркуша или другого группирования альтернатив, описанная композиция или способ включает не только всю группу, перечисленную в целом, но и каждый член данной группы индивидуально и все возможные подгруппы основной группы, а также основную группу с отсутствующими одним или более членами группы. Описанные композиции и способы также предусматривают явное исключение одного или более из любых из членов группы в описанных композициях или способах.

[0029] Термин «липосома» относится к замкнутой везикуле, имеющей внутреннюю фазу (т. е., внутреннее пространство (внутренний раствор)), охватываемую липидным бислоем. Липосома может представлять собой небольшую одномембранную липосому, такую как небольшая однослойная везикула (SUV), большую одномембранную липосому, такую как большая однослойная везикула (LUV), еще большую одномембранную липосому, такую как гигантская однослойная везикула (GUV), многослойную липосому, имеющую множество концентрических мембран (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10), такую как многослойная везикула (MLV), или липосому, имеющую несколько мембран, которые являются неправильными, а не концентрическими, такую как мультивезикулярную везикулу (MVV). Липосомы и составы липосом хорошо известны в данной области техники. Липиды, которые способны образовывать липосомы включают все вещества, имеющие жирные или жироподобные свойства. Липиды, которые могут образовывать липосомы, включают, без ограничения, глицериды, глицерофосфолипиды, глицерофосфинолипиды, глицерофосфонолипиды, сульфолипиды, сфинголипиды, фосфолипиды, изопренолиды, стероиды, стеарины, стерины, археолипиды, синтетические катионные липиды и липиды, содержащие углеводы.

[0030] «Композиция липосом» представляет собой полученную композицию, содержащую липосому и содержимое внутри данной липосомы, в частности, содержащую липиды, которые образуют липосомный бислой (бислои), соединения, отличные от липидов, в пределах липосомного бислоя (бислоев), соединения, находящиеся внутри и связанные с водным внутренним пространством (пространствами) липосомы, и соединения, прикрепленные или связанные с наружным слоем липосомы. Таким образом, в дополнение к липидам липосомы, композиция липосом, описанная в данном документе, соответствующим образом может содержать, но не ограничиваясь ими, терапевтические агенты, иммуностимулирующие агенты, вакцинные антигены и адъюванты, вспомогательные вещества, носители и буферные агенты. В предпочтительном варианте реализации изобретения такие соединения являются комплементарными и/или существенно не вредными для стабильности или эффективности AGP-инкорпорации указанной композиции липосом.

[0031] Термины «внутренняя фаза», «внутреннее пространство» и «внутреннее ядро» липосомы используются взаимозаменяемо для обозначения водной области, заключенной внутри (т. е., инкапсулированной) липидного бислоя липосомы. Раствор во внутренней фазе липосомы упоминается как «внутренний раствор». В противоположность этому, термин «внешняя фаза липосомы» относится к области, не охваченной липидным бислоем липосомы, такой как область, отличная от внутренней фазы и липидного бислоя, в том случае, когда липосома диспергирована в жидкости.

[0032] Термин «противоион» относится к анионному или катионному противоиону.

«Катионный противоион» представляет собой положительно заряженный атом или группу, связанную с анионным атомом или группой для сохранения электронейтральности. Типичные катионные противоионы включают неорганические катионы (например, катионы металлов (например, катионы щелочных металлов, катионы щелочноземельных металлов и катионы переходных металлов)) и

органические катионы (например, катионы аммония, катионы сульфония, катионы фосфония и катионы пиридиния). «Анионный противоион» представляет собой отрицательно заряженный атом или группу, связанную с катионным атомом или группой для сохранения электронейтральности. Типичные анионные противоионы включают галогенидные анионы (например,  $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $Br^-$  и  $I^-$ ),  $NO_3^-$ ,  $ClO_4^-$ ,  $OH^-$ ,  $H_2PO_4^{2-}$ ,  $HSO_4^-$ , сульфатные анионы (например, метансульфонат, трифторметансульфонат, п-толуолсульфонат, бензолсульфонат, 10-камфорасульфат, нафталин-2-сульфонат,

нафталин-1-сульфокислота-5-сульфонат, этан-1-сульфокислота-2-сульфонат и тому подобное) и карбоксилатные анионы (например, ацетат, этаноат, пропаноат, бензоат, глицерат, лактат, тартрат и гликолят). Противоион может представлять собой одновалентный или поливалентный (например, двухвалентный, трехвалентный, четырехвалентный, и т. д.).

[0033] Термин «ионизируемый» относится к соединению, содержащему по меньшей мере одну функциональную группу, которая (а) несет положительный или отрицательный заряд (т. е., является «ионизированной») и, следовательно, связана с противоионом противоположного заряда, или (б) является электронейтральной, но ионизируется при более высоком или низком pH. Таким образом, ионизируемые соединения включают четвертичные аммониевые соли, а также незаряженные амины и карбоксилатные фрагменты, а также незаряженные карбоксильные группы.

[0034] Как используется в данном документе, термин «каротиноид» относится к органическим пигментам, которые структурно состоят из полиеновой углеводородной цепи, и которые могут заканчиваться кольцом. Каротиноиды разделяют на два класса, ксантофиллы (которые содержат атомы кислорода) и каротины (которые не содержат атомов кислорода). Неограничивающие примеры каротиноидов, пригодные для применения в предложенных композициях и способах, описаны на ФИГ. 1А - ФИГ. 1D. Каротиноиды с ионизируемыми функциональными группами включают встречающиеся в природе сульфаты каротиноидов, карбоновые кислоты/карбоксилаты каротиноидов, синтетические фосфаты, голубые ионы оксония каротиноидов и голубые каротинопротеины.

[0035] Как используется в данном документе, термин «Полиеновый Каротиноид» относится к каротиноиду, содержащему 3 или более конъюгированных двойных связей и замещений метилом или низшим алкилом (C2-C3).

[0036] Термин «встречающийся в природе» относится к соединению или композиции, которая встречается в природе, независимо от того, было ли выделено указанное соединение или композиция из природного источника, или химически синтезировано. Примеры встречающихся в природе моно- и дикарбоновых кислот каротиноидов включают кроцетин, норбиксин, азафрин и каротиноидную кислоту.

[0037] «Апокаротиноид» представляет собой продукт разложения каротиноида, в котором нормальная структура (т. е., C40) была сокращена путем удаления фрагментов с одного или обоих концов. Примеры встречающихся в природе

апокаротиноидов включают кроцетин (C20), биксин (C25), витамин А, абсцизовую кислоту, микоррадицин и блуменин.

[0038] Как используется в данном документе, термин «таргетирующий фрагмент» относится к молекуле, которая обеспечивает повышенную аффинность к выбранной мишени, например, клетке, типу клеток, ткани, органу, области тела, или компартменту, например, компартменту клеток, тканей или органов. Таргетирующий фрагмент может включать широкий спектр объектов. Таргетирующие фрагменты могут включать встречающиеся в природе молекулы, или рекомбинантные или синтетические молекулы. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой антитело, антигенсвязывающий фрагмент антитела, биспецифическое антитело или другую молекулу или соединение на основе антитела. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой аптамер, авимер, рецепторсвязывающий лиганд, нуклеиновую кислоту, пару связывания биотин-авидин, пептид, белок, углевод, липид, витамин, токсин, компонент микроорганизма, гормон, лиганд рецептора или любое их производное. Другие таргетирующие фрагменты являются известными в данной области техники и охватываются данным изобретением.

[0039] Термины «специфическое связывание» или «специфически связывает» означают, что таргетирующий фрагмент, такой как антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, реагирует или связывается чаще, быстрее, с большей продолжительностью, с большей аффинностью или с некоторой комбинацией вышеуказанного к эпитопу, белку или молекуле-мишени, чем с альтернативными веществами, включая белки, не связанные с эпитопом-мишенью. Из-за идентичности последовательностей между гомологичными белками у разных видов специфическое связывание в некоторых вариантах может включать связывающий агент, который распознает белок или мишень у более чем одного вида. Аналогично, из-за гомологии внутри определенных областей полипептидных последовательностей различных белков термин «специфическое связывание» или «специфически связывает» может включать связывающий агент, который распознает более одного белка или мишени. Понятно, что в некоторых вариантах реализации изобретения таргетирующий фрагмент, который специфически связывает первую мишень, может специфически связывать или не связывать вторую мишень. Как таковое, «специфическое связывание» не обязательно требует (хотя может включать в себя) исключительное связывание, например, связывание с одной мишенью. Таким образом, таргетирующий фрагмент

может, в определенных вариантах реализации, специфически связывать более чем одну мишень. В определенных вариантах реализации изобретения множество мишеней может быть связано одним и тем же таргетирующим фрагментом.

[0040] Термин «эпитоп» относится к той части антигена, которая может распознаваться и специфически связываться с таргетирующим фрагментом (т. е., связывающим фрагментом), таким как антитело. Когда антиген является полипептидом, «эпитопы» могут образовываться как смежными аминокислотами, так и несмежными аминокислотами, сформированными укладкой третичной структуры белка. Эпитопы, образованные из смежных аминокислот, как правило, сохраняются при денатурации белка, тогда как эпитопы, образованные третичной структурой, как правило, теряются при денатурации белка. Эпитоп обычно включает по меньшей мере 3 и более, обычно, по меньшей мере 5 или 8-10 аминокислот в уникальной пространственной конформации.

[0041] Выражения, такие как «аффинность связывания с мишенью», «связывание с мишенью» и аналогичные выражения, известные в данной области техники, относятся к свойству таргетирующего фрагмента, которое может быть непосредственно измерено посредством определения констант аффинности, например, количества таргетирующего фрагмента, которое ассоциирует и диссоциирует при определенной концентрации антигена. Для характеристики молекулярного взаимодействия могут быть использованы различные методы, такие как анализ конкуренции, анализ равновесия и микрокалориметрический анализ, а также анализ взаимодействия в реальном времени на основе поверхностно-плазмонного резонансного взаимодействия (например, с использованием прибора BIACORE<sup>®</sup>). Данные способы хорошо известны специалистам и описаны, например, в Neri et al., *Tibtech* 14:465-470 (1996) и Jansson et al., *J. Biol. Chem.* 272:8189-8197 (1997).

[0042] Как используется в данном документе, «эффективное количество» относится к дозировке агента, достаточной для обеспечения желаемого медицинского результата. Указанное эффективное количество будет варьировать в зависимости от желаемого результата, конкретного состояния, подлежащего лечению или предупреждению, возраста и физического состояния субъекта, подлежащего лечению, тяжести состояния, продолжительности лечения, характера одновременной или комбинированной терапии (если таковая присутствует), конкретного пути введения и подобных факторов в пределах знаний и опыта практикующего врача. «Эффективное количество» может быть определено эмпирически и стандартным способом по

отношению к указанной цели. В случае рака эффективное количество агента может уменьшить количество раковых клеток; уменьшить размер опухоли; ингибировать (т. е., замедлять до некоторой степени и предпочтительно останавливать) инфильтрацию раковых клеток в периферические органы; ингибировать (т. е., замедлять до некоторой степени и предпочтительно останавливать) метастазирование опухоли; ингибировать до некоторой степени рост опухоли; и/или облегчать до некоторой степени один или несколько симптомов, связанных с данным нарушением. В той степени, в которой лекарственное средство может предотвращать рост и/или убивать существующие раковые клетки, оно может быть цитостатическим и/или цитотоксическим. Для терапии рака эффективность *in vivo* может, например, быть измерена путем оценки продолжительности выживаемости, продолжительности выживаемости без прогрессирования (ВБП), эффективности терапии (ЭТ), продолжительности ответа и/или качества жизни.

[0043] Термины «гиперпролиферативное нарушение», «пролиферативное заболевание» и «пролиферативное нарушение», как используется взаимозаменяемо в данном документе, относятся к нежелательной или неконтролируемой клеточной пролиферации избыточных или аномальных клеток, которая является нежелательной, такой как неопластический или гиперпластический рост, *in vitro* или *in vivo*. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное пролиферативное заболевание представляет собой рак или опухолевое заболевание (включающее доброкачественное или злокачественное) и/или любые метастазы, вне зависимости от того, где находится указанный рак, опухоль и/или метастаз. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное пролиферативное заболевание представляет собой доброкачественную или злокачественную опухоль. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное пролиферативное заболевание представляет собой нераковое заболевание. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное пролиферативное заболевание представляет собой гиперпролиферативное состояние, такое как гиперплазия, фиброз (особенно, легочный фиброз, но также и другие типы фиброза, такие как почечный фиброз), ангиогенез, псориаз, атеросклероз и пролиферация гладкой мускулатуры в кровеносных сосудах, такая как стеноз или рестеноз после ангиопластики,

[0044] «Рак», «опухоль» или «злокачественная опухоль» используются как синонимичные термины и относятся к любому из ряда заболеваний, которые характеризуются неконтролируемой, ненормальной пролиферацией клеток,

способностью пораженных клеток распространяться локально или через кровоток и лимфатическую систему для других частей тела (метастазирование), а также любой из ряда характерных структурных и/или молекулярных особенностей. Термин "опухоль", используемый в данном документе, относится ко всем видам роста и пролиферации опухолевой клетки, будь то злокачественный или доброкачественный, и всем предраковым и раковым клеткам и тканям. «Раковая опухоль» или «злокачественная клетка» понимается как клетка, обладающая специфическими структурными свойствами, лишенная дифференцировки и способная к инвазии и метастазированию. Рак, который можно лечить с применением фармацевтической композиции каротиноидов, предложенной в данном документе, включает, без ограничения, негематологические злокачественные опухоли, такие как, например, рак легких, рак поджелудочной железы, рак молочной железы, рак яичника, рак простаты, рак головы и шеи, рак желудка, рак желудочно-кишечного тракта, колоректальный рак, рак пищевода, рак шейки матки, рак печени, рак почки, рак желчных протоков, рак желчного пузыря, рак мочевого пузыря, саркома (например, остеосаркома), рак головного мозга, рак центральной нервной системы и меланома; и гематологические злокачественные опухоли, такие как, например, лейкоз, лимфома и другие злокачественные В-клеточные опухоли, миелома и другие дисплазии или дискразии клеток плазмы. Другие типы рака и опухолей, которые можно лечить с применением композиции транс-кроцетина, описаны в данном документе или иным образом известны в данной области техники. Термины «рак», «раковый», «нарушение пролиферации клеток», «пролиферативное нарушение» и «опухоль» не являются взаимоисключающими, как указано в данном документе.

[0045] Такие термины, как «лечить», «лечение» или «лечить» относятся к обоим из (a) терапевтическим мер, которые излечивают, замедляют, смягчают, уменьшают симптомы и/или останавливают прогрессирование диагностируемого состояния или нарушения и (b) профилактических или превентивных мер, которые предотвращают и/или замедляют развитие заболевания или состояния. Таким образом, субъекты, нуждающиеся в лечении, включают лица, кто уже страдает от указанного рака, нарушения или заболевания; лица с повышенным риском указанного рака или состояния; и лица, у которых должна быть предотвращена указанная инфекция или состояние. Субъекты определяются как «страдающие или с имеющие риск» сепсиса, инфекционного заболевания, нарушения иммунной системы, метаболического нарушения (например, диабета), гиперпролиферативного заболевания или другого

заболевания или нарушения, упоминаемого в данном документе, с использованием хорошо известных медицинских и диагностических методов. В определенных вариантах реализации изобретения субъект является успешно «излечен» в соответствии с методами, предложенными в данном документе, если у данного субъекта наблюдается, например, полное, частичное или переходное улучшение или устранение симптомов, связанных с указанным заболеванием или состоянием (например, раком и артритом, таким как ревматоидный артрит). В конкретных вариантах реализации изобретения термины «лечащий», «лечение» или «лечить» относятся к улучшению, по меньшей мере, одного измеримого физического параметра пролиферативного нарушения, такого как рост опухоли, необязательно различного пациентом. В других вариантах реализации изобретения термины «лечащий», «лечение» или «лечить» относятся к ингибированию прогрессирования пролиферативного нарушения, либо физически, например, посредством стабилизации различного симптома, физиологически, например, посредством стабилизации физического параметра, или обоими способами. В других вариантах реализации изобретения термины «лечащий», «лечение» или «лечить» относятся к уменьшению или стабилизации размера опухоли, пролиферации или выживаемости опухолевых клеток или количеству раковых клеток. Лечение можно осуществлять с предложенной фармацевтической композицией, описанной в данном документе (например, липосомальным транс-кроцетинатом), отдельно или в комбинации с дополнительным терапевтическим агентом.

[0046] «Субъект», «пациент» и «животное» используются взаимозаменяемо и относятся к млекопитающим, таким как пациенты-люди и приматы, не являющиеся людьми, а также к экспериментальным животным, таким как кролики, крысы и мыши, и другие животные. Животные включают всех позвоночных, например, млекопитающих и животных, отличных от млекопитающих, таких как цыплята, амфибии и рептилии. Как используется в данном документе, термин «млекопитающее» относится к любому представителю класса млекопитающих, включая, без ограничения, людей и приматов, отличных от людей, таких как шимпанзе и другие виды высших обезьян и низших обезьян; сельскохозяйственных животных, таких как крупный рогатый скот, овец, свиней, коз и лошадей; домашних млекопитающих, таких как собаки и кошки; лабораторных животных, включая грызунов, таких как мыши, крысы и морские свинки, и другие представители класса млекопитающих, известные в данной

области техники. В конкретном варианте реализации изобретения пациент является человеком.

[0047] Термин «фармацевтически приемлемый носитель» относится к ингредиенту в фармацевтическом составе, отличному от активного ингредиента, который является нетоксичным субъекту. Фармацевтически приемлемый носитель включает, но не ограничиваясь ими, буфер, носитель, вспомогательное вещество, стабилизатор, разбавитель или консервант. Фармацевтически приемлемые носители могут включать, например, один или более совместимых твердых или жидких наполнителей, разбавителей или инкапсулирующих веществ, которые пригодны для введения человеку или другому субъекту.

[0048] «Терапевтический агент»: В некоторых вариантах реализации изобретения предложенные композиции липосом и составы липосом содержат липосомы, инкапсулирующие или иным образом связанные с одним или более терапевтических агентов, присутствующих в любом месте, в, на или вокруг указанной липосомы. Например, терапевтический агент может быть встроен в липидный бислой липосомы, инкапсулированный во внутренней фазе липосомы или связанный со внешней стороной липосомы. Указанный терапевтический агент или терапевтические агенты, применяемые в соответствии с описанными композициями и способами, могут включать любой агент, предназначенный для лечения состояния у субъекта. Примеры терапевтических агентов, которые могут быть пригодными для применения в соответствии с описанными способами, включают витамин С, тиамин, гидрокортизон или другой кортикостероид (например, глюкокортикоид, такой как, кортизон, этаметасонеб, преднизон, преднизолон, триамцинолон, дексаметазон и метилпреднизолон; и минералокортикоиды, такие как флудрокортизон), астаксантин, абсцизовую кислоту, витамин А, ангиотензин II (например, GIAPREZA™), тканевой активатор плазминогена (tPA), противомикробный агент (например, антибиотик) и противовоспалительное средство.

[0049] Дополнительные примеры терапевтических агентов, которые могут быть пригодны для применения в соответствии с описанными способами, включают, без ограничения, противорестенозные, про- или антипролиферативные, противоопухолевые, антимитотические, антитромбоцитные, антикоагулянтные, антифибриновые, антитромбиновые, цитостатические, антибиотиковые и другие противоинфекционные агенты, антиферментативные, антиметаболические,

ангиогенные, цитопротективные агенты, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), антагонисты рецептора ангиотензина II и/или кардиопротективные агенты. В целом, любой терапевтический агент, известный в данной области техники, может быть применен, включая, без ограничения, агенты, перечисленные в Фармакопее США (U.S.P.), Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10<sup>th</sup> Ed., McGraw Hill, 2001; Katzung, Ed., Basic and Clinical Pharmacology, McGraw-Hill/Appleton & Lange, 8<sup>th</sup> ed., Sep. 21, 2000; Physician's Desk Reference (Thomson Publishing; и/или The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 18<sup>th</sup> ed., 2006, Beers and Berkow, Eds., Merck Publishing Group; или, в случае животных, The Merck Veterinary Manual, 9<sup>th</sup> ed., Kahn Ed., Merck Publishing Group, 2005; каждая из которых включена в данное описание посредством ссылки, используемой в данном документе для обозначения агента или его производного, который может взаимодействовать с гиперпролиферативной клеткой, такой как раковая клетка или иммунная клетка, тем самым снижая пролиферативный статус данной клетки и/или убивая данную клетку. Примеры терапевтических агентов включают, но не ограничиваясь ими, химиотерапевтические агенты, цитотоксические агенты, агенты на основе платины (например, цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин), таксаны (например, Таксол), этопозид, алкилирующие агенты (например, циклофосфамид, ифосамид), метаболические антагонисты (например, метотрексат (MTX), 5-фторурацил, гемцитабин, пеметрексед или их производные), противоопухолевые антибиотики (например, митомицин, доксорубин) и противоопухолевые агенты растительного происхождения (например, винкристин, виндезин, Таксол). Такие агенты могут дополнительно включать, но не ограничиваясь ими, противораковые агенты триметрексат, TEMOZOLOMIDE™, RALTRITREXED™, S-(4-нитробензил)-6-тиоинозин (NBMPR), 6-бензилгуанидин (6-BG), бис-хлорнитрозомочевина (BCNU) и САМРТОТНЕСИН™ или терапевтическое производное любого из них. «Терапевтические агенты», также относятся к солям, кислотам и формам свободного основания на основе вышеуказанных агентов.

[0050] Термин «фармацевтически приемлемый носитель» относится к ингредиенту в фармацевтическом составе, отличному от активного ингредиента, который является нетоксичным субъекту. Фармацевтически приемлемый носитель включает, но не ограничиваясь ими, буфер, носитель, вспомогательное вещество, стабилизатор, разбавитель или консервант. Фармацевтически приемлемые носители могут включать, например, один или более совместимых твердых или жидких

наполнителей, разбавителей или инкапсулирующих веществ, которые пригодны для введения человеку или другому субъекту.

[0051] Термин «набор» относится к набору из двух или более компонентов, необходимых для применения способов и композиций, предложенных в данном документе. Компоненты набора могут включать, но не ограничиваясь ими, композиции липосом и составы липосом, описанные в данном документе, реагенты, буферы, контейнеры и/или оборудование. Фраза «хранится отдельно» относится к типу хранения липосом, что препятствует контактированию первой популяции липосом с другой популяцией липосом.

[0052] Термин «радиосенсибилизирующий агент» означает соединение, которое делает опухолевые клетки более чувствительными к лучевой терапии. Примеры радиосенсибилизирующих агентов включают мизонидазол, метронидазол, тирапазамин и транс-кроцетин.

#### Фармацевтические композиции

[0053] Предложенные фармацевтические композиции могут быть получены различными способами с использованием коммерчески доступных исходных материалов, соединений, известных в литературе, или из легко получаемых промежуточных соединений с использованием стандартных синтетических методов и методик, либо известных специалистам в данной области техники, либо которые будут очевидны специалисту в данной области техники в свете приведенных в данном документе принципов. Стандартные синтетические методы и методики для получения органических молекул, преобразования и манипуляции функциональных групп могут быть получены из соответствующей научной литературы или из стандартных учебников в данной области. Хотя не ограничиваясь каким-либо одним или несколькими источниками, классические тексты, такие как Smith et al., March's Advanced Organic Chemistry. Reactions, Mechanisms, and Structure, 5<sup>th</sup> edition, John Wiley & Sons: New York, 2001; Greene, T. W., Wuts, P. G. M., Protective Groups in Organic Synthesis, 3<sup>rd</sup> edition, John Wiley & Sons: New York, 1999; R. Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers (1989); L. Fieser and M. Fieser, Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1994); and L. Paquette, ed., Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1995), включенные в данный документ посредством ссылки, являются полезными и признанными учебниками по органическому синтезу, известными специалистам в данной области техники. Следующие описания синтетических методов предназначены для

иллюстрации, а не для ограничения, общих методик для получения соединений по данному изобретению.

[0054] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен новый класс солей поливалентного ионизируемого каротиноида (например, транс-каротиноида).

[0055] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая ионизируемый каротиноид, имеющий формулу:

Полиеновый Каротиноид-Q, где,

указанный Полиеновый Каротиноид содержит

(a) 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 3-5, 6-8, 9-10 или более 9 сопряженных двойных связей,

(b) замещения метилом или низшим алкилом (C2-C3), и

(c) 1, 2, 3 или более 3 ионизируемых групп; и

Q представляет собой поливалентный противоион.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит все транс-сопряженные двойные связи. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит 6-9 сопряженных двойных связей. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит 7 сопряженных двойных связей. Указанный Полиеновый Каротиноид может быть встречающимся в природе или синтетическим. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид является встречающимся в природе. В других вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид является синтетическим. Указанная ионизируемая группа (группы) может быть анионной и/или катионной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид-Q содержит две или более одинаковых ионизируемых групп. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит две или более различных ионизируемых групп. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит одну или более анионных ионизируемых групп. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит по меньшей мере одну ионизируемую группу, выбранную из: карбоксильной группы, сульфатной группы, сульфатной группы, фосфонатной или фосфатной группы, и гидроксаматного фрагмента. В других

вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит одну или более катионных ионизируемых групп (например, первичную, вторичную или третичную аминогруппу, группу четвертичного аммония, холиновую группу, гуанидиновую группу или имидазоловую группу). В конкретных вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит одну или более катионных ионизируемых групп, и указанная фармацевтическая композиция по существу не содержит нуклеиновых кислот.

В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катионный противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катион металла. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катион переходного металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катионный противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катион металла. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катион переходного металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой по меньшей мере один член, выбранный из  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$  или  $\text{Mg}^{2+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$ . В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид-Q представляет собой кальций транс-кроцетинат (СТС). В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой  $\text{Mg}^{2+}$ . В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид-Q представляет собой магний транс-кроцетинат (МТС). В других вариантах реализации изобретения Q представляет собой трехвалентный катионный противоион, такой как  $\text{Fe}^{3+}$ . В других вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный органический противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный органический катион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный органический катион, такой как протонированный диамин. Липосомы, содержащие композиции Полиенового Каротиноида-Q (например, композиции липосом), и фармацевтические композиции содержащие указанные липосомы, также предложены в данном документе.

[0056] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая ионизируемый каротиноид, имеющий формулу:

Q-R1-Полиеновый Каротиноид-R2-Q, где,

указанный R1-Полиеновый Каротиноид-R2 содержит

(a) 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 3-5, 6-8, 9-10 или более 9 сопряженных двойных связей,

(b) замещения метилом или низшим алкилом (C2-C3), и

(c) 1, 2, 3 или более 3 ионизируемых групп;

R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> представляют собой ионизируемые группы; и

Q представляет собой поливалентный противоион.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Q-R1-Полиеновый Каротиноид-R2 содержит все транс-сопряженные двойные связи. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный Q-R1-Полиеновый Каротиноид-R2 содержит 6-9 сопряженных двойных связей. Указанный Q-R1-Полиеновый Каротиноид-R2 может быть встречающимся в природе или синтетическим. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Q-R1-Полиеновый Каротиноид-R2 является встречающимся в природе. В других вариантах реализации изобретения указанный Q-R1-Полиеновый Каротиноид-R2 является синтетическим. В некоторых вариантах реализации изобретения R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> представляют собой одинаковые ионизируемые группы. В других вариантах реализации изобретения R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> представляют собой разные ионизируемые группы. В некоторых вариантах реализации изобретения R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> представляют собой одинаковые катионные ионизируемые группы (например, первичную, вторичную или третичную аминогруппу, группу четвертичного аммония, холиновую группу, гуанидиновую группу и имидазоловую группу). В других вариантах реализации изобретения R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> представляют собой разные катионные группы. В некоторых вариантах реализации изобретения R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> представляют собой одинаковые анионные ионизируемые группы (например, карбоксильную группу, сульфатную группу, сульфатную группу, фосфонатную, фосфатную группу и гидроксаматную группу). В других вариантах реализации изобретения R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> представляют собой разные анионные группы. В некоторых вариантах реализации изобретения R<sub>1</sub> представляет собой катионную ионизируемую группу или анионную ионизируемую группу, и R<sub>2</sub> представляет собой анионную ионизируемую группу или катионную группу, соответственно. В некоторых

вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит по меньшей мере одну ионизируемую группу, выбранную из: карбоксильной группы, сульфонатной группы, сульфатной группы, фосфонатной или фосфатной группы, и гидроксаматного фрагмента. В некоторых вариантах реализации изобретения R<sub>1</sub> и/или R<sub>2</sub> представляет собой по меньшей мере одну ионизируемую группу, выбранную из: карбоксильной группы, сульфонатной группы, сульфатной группы, фосфонатной или фосфатной группы, и гидроксаматного фрагмента. В некоторых вариантах реализации изобретения R<sub>2</sub> представляет собой по меньшей мере одну ионизируемую группу, выбранную из: карбоксильной группы, сульфонатной группы, сульфатной группы, фосфонатной или фосфатной группы, и гидроксаматного фрагмента. В других вариантах реализации изобретения R<sub>1</sub> и/или R<sub>2</sub> представляет собой катионную ионизируемую группу (например, первичную, вторичную или третичную аминогруппу, группу четвертичного аммония, холиновую группу, гуанидиновую группу или имидазоловую группу). В конкретных вариантах реализации изобретения R<sub>1</sub> представляет собой катионную ионизируемую группу, и указанная фармацевтическая композиция по существу не содержит нуклеиновых кислот.

В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катионный противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катион металла. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный противоион переходного металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катионный противоион. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катион металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой по меньшей мере один член, выбранный из Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup> и Fe<sup>2+</sup>. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой Ca<sup>2+</sup> или Mg<sup>2+</sup>. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой Ca<sup>2+</sup>. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой Mg<sup>2+</sup>. В других вариантах реализации изобретения Q представляет собой трехвалентный катионный противоион, такой как Fe<sup>3+</sup>. В других вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный органический катион. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный органический катион, такой как протонированный диамин. Липосомы, содержащие композиции R<sub>1</sub>-

Полиенового Каротиноида- $R_2$  (например, композиции липосом), и фармацевтические композиции содержащие указанные липосомы, также предложены в данном документе.

[0057] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая ионизируемый бис-альфа, омега-каротиноид, имеющий формулу:

$Q-R_1$ -Полиеновый Каротиноид- $R_1-Q$ , где,

указанный  $R_1$ -Полиеновый Каротиноид- $R_1-Q$  содержит

(a) 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 3-5, 6-8, 9-10 или более 9 сопряженных двойных связей,

(b) замещения метилом или низшим алкилом (C2-C3), и

(c) 1, 2, 3 или более 3 ионизируемых групп; и

$R_1$  представляет собой ионизируемую группу; и

$Q$  представляет собой поливалентный противоион.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанный бис-альфа, омега-каротиноид содержит все транс-сопряженные двойные связи. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный бис-альфа, омега-каротиноид содержит 6-9 сопряженных двойных связей. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный бис-альфа, омега-каротиноид содержит 7 сопряженных двойных связей. Указанный бис-альфа, омега-каротиноид может быть встречающимся в природе или синтетическим. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный бис-альфа, омега-каротиноид является встречающимся в природе. В других вариантах реализации изобретения указанный бис-альфа, омега-каротиноид является синтетическим. В некоторых вариантах реализации изобретения  $R_1$  представляет собой анионную ионизируемую группу. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный бис-альфа, омега-каротиноид содержит ионизируемую группу, выбранную из: карбоксильной группы, сульфонатной группы, сульфатной группы, фосфонатной, фосфатной группы, и гидроксаматного фрагмента. В других вариантах реализации изобретения  $R_1$  представляет собой катионную ионизируемую группу (например, первичную, вторичную или третичную аминогруппу, группу четвертичного аммония, холиновую группу, гуанидиновую группу или имидазоловую группу). В конкретных вариантах реализации изобретения  $R_1$  представляет собой катионную ионизируемую группу, и указанная фармацевтическая композиция по существу не содержит нуклеиновых кислот.

В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катионный противоион. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катион металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный противоион переходного металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катионный противоион. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катион металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой по меньшей мере один член, выбранный из  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$ . В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$  или  $\text{Mg}^{2+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой  $\text{Mg}^{2+}$ . В других вариантах реализации изобретения Q представляет собой трехвалентный катионный противоион, такой как  $\text{Fe}^{3+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный органический катион. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный органический катион, такой как протонированный диамин или протонированный полиамин. Липосомы, содержащие композиции  $\text{R}_1$ -Полиенового Каротиноида- $\text{R}_1$  (например, композиции липосом), и фармацевтические композиции содержащие указанные липосомы, также предложены в данном документе.

[0058] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая ионизируемый бис-альфа, омега-каротиноид, имеющий формулу:  $\text{R}_1$ -Полиеновый Каротиноид- $\text{R}_1$ , где,

указанный бис-альфа, омега-каротиноид содержит:

(a) 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 3-5, 6-8, 9-10 или более 9 сопряженных двойных связей, и

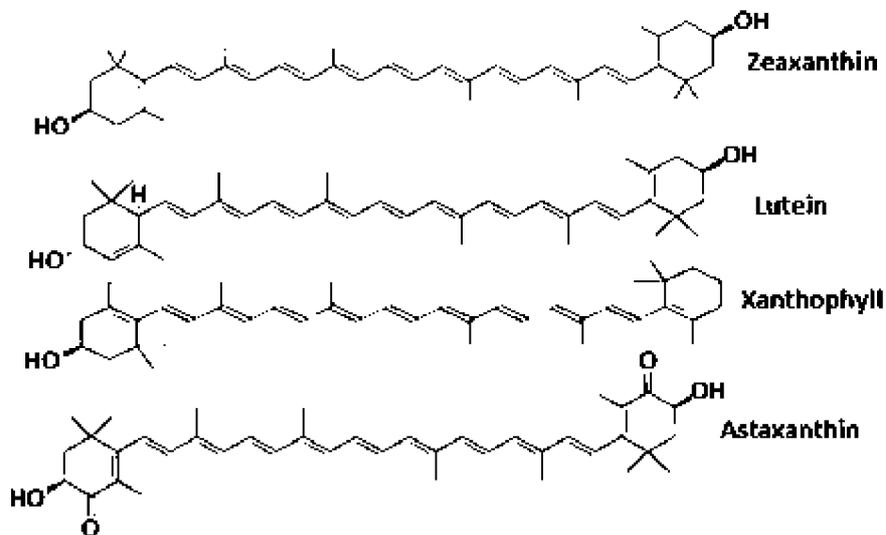
(b) 1, 2, 3 или более 3 ионизируемых групп; и

указанный бис-альфа, омега-каротиноид является необязательно замещенным от 1 до n метиловыми или низшими C1-C3 алкильными замещениями, где n = от 1 до 4; и

$\text{R}_1$  представляет собой полярную группу и/или моноциклическую функциональную группу.

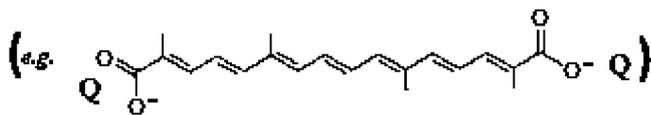
В некоторых вариантах реализации изобретения указанный бис-альфа, омега-каротиноид содержит все транс-сопряженные двойные связи. В некоторых вариантах

реализации изобретения указанный бис-альфа, омега-каротиноид содержит 6-9 сопряженных двойных связей. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный бис-альфа, омега-каротиноид содержит 7 сопряженных двойных связей. Указанный бис-альфа, омега-каротиноид может быть встречающимся в природе или синтетическим. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный бис-альфа, омега-каротиноид является встречающимся в природе. В других вариантах реализации изобретения указанный бис-альфа, омега-каротиноид является синтетическим. В некоторых вариантах реализации изобретения  $R_1$  представляет собой полярную группу. В некоторых вариантах реализации изобретения  $R_1$  представляет собой моноциклическую функциональную группу. В некоторых вариантах реализации изобретения  $R_1$  представляет собой полярную группу и моноциклическую функциональную группу. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный бис-альфа, омега-каротиноид содержит моноциклическую и/или полярную функциональную группу, выбранную из функциональной группы, присутствующей в астаксантине, лютеине, ксантофилле и зеаксантине. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный бис-альфа, омега-каротиноид выбран из астаксантина, лютеина, ксантофилла и зеаксантина (например, как показано ниже).



Липосомы, содержащие композиции бис-альфа, омега-каротиноида (например, композиции липосом), и фармацевтические композиции содержащие указанные липосомы, также предложены в данном документе.

[0059] В некоторых вариантах реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит транс-кроцетин, имеющий формулу: Q-транс-кроцетин-Q

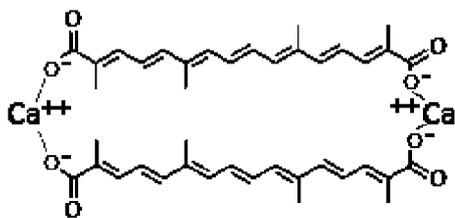


где

Q представляет собой поливалентный катионный противоион.

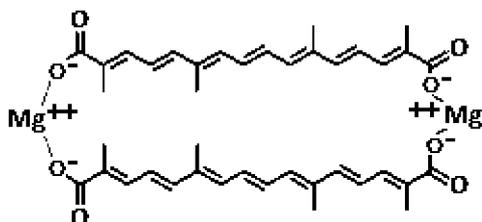
В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катион металла. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катион переходного металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катионный противоион. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катион металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой по меньшей мере один член, выбранный из  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$ . В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$  или  $\text{Mg}^{2+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой  $\text{Mg}^{2+}$ . В других вариантах реализации изобретения Q представляет собой трехвалентный катионный противоион, такой как  $\text{Fe}^{3+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный органический катион. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный органический катион, такой как протонированный диамин. Липосомы, содержащие композиции транс-кроцетина (например, композиции липосом), и фармацевтические композиции содержащие указанные липосомы, также предложены в данном документе.

[0060] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая кальций транс-кроцетинат (СТС). Указанный СТС может существовать в линейной и/или циклической форме (показанной ниже),



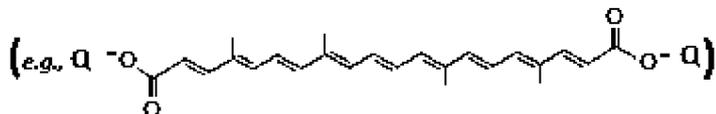
Липосомы, содержащие композиции СТС (например, композиции липосом), и фармацевтические композиции содержащие указанные липосомы, также предложены в данном документе.

[0061] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая магний транс-кроцетинат (МТС). Указанный МТС может существовать в линейной и/или циклической форме (показанной ниже).



Липосомы, содержащие композиции МТС (например, композиции липосом), и фармацевтические композиции содержащие указанные липосомы, также предложены в данном документе.

[0062] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая транс-норбиксин, имеющий формулу: Q-норбиксин-Q



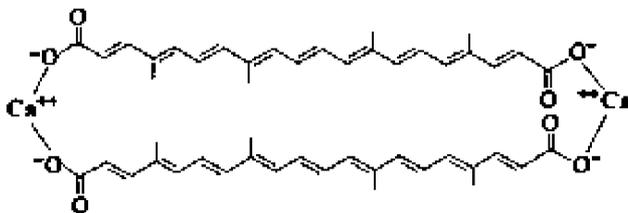
где

Q представляет собой поливалентный катионный противоион.

В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катионный противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катион металла. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катион переходного металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катионный противоион. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катион металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой по меньшей мере один член, выбранный из Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup> и Fe<sup>2+</sup>. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой Ca<sup>2+</sup> или Mg<sup>2+</sup>. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой Ca<sup>2+</sup>. В некоторых вариантах

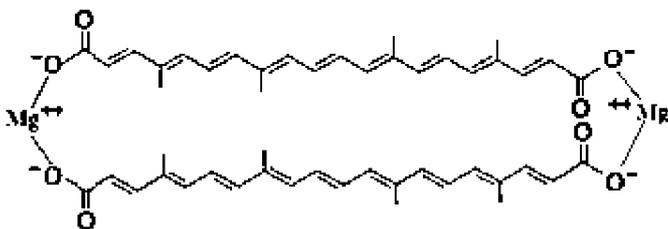
реализации изобретения Q представляет собой  $Mg^{2+}$ . В других вариантах реализации изобретения Q представляет собой трехвалентный катионный противоион, такой как  $Fe^{3+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный органический катион. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный органический катион, такой как протонированный диамин. Липосомы, содержащие композиции транс-норбиксина (например, композиции липосом), и фармацевтические композиции содержащие указанные липосомы, также предложены в данном документе.

[0063] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая кальций транс-норбиксинат (CTN). Указанный CTN может существовать в линейной и/или циклической форме (показанной ниже),



Липосомы, содержащие композиции CTN (например, композиции липосом), и фармацевтические композиции содержащие указанные липосомы, также предложены в данном документе.

[0064] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая магний транс-норбиксинат (MTN). Указанный MTN может существовать в линейной и/или циклической форме (показанной ниже),



Липосомы, содержащие композиции MTN (например, композиции липосом), и фармацевтические композиции содержащие указанные липосомы, также предложены в данном документе.

[0065] Указанные липиды и другие компоненты липосом, содержащиеся в указанных композициях липосом, могут представлять собой любой липид, комбинацию липидов и соотношение, или комбинацию липидов и других компонентов

липосом и их соответствующих соотношений, известных в данной области техники. Тем не менее, специалисту в данной области техники будет понятно, что инкапсуляция в липосомы любого конкретного лекарственного средства, такого как, без ограничения, композиции каротиноидов, обсуждаемые в данном документе, может включать значительное рутинное экспериментирование для достижения пригодного и функционального состава липосом. В целом, предложенные липосомы могут иметь любую структуру липосом, например, структуры, имеющие внутреннее пространство, огражденное от внешней среды одним или более липидными бислоями, или любую микрокапсулу, которая имеет полупроницаемую мембрану с липофильной центральной частью, где мембрана ограждает внутреннее пространство. Липидный бислой может представлять собой любое расположение амфифильных молекул, характеризующихся гидрофильной частью (гидрофильным фрагментом) и гидрофобной частью (гидрофобным фрагментом). Как правило, амфифильные молекулы в бислое расположены в двумерных листах, в которых гидрофобные фрагменты ориентированы внутрь листа, а гидрофильные фрагменты ориентированы наружу. Амфифильные молекулы, образующие предложенные липосомы, могут представлять собой любые известные или открытые позже амфифильные молекулы, например, липиды синтетического или природного происхождения или биосовместимые липиды. Указанные липосомы могут быть также образованы амфифильными полимерами и поверхностно-активными веществами, например, полимеросомы и ниосомы. Для целей данного описания, без ограничения, данные материалы, образующие липосомы, также упоминаются как «липиды».

[0066] Составы композиции липосом, предложенные в данном документе, могут находиться в жидкой или сухой форме, например, в виде сухого порошка или сухого осадка. Указанный сухой порошок или сухой осадок может быть подвергнут первичной сушке, например, при условиях лиофилизации или, необязательно, указанный сухой осадок или сухой порошок может быть подвергнут или только первичной сушке или как первичной, так и вторичной сушке. В сухом виде указанный порошок или осадок может содержать, например, от 1 % до 6 % влаги, например, в диапазоне от 2 % до 5 % влаги или от 2 % до 4 % влаги. Один из примеров способов сушки представляет собой лиофилизацию (также называемую лиофильной сушкой или сушкой замораживанием). Любые из композиций и способов по данному описанию могут содержать липосомы, лиофилизированные липосомы или липосомы, восстановленные из лиофилизированных липосом. В некоторых вариантах реализации

изобретения указанные композиции и способы содержат один или более лиопротекторов или криопротекторов. Данные протекторы, как правило, представляют собой полиоксисоединения, такие как сахара (моно-, ди- и полисахариды), многоатомные спирты и их производные, глицерин или полиэтиленгликоль, трегалозу, мальтозу, сахарозу, глюкозу, лактозу, декстран, глицерин или аминокгликозиды. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные лиопротекторы или криопротекторы содержат до 10 % или до 20 % раствора снаружи липосомы, внутри липосомы, или как снаружи, так и внутри липосомы.

[0067] Свойства липосом зависят от природы липидов, используемых для получения липосом. Широкое разнообразие липидов было использовано для получения липосом. Они включают катионные, анионные и нейтральные липиды. В некоторых вариантах реализации изобретения указанные липосомы, содержащие композиции каротиноидов (например, СТС и МТС) являются анионными или нейтральными. В других вариантах реализации изобретения предложенные липосомы являются катионными. Определение заряда (например, анионного, нейтрального или катионного) может обычно производиться путем измерения дзета-потенциала липосомы. Дзета-потенциал липосомы может быть положительным, нулевым или отрицательным. В некоторых вариантах реализации изобретения дзета-потенциал указанной липосомы равен от -150 до 150 мВ или от -50 до 50 мВ, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный дзета-потенциал липосомы менее или равен нулю. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный дзета-потенциал липосомы равен от -150 до 0 мВ, от -50 до 0 мВ, от -40 до 0 мВ, от -30 до 0 мВ, от -25 до 0 мВ, от -20 до 0 мВ, от -10 до 0 мВ, от -9 до 0 мВ, от -8 до 0 мВ, от -7 до 0 мВ, от -6 до 0 мВ, от -5 до 0 мВ, от -4 до 0 мВ, от -3 до 0 мВ, от -2 до 0 мВ, от -1 до 0 мВ или от -8 до 2 мВ, или любой диапазон между этими значениями. В других вариантах реализации изобретения указанный дзета-потенциал липосомы более нуля. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный дзета-потенциал липосомы равен от 0,2 до 150 мВ, от 1 до 50 мВ, от 1 до 40 мВ, от 1 до 30 мВ, от 1 до 25 мВ, от 1 до 20 мВ, от 1 до 15 мВ, от 1 до 10 мВ, от 1 до 5 мВ, от 2 до 10 мВ, от 3 до 10 мВ, от 4 до 10 мВ или от 5 до 10 мВ, или любой диапазон между этими значениями.

[0068] В некоторых вариантах реализации изобретения катионные липиды применяют для получения катионных липосом, которые обычно применяют в качестве агентов трансфекции генов. Положительный заряд катионных липосом позволяет

взаимодействие с отрицательным зарядом на поверхности клеток. После присоединения данных катионных липосом к клетке, указанная липосома транспортируется внутрь клетки путем эндоцитоза.

[0069] В некоторых предпочтительных вариантах реализации изобретения применяют от нейтральной до анионной липосомы. В предпочтительном варианте реализации изобретения применяют анионную липосому. Использование смеси, например, нейтральных липидов, таких как HSPC, и анионных липидов, таких как ПЭГ-DSPE, приводит к образованию анионных липосом, которые менее вероятно неспецифически связываются с нормальными клетками. Специфическое связывание с клетками опухоли может быть достигнуто путем применения антитела, таргетирующего опухоль, такого как, например, антитела к фолатному рецептору, включающие, например, антитело к фолатному рецептору альфа, антитело к фолатному рецептору бета и/или антитело к фолатному рецептору дельта.

[0070] В качестве примера, по меньшей мере, один (или некоторые) из липидов является/являются амфифильными липидами, определенными как имеющие гидрофильную и гидрофобную часть (как правило, гидрофильную головку и гидрофобный хвост). Указанная гидрофобная часть, как правило, ориентирована по направлению к гидрофобной фазе (например, внутрь бислоя), в то время как гидрофильная часть, как правило, ориентирована по направлению к водной фазе (например, наружу бислоя). Гидрофильная часть может содержать полярные или заряженные группы, такие как углеводные, фосфатные, карбоксильные, сульфатные, амино, сульфгидрильные, нитро, гидроксильные и другие подобные группы. Указанная гидрофобная часть может содержать неполярные группы, которые включают, без ограничения, длинноцепочечные насыщенные и ненасыщенные алифатические углеводородные группы и группы, замещенные одной или более ароматической, циклоалифатической или гетероциклической группой(группами). Примеры амфипатических соединений включают, но не ограничиваются ими, фосфолипиды, аминолипиды и сфинголипиды.

[0071] Как правило, например, указанные липиды представляют собой фосфолипиды. Фосфолипиды включают, без ограничения, фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилглицерин, фосфатидилинозит, фосфатидилсерин и тому подобное. Следует понимать, что могут быть использованы другие компоненты липидной мембраны, такие как холестерин, сфингомиелин и кардиолипин.

[0072] Липиды, содержащиеся в липосомах, предложенных в данном документе, могут представлять собой анионные и нейтральные (включая цвиттерионные и полярные) липиды, включающие анионные и нейтральные фосфолипиды. Нейтральные липиды существуют в незаряженной или нейтральной цвиттерионной форме при выбранном значении pH. При физиологическом pH такие липиды включают, например, диолеилфосфатидилглицерин (DOPG), диацилфосфатидилхолин, диацилфосфатидилэтанолламин, церамид, сфингомиелин, цефалин, холестерин, цереброзиды и диацилглицерины. Примеры цвиттерионных липидов включают, без ограничения, диолеилфосфатидилхолин (DOPC), димиристоилфосфатидилхолин (DMPC) и диолеилфосфатидилсерин (DOPS). Анионные липиды отрицательно заряжены при физиологическом pH. Данные липиды включают, без ограничения, фосфатидилглицерин, кардиолипин, диацилфосфатидилсерин, диацилфосфатидную кислоту, N-додеканоилфосфатидилэтанолламин, N-сукцинилфосфатидилэтанолламин, N-глутарилфосфатидилэтанолламин, лизилфосфатидилглицерины, пальмитоилолеилфосфатидилглицерин (POPG) и другие анионные модифицирующие группы, присоединенные к нейтральным липидам.

[0073] В совокупности, анионные и нейтральные липиды, упоминаются в данном документе как некатионные липиды. Такие липиды могут содержать фосфор, но они не ограничиваются этим. Примеры некатионных липидов включают лецитин, лизолецитин, фосфатидилэтанолламин, лизофосфатидилэтанолламин, диолеилфосфатидилэтанолламин (DOPE), дипальмитоилфосфатидилэтанолламин (DPPE), димиристоилфосфатидилэтанолламин (DMPE), дистеароилфосфатидил-1-этанолламин (DSPE), пальмитоилолеилфосфатидилэтанолламин (POPE) пальмитоилолеилфосфатидилхолин (POPC), фосфатидилхолин яиц (EPC), дистеароилфосфатидилхолин (DSPC), диолеилфосфатидилхолин (DOPC), дипальмитоилфосфатидилхолин (DPPC), диолеилфосфатидилглицерин (DOPG), дипальмитоилфосфатидилглицерин (DPPG), пальмитоилолеилфосфатидилглицерин (POPG), 16-0-монометил PE, 16-0-диметил PE, 18-1-транс-PE, пальмитоилолеилфосфатидилэтанолламин (POPE), 1-стеароил-2-олеилфосфатидилэтанолламин (SOPE), фосфатидилсерин, фосфатидилинозит, сфингомиелин, цефалин, кардиолипин, фосфатидную кислоту, цереброзиды, дицетилфосфат и холестерин.

[0074] Указанные липосомы могут быть собраны любым способом сборки липосом с использованием компонентов липосом (также называемых липосомальными компонентами), известным в данной области техники. Компоненты липосом включают, например, липиды, такие как DSPE, HSPE, холестерин и производные данных компонентов. Другие пригодные липиды являются коммерчески доступными, например, у Avanti Polar Lipids, Inc. (Алабастер, Алабама, США). Неполный список доступных отрицательно или нейтрально заряженных липидов, пригодных для получения анионных липосом, может представлять собой, например, по меньшей мере, одно из следующего: DLPC, DMPC, DPPC, DSPC, DOPC, DMPE, DPPE, DOPE, DMPA•Na, DPPA•Na, DOPA•Na, DMPG•Na, DPPG•Na, DOPG•Na, DMPS•Na, DPPS•Na, DOPS•Na, DOPE-Глутарил•(Na)<sub>2</sub>, тетрамиристоил кардиолипин •(Na)<sub>2</sub>, DSPE-mPEG-2000•Na, DSPE-mPEG-5000•Na, и C3-малеимид PEG-2000•Na.

[0075] В некоторых вариантах реализации изобретения указанные предложенные композиции составлены в липосому, содержащую катионный липид. В одном варианте реализации изобретения указанный катионный липид выбран из, но не ограничиваясь этим, катионных липидов, описанных в международных патентных Publ. № WO2012/040184, WO2011/153120, WO2011/149733, WO2011/090965, WO2011/043913, WO2011/022460, WO2012/061259, WO2012/054365, WO2012/044638, WO2010/080724, WO2010/21865 и WO2008/103276, Патентах США № 7893302, 7404969 и 8283333, и Publ. на патент США № US20100036115 и US20120202871; каждая из которых включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки. В другом варианте реализации изобретения указанный катионный липид может быть выбран из, но не ограничиваясь этим, формулы А, описанной в международных патентных Publ. № WO2012/040184, WO2011/153120, WO2011/149733, WO2011/090965, WO2011/043913, WO2011/022460, WO2012/061259, WO2012/054365 и WO2012/044638; каждая из которых включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки. В еще одном варианте реализации изобретения указанный катионный липид может быть выбран из, но не ограничиваясь ими, формулы CLI-CLXXIX Международной Заявки № WO2008103276, формулы CLI-CLXXIX патента США № 7893302, формулы CLI-CLXXXXII патента США № 7404969 и формулы I-VI заявки на патент США № US20100036115; каждая из которых включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки. В качестве неограничивающего примера, указанный катионный липид может быть выбран из группы, включающей (20Z,23Z)-N,N-диметилнонакоса-20,23-диен-10-амин, (17Z, 20Z)-

N,N-диметилгексакоса-17,20-диен-9-амин, (1Z,19Z)-N,N-диметилпентакоса-16,19-диен-8-амин, (13Z, 16Z)-N,N-диметилдокоса-13,16-диен-5-амин, (12Z,15Z)-N,N-диметилгенэйкоса-12,15-диен-4-амин, (14Z,17Z)-N,N-диметилтрикоса-14,17-диен-6-амин, (15Z,18Z)-N,N-диметилтетракоса-15,18-диен-7-амин, (18Z,21Z)-N,N-диметилгептакоса-18,21-диен-10-амин, (15Z, 18Z)-N,N-диметилтетракоса-15,18-диен-5-амин, (14Z,17Z)-N,N-диметилтрикоса-14,17-диен-4-амин, (19Z,22Z)-N,N-диметилпентакоса-19,22-диен-9-амин, (18Z,21 Z)-N,N-диметилгептакоса-18,21-диен-8-амин, (17Z,20Z)-N,N-диметилгексакоса-17,20-диен-7-амин, (16Z,19Z)-N,N-диметилпентакоса-16,19-диен-6-амин, (22Z,25Z)-N,N-диметилгептакозанта-22,25-диен-10-амин, (21 Z,24Z)-N,N-диметилтриаконта-21,24-диен-9-амин, (18Z)-N,N-диметилгептакос-18-ен-10-амин, (17Z)-N,N-диметилгексакос-17-ен-9-амин, (19Z,22Z)-N,N-диметилпентакоса-19,22-диен-7-амин, N,N-диметилгептакозан-10-амин, (20Z,23Z)-N-этил-N-метилнонакоса-20,23-диен-10-амин, 1-[(11Z,14Z)-1-нонилэйкоса-11,14-диен-1-ил]пирролидин, (20Z)-N,N-диметилгептакос-20-ен-10-амин, (15Z)-N,N-диметилгептакос-15-ен-10-амин, (14Z)-N,N-диметилнонакос-14-ен-10-амин, (17Z)-N,N-диметилнонакос-17-ен-10-амин, (24Z)-N,N-диметилтриаконт-24-ен-10-амин, (20Z)-N,N-диметилнонакос-20-ен-10-амин, (22Z)-N,N-диметилгептакозанта-22-ен-10-амин, (16Z)-N,N-диметилпентакос-16-ен-8-амин, (12Z,15Z)-N,N-диметил-2-нонилгенэйкоса-12,15-диен-1-амин, (13Z,16Z)-N,N-диметил-3-нонилдокоса-13,16-диен-1-амин, N,N-диметил-1-[(1S,2R)-2-октилциклопропил]гептадекан-8-амин, 1-[(1S,2R)-2-гексилциклопропил]-N,N-диметилнонадекан-10-амин, N,N-диметил-1-[(1S,2R)-2-октилциклопропил]нонадекан-10-амин, N,N-диметил-21-[R1S,2R)-2-октилциклопропил]генэйкозан-10-амин, N,N-диметил-1-[(1S,2S)-2-[(1R,2R)-2-пентилциклопропил]метил}циклопропил]нонадекан-10-амин, N,N-диметил-1-[(1S,2R)-2-октилциклопропил]гексадекан-8-амин, N,N-диметил-[(1R,2S)-2-ундецилциклопропил]тетрадекан-5-амин, N,N-диметил-3-{7-[(1S, 2R)-2-октилциклопропил]гептил}додекан-1-амин, 1-[(1R,2S)-2-гептилциклопропил]-N,N-диметилпентадекан-9-амин, 1-[(1S,2R)-2-децилциклопропил]-N,N-диметилпентадекан-6-амин, N,N-диметил-1-[(1S, 2R)-2-октилциклопропил]пентадекан-8-амин, R-N,N-диметил-1-[(9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси]-3-(октилокси)пропан-2-амин, S-N,N-диметил-1-[(9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси]-3-(октилокси)пропан-2-амин, 1-{2-[(9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси]-1-[(октилокси)метил]этил}пирролидин, (2S)-N,N-диметил-1-[(9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси]-3-[(5Z)-окт-5-ен-1-илокси]пропан-2-амин, 1-{2-[(9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси]-1-

[(октилокси)метил]этил}азетидин, (2S)-1-(гексилокси)-N,N-диметил-3-[(9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси]пропан-2-амин, (2S)-1-(гептилокси)-N,N-диметил-3-[(9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси]пропан-2-амин, N,N-диметил-1-(нонилокси)-3-[(9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси]пропан-2-амин, N,N-диметил-1-[(9Z)-октадец-9-ен-1-илокси]-3-(октилокси)пропан-2-амин; (2S)-N,N-диметил-1-[(6Z,9Z,12Z)-октадека-6,9,12-триен-1-илокси]-3-(октилокси)пропан-2-амин, (2S)-1-[(11Z,14Z)-эйкоса-11,14-диен-1-илокси]-N,N-диметил-3-(пентилокси)пропан-2-амин, (2S)-1-(гексилокси)-3-[(11Z,14Z)-эйкоса-11,14-диен-1-илокси]-N,N-диметилпропан-2-амин, 1-[(11Z,14Z)-эйкоса-11,14-диен-1-илокси]-N,N-диметил-13-(октилокси)пропан-2-амин, 1-[(13Z,16Z)-докоса-13,16-диен-1-илокси]-N,N-диметил-3-(октилокси)пропан-2-амин, (2S)-1-[(13Z,16Z)-докоса-13,16-диен-1-илокси]-3-(гексилокси)-N,N-диметилпропан-2-амин, (2S)-1-[(13Z)-докос-13-ен-1-илокси]-3-(гексилокси)-N,N-диметилпропан-2-амин, 1-[(13Z)-докос-13-ен-1-илокси]-N,N-диметил-3-(октилокси)пропан-2-амин, 1-[(9Z)-гексадец-9-ен-1-илокси]-N,N-диметил-3-(октилокси)пропан-2-амин, (2R)-N,N-диметил-N(1-метилоктил)окси]-3-[(9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси]пропан-2-амин, (2R)-1-[(3,7-диметилоктил)окси]-N,N-диметил-3-R9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илоксилпропан-2-амин, N,N-диметил-1-(октилокси)-3-({8-[(1S,2S)-2-{{[(1R,2R)-2-пентилциклопропил]метил}циклопропил]октил}окси)пропан-2-амин, N,N-диметил-1-{{[-(2-октилциклопропил)октил]окси}-3-(октилокси)пропан-2-амин и (11E,20Z,23Z)-N,N-диметилнонакоса-11,20,2-триен-10-амин или их фармацевтически приемлемые соли или кислоты, или их стереоизомеры.

[0076] В одном варианте реализации изобретения указанный липид может представлять собой расщепляемый липид, такой как описанные в международной Publ. № WO2012/170889, которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

[0077] Указанный катионный липид обычно может быть синтезирован способами, известными в данной области техники (см., например, международные Publ. № WO2012/040184, WO2011/153120, WO2011/149733, WO2011/090965, WO2011/1043913, WO2011/022460, WO2012/061259, WO2012/054365, WO2012/044638, WO2010/080724 и WO2010/21865; каждая из которых включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

[0078] Производные липидов могут включать, например, по крайней мере, конъюгат (предпочтительно ковалентной связью) одного или более стерических стабилизаторов и/или функциональных групп с компонентом липосом, после чего

указанные стерические стабилизаторы и/или функциональные группы должны рассматриваться как часть компонентов липосом. Функциональные группы включают группы, которые могут быть использованы для прикрепления компонента липосом к другой части молекулы, например, белка. Такие функциональные группы включают, по крайней мере, малеимид. Данные стерические стабилизаторы включают по меньшей мере один из группы, включающей полиэтиленгликоль (ПЭГ); поли-L-лизин (PLL); моносиалоганглиозид (GM1); поли(винилпирролидон) (PVP); поли(акриламид) (PAA); поли(2-метил-2-оксазолин); поли(2-этил-2-оксазолин); фосфатидилполиглицерин; поли[N-(2-гидроксипропил)метакриламид]; амфифильные поли-N-винилпирролоны; полимер на основе L-аминокислоты; и поливиниловый спирт.

[0079] В некоторых вариантах реализации изобретения предложенные композиции каротиноидов составлены в виде липидно-поликатионного комплекса. Формирование липидно-поликатионного комплекса может быть осуществлено способами, известными в данной области техники и/или как описано в заявке на патент США № 2012/0178702, которая включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме. В качестве неограничивающего примера, указанный поликатион может включать катионный пептид или полипептид, такой как, но не ограничиваясь ими, полилизин, полиорнитин и/или полиаргинин и катионные пептиды, описанные в международной заявке на патент WO2012/013326; которая включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме. В другом варианте реализации изобретения предложенную композицию каротиноида составляют в липидно-поликатионном комплексе, который дополнительно включает нейтральный липид, такой как, но не ограничиваясь ими, холестерин или диолеилфосфатидилэтаноламин (DOPE).

[0080] Так как компоненты липосомы могут включать любую молекулу(молекулы) (т. е., химическое соединение/реагент/белок), которая связана с ними, в некоторых вариантах реализации изобретения указанные компоненты предложенных липосом включают, по меньшей мере, член, выбранный из: DSPE, DSPE-PEG, DSPE-малеимида, HSPC; HSPC-PEG; HSPC-малеимида; холестерина; холестерин-PEG; и холестерин-малеимида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанные компоненты предложенных липосом включают DSPE, DSPE-PEG, DSPE-малеимид, HSPC; HSPC-PEG; HSPC-малеимид; холестерин; холестерин-PEG; и холестерин-малеимид. В предпочтительном варианте реализации изобретения

указанные компоненты липосом, которые составляют указанную липосому, содержат DSPE; DSPE-FITC; DSPE-малеимид; холестерин; и HSPC.

[0081] В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные липосомы композиций липосом, предложенных в данном документе, включают окисленные фосфолипиды. В некоторых вариантах реализации изобретения указанные липосомы содержат окисленный фосфолипид, выбранный из фосфатидилсеринов, фосфатидилинозитов, фосфатидилэтаноламинов, фосфатидилхолинов и 1-пальмитоил-2-арахидоноил-sn-глицеро-2-фосфата. В некоторых вариантах реализации изобретения указанные фосфолипиды имеют ненасыщенные связи. В некоторых вариантах реализации изобретения указанные фосфолипиды представляют собой фосфолипиды, содержащие арахидоновую кислоту. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные фосфолипиды являются sn-2-окисленными. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные фосфолипиды не фрагментированы.

[0082] В некоторых вариантах реализации изобретения указанные липосомы описанных композиций липосом содержат окисленные 1-пальмитоил-2-арахидоноил-sn-глицеро-3-фосфорилхолин (OxPAPC). Как используется в данном документе, термин «OxPAPC» относится к липидам, генерируемым окислением 1-пальмитоил-2-арахидонил-sn-глицеро-3-фосфорилхолина (PAPC), что приводит к смеси окисленных фосфолипидов, содержащих фрагментированные или полноразмерные окисленные sn-2 остатки. Хорошо охарактеризованные фрагментированные окисленные соединения содержат пятиуглеродный sn-2 остаток, несущий омега-альдегидные или омега-карбоксильные группы. Окисление арахидоновых кислотных остатков также генерирует фосфолипиды, содержащие эстерифицированные изопростаны. OxPAPC включает соединения HODiA-PC, KODiA-PC, HOOA-PC и KOOA-PC среди других окисленных продуктов, присутствующих в OxPAPC. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные OxPAPC представляют собой фосфолипиды, содержащие эпоксиизопростан. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный OxPAPC представляет собой 1-пальмитоил-2-(5,6-эпоксиизопростан E2)-sn-глицеро-3-фосфохолин (5,6 PEIPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксициклопентенон)-sn-глицеро-3-фосфорилхолин (PEPC) и/или 1-пальмитоил-2-(эпоксиизопростан E2)-sn-глицеро-4-фосфохолин (PEIPC). В некоторых вариантах реализации изобретения указанные фосфолипиды имеют ненасыщенные связи. В некоторых вариантах реализации изобретения указанные фосфолипиды представляют собой фосфолипиды, содержащие арахидоновую кислоту. В дополнительных вариантах реализации

изобретения указанные фосфолипиды являются sn-2-окисленными. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные фосфолипиды не фрагментированы.

[0083] В некоторых вариантах реализации изобретения указанные липосомы описанных композиций липосом содержат липид, выбранный из группы, включающей 1-пальмитоил-2-глутароил-sn-глицеро-3-фосфохолин (PGPC); 1-пальмитоил-2-(9'-оксоноаноил)-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-арахидоноил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-миристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-гексадецил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-азелаоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; и 1-пальмитоил-2-ацетоил-sn-глицеро-3-фосфохолин. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит PGPC.

[0084] В некоторых вариантах реализации изобретения, по меньшей мере, один компонент липидного бислоя липосомы является функционализированным (или реакционноспособным). Как используется в данном документе, функционализированный компонент представляет собой компонент, который содержит реакционноспособную группу, которая может использоваться для сшивки реагентов и фрагментов к липиду. Если указанный липид является функционализированным, любая липосома, которую он образует, также является функционализированной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная реакционноспособная группа представляет собой такую, которая будет реагировать с сшивающим агентом (или другим фрагментом) с образованием сшивок. Реакционноспособная группа в липидном бислое липосомы расположена в любой точке липида, которая позволяет контакт с сшивателем и возможность сшивки с другим фрагментом (например, стерическим стабилизатором или таргетирующим фрагментом). В некоторых вариантах реализации изобретения указанная реакционноспособная группа находится в группе головки липида, включающего, например, фосфолипид. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная реакционноспособная группа представляет собой малеимидную группу. Малеимидные группы могут быть сшиты друг с другом при наличии дитиольных сшивателей, включающих, но не ограничиваясь ими, дитиотреитол (DTT).

[0085] Следует понимать, что предусмотрено применение других функционализированных липидов, других реакционноспособных групп и других сшивателей, помимо описанных выше. В дополнение к малеимидным группам, другие примеры предусмотренных реакционноспособных групп включают, но не ограничиваются ими, другие тиоловые реакционноспособные группы, аминокислоты,

такие как первичные и вторичные амины, карбоксильные группы, гидроксильные группы, альдегидные группы, алкиновые группы, азидные группы, карбонилы, галогенацетильные группы (например, йодацетил), имидоэфирные группы, N-гидроксисукцинимидные эфиры, сульфгидрильные группы и пиридилдисульфидные группы.

[0086] Функционализированные и нефункционализированные липиды доступны у ряда коммерческих источников, в том числе Avanti Polar Lipids (Алабама) и Lipoid LLC (Ньюарк, Нью-Джерси).

[0087] В некоторых вариантах реализации изобретения указанные липосомы содержат стерический стабилизатор, который увеличивает их долговечность в кровотоке. Один или более стерических стабилизаторов, таких как гидрофильный полимер (полиэтиленгликоль (ПЭГ)), гликолипид (моносиалоганглиозид (GM1)) или другие, занимает пространство непосредственно рядом с поверхностью липосомы и исключает другие макромолекулы из данного пространства. Следовательно, доступ и связывание опсоинов плазмы крови к поверхности липосомы затруднены, и, таким образом, взаимодействие макрофагов с такими липосомами или любой другой клиринговый механизм блокируется и долговечность липосом в кровотоке увеличивается. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный стерический стабилизатор множества стерических стабилизаторов представляет собой ПЭГ или комбинацию, содержащую ПЭГ. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный стерический стабилизатор представляет собой ПЭГ или комбинацию, содержащую ПЭГ, со среднечисловой молекулярной массой ( $M_n$ ) от 200 до 5000 Дальтон. Данные ПЭГ могут иметь любую структуру, такую как линейные, разветвленные, звездоподобные или гребенчатые, и являться коммерчески доступными.

[0088] В некоторых вариантах реализации изобретения липосомы предложенных композиций липосом являются пэгилированными (например, пэгилированный липосомальный СТС и пэгилированный липосомальный МТС). В некоторых вариантах реализации изобретения указанные пэгилированные липосомы являются водорастворимыми. То есть, указанные пэгилированные липосомы находятся в виде водного раствора.

[0089] Диаметр предложенных липосом конкретно не ограничен. В некоторых вариантах реализации изобретения указанные липосомы имеют средний диаметр, например, от 20 нм до 500 нм (нанометров), от 20 нм до 200 нм или любой диапазон

между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанные липосомы имеют средний диаметр от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями.

[0090] В некоторых вариантах реализации изобретения указанный рН растворов, содержащих композицию липосом представляет собой рН от 2 до 8 или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный рН растворов, содержащих композицию липосом представляет собой рН от 5 до 8 или от 6 до 7, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный рН растворов, содержащих композицию липосом представляет собой рН от 6 до 7 или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный рН растворов, содержащих композицию липосом представляет собой рН от 6 до 7,5, от 6,5 до 7,5, от 6,7 до 7,5 или от 6,3 до 7,0, или любой диапазон между этими значениями.

[0091] В дополнительных вариантах реализации изобретения предложенная композиция липосом содержит буфер. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный буфер выбран из HEPES, цитрата или фосфата натрия (например, одноосновного и/или двухосновного фосфата натрия). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный буфер представляет собой HEPES. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный буфер представляет собой цитрат. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный буфер представляет собой фосфат натрия (например, одноосновный и/или двухосновный фосфат натрия). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный буфер присутствует в концентрации от 15 до 200 мМ или любой диапазон между этими значениями. В еще дополнительных вариантах реализации изобретения указанный буфер присутствует в концентрации от 5 до 200 мМ, от 15 до 200 мМ, от 5 до 100 мМ, от 15 до 100 мМ, от 5 до 50 мМ, от 15 до 50 мМ, от 5 до 25 мМ, от 5 до 20 мМ, от 5 до 15 мМ или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный буфер представляет собой HEPES в концентрации от 5 до 200 мМ или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный буфер представляет собой цитрат в концентрации от 5 до 200 мМ или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный буфер представляет собой фосфат натрия в концентрации от 5 до 200 мМ или любой диапазон между этими значениями.

[0092] В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит один или более лиопротекторов или криопротекторов. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный криопротектор представляет собой маннит, трегалозу, сорбит или сахарозу. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный лиопротектор и/или криопротектор присутствует в указанной композиции в концентрации от 1 до 20 % или от 5 до 20 % по массе, или любой диапазон между этими значениями.

[0093] В дополнительных вариантах реализации изобретения предложенная композиция липосом содержит изотонический агент. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная концентрация (процентов по массе) изотонического агента представляет собой 0,1-20 %, 1-20 %, 0,5-15 %, 1-15 % или 1-50 %, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит сахар (например, трегалозу, мальтозу, сахарозу, лактозу, маннозу, маннит, глицерин, декстрозу, фруктозу и т. п.). В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная концентрация (процентов по массе) сахара представляет собой 0,1-20 %, 1-20 %, 0,5-15 %, 1-15 % или 1-50 %, или любой диапазон между этими значениями.

[0094] В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная композиция липосом содержит трегалозу. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная концентрация (процентов по массе) трегалозы представляет собой 0,1-20 %, 1-20 %, 0,5-15 %, 1-15 %, 5-20 % или 1-50 %, или любой диапазон между этими значениями. В еще дополнительных вариантах реализации изобретения указанная концентрация (процентов по массе) трегалозы представляет собой 1-15 % или любой диапазон между этими значениями. В дополнительном варианте реализации изобретения трегалоза присутствует в концентрации от около 5% до 20% по массе трегалозы или любой комбинации одного или более лиопротекторов или криопротекторов в общей концентрации от 5% до 20%. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный pH композиции липосом представляет собой pH от 6 до 7,5, от 6,5 до 7,5, от 6,7 до 7,5 или от 6,3 до 7,0, или любой диапазон между этими значениями.

[0095] В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит декстрозу. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная концентрация (процентов по массе) декстрозы представляет собой 0,1-20 %, 1-20 %, 0,5-15 %, 1-15 %, 5-20 % или 1-50 %, или любой диапазон между этими

значениями. В конкретных вариантах реализации изобретения указанная концентрация (процентов по массе) декстрозы представляет собой 1-20 % или любой диапазон между этими значениями. В дополнительном варианте реализации изобретения декстроза присутствует в концентрации от 1% до 20% по массе декстрозы или любой комбинации одного или более лиопротекторов или криопротекторов в общей концентрации от 1 % до 20 % или от 5 % до 20 %, или любой диапазон между этими значениями.

[0096] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция липосом, содержащая липосому, инкапсулирующую соль ионизируемого каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция содержит липосому, инкапсулирующую соль ионизируемого каротиноида по любому из пп. [1]-[28]. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома является пэгилированной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома является таргетированной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома является непэгилированной и таргетированной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома является непэгилированной и нетаргетированной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000, менее 10000 или менее 5000 молекул указанного ионизируемого каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул указанного ионизируемого каротиноида, или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный инкапсулированный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-кроцетин, транс-норбиксин или ионизируемый каротиноид, предложенный в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома инкапсулирует множество каротиноидов. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома инкапсулирует множество ионизируемых каротиноидов (например, комбинацию транс-кроцетина, транс-норбиксина и/или одного или более ионизируемых каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе).

[0097] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция липосом, содержащая непэгилированную нетаргетированную липосому, инкапсулирующую соль ионизируемого каротиноида. В некоторых

вариантах реализации изобретения указанная липосома инкапсулирует соль ионизируемого каротиноида по любому из пп. [1]-[28]. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный инкапсулированный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-кроцетин. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный инкапсулированный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-норбиксин. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный инкапсулированный ионизируемый каротиноид представляет собой каротиноид, предложенный в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная нетаргетированная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000, менее 10000 или менее 5000 молекул указанного каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул указанного ионизируемого каротиноида, или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома инкапсулирует множество каротиноидов. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома инкапсулирует множество ионизируемых каротиноидов (например, комбинацию транс-кроцетина, транс-норбиксина и/или одного или более ионизируемых каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе).

[0098] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция липосом, содержащая пэгилированную липосому, инкапсулирующую соль ионизируемого каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома инкапсулирует соль ионизируемого каротиноида по любому из пп. [1]-[28]. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000, менее 10000 или менее 5000 молекул указанного ионизируемого каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул указанного каротиноида, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный инкапсулированный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-кроцетин. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный инкапсулированный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-норбиксин. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный инкапсулированный ионизируемый

каротиноид представляет собой каротиноид, предложенный в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная липосома инкапсулирует множество каротиноидов. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома инкапсулирует множество ионизируемых каротиноидов (например, комбинацию транс-кроцетина, транс-норбиксина и/или одного или более ионизируемых каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе). В некоторых вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная липосома является таргетированной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная липосома является нетаргетированной.

[0099] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция липосом, содержащая таргетированную липосому, инкапсулирующую соль ионизируемого каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома инкапсулирует соль ионизируемого каротиноида по любому из пп. [1]-[28]. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная таргетированная липосома содержит таргетирующий фрагмент, имеющий специфическое сродство к поверхностному антигену на клетке-мишени, представляющей интерес. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой полипептид. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент связывает поверхностный антиген с константой диссоциации ( $K_d$ ) в диапазоне от  $50 \times 10^{-12}$  до  $10 \times 10^{-6}$  определенной анализом BIACORE®. В дополнительных вариантах реализации изобретения  $K_d$  определяют методом поверхностного плазмонного резонанса, в которой антиген, содержащий эпитоп, является иммобилизованным, таргетирующий фрагмент служит анализом, и используются следующие условия: 10 mM буфера MES, 0,05 % полиоксиэтиленсорбитана монолаурат и 150 mM NaCl при 37 °C. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент включает белок или фолатный конъюгат со специфическим сродством с одним или более фолатным рецептором, выбранным из группы, включающей: фолатный рецептор альфа (FR- $\alpha$ ), фолатный рецептор бета (FR- $\beta$ ) и фолатный рецептор дельта (FR- $\delta$ ). В

некоторых вариантах реализации изобретения указанная таргетированная липосома содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями. Указанная таргетированная липосома может являться пэгилированной или непэгилированной.

[0100] В некоторых вариантах реализации изобретения указанная таргетированная липосома является пэгилированной и инкапсулирует соль ионизируемого каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома инкапсулирует соль ионизируемого каротиноида по любому из пп. [1]-[28]. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная таргетированная пэгилированная липосома содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная таргетированная пэгилированная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул указанного ионизируемого каротиноида, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный инкапсулированный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-кроцетин. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный инкапсулированный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-норбиксин. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный инкапсулированный ионизируемый каротиноид представляет собой каротиноид, предложенный в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе.

[0101] В других вариантах реализации изобретения указанная таргетированная липосома является непэгилированной и инкапсулирует соль ионизируемого каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома инкапсулирует соль ионизируемого каротиноида по любому из пп. [1]-[28]. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная таргетированная непэгилированная липосома содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул указанного ионизируемого каротиноида, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный инкапсулированный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-кроцетин. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный инкапсулированный ионизируемый

каротиноид представляет собой транс-норбиксин. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный инкапсулированный ионизируемый каротиноид представляет собой каротиноид, предложенный в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная таргетированная непэгилированная липосома инкапсулирует множество каротиноидов. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома инкапсулирует множество ионизируемых каротиноидов (например, комбинацию транс-кроцетина, транс-норбиксина и/или одного или более ионизируемых каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе).

[0102] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция пэгилированных липосом, содержащая липосому, инкапсулирующую соль ионизируемого каротиноида, предложенную в любом из, и инкапсулирует соль ионизируемого каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома инкапсулирует соль ионизируемого каротиноида по любому из пп. [1]-[28]. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000, менее 10000 или менее 5000 молекул указанного ионизируемого каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул указанного ионизируемого каротиноида, или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит множество каротиноидов. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит множество ионизируемых каротиноидов, таких как два или более ионизируемых каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе.

[0103] В дополнительных вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция липосом, содержащая пэгилированную и таргетированную липосому, инкапсулирующую соль ионизируемого каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома инкапсулирует соль ионизируемого каротиноида по любому из пп. [1]-[28]. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная и таргетированная липосома содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная и таргетированная липосома

содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул указанного ионизируемого каротиноида, или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит множество каротиноидов. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит множество ионизируемых каротиноидов, таких как два или более ионизируемых каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе.

[0104] В дополнительных вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция липосом, содержащая пэгилированную и нетаргетированную липосому, инкапсулирующую соль ионизируемого каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома инкапсулирует соль ионизируемого каротиноида по любому из пп. [1]-[28]. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная и нетаргетированная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул указанного ионизируемого каротиноида, или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная и нетаргетированная липосома содержит множество каротиноидов. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит множество ионизируемых каротиноидов, таких как один или более ионизируемых каротиноидов, например, два или более ионизируемых каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе.

[0105] В дополнительных вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция липосом, содержащая непэгилированную липосому, инкапсулирующую соль ионизируемого каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома инкапсулирует соль ионизируемого каротиноида по любому из пп. [1]-[28]. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000, менее 10000 или менее 5000 молекул указанного ионизируемого каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул указанного ионизируемого каротиноида, или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная липосома содержит множество каротиноидов. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит

множество ионизируемых каротиноидов, таких как два или более ионизируемых каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе.

[0106] В дополнительных вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция липосом, содержащая непэгилированную и таргетированную липосому, инкапсулирующую соль ионизируемого каротиноида, и инкапсулирует соль ионизируемого каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома инкапсулирует соль ионизируемого каротиноида по любому из пп. [1]-[28]. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная и таргетированная липосома содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная и таргетированная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул указанного ионизируемого каротиноида, или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная и таргетированная липосома содержит множество каротиноидов. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит множество ионизируемых каротиноидов, таких как два или более ионизируемых каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе.

[0107] В дополнительных вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция липосом, содержащая непэгилированную и нетаргетированную липосому, инкапсулирующую соль ионизируемого каротиноида, и инкапсулирует соль ионизируемого каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома инкапсулирует соль ионизируемого каротиноида по любому из пп. [1]-[28]. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная и нетаргетированная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул указанного ионизируемого каротиноида, или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная и нетаргетированная липосома содержит множество каротиноидов. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит множество ионизируемых каротиноидов, таких как два или более ионизируемых каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе.

[0108] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция пэгилированных липосом, содержащая липосому, инкапсулирующую соль транс-кроцетина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000, менее 10000 или менее 5000 молекул транс-кроцетина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул транс-кроцетина, или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит множество каротиноидов. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит множество ионизируемых каротиноидов, таких как один или более ионизируемых каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе.

[0109] В дополнительных вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция липосом, содержащая пэгилированную и таргетированную липосому, инкапсулирующую соль транс-кроцетина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная и таргетированная липосома содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная и таргетированная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул транс-кроцетина, или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная и таргетированная липосома содержит множество каротиноидов. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит множество ионизируемых каротиноидов, таких как один или более ионизируемых каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе.

[0110] В дополнительных вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция липосом, содержащая пэгилированную и нетаргетированную липосому, инкапсулирующую соль транс-кроцетина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная и нетаргетированная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул транс-кроцетина, или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная и нетаргетированная

липосома содержит множество каротиноидов. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит множество ионизируемых каротиноидов, таких как один или более ионизируемых каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе.

[0111] В дополнительных вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция липосом, содержащая непэгилированную липосому, инкапсулирующую соль транс-кроцетина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000, менее 10000 или менее 5000 молекул транс-кроцетина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул транс-кроцетина, или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная липосома содержит множество каротиноидов. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит множество ионизируемых каротиноидов, таких как один или более ионизируемых каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе.

[0112] В дополнительных вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция липосом, содержащая непэгилированную и таргетированную липосому, инкапсулирующую соль транс-кроцетина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная и таргетированная липосома содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная и таргетированная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул транс-кроцетина, или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная и таргетированная липосома содержит множество каротиноидов. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит множество ионизируемых каротиноидов, таких как один или более каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе.

[0113] В дополнительных вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция липосом, содержащая непэгилированную и нетаргетированную липосому, инкапсулирующую соль транс-кроцетина. В некоторых

вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная и нетаргетированная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул транс-кроцетина, или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная и нетаргетированная липосома содержит множество каротиноидов. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит множество ионизируемых каротиноидов, таких как один или более каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе.

[0114] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция пэгилированных липосом, содержащая липосому, инкапсулирующую соль транс-норбиксина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000, менее 10000 или менее 5000 молекул транс-норбиксина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул транс-норбиксина, или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит множество каротиноидов. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит множество ионизируемых каротиноидов, таких как один или более ионизируемых каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе.

[0115] В дополнительных вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция липосом, содержащая пэгилированную и таргетированную липосому, инкапсулирующую соль транс-норбиксина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная и таргетированная липосома содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная и таргетированная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул транс-норбиксина, или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная и таргетированная липосома содержит множество каротиноидов. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит множество

ионизируемых каротиноидов, таких как один или более ионизируемых каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе.

[0116] В дополнительных вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция липосом, содержащая пэгилированную и нетаргетированную липосому, инкапсулирующую соль транс-норбиксина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная и нетаргетированная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул транс-норбиксина, или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная пэгилированная и нетаргетированная липосома содержит множество каротиноидов. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит множество ионизируемых каротиноидов, таких как один или более ионизируемых каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе.

[0117] В дополнительных вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция липосом, содержащая непэгилированную липосому, инкапсулирующую соль транс-норбиксина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000, менее 10000 или менее 5000 молекул транс-норбиксина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул транс-норбиксина, или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная липосома содержит множество каротиноидов. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит множество ионизируемых каротиноидов, таких как один или более ионизируемых каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе.

[0118] В дополнительных вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция липосом, содержащая непэгилированную и таргетированную липосому, инкапсулирующую соль транс-норбиксина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная и таргетированная липосома содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная и таргетированная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до

5000 молекул транс-норбиксина, или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная и таргетированная липосома содержит множество каротиноидов. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит множество ионизируемых каротиноидов, таких как один или более каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе.

[0119] В дополнительных вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция липосом, содержащая непэгилированную и нетаргетированную липосому, инкапсулирующую соль транс-норбиксина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная и нетаргетированная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул транс-норбиксина, или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная непэгилированная и нетаргетированная липосома содержит множество каротиноидов. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит множество ионизируемых каротиноидов, таких как один или более каротиноидов, предложенных в пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D в данном документе.

[0120] В некоторых вариантах реализации изобретения предложенные композиции липосом содержат липосому, инкапсулирующую одну или более солей ионизируемых каротиноидов (например, двухвалентную, трехвалентную или четырехвалентную соль ионизируемого каротиноида по любому из пп. [1]-[28] и/или ФИГ. 1A-1D) и один или более водных фармацевтически приемлемых носителей. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит трегалозу. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит от 1 % до 50 % по массе трегалозы. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит HBS в концентрации от 1 до 200 мМ и рН от 2 до 8. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом имеет рН 5-8 или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом имеет рН 6-7 или любой диапазон между этими значениями.

[0121] В дополнительных вариантах реализации изобретения предложенные композиции липосом содержат липосому, инкапсулирующую соль транс-кроцетина, и один или более водных фармацевтически приемлемых носителей. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный раствор липосом содержит трегалозу. В

некоторых вариантах реализации изобретения указанный раствор липосом содержит от 1 % до 50 % по массе трегалозы. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный раствор липосом содержит HBS в концентрации от 1 до 200 мМ и рН от 2 до 8, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный раствор липосом имеет рН 5-8 или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный раствор липосом имеет рН 6-7 или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная соль транс-кроцетина является поливалентной солью (например, двухвалентной, трехвалентной или четырехвалентной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанная соль транс-кроцетина представляет собой СТС. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная соль транс-кроцетина представляет собой МТС.

[0122] В дополнительных вариантах реализации изобретения предложенные композиции липосом содержат липосому, инкапсулирующую соль транс-норбиксина, и один или более водных фармацевтически приемлемых носителей. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный раствор липосом содержит трегалозу. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный раствор липосом содержит от 1 % до 50 % по массе трегалозы. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный раствор липосом содержит HBS в концентрации от 1 до 200 мМ и рН от 2 до 8, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный раствор липосом имеет рН 5-8 или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный раствор липосом имеет рН 6-7 или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная соль транс-норбиксина является поливалентной солью (например, двухвалентной, трехвалентной или четырехвалентной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанная соль транс-норбиксина представляет собой СТН. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная соль транс-норбиксина представляет собой МТН.

[0123] Предложенные липосомы содержат водную среду, заключенную по меньшей мере одним липидным бислоем. Когда липиды, которые содержат гидрофильную головную группу, диспергируются в воде, они могут самопроизвольно образовывать бислоиные мембраны, называемые ламелями. Указанные ламели состоят из двух монослойных листов молекул липидов с их неполярными (гидрофобными) поверхностями, обращенными друг к другу и их полярными (гидрофильными)

поверхностями, обращенными к водной среде. Термин липосома включает однослойные везикулы, которые состоят из одного липидного бислоя и, как правило, имеют диаметр в диапазоне от около 20 до около 500 нм, от около 50 до около 300 нм, от около 50 до около 150 нм, от около 30 до около 1000 нм, от около 30 до около 175 нм, от около 80 до около 400 нм или от около 80 до около 120 нм. Липосомы также могут быть полиламеллярными, которые, как правило, имеют диаметр в диапазоне от 0,5 до 10 мкм с от двух до сотен концентрических липидных бислоев, чередующихся со слоями водной фазы. В некоторых вариантах реализации изобретения липосомы могут содержать многоламеллярные везикулы (MLV), крупные одноламеллярные везикулы (LUV) и небольшие одноламеллярные везикулы (SUV). Липиды указанной липосомы могут являться катионными, цвиттерионными, нейтральными или анионными, или любой их смесью.

[0124] Любая пригодная комбинация липидов может быть использована для получения липосом и наночастиц липидов, предложенных в данном документе. Указанные липидные композиции могут быть адаптированы для влияния на такие характеристики, как скорость утечки, стабильность, размер частиц (например, диаметр липосом), дзета потенциал, связывание белка, циркуляция *in vivo* и/или накопление в тканях или органах. Например, DSPC и/или холестерин можно применять для уменьшения утечки из липосом. Отрицательно или положительно заряженные липиды, такие как DSPG и/или DOTAP, могут содержаться для влияния на заряд поверхности липосом или липидных наночастиц. В некоторых вариантах реализации изобретения указанные композиции липидов могут содержать около десяти или менее типов липидов или около пяти или менее типов липидов или около трех или менее типов липидов. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное молярное содержание (моль %) присутствующего липида определенного типа как правило включает от около 0 % до около 10 %, от около 10 % до около 30 %, от около 30 % до около 50 %, от около 50 % до около 70 %, от около 70 % до около 90 %, от около 90 % до 100 % от общего количества липидов, присутствующих в липосомальной или липидной наночастице. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная терапевтическая липосома содержит 40-80 мол. % DSPC, 5-50 мол. % холестерина, 0-30 мол. % DSPG и 0-10 мол. % DSPE-PEG(2000). В некоторых вариантах реализации изобретения указанная атакующая липосома содержит 40-70 мол. % DPPC, 5-20 мол. % холестерина, 0-20 мол. % DOTAP и 20-40 мол. % TPGS.

[0125] В зависимости от желаемого применения размер частиц (диаметр) липосомы можно регулировать. Например, когда предполагается доставка липосомы в раковую ткань или воспаленную ткань с помощью эффекта повышенной проницаемости и удержания (EPR) в качестве продукта для инъекций или тому подобного, предпочтительно, чтобы диаметр липосом составлял 20-500 нм, 30-175 нм или 50-150 нм, или любой диапазон между этими значениями. В случае, когда предполагается передавать липосому макрофагу, предпочтительно, чтобы диаметр липосомы составлял от 30 до 1000 нм или от 80 до 400 нм, или любой диапазон между этими значениями. В случае, когда композицию липосом нужно применять в качестве перорального препарата или трансдермального препарата, размер частиц липосомы может быть установлен на нескольких микронах. Следует отметить, что в нормальной ткани стенки сосудов служат барьерами (поскольку стенки сосудов плотно состоят из эндотелиальных клеток сосудов), и микрочастицы, такие как супермолекулы и липосомы указанного размера, не могут быть распределены в данной ткани. Однако в больных тканях стенки сосудов составлены неплотно (потому что между эндотелиальными клетками сосудов находятся промежутки), увеличивая проницаемостью сосудов, и супермолекулы и микрочастицы могут быть распределены на ткань вне таких сосудов (повышенная проницаемость). Кроме того, лимфатическая система хорошо развита в нормальной ткани, но известно, что лимфатическая система не развита в больной ткани, и что супермолекулы или микрочастицы, после включения, не перерабатываются через общую систему, а сохраняются в больной ткани (усиленное удержание), что формирует основу эффекта EPR (Wang et al., *Ann. Rev. Med.* 63:185-198 (2012); Peer et al., *Nat. Nanotech.* 2:751-760 (2007); Gubernator, *Exp. Opin. Drug Deliv.* 8:565-580 (2011); Huwyler et al., *Int. J. Nanomed.* 3:21-29 (2008); Maruyama et al. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 63:161-169 (2011); Musacchio and Torchilin *Front. Biosci.* 16:1388-1412 (2011); Baryshnikov *Vest. Ross. Akad. Med. Nauk.* 23-31 (2012); и Torchilin *Nat. Rev. Drug Disc.* 4:145-160 (2005)). Таким образом, можно контролировать фармакокинетику липосом, регулируя размер частиц липосомы (диаметр).

[0126] Размер указанных липосом в предложенных композициях липосом может варьироваться, например, от 0,5 нм до 10 мкм, или от 20 нм до 5 мкм, в зависимости от композиции фосфолипида, способа, применяемого для их получения и предполагаемого терапевтического применения указанных липосом. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный средний диаметр липосом в предложенной композиции липосом составляет от 20 нм до 500 нм, от 50 нм до 200 нм,

от 20 нм до 200 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный средний диаметр липосомы составляет от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями (например, 85-115 нм, 90-110 нм, 95-110 нм или 95-105 нм). В некоторых вариантах реализации изобретения средний диаметр липосом в предложенной композиции липосом представляет собой 10-250 нм, или в любом диапазоне между (например, 10-225 нм, 10-200 нм, 10-175 нм, 10-150 нм, 40-150 нм, 50-150 нм, 60-150 нм, 70-150 нм, 80-150 нм, 90-150 нм, 100-150 нм, 10-125 нм, 10-100 нм, 10-75 нм, 10-50 нм, 50-100 нм, 50-90 нм, 50-80 нм, 50-70 нм, 50-60 нм, 60-100 нм, 60-90 нм, 60-80 нм, 60-70 нм, 70-100 нм, 70-90 нм, 70-80 нм, 80-100 нм, 80-90 нм или 90-100 нм). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный средний диаметр липосом в предложенной композиции липосом составляет 100-250 нм или любой диапазон между этими значениями (например, 100-225 нм, 100-200 нм, 100-175 нм или 100-150 нм). В других вариантах реализации изобретения указанный средний диаметр липосом в предложенной композиции липосом составляет 10-100 нм или любой диапазон между этими значениями (например, от около 10-90 нм, 10-80 нм, 10-70 нм, 10-60 нм или 10-50 нм). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный средний диаметр липосом в предложенной композиции липосом составляет менее, чем около 500 нм, 450 нм, 400 нм, 350 нм, 300 нм, 250 нм, 200 нм, 150 нм, 145 нм, 150 нм, 135 нм, 130 нм, 125 нм, 120 нм, 115 нм, 110 нм, 105 нм, 100 нм, 95 нм, 90 нм, 85 нм, 80 нм, 75 нм, 70 нм, 65 нм, 60 нм, 55 нм, 50 нм, 45 нм или 40 нм. Динамическое рассеяние лазерного света представляет собой способ, используемый для измерения диаметра липосом, который хорошо известен специалистам в данной области техники. Диаметр липосом (DLP) может обычно определяться любыми способами и оборудованием, известными в данной области техники, включая, например, динамическое рассеяние лазерного света (анализатор размера частиц Coulter N4), Zetasizer Nano ZSP (Малверн, Великобритания) и ELS-8000 (Otsuka Electronics Co., Ltd.)).

[0127] В некоторых вариантах реализации изобретения предложенные композиции липосом имеют моодисперсное распределение по размеру (диаметру). «Моодисперсность» и «однородное распределение размера» используются взаимозаменяемо в данном документе и описывают множество липосомных наночастиц или микрочастиц, где указанные частицы имеют одинаковый или почти одинаковый диаметр. Как используется в данном документе, моодисперсное распределение относится к распределению частиц, в котором 75%, 76%, 77%, 78%,

79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 86%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% или более из распределения частиц лежит в пределах 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15% или 10% массового среднего диаметра.

[0128] В некоторых вариантах реализации изобретения указанная популяция липосом в предложенной композиции липосом является относительно гомогенной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная популяция липосом в предложенной композиции липосом является гетерогенной. Коэффициент полидисперсности может быть использован для указания гомогенности композиции наночастиц, например, распределения частиц по размерам (диаметру) композиций наночастиц. Небольшой (например, менее 0,3) коэффициент полидисперсности обычно указывает на узкое распределение частиц по размерам. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная популяция липосом в предложенной композиции липосом имеет индекс полидисперсности от 0 до 0,25 или от 0,01 до 0,1, или любой диапазон между этими значениями (например, от 0,001 до 0,2, от 0,005 до 0,1, от 0,005 до 0, от 0,005 до 0,09, от 0,009 до 0,09, от 0,01 до 0,08, от 0,02 до 0,09 или от 0,02 до 0,07, или любой диапазон между этими значениями).

[0129] В некоторых вариантах реализации изобретения липосомы в указанной популяции липосом в предложенной композиции липосом различаются в их липидном составе, молярном соотношении липидных компонентов, размере, заряде (дзета потенциале), таргетирующих лигандах и/или их комбинации.

[0130] Дзета-потенциал композиции наночастиц можно использовать для указания электрокинетического потенциала композиции. Например, дзета-потенциал может описывать поверхностный заряд композиции наночастиц. Композиции наночастиц с относительно низкими зарядами, положительными или отрицательными, как правило являются желательными, так как более высоко заряженные частицы могут нежелательно взаимодействовать с клетками, тканями и другими элементами в организме. В некоторых вариантах реализации изобретения дзета-потенциал композиции наночастиц может составлять от около -10 мВ до около +20 мВ, от около -10 мВ до около +15 мВ, от около -10 мВ до около +10 мВ, от около от -10 мВ до +5 мВ, от около -10 мВ до около 0 мВ, от около -10 мВ до около -5 мВ, от около -5 мВ до около +20 мВ, от около -5 мВ до около +15 мВ, от около -5 мВ до около +10 мВ, от около -5 мВ до около +5 мВ, от около -5 мВ до около 0 мВ, от около 0 мВ до около +20 мВ, от около 0 мВ до около +15 мВ, от около 0 мВ до около +10 мВ, от около 0 мВ до

около +5 мВ, от около +5 мВ до около +20 мВ, от около +5 мВ до около +15 мВ или от около +5 мВ до +10 мВ. Дзета потенциал липосом обычно определяется методами и оборудованием, известными в данной области техники, включая, например, динамическое рассеяние света (Zetasizer Nano ZSP, Малверн, Великобритания) и лазерный доплеровский электрофорез.

[0131] Эффективность инкапсуляции терапевтического и/или профилактического агента, такого как ионизируемый каротиноид (например, транс-кроцетин), означает количество терапевтического и/или профилактического агента, инкапсулированного или иным образом связанного с композицией наночастиц после получения, по отношению к его исходному количеству. Указанная эффективность инкапсуляции является предпочтительно высокой (например, около 100 %). Эффективность инкапсуляции может быть измерена, например, путем сравнения количества терапевтического и/или профилактического агента в растворе, содержащем композицию наночастиц, до и после удаления неинкапсулированного терапевтического и/или профилактического агента. Для описанных в данном документе композиций липосом эффективность инкапсуляции ионизируемого каротиноида (например, транс-кроцетина) может составлять, по меньшей мере, 50 %, например, 60 %, 70 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 %. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная эффективность инкапсуляции представляет собой по меньшей мере 80 %. В определенных вариантах реализации изобретения указанная эффективность инкапсуляции представляет собой по меньшей мере 90 %. В определенных вариантах реализации изобретения указанная эффективность инкапсуляции представляет собой по меньшей мере 95 %. В определенных вариантах реализации изобретения указанная эффективность инкапсуляции представляет собой по меньшей мере 98 %.

[0132] В дополнительных вариантах реализации изобретения предложенные композиции липосом содержат липосомы, инкапсулирующие соль ионизируемого каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение ионизируемого каротиноида (например, транс-кроцетина)/липидов в предложенной композиции липосом составляет от 1 до 1000 г/моль или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение ионизируемого каротиноида/липидов композиции липосом составляет от 10 до 200 г/моль, от 10 до 150 г/моль, от 10 до 100 г/моль, от 20 до 200 г/моль, от 20 до 150 г/моль, от 20 до 100 г/моль, от 30 до 200 г/моль, от 30 до 150 г/моль, от 30 до 100

г/моль, от 40 до 200 г/моль, от 40 до 150 г/моль, от 40 до 100 г/моль, от 50 до 200 г/моль, от 50 до 150 г/моль или от 50 до 100 г/моль, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение ионизируемого каротиноида/липида составляет от 30 до 90 г/моль или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение ионизируемого каротиноида/липида составляет от 30 до 50 г/моль, от 40 до 60 г/моль, от 50 до 70 г/моль, от 60 до 80 г/моль или от 70 до 90 г/моль, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома инкапсулирует соль ионизируемого каротиноида по любому из пп. [1]-[27]. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома инкапсулирует соль ионизируемого каротиноида, предложенную на любой из ФИГ. 1A-1D.

[0133] В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит липосомы, инкапсулирующие соль транс-кроцетина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение транс-кроцетина/липида в предложенной композиции липосом составляет от 1 до 1000 г/моль или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение транс-кроцетина/липида композиции липосом составляет от 10 до 200 г/моль, от 10 до 150 г/моль, от 10 до 100 г/моль, от 20 до 200 г/моль, от 20 до 150 г/моль, от 20 до 100 г/моль, от 30 до 200 г/моль, от 30 до 150 г/моль, от 30 до 100 г/моль, от 40 до 200 г/моль, от 40 до 150 г/моль, от 40 до 100 г/моль, от 50 до 200 г/моль, от 50 до 150 г/моль или от 50 до 100 г/моль, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение транс-кроцетина/липида составляет от 30 до 90 г/моль или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение транс-кроцетина/липида составляет от 30 до 50 г/моль, от 40 до 60 г/моль, от 50 до 70 г/моль, от 60 до 80 г/моль или от 70 до 90 г/моль, или любой диапазон между этими значениями.

[0134] В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит липосомы, инкапсулирующие соль транс-норбиксина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение транс-норбиксина/липида в предложенной композиции липосом составляет от 1 до 1000 г/моль или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение транс-норбиксина/липида композиции липосом составляет от

10 до 200 г/моль, от 10 до 150 г/моль, от 10 до 100 г/моль, от 20 до 200 г/моль, от 20 до 150 г/моль, от 20 до 100 г/моль, от 30 до 200 г/моль, от 30 до 150 г/моль, от 30 до 100 г/моль, от 40 до 200 г/моль, от 40 до 150 г/моль, от 40 до 100 г/моль, от 50 до 200 г/моль, от 50 до 150 г/моль или от 50 до 100 г/моль, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение транс-норбиксина/липида составляет от 30 до 90 г/моль или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение транс-норбиксина/липида составляет от 30 до 50 г/моль, от 40 до 60 г/моль, от 50 до 70 г/моль, от 60 до 80 г/моль или от 70 до 90 г/моль, или любой диапазон между этими значениями.

[0135] В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом является забуференной с применением цвиттерионного буфера. Соответственно, указанный цвиттерионный буфер представляет собой аминокансульфоновую кислоту или пригодную соль. Примеры аминокансульфоновых буферов включают, но не ограничиваются ими, HEPES, HEPES/EPES, MOPS, MOBS и PIPES. Предпочтительно, указанный буфер представляет собой фармацевтически приемлемый буфер, пригодный для применения у людей, например, для применения в коммерческом продукте для инъекций. Наиболее предпочтительно, указанный буфер представляет собой HEPES. Указанная композиция липосом может содержать AGP.

[0136] В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом является забуференной с применением HEPES. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом является забуференной с применением HEPES с pH около 7.

[0137] В некоторых вариантах реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция представляет собой композицию липосом, содержащую катионную липосому. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит липосому, которая имеет дзета-потенциал более нуля. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный дзета-потенциал липосомы равен от 0,2 до 150 мВ, от 1 до 50 мВ, от 1 до 40 мВ, от 1 до 30 мВ, от 1 до 25 мВ, от 1 до 20 мВ, от 1 до 15 мВ, от 1 до 10 мВ, от 1 до 5 мВ, от 2 до 10 мВ, от 3 до 10 мВ, от 4 до 10 мВ или от 5 до 10 мВ, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет диаметр от 20 нм до 500 нм, от 20 нм до 200 нм, от 30 нм до 175 нм, от 50 нм до 200 нм, от 50 нм до

150 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная катионная липосома имеет диаметр от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит, по меньшей мере, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% или более 75%, мас./мас. ионизируемого каротиноида (например, транс-кроцетина). В некоторых вариантах реализации изобретения в процессе получения композиции липосом, по меньшей мере, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 97% от исходного материала ионизируемого каротиноида инкапсулируется (захватывается) в липосомы композиции липосом. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид (например, транс-кроцетин), инкапсулированный в липосоме, находится в буферном растворе HEPES внутри липосомы. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит по меньшей мере один ОхРАРС.

[0138] В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная фармацевтическая композиция представляет собой композицию липосом, содержащую анионную или нейтральную липосому. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит липосому, которая имеет дзета-потенциал менее или равен нулю. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет дзета-потенциал от -150 до 0 мВ, от -50 до 0 мВ, от -40 до 0 мВ, от -30 до 0 мВ, от -25 до 0 мВ, от -20 до 0 мВ, от -10 до 0 мВ, от -9 до 0 мВ, от -8 до 0 мВ, от -7 до 0 мВ, от -6 до 0 мВ, от -5 до 0 мВ, от -4 до 0 мВ, от -3 до 0 мВ, от -2 до 0 мВ, от -1 до 0 мВ или от -8 до 2 мВ, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная анионная или нейтральная липосома имеет диаметр от 20 нм до 500 нм, от 20 нм до 200 нм, от 30 нм до 175 нм, от 50 нм до 150 нм или любой диапазон между этими значениями. В других вариантах реализации изобретения указанная анионная или нейтральная липосома имеет диаметр от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная анионная липосома имеет диаметр от 20 нм до 500 нм, от 20 нм до 200 нм, от 30 нм до 175 нм, от 50 нм до 150 нм или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная анионная липосома имеет диаметр от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации

изобретения указанная нейтральная липосома имеет диаметр от 20 нм до 500 нм, от 20 нм до 200 нм, от 30 нм до 175 нм, от 50 нм до 150 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная нейтральная липосома имеет диаметр от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит, по меньшей мере, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% или более 75%, мас./мас. ионизируемого каротиноида (например, транс-кроцетина). В некоторых вариантах реализации изобретения в процессе получения композиции липосом, по меньшей мере, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% или более 75% от исходного материала ионизируемого каротиноида (например, транс-кроцетина) инкапсулируется (захватывается) в липосомы. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит, по меньшей мере, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% или более 75%, мас./мас. указанного ионизируемого каротиноида (например, транс-кроцетина). В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция анионных или нейтральных липосом содержит, по меньшей мере, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% или более 75%, мас./мас. указанного ионизируемого каротиноида (например, транс-кроцетина). В некоторых вариантах реализации изобретения композиция липосом содержит, по меньшей мере, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% или более 75%, мас./мас. указанного ионизируемого каротиноида (например, транс-кроцетина). В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид (например, транс-кроцетин) является инкапсулированным в анионной или нейтральной липосоме и находится в буферном растворе HEPES внутри липосомы. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит по меньшей мере один ОхРАРС.

[0139] В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная фармацевтическая композиция представляет собой композицию липосом, содержащую липосому, которая содержит по меньшей мере один ОхРАРС. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ОхРАРС представляет собой окисленные и/или содержащие фосфолипид фрагментированные окисленные sn-2 остатки. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ОхРАРС представляет собой окисленный фосфолипид, содержащий пятиуглеродный sn-2 остаток, несущий омега-

альдегидную или омега-карбоксильную группу. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ОхРАРС представляет собой окисленный фосфолипид, выбранный из HOdiA-PC, KOdiA-PC, HOOA-PC и KOOA-PC. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ОхРАРС представляет собой эпоксипропансодержащий фосфолипид. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ОхРАРС представляет собой PGPC. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит по меньшей мере 0,01%, 0,1%, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% или по меньшей мере 30% ОхРАРС. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом имеет катионную липосому, которая содержит 0,01%-35%, 0,1%-30%, 1%-25%, 3-20% или 5-15% ОхРАРС, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит катионную липосому. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит нейтральную липосому. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит анионную липосому. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит по меньшей мере одну липосому, содержащую ОхРАРС, которая имеет диаметр от 20 нм до 500 нм, от 20 нм до 200 нм, от 30 нм до 175 нм, от 50 нм до 150 нм или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит по меньшей мере одну липосому, содержащую ОхРАРС, которая имеет диаметр от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями.

[0140] В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная фармацевтическая композиция представляет собой композицию липосом, содержащую катионную липосому, которая содержит по меньшей мере 0,01%, 0,1%, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% или по меньшей мере 30% ОхРАРС. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом имеет катионную липосому, которая содержит 0,01%-35%, 0,1%-30%, 1%-25%, 3-20% или 5-15% ОхРАРС, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит по меньшей мере 0,01%, 0,1%, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% или по меньшей мере 30% ОхРАРС. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит катионную липосому, которая содержит около 10 % ОхРАРС. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом имеет катионную липосому, которая

содержит по меньшей мере 0,01%, 0,1%, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% или по меньшей мере 30% PGPC. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит 0,01%-35%, 0,1%-30%, 1%-25%, 3-20% или 5-15% PGPC, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит катионную липосому, которая содержит около 10 % PGPC.

[0141] В некоторых вариантах реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция представляет собой композицию липосом, содержащую анионную или нейтральную липосому, которая содержит по меньшей мере 0,01%, 0,1%, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% или по меньшей мере 30% ОхРАРС. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом имеет анионную или нейтральную липосому, которая содержит 0,01%-35%, 0,1%-30%, 1%-25%, 3-20% или 5-15% ОхРАРС, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит по меньшей мере 0,01%, 0,1%, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% или по меньшей мере 30% ОхРАРС. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит анионную или нейтральную липосому, которая содержит около 10 % ОхРАРС. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом имеет анионную или нейтральную липосому, которая содержит по меньшей мере 0,01%, 0,1%, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% или по меньшей мере 30% PGPC. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит 0,01%-35%, 0,1%-30%, 1%-25%, 3-20% или 5-15% PGPC, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит анионную или нейтральную липосому, которая содержит около 10 % PGPC.

[0142] В некоторых вариантах реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция представляет собой композицию липосом, содержащую нейтральную липосому, которая содержит по меньшей мере 0,01%, 0,1%, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% или по меньшей мере 30% ОхРАРС. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция нейтральных липосом, содержащих ОхРАРС, содержит 0,01%-35%, 0,1%-30%, 1%-25%, 3-20% или 5-15% ОхРАРС, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция нейтральных липосом, содержащих ОхРАРС, содержит около 10 % ОхРАРС. В некоторых вариантах реализации изобретения

указанная нейтральная композиция липосом, содержащая ОхРАРС, содержит по меньшей мере 0,01%, 0,1%, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% или по меньшей мере 30% РGPC. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция нейтральных липосом, содержащих РGPC, содержит 0,01%-35%, 0,1%-30%, 1%-25%, 3-20% или 5-15% РGPC, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция нейтральных липосом, содержащих ОхРАРС, содержит около 10 % РGPC.

[0143] В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома в композиции липосом является пэгилированной.

[0144] В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная фармацевтическая композиция представляет собой нетаргетированную композицию липосом. То есть, указанные липосомы в композиции липосом не имеют специфического сродства к эпитопу (например, эпитопу поверхностному антигену), экспрессированному на поверхности клетки-мишени, представляющей интерес. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная нетаргетированная композиция липосом является пэгилированной.

[0145] В некоторых случаях накопление липосом в целевом участке может быть связано с характеристиками повышенной проницаемости и удерживания некоторых тканей, таких как раковые ткани. Накопление таким образом часто обусловлено размером липосом и может не потребовать специальной таргетирующей функциональности. В других вариантах реализации изобретения предложенные липосомы содержат таргетирующий агент. Как правило, таргетирующие агенты могут связываться с любой мишенью, представляющей интерес, такой как мишень, связанная с органом, тканями, клеткой, внеклеточной матрицей или внутриклеточной областью. В определенных вариантах реализации изобретения мишень может быть связана с конкретным состоянием заболевания, такого как раковое состояние. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий компонент может быть специфичным для одной мишени, такой как рецептор. Пригодные мишени могут включать, но не ограничиваются ими, нуклеиновые кислоты, такие как ДНК, РНК или их модифицированные производные. Пригодные мишени также могут включать, но не ограничиваются ими, белок, такой как внеклеточный белок, рецептор, рецептор клеточной поверхности, маркер опухоли, трансмембранный белок, фермент или антитело. Пригодные мишени могут включать углевод, такой как моносахарид,

дисахарид или полисахарид, который может, например, присутствовать на поверхности клетки.

[0146] В определенных вариантах реализации изобретения таргетирующий агент может включать таргетирующий лиганд (например, пептид, содержащий RGD), миметик малой молекулы или таргетирующего лиганда (например, лиганд пептидомиметик), или антитело или фрагмент антитела, специфичный для конкретной мишени. В некоторых вариантах реализации изобретения таргетирующий агент может дополнительно включать производные фолиевой кислоты, производные B-12, интегриновые RGD пептиды, производные NGR, производные соматостатина или пептиды, которые связываются с рецептором соматостатина, например, октреотид и октреотат, и тому подобное. В некоторых вариантах реализации изобретения указанные таргетирующие агенты включают аптамер. Аптамеры могут быть разработаны для связывания с мишенью, представляющей интерес. Аптамеры могут включать, например, ДНК, РНК и/или пептиды, и некоторые аспекты аптамеров известны в данной области техники. (См., например, Klussman, Ed., *The Aptamer Handbook*, Wiley-VCH (2006); Nissenbaum, *Trends in Biotech.* 26(8): 442-449 (2008)).

[0147] В других вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит таргетированную липосому. То есть, указанная липосома содержит таргетирующий фрагмент, имеющий специфическое сродство к эпитопу (например, поверхностному антигену или другой молекуле) на клетке-мишени, представляющей интерес. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент указанной липосомы не присоединен к указанной липосоме ковалентной связью. В других вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент указанной липосомы присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная таргетированная липосома является пэгилированной. Функции таргетирующего фрагмента указанной таргетированной липосомы могут включать, но не ограничиваются ими, таргетирование липосомы на клетку, представляющую интерес *in vivo* или *in vitro*; взаимодействие с поверхностным антигеном, на который таргетирующий фрагмент имеет специфическую аффинность, а также доставку полезной нагрузки липосомы (например, транс-кроцетина) в нужную область или в клетку.

[0148] Пригодные таргетирующие фрагменты известны в данной области техники и включают, но не ограничиваются ими, антитела, антигенсвязывающие

фрагменты антител, каркасные белки, полипептиды и пептиды. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой полипептид. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой полипептид, который, по меньшей мере, содержит 3, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 или 100 аминокислотных остатков. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент включает один или более из группы, включающей: антитело, гуманизованное антитело, антигенсвязывающий фрагмент антитела, одноцепочечное антитело, однодоменное антитело, биспецифическое антитело, синтетическое антитело, пэгилированное антитело и мультимерное антитело. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент имеет специфическую аффинность на эпитоп, который предпочтительно экспрессируется на клетке мишени, такой как опухолевая клетка, по сравнению с нормальными или неопухолевыми клетками. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент имеет специфическую аффинность на эпитоп на поверхностный антиген опухолевой клетки, который присутствует на опухолевой клетке, но отсутствует или недоступен на нормальной или неопухолевой клетке. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент связывается с эпитопом, представляющим интерес, с константой диссоциации ( $K_d$ ) в диапазоне от  $50 \times 10^{-12}$  до  $10 \times 10^{-6}$ , определенной анализом BIACORE<sup>®</sup>. В дополнительных вариантах реализации изобретения  $K_d$  определяют методом поверхностного плазмонного резонанса, в которой антиген, содержащий эпитоп, является иммобилизованным, таргетирующий фрагмент служит аналитом, и используются следующие условия: 10 mM буфера MES, 0,05 % полиоксиэтиленсорбитана монолаурат и 150 mM NaCl при 37 °C.

[0149] В конкретных вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент содержит полипептид, который специфически связывается с фолатным рецептором. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой фолат, конъюгированный с поверхностью липосомы (например, конъюгат фолат-ПЭГ) или производное фолиевой кислоты. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный фолатный

рецептор, связанный указанным таргетирующим фрагментом, представляет собой один или более фолатных рецепторов, выбранных из группы, включающей: фолатный рецептор альфа (FR- $\alpha$ , FOLR1), фолатный рецептор бета (FR- $\beta$ , FOLR2) и фолатный рецептор дельта (FR- $\delta$ , FOLR4). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный фолатный рецептор, связанный указанным таргетирующим фрагментом, представляет собой фолатный рецептор альфа (FR- $\alpha$ ). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный фолатный рецептор, связанный указанным таргетирующим фрагментом, представляет собой фолатный рецептор бета (FR- $\beta$ ). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент специфически связывается с FR- $\alpha$  и FR- $\beta$ .

[0150] В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит один или более из иммуностимулирующего агента, обнаруживаемого маркера и малеимида, расположенного по меньшей мере на одном из ПЭГ и внешней поверхности липосомы. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома композиции липосом является катионной. В других вариантах реализации изобретения липосома композиции липосом является анионной или нейтральной. В дополнительных вариантах реализации изобретения липосома указанной композиции липосом имеет диаметр от 20 нм до 500 нм или любой диапазон между этими значениями. В дополнительных вариантах реализации изобретения липосома указанной композиции липосом имеет диаметр от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома композиции липосом является пэгилированной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома композиции липосом является таргетированной. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома композиции липосом является пэгилированной и таргетированной.

[0151] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая ионизируемый каротиноид, имеющий формулу:

Полиеновый Каротиноид-Q, инкапсулированный в липосому, где указанный Полиеновый Каротиноид содержит

- (a) 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 3-5, 6-8, 9-10 или более 9 сопряженных двойных связей,
- (b) замещения метилом или низшим алкилом (C2-C3), и

(с) 1, 2, 3 или более 3 ионизируемых групп; и

Q представляет собой (а) поливалентный противоион или (b) одновалентный катион.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит все транс-сопряженные двойные связи. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит 6-9 сопряженных двойных связей. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит 7 сопряженных двойных связей. Указанный Полиеновый Каротиноид может быть встречающимся в природе или синтетическим. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид является встречающимся в природе. В других вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид является синтетическим. Указанная ионизируемая группа (группы) может быть анионной и/или катионной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид-Q содержит две или более одинаковых ионизируемых групп. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит все транс-сопряженные двойные связи. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит 6-9 сопряженных двойных связей. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит две или более различных ионизируемых групп. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид-Q содержит одну или более анионных ионизируемых групп. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит по меньшей мере одну ионизируемую группу, выбранную из: карбоксильной группы, сульфонатной группы, сульфатной группы, фосфонатной или фосфатной группы, и гидроксаматного фрагмента. В других вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид-Q содержит одну или более катионных ионизируемых групп (например, первичную, вторичную или третичную аминогруппу, группу четвертичного аммония, холиновую группу, гуанидиновую группу или имидазоловую группу). В конкретных вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит по меньшей мере одну катионную ионизируемую группу, и указанная фармацевтическая композиция по существу не содержит нуклеиновых кислот.

В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q

представляет собой поливалентный катионный противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катион металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катион переходного металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катионный противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катион металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катион переходного металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой по меньшей мере один член, выбранный из  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$  или  $\text{Mg}^{2+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$ . В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид-Q представляет собой кальций транс-кроцетинат (СТС). В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой  $\text{Mg}^{2+}$ . В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид-Q представляет собой магний транс-кроцетинат (МТС). В других вариантах реализации изобретения Q представляет собой трехвалентный катионный противоион, такой как  $\text{Fe}^{3+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный органический противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный органический катион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный органический катион, такой как протонированный диамин.

В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой одновалентный противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой одновалентный катионный противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой одновалентный катион металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой по меньшей мере один член, выбранный из  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Li}^+$  или  $\text{K}^+$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой органический катион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный органический катион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой одновалентный органический катион, такой как протонированный амин (например, протонированный диамин или протонированный полиамин). В некоторых вариантах реализации

изобретения Q представляет собой органический катион, такой как  $\text{NH}_4^+$ , протонированный диамин или протонированный полиамин.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000, менее 10000 или менее 5000 молекул ионизируемого каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 10 до 100000 молекул ионизируемого каротиноида, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение ионизируемого каротиноида/липидов в указанной композиции липосом составляет от 1 г/моль до 1000 г/моль или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение ионизируемого каротиноида/липидов представляет собой 10-150 г/моль, 10-100 г/моль, 30-200 г/моль, 40-200 г/моль или 50-200 г/моль, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит, по меньшей мере, от 0,1 % до 97 % транс-кроцетина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет диаметр от 20 нм до 500 нм, от 20 нм до 200 нм, от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома сформирована из компонентов липосом. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один из анионного липида и нейтрального липида. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один, выбранный из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-малеимида; HSPC; HSPC-PEG; холестерина; холестерин-PEG; и холестерин-малеимида. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один, выбранный из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-FITC; DSPE-PEG-малеимида; холестерина; и HSPC. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома дополнительно содержит окисленный фосфолипид, такой как OxPAPC. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит OxPAPC, который представляет собой окисленный фосфолипид, содержащий фрагментированные оксигенированные sn-2 остатки, окисленный фосфолипид, содержащий полноразмерные оксигенированные sn-2 остатки, и/или окисленный фосфолипид, содержащий пятиуглеродный sn-2 остаток, несущий омега-альдегидные или омега-карбоксылные группы. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная

липосома содержит ОхРАРС, выбранный из НОdiА-РС, КОdiА-РС, НООА-РС и КООА-РС, или указанный ОхРАРС представляет собой эпоксиизопростансодержащий фосфолипид. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит ОхРАРС, выбранный из группы, включающей 1-пальмитоил-2-(5,6-эпоксиизопростан Е2)-sn-глицеро-3-фосфохолин (5,6 PEIPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксициклопентенон)-sn-глицеро-3-фосфохолин (PECPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксиизопростан Е2)-sn-глицеро-4-фосфохолин (PEIPC), 1-пальмитоил-2-глутароил-sn-глицеро-3-фосфохолин (PGPC); 1-пальмитоил-2-(9'-оксоноаноил)-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-арахидоноил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-миристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-гексадецил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-азелаоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; и 1-пальмитоил-2-ацетоил-sn-глицеро-3-фосфохолин. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит PGPC. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ОхРАРС внутри липидного бислоя липосомы составляет 0%-100% от общего количества липидов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит таргетирующий фрагмент, имеющий специфическое сродство к поверхностному антигену или другим молекулам на клетке-мишени, представляющей интерес. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы, причем необязательно указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы ковалентной связью. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой полипептид. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома дополнительно содержит иммуностимулирующий агент (например, 1,6-бета-глюкан). В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит стерический стабилизатор. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный стерический стабилизатор представляет собой полиэтиленгликоль (т. е., указанная липосома является пэгилированной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный

ПЭГ имеет среднечисловую молекулярную массу (Mn) от 200 до 5000 Дальтон. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома является анионной или нейтральной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет дзета-потенциал менее или равен нулю. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет дзета-потенциал от -150 до 0 мВ, от -50 до 0 мВ, от -40 до 0 мВ, от -30 до 0 мВ, от -25 до 0 мВ, от -20 до 0 мВ, от -10 до 0 мВ, от -9 до 0 мВ, от -8 до 0 мВ, от -7 до 0 мВ, от -6 до 0 мВ, от -5 до 0 мВ, от -4 до 0 мВ, от -3 до 0 мВ, от -2 до 0 мВ, от -1 до 0 мВ или от -8 до 2 мВ, или любой диапазон между этими значениями. В других вариантах реализации изобретения указанная липосома является катионной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит липосому, которая имеет дзета-потенциал более нуля. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный дзета-потенциал липосомы равен от 0,2 до 150 мВ, от 1 до 50 мВ, от 1 до 40 мВ, от 1 до 30 мВ, от 1 до 25 мВ, от 1 до 20 мВ, от 1 до 15 мВ, от 1 до 10 мВ, от 1 до 5 мВ, от 2 до 10 мВ, от 3 до 10 мВ, от 4 до 10 мВ или от 5 до 10 мВ, или любой диапазон между этими значениями.

[0152] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая ионизируемый каротиноид, имеющий формулу:

Q-R<sub>1</sub>-Полиеновый Каротиноид-R<sub>2</sub>-Q, инкапсулированный в липосому, где указанный Полиеновый Каротиноид содержит

- (a) 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 3-5, 6-8, 9-10 или более 9 сопряженных двойных связей,
- (b) замещения метилом или низшим алкилом (C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>), и
- (c) 1, 2, 3 или более 3 ионизируемых групп;

R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> представляют собой ионизируемые группы; и

Q представляет собой (a) поливалентный противоион или (b) одновалентный катион.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит все транс-сопряженные двойные связи. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит 6-9 сопряженных двойных связей. Указанный Полиеновый Каротиноид может быть встречающимся в природе или синтетическим. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид является встречающимся в природе. В других вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид

является синтетическим. В некоторых вариантах реализации изобретения  $R_1$  и  $R_2$  представляют собой одинаковые ионизируемые группы. В других вариантах реализации изобретения  $R_1$  и  $R_2$  представляют собой разные ионизируемые группы. В некоторых вариантах реализации изобретения  $R_1$  и  $R_2$  представляют собой одинаковые катионные ионизируемые группы. В других вариантах реализации изобретения  $R_1$  и  $R_2$  представляют собой разные катионные группы. В некоторых вариантах реализации изобретения  $R_1$  и  $R_2$  представляют собой одинаковые анионные ионизируемые группы. В других вариантах реализации изобретения  $R_1$  и  $R_2$  представляют собой разные анионные группы. В некоторых вариантах реализации изобретения  $R_1$  представляет собой катионную ионизируемую группу или анионную ионизируемую группу, и  $R_2$  представляет собой анионную ионизируемую группу или катионную группу, соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит по меньшей мере одну анионную ионизируемую группу. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит по меньшей мере одну ионизируемую группу, выбранную из: карбоксильной группы, сульфонатной группы, сульфатной группы, фосфонатной или фосфатной группы, и гидроксаматного фрагмента. В некоторых вариантах реализации изобретения  $R_1$  представляет собой по меньшей мере одну ионизируемую группу, выбранную из: карбоксильной группы, сульфонатной группы, сульфатной группы, фосфонатной или фосфатной группы, и гидроксаматного фрагмента. В некоторых вариантах реализации изобретения  $R_2$  представляет собой по меньшей мере одну ионизируемую группу, выбранную из: карбоксильной группы, сульфонатной группы, сульфатной группы, фосфонатной или фосфатной группы, и гидроксаматного фрагмента. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид-Q содержит одну или более катионных ионизируемых групп (например, первичную, вторичную или третичную аминогруппу, группу четвертичного аммония, холиновую группу, гуанидиновую группу или имидазоловую группу). В конкретных вариантах реализации изобретения указанный Полиеновый Каротиноид содержит по меньшей мере одну катионную ионизируемую группу, и указанная фармацевтическая композиция по существу не содержит нуклеиновых кислот.

В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катионный противоион. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катион

металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный противоион переходного металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катионный противоион. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катион металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой по меньшей мере один член, выбранный из  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$ . В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$  или  $\text{Mg}^{2+}$ . В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой  $\text{Mg}^{2+}$ . В других вариантах реализации изобретения Q представляет собой трехвалентный катионный противоион, такой как  $\text{Fe}^{3+}$ . В других вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный органический противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный органический катион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный органический катион, такой как протонированный диамин.

В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой одновалентный катионный противоион. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой по меньшей мере один член, выбранный из  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Li}^+$  или  $\text{K}^+$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой органический противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный органический катион. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный органический катион, такой как протонированный диамин или протонированный полиамин. В других вариантах реализации изобретения Q представляет собой одновалентный органический катион, такой как  $\text{NH}_4^+$ , протонированный диамин или протонированный полиамин.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000, менее 10000 или менее 5000 молекул ионизируемого каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 10 до 100000 молекул ионизируемого каротиноида, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение ионизируемого

каротиноида/липида в указанной композиции липосом составляет от 1 г/моль до 1000 г/моль или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение ионизируемого каротиноида/липида представляет собой 10-150 г/моль, 10-100 г/моль, 30-200 г/моль, 40-200 г/моль или 50-200 г/моль, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит, по меньшей мере, от 0,1 % до 97 % ионизируемого каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет диаметр от 20 нм до 500 нм, от 20 нм до 200 нм, от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома сформирована из компонентов липосом. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один из анионного липида и нейтрального липида. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один, выбранный из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-малеимида; HSPC; HSPC-PEG; холестерина; холестерин-PEG; и холестерин-малеимида. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один, выбранный из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-FITC; DSPE-PEG-малеимида; холестерина; и HSPC. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома дополнительно содержит окисленный фосфолипид, такой как OxPAPC. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит OxPAPC, который представляет собой окисленный фосфолипид, содержащий фрагментированные оксигенированные sn-2 остатки, окисленный фосфолипид, содержащий полноразмерные оксигенированные sn-2 остатки, и/или окисленный фосфолипид, содержащий пятиуглеродный sn-2 остаток, несущий омега-альдегидные или омега-карбоксильные группы. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит OxPAPC, выбранный из HOdiA-PC, KOdiA-PC, HOOA-PC и KOOA-PC, или указанный OxPAPC представляет собой эпоксиизопростансодержащий фосфолипид. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит OxPAPC, выбранный из группы, включающей 1-пальмитоил-2-(5,6-эпоксиизопростан E2)-sn-глицеро-3-фосфохолин (5,6 PEIPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксициклопентенон)-sn-глицеро-3-фосфорилхолин (PEPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксиизопростан E2)-sn-глицеро-4-фосфохолин (PEIPC), 1-пальмитоил-2-глутароил-sn-глицеро-3-фосфохолин (PGPC); 1-пальмитоил-2-(9'-оксоноаноил)-sn-глицеро-3-

фосфохолин; 1-пальмитоил-2-арахидоноил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-миристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-гексадецил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-азелаоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; и 1-пальмитоил-2-ацетоил-sn-глицеро-3-фосфохолин. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит PGPC. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ОхРАРС внутри липидного бислоя липосомы составляет 0%-100% от общего количества липидов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит таргетирующий фрагмент, имеющий специфическое сродство к поверхностному антигену на клетке-мишени, представляющей интерес. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы, причем необязательно указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы ковалентной связью. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой полипептид. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома дополнительно содержит иммуностимулирующий агент (например, 1,6-бета-глюкан). В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит стерический стабилизатор. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный стерический стабилизатор представляет собой полиэтиленгликоль (т. е., указанная липосома является пэгилированной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ПЭГ имеет среднечисловую молекулярную массу ( $M_n$ ) от 200 до 5000 Дальтон. В некоторых вариантах реализации изобретения дзета-потенциал указанной липосомы находится в диапазоне от -150 до 150 мВ или от -50 до 50 мВ, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома является катионной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит липосому, которая имеет дзета-потенциал более нуля. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный дзета-потенциал липосомы равен от 0,2 до 150 мВ, от 1 до 50 мВ, от 1 до 40 мВ, от 1 до 30 мВ, от 1 до 25 мВ, от 1 до 20 мВ, от

1 до 15 мВ, от 1 до 10 мВ, от 1 до 5 мВ, от 2 до 10 мВ, от 3 до 10 мВ, от 4 до 10 мВ или от 5 до 10 мВ, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома является анионной или нейтральной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит липосому, которая имеет дзета-потенциал менее или равен нулю. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет дзета-потенциал от -150 до 0 мВ, от -50 до 0 мВ, от -40 до 0 мВ, от -30 до 0 мВ, от -25 до 0 мВ, от -20 до 0 мВ, от -10 до 0 мВ, от -9 до 0 мВ, от -8 до 0 мВ, от -7 до 0 мВ, от -6 до 0 мВ, от -5 до 0 мВ, от -4 до 0 мВ, от -3 до 0 мВ, от -2 до 0 мВ, от -1 до 0 мВ или от -8 до 2 мВ, или любой диапазон между этими значениями.

[0153] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая ионизируемый бис-альфа, омега-каротиноид, имеющий формулу:

Q-R<sub>1</sub>-Полиеновый Каротиноид-R<sub>1</sub>-Q, инкапсулированный в липосому, причем указанный Полиеновый Каротиноид содержит

(a) 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 3-5, 6-8, 9-10 или более 9 сопряженных двойных связей,

(b) замещения метилом или низшим алкилом (C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>), и

(c) 1, 2, 3 или более 3 ионизируемых групп; и

R<sub>1</sub> представляет собой ионизируемую группу; и

Q представляет собой (a) поливалентный противоион или (b) одновалентный катион.

В некоторых вариантах реализации изобретения R<sub>1</sub>-Полиеновый Каротиноид-R<sub>1</sub> содержит все транс-сопряженные двойные связи. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный R<sub>1</sub>-Полиеновый Каротиноид-R<sub>1</sub> содержит 6-9 транс-сопряженных двойных связей. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный R<sub>1</sub>-Полиеновый Каротиноид-R<sub>1</sub> содержит 7 транс-сопряженных двойных связей. Указанный R<sub>1</sub>-Полиеновый Каротиноид-R<sub>1</sub> может быть встречающимся в природе или синтетическим. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный R<sub>1</sub>-Полиеновый Каротиноид-R<sub>1</sub> является встречающимся в природе. В других вариантах реализации изобретения указанный R<sub>1</sub>-Полиеновый Каротиноид-R<sub>1</sub> является синтетическим. В некоторых вариантах реализации изобретения R<sub>1</sub> представляет собой анионную ионизируемую группу. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный R<sub>1</sub>-Полиеновый Каротиноид-R<sub>1</sub> содержит

ионизируемую группу, выбранную из: карбоксильной группы, сульфонатной группы, сульфатной группы, фосфонатной, фосфатной группы, и гидроксаматного фрагмента. В других вариантах реализации изобретения R<sub>1</sub> представляет собой катионную ионизируемую группу (например, первичную, вторичную или третичную аминогруппу, группу четвертичного аммония, холиновую группу, гуанидиновую группу или имидазоловую группу). В конкретных вариантах реализации изобретения R<sub>1</sub> представляет собой катионную ионизируемую группу, и указанная фармацевтическая композиция по существу не содержит нуклеиновых кислот.

В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катионный противоион. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катион металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный противоион переходного металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катионный противоион. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катион металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой по меньшей мере один член, выбранный из Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup> и Fe<sup>2+</sup>. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой Ca<sup>2+</sup> или Mg<sup>2+</sup>. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой Ca<sup>2+</sup>. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой Mg<sup>2+</sup>. В других вариантах реализации изобретения Q представляет собой трехвалентный катионный противоион, такой как Fe<sup>3+</sup>. В других вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный органический противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный органический катион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный органический катион, такой как протонированный диамин.

В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой одновалентный катионный противоион. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой по меньшей мере один член, выбранный из Na<sup>+</sup>, Li<sup>+</sup> или K<sup>+</sup>. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой органический противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q

представляет собой поливалентный органический катион. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный органический катион, такой как протонированный диамин или протонированный полиамин. В других вариантах реализации изобретения Q представляет собой одновалентный органический катион, такой как  $\text{NH}_4^+$ , протонированный диамин или протонированный полиамин.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000 или менее 10000 молекул ионизируемого каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул ионизируемого каротиноида, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение ионизируемого каротиноида/липидов в указанной композиции липосом составляет от 1 г/моль до 1000 г/моль или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение ионизируемого каротиноида/липидов представляет собой 10-150 г/моль, 10-100 г/моль, 30-200 г/моль, 40-200 г/моль или 50-200 г/моль, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит, по меньшей мере, от 0,1 % до 97 % ионизируемого каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанные липосомы имеют средний диаметр, например, от 20 нм до 500 нм (нанометров), от 20 нм до 200 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанные липосомы имеют средний диаметр от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома сформирована из компонентов липосом. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один из анионного липида и нейтрального липида. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один, выбранный из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-малеимида; HSPC; HSPC-PEG; холестерина; холестерин-PEG; и холестерин-малеимида. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один, выбранный из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-FITC; DSPE-PEG-малеимида; холестерина; и HSPC. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома дополнительно содержит окисленный фосфолипид, такой как

ОхРАРС. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит ОхРАРС, который представляет собой окисленный фосфолипид, содержащий фрагментированные окисгенированные sn-2 остатки, окисленный фосфолипид, содержащий полноразмерные окисгенированные sn-2 остатки, и/или окисленный фосфолипид, содержащий пятиуглеродный sn-2 остаток, несущий омега-альдегидные или омега-карбоксильные группы. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит ОхРАРС, выбранный из HOdiA-PC, KOdiA-PC, HOOA-PC и KOOA-PC, или указанный ОхРАРС представляет собой эпоксиизопростансодержащий фосфолипид. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит ОхРАРС, выбранный из группы, включающей 1-пальмитоил-2-(5,6-эпоксиизопростан E2)-sn-глицеро-3-фосфохолин (5,6 PEIPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксициклопентенон)-sn-глицеро-3-фосфорилхолин (PEPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксиизопростан E2)-sn-глицеро-4-фосфохолин (PEIPC), 1-пальмитоил-2-глутароил-sn-глицеро-3-фосфохолин (PGPC); 1-пальмитоил-2-(9'-оксононаноил)-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-арахидоноил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-миристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-гексадецил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-азелаоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; и 1-пальмитоил-2-ацетоил-sn-глицеро-3-фосфохолин. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит PGPC. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ОхРАРС внутри липидного бислоя липосомы составляет 0%-100% от общего количества липидов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит таргетирующий фрагмент, имеющий специфическое сродство к поверхностному антигену на клетке-мишени, представляющей интерес. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы, причем необязательно указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы ковалентной связью. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой полипептид. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации

изобретения указанная липосома дополнительно содержит иммуностимулирующий агент (например, 1,6-бета-глюкан). В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит стерический стабилизатор. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный стерический стабилизатор представляет собой полиэтиленгликоль (т. е., указанная липосома является пэгилированной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ПЭГ имеет среднечисловую молекулярную массу ( $M_n$ ) от 200 до 5000 Дальтон. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома является анионной или нейтральной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет дзета-потенциал менее или равен нулю. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет дзета-потенциал от -150 до 0 мВ, от -50 до 0 мВ, от -40 до 0 мВ, от -30 до 0 мВ, от -25 до 0 мВ, от -20 до 0 мВ, от -10 до 0 мВ, от -9 до 0 мВ, от -8 до 0 мВ, от -7 до 0 мВ, от -6 до 0 мВ, от -5 до 0 мВ, от -4 до 0 мВ, от -3 до 0 мВ, от -2 до 0 мВ, от -1 до 0 мВ или от -8 до 2 мВ, или любой диапазон между этими значениями. В других вариантах реализации изобретения указанная липосома является катионной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит липосому, которая имеет дзета-потенциал более нуля. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный дзета-потенциал липосомы равен от 0,2 до 150 мВ, от 1 до 50 мВ, от 1 до 40 мВ, от 1 до 30 мВ, от 1 до 25 мВ, от 1 до 20 мВ, от 1 до 15 мВ, от 1 до 10 мВ, от 1 до 5 мВ, от 2 до 10 мВ, от 3 до 10 мВ, от 4 до 10 мВ или от 5 до 10 мВ, или любой диапазон между этими значениями.

[0154] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая бис-альфа, омега-каротиноид, имеющий формулу:  $R_1$ -Полиеновый Каротиноид- $R_1$ , инкапсулированный в липосому, где,

указанный бис-альфа, омега-каротиноид содержит:

(a) 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 3-5, 6-8, 9-10 или более 9 сопряженных двойных связей,

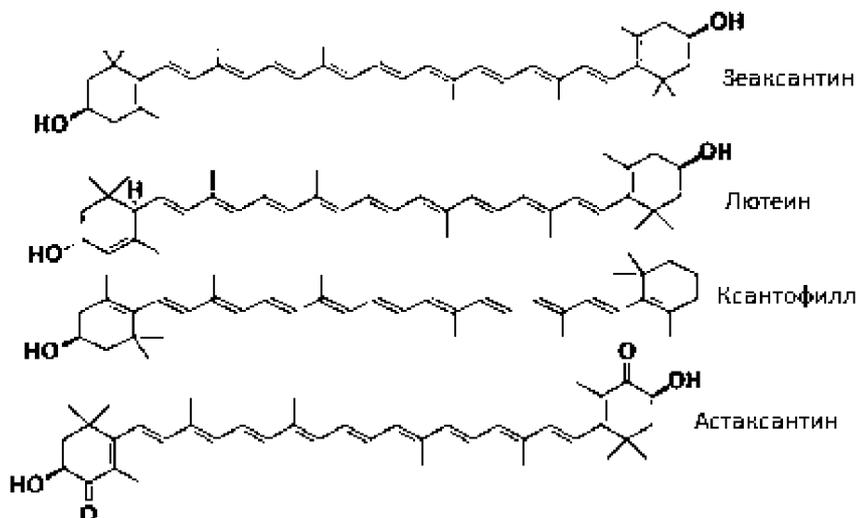
и

(b) 1, 2, 3 или более 3 ионизируемых групп; и

указанный Полиеновый Каротиноид является необязательно замещенным от 1 до  $n$  метиловыми или низшими C1-C3 алкильными замещениями, где  $n$  = от 1 до 4; и

$R_1$  представляет собой полярную группу и/или моноциклическую функциональную группу.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанный бис-альфа, омега-каротиноид содержит все транс-сопряженные двойные связи. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный бис-альфа, омега-каротиноид содержит 6-9 сопряженных двойных связей. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный бис-альфа, омега-каротиноид содержит 7 сопряженных двойных связей. Указанный бис-альфа, омега-каротиноид может быть встречающимся в природе или синтетическим. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный бис-альфа, омега-каротиноид является встречающимся в природе. В других вариантах реализации изобретения указанный бис-альфа, омега-каротиноид является синтетическим. В некоторых вариантах реализации изобретения  $R_1$  представляет собой полярную группу. В некоторых вариантах реализации изобретения  $R_1$  представляет собой моноциклическую функциональную группу. В некоторых вариантах реализации изобретения  $R_1$  представляет собой полярную группу и моноциклическую функциональную группу. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный бис-альфа, омега-каротиноид содержит моноциклическую и/или полярную функциональную группу, выбранную из функциональной группы, присутствующей в астаксантине, лютеине, ксантофилле и зеаксантине. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный бис-альфа, омега-каротиноид выбран из астаксантина, лютеина, ксантофилла и зеаксантина (например, как показано ниже).



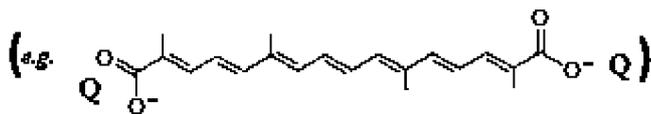
В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000 или менее 10000 молекул бис-альфа, омега-каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от

1000 до 5000 молекул бис-альфа, омега-каротиноида, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение бис-альфа, омега-каротиноида/липида в указанной композиции липосом составляет от 1 г/моль до 1000 г/моль или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение бис-альфа, омега-каротиноида/липида представляет собой 10-150 г/моль, 10-100 г/моль, 30-200 г/моль, 40-200 г/моль или 50-200 г/моль, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит, по меньшей мере, от 0,1 % до 97 % бис-альфа, омега-каротиноида. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет диаметр от 20 нм до 500 нм, от 20 нм до 200 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет диаметр от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома сформирована из компонентов липосом. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один из анионного липида и нейтрального липида. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один, выбранный из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-малеимида; HSPC; HSPC-PEG; холестерина; холестерин-PEG; и холестерин-малеимида. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один, выбранный из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-FITC; DSPE-PEG-малеимида; холестерина; и HSPC. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома дополнительно содержит окисленный фосфолипид, такой как OxPAPC. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит OxPAPC, который представляет собой окисленный фосфолипид, содержащий фрагментированные оксигенированные sn-2 остатки, окисленный фосфолипид, содержащий полноразмерные оксигенированные sn-2 остатки, и/или окисленный фосфолипид, содержащий пятиуглеродный sn-2 остаток, несущий омега-альдегидные или омега-карбоксылные группы. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит OxPAPC, выбранный из HOdiA-PC, KOdiA-PC, HOOA-PC и KOOA-PC, или указанный OxPAPC представляет собой эпоксиизопростансодержащий фосфолипид. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит OxPAPC, выбранный из группы, включающей 1-пальмитоил-2-(5,6-

эпоксиизопростан E2)-sn-глицеро-3-фосфохолин (5,6 PEIPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксициклопентенон)-sn-глицеро-3-фосфорилхолин (PEPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксиизопростан E2)-sn-глицеро-4-фосфохолин (PEIPC), 1-пальмитоил-2-глутароил-sn-глицеро-3-фосфохолин (PGPC); 1-пальмитоил-2-(9'-оксононаноил)-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-арахидоноил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-миристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-гексадецил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-азелаоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; и 1-пальмитоил-2-ацетоил-sn-глицеро-3-фосфохолин. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит PGPC. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ОхРАРС внутри липидного бислоя липосомы составляет 0%-100% от общего количества липидов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит таргетирующий фрагмент, имеющий специфическое сродство к поверхностному антигену на клетке-мишени, представляющей интерес. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы, причем необязательно указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы ковалентной связью. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой полипептид. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома дополнительно содержит иммуностимулирующий агент (например, 1,6-бета-глюкан). В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит стерический стабилизатор. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный стерический стабилизатор представляет собой полиэтиленгликоль (т. е., указанная липосома является пэгилированной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ПЭГ имеет среднечисловую молекулярную массу ( $M_n$ ) от 200 до 5000 Дальтон. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома является анионной или нейтральной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет дзета-потенциал менее или равен нулю. В некоторых вариантах реализации изобретения

указанная липосома имеет дзета-потенциал от -150 до 0 мВ, от -50 до 0 мВ, от -40 до 0 мВ, от -30 до 0 мВ, от -25 до 0 мВ, от -20 до 0 мВ, от -10 до 0 мВ, от -9 до 0 мВ, от -8 до 0 мВ, от -7 до 0 мВ, от -6 до 0 мВ, от -5 до 0 мВ, от -4 до 0 мВ, от -3 до 0 мВ, от -2 до 0 мВ, от -1 до 0 мВ или от -8 до 2 мВ, или любой диапазон между этими значениями. В других вариантах реализации изобретения указанная липосома является катионной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит липосому, которая имеет дзета-потенциал более нуля. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный дзета-потенциал липосомы равен от 0,2 до 150 мВ, от 1 до 50 мВ, от 1 до 40 мВ, от 1 до 30 мВ, от 1 до 25 мВ, от 1 до 20 мВ, от 1 до 15 мВ, от 1 до 10 мВ, от 1 до 5 мВ, от 2 до 10 мВ, от 3 до 10 мВ, от 4 до 10 мВ или от 5 до 10 мВ, или любой диапазон между этими значениями.

[0155] В некоторых вариантах реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит соль транс-кроцетина, имеющую формулу: Q-транс-кроцетин-Q



инкапсулированный в липосому, где

Q представляет собой (а) поливалентный противоион или (б) одновалентный катион.

В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катионный противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катион металла. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катион переходного металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катионный противоион. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катион металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой по меньшей мере один член, выбранный из  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$ . В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$  или  $\text{Mg}^{2+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой  $\text{Mg}^{2+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный органический противоион. В других вариантах реализации изобретения Q представляет собой

трехвалентный катионный противоион, такой как  $\text{Fe}^{3+}$ . В других вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный органический противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный органический катион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный органический катион, такой как протонированный диамин.

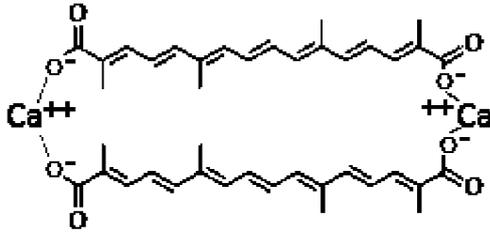
В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой одновалентный катионный противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой одновалентный катион металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой по меньшей мере один член, выбранный из  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Li}^+$  или  $\text{K}^+$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой органический катион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой одновалентный органический катион, такой как протонированный амин (например, протонированный диамин или протонированный полиамин). В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой органический катион, такой как  $\text{NH}_4^+$ , протонированный диамин или протонированный полиамин.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000 или менее 10000 молекул транс-кроцетина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул транс-кроцетина, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение транс-кроцетина/липидов в указанной композиции липосом составляет от 1 г/моль до 1000 г/моль или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение транс-кроцетина/липидов представляет собой 10-150 г/моль, 10-100 г/моль, 30-200 г/моль, 40-200 г/моль или 50-200 г/моль, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит, по меньшей мере, от 0,1 % до 97 % транс-кроцетина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет диаметр от 20 нм до 500 нм, от 20 нм до 200 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет диаметр от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома сформирована из компонентов липосом. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом

содержат по меньшей мере один из анионного липида и нейтрального липида. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один, выбранный из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-малеимида; HSPC; HSPC-PEG; холестерина; холестерин-PEG; и холестерин-малеимида. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один, выбранный из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-FITC; DSPE-PEG-малеимида; холестерина; и HSPC. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома дополнительно содержит окисленный фосфолипид, такой как ОхРАРС. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит ОхРАРС, который представляет собой окисленный фосфолипид, содержащий фрагментированные оксигенированные sn-2 остатки, окисленный фосфолипид, содержащий полноразмерные оксигенированные sn-2 остатки, и/или окисленный фосфолипид, содержащий пятиуглеродный sn-2 остаток, несущий омега-альдегидные или омега-карбоксильные группы. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит ОхРАРС, выбранный из HOdiA-PC, KOdiA-PC, HOOA-PC и KOOA-PC, или указанный ОхРАРС представляет собой эпоксиизопростансодержащий фосфолипид. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит ОхРАРС, выбранный из группы, включающей 1-пальмитоил-2-(5,6-эпоксиизопростан E2)-sn-глицеро-3-фосфохолин (5,6 PEIPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксициклопентенон)-sn-глицеро-3-фосфорилхолин (PEPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксиизопростан E2)-sn-глицеро-4-фосфохолин (PEIPC), 1-пальмитоил-2-глутароил-sn-глицеро-3-фосфохолин (PGPC); 1-пальмитоил-2-(9'-оксоноаноил)-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-арахидоноил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-миристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-гексадецил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-азелаил-sn-глицеро-3-фосфохолин; и 1-пальмитоил-2-ацетоил-sn-глицеро-3-фосфохолин. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит PGPC. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ОхРАРС внутри липидного бислоя липосомы составляет 0%-100% от общего количества липидов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит таргетирующий фрагмент, имеющий специфическое сродство к поверхностному антигену на клетке-мишени, представляющей интерес. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному

или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы, причем необязательно указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы ковалентной связью. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой полипептид. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома дополнительно содержит иммуностимулирующий агент (например, 1,6-бета-глюкан). В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит стерический стабилизатор. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный стерический стабилизатор представляет собой полиэтиленгликоль (т. е., указанная липосома является пэгилированной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ПЭГ имеет среднечисловую молекулярную массу ( $M_n$ ) от 200 до 5000 Дальтон. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома является анионной или нейтральной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет дзета-потенциал менее или равен нулю. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет дзета-потенциал от -150 до 0 мВ, от -50 до 0 мВ, от -40 до 0 мВ, от -30 до 0 мВ, от -25 до 0 мВ, от -20 до 0 мВ, от -10 до 0 мВ, от -9 до 0 мВ, от -8 до 0 мВ, от -7 до 0 мВ, от -6 до 0 мВ, от -5 до 0 мВ, от -4 до 0 мВ, от -3 до 0 мВ, от -2 до 0 мВ, от -1 до 0 мВ или от -8 до 2 мВ, или любой диапазон между этими значениями. В других вариантах реализации изобретения указанная липосома является катионной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит липосому, которая имеет дзета-потенциал более нуля. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный дзета-потенциал липосомы равен от 0,2 до 150 мВ, от 1 до 50 мВ, от 1 до 40 мВ, от 1 до 30 мВ, от 1 до 25 мВ, от 1 до 20 мВ, от 1 до 15 мВ, от 1 до 10 мВ, от 1 до 5 мВ, от 2 до 10 мВ, от 3 до 10 мВ, от 4 до 10 мВ или от 5 до 10 мВ, или любой диапазон между этими значениями.

[0156] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая кальций транс-кrocетинат (СТС), инкапсулированный в липосому. Указанный СТС может существовать в линейной и/или циклической форме (показанной ниже).

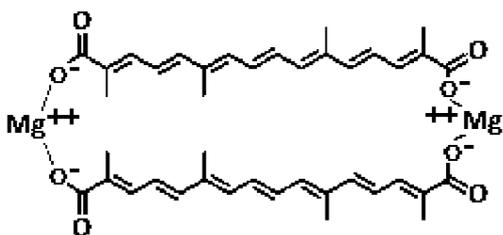


В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000 или менее 10000 молекул транс-кросцетина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул транс-кросцетина, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение транс-кросцетина/липида в указанной композиции липосом составляет от 1 г/моль до 1000 г/моль или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение транс-кросцетина/липида представляет собой 10-150 г/моль, 10-100 г/моль, 30-200 г/моль, 40-200 г/моль или 50-200 г/моль, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит, по меньшей мере, от 0,1 % до 97 % транс-кросцетина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет диаметр от 20 нм до 500 нм, от 20 нм до 200 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет диаметр от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома сформирована из компонентов липосом. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один из анионного липида и нейтрального липида. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один, выбранный из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-малеимида; HSPC; HSPC-PEG; холестерина; холестерин-PEG; и холестерин-малеимида. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один, выбранный из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-FITC; DSPE-PEG-малеимида; холестерина; и HSPC. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома дополнительно содержит окисленный фосфолипид, такой как OxPAPC. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит OxPAPC, который

представляет собой окисленный фосфолипид, содержащий фрагментированные окисгенированные sn-2 остатки, окисленный фосфолипид, содержащий полноразмерные окисгенированные sn-2 остатки, и/или окисленный фосфолипид, содержащий пятиуглеродный sn-2 остаток, несущий омега-альдегидные или омега-карбоксильные группы. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит ОхРАРС, выбранный из HOdiA-PC, KOdiA-PC, HOOA-PC и KOOA-PC, или указанный ОхРАРС представляет собой эпоксиизопростансодержащий фосфолипид. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит ОхРАРС, выбранный из группы, включающей 1-пальмитоил-2-(5,6-эпоксиизопростан E2)-sn-глицеро-3-фосфохолин (5,6 PEIPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксициклопентенон)-sn-глицеро-3-фосфорилхолин (PEPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксиизопростан E2)-sn-глицеро-4-фосфохолин (PEIPC), 1-пальмитоил-2-глутароил-sn-глицеро-3-фосфохолин (PGPC); 1-пальмитоил-2-(9'-оксоноаноил)-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-арахидоноил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-миристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-гексадецил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-азелаил-sn-глицеро-3-фосфохолин; и 1-пальмитоил-2-ацетоил-sn-глицеро-3-фосфохолин. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит PGPC. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ОхРАРС внутри липидного бислоя липосомы составляет 0%-100% от общего количества липидов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит таргетирующий фрагмент, имеющий специфическое сродство к поверхностному антигену на клетке-мишени, представляющей интерес. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы, причем необязательно указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы ковалентной связью. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой полипептид. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит менее 500000 или менее 200000 молекул

транс-кроцетина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 10 до 100000 молекул транс-кроцетина, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома дополнительно содержит иммуностимулирующий агент (например, 1,6-бета-глюкан). В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит стерический стабилизатор. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный стерический стабилизатор представляет собой полиэтиленгликоль (т. е., указанная липосома является пегилированной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ПЭГ имеет среднечисловую молекулярную массу ( $M_n$ ) от 200 до 5000 Дальтон. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома является анионной или нейтральной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет дзета-потенциал менее или равен нулю. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет дзета-потенциал от -150 до 0 мВ, от -50 до 0 мВ, от -40 до 0 мВ, от -30 до 0 мВ, от -25 до 0 мВ, от -20 до 0 мВ, от -10 до 0 мВ, от -9 до 0 мВ, от -8 до 0 мВ, от -7 до 0 мВ, от -6 до 0 мВ, от -5 до 0 мВ, от -4 до 0 мВ, от -3 до 0 мВ, от -2 до 0 мВ, от -1 до 0 мВ или от -8 до 2 мВ, или любой диапазон между этими значениями. В других вариантах реализации изобретения указанная липосома является катионной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит липосому, которая имеет дзета-потенциал более нуля. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный дзета-потенциал липосомы равен от 0,2 до 150 мВ, от 1 до 50 мВ, от 1 до 40 мВ, от 1 до 30 мВ, от 1 до 25 мВ, от 1 до 20 мВ, от 1 до 15 мВ, от 1 до 10 мВ, от 1 до 5 мВ, от 2 до 10 мВ, от 3 до 10 мВ, от 4 до 10 мВ или от 5 до 10 мВ, или любой диапазон между этими значениями.

[0157] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая магний транс-кроцетинат (МТС), инкапсулированный в липосому. Указанный МТС может существовать в линейной и/или циклической форме (показанной ниже).

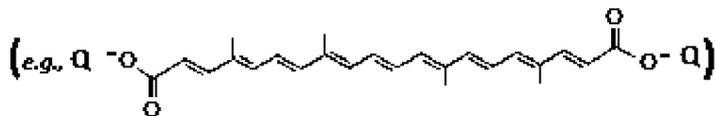


В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000 или менее 10000 молекул транс-кроцетина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 500 до 5000 молекул транс-кроцетина, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение транс-кроцетина/липидов представляет собой 10-150 г/моль, 10-100 г/моль, 30-200 г/моль, 40-200 г/моль или 50-200 г/моль, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит, по меньшей мере, от 0,1 % до 97 % транс-кроцетина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет диаметр от 20 нм до 500 нм, от 20 нм до 200 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет диаметр от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома сформирована из компонентов липосом. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один из анионного липида и нейтрального липида. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один, выбранный из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-малеимида; HSPC; HSPC-PEG; холестерина; холестерин-PEG; и холестерин-малеимида. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один, выбранный из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-FITC; DSPE-PEG-малеимида; холестерина; и HSPC. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома дополнительно содержит окисленный фосфолипид, такой как OxPAPC. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит OxPAPC, который представляет собой окисленный фосфолипид, содержащий фрагментированные окисленные sn-2 остатки, окисленный фосфолипид, содержащий полноразмерные окисленные sn-2 остатки, и/или окисленный фосфолипид, содержащий пятиуглеродный sn-2 остаток, несущий омега-альдегидные или омега-карбоксильные группы. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит OxPAPC, выбранный из HOdiA-PC, KOdiA-PC, HOOA-PC и KOOA-PC, или указанный OxPAPC представляет собой эпоксиизопростансодержащий фосфолипид. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит OxPAPC, выбранный из группы,

включающей 1-пальмитоил-2-(5,6-эпоксиизопростан E2)-sn-глицеро-3-фосфохолин (5,6 PEIPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксициклопентенон)-sn-глицеро-3-фосфохолин (PEPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксиизопростан E2)-sn-глицеро-4-фосфохолин (PEIPC), 1-пальмитоил-2-глутароил-sn-глицеро-3-фосфохолин (PGPC); 1-пальмитоил-2-(9'-оксононаноил)-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-арахидоноил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-миристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-гексадецил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-азелаоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; и 1-пальмитоил-2-ацетоил-sn-глицеро-3-фосфохолин. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит PGPC. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный OхРАРС внутри липидного бислоя липосомы составляет 0%-100% от общего количества липидов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит таргетирующий фрагмент, имеющий специфическое сродство к поверхностному антигену на клетке-мишени, представляющей интерес. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы, причем необязательно указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы ковалентной связью. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой полипептид. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома дополнительно содержит иммуностимулирующий агент (например, 1,6-бета-глюкан). В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит стерический стабилизатор. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный стерический стабилизатор представляет собой полиэтиленгликоль (т. е., указанная липосома является пэгилированной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ПЭГ имеет среднечисловую молекулярную массу ( $M_n$ ) от 200 до 5000 Дальтон. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома является анионной или нейтральной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет дзета-потенциал менее или равен нулю. В некоторых вариантах реализации изобретения

указанная липосома имеет дзета-потенциал от -150 до 0 мВ, от -50 до 0 мВ, от -40 до 0 мВ, от -30 до 0 мВ, от -25 до 0 мВ, от -20 до 0 мВ, от -10 до 0 мВ, от -9 до 0 мВ, от -8 до 0 мВ, от -7 до 0 мВ, от -6 до 0 мВ, от -5 до 0 мВ, от -4 до 0 мВ, от -3 до 0 мВ, от -2 до 0 мВ, от -1 до 0 мВ или от -8 до 2 мВ, или любой диапазон между этими значениями. В других вариантах реализации изобретения указанная липосома является катионной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит липосому, которая имеет дзета-потенциал более нуля. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный дзета-потенциал липосомы равен от 0,2 до 150 мВ, от 1 до 50 мВ, от 1 до 40 мВ, от 1 до 30 мВ, от 1 до 25 мВ, от 1 до 20 мВ, от 1 до 15 мВ, от 1 до 10 мВ, от 1 до 5 мВ, от 2 до 10 мВ, от 3 до 10 мВ, от 4 до 10 мВ или от 5 до 10 мВ, или любой диапазон между этими значениями.

[0158] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая транс-норбиксин, имеющий формулу: Q-норбиксин-Q



инкапсулированный в липосому, где

Q представляет собой поливалентный катионный противоион.

В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катионный противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катион металла. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой поливалентный катион переходного металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катионный противоион. В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный катион металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой по меньшей мере один член, выбранный из  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$ . В дополнительных вариантах реализации изобретения Q представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$  или  $\text{Mg}^{2+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой  $\text{Mg}^{2+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой двухвалентный органический противоион.

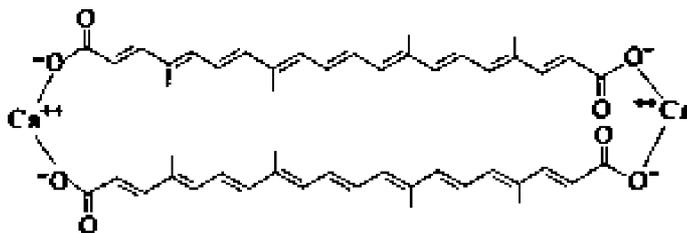
В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой одновалентный катионный противоион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой одновалентный катион металла. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой по меньшей мере один член, выбранный из  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Li}^+$  или  $\text{K}^+$ . В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой органический катион. В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой одновалентный органический катион, такой как протонированный амин (например, протонированный диамин или протонированный полиамин). В некоторых вариантах реализации изобретения Q представляет собой органический катион, такой как  $\text{NH}_4^+$ , протонированный диамин или протонированный полиамин.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000 или менее 10000 молекул транс-норбиксина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул транс-норбиксина, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение транс-норбиксина/липида в указанной композиции липосом составляет от 1 г/моль до 1000 г/моль или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение транс-норбиксина/липида представляет собой 10-150 г/моль, 10-100 г/моль, 30-200 г/моль, 40-200 г/моль или 50-200 г/моль, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит, по меньшей мере, от 0,1 % до 97 % Q-норбиксина-Q. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет диаметр от 20 нм до 500 нм, от 20 нм до 200 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет диаметр от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома сформирована из компонентов липосом. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один из анионного липида и нейтрального липида. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один, выбранный из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-малеимида; HSPC; HSPC-PEG; холестерина; холестерин-PEG; и холестерин-малеимида. В дополнительных вариантах

реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один, выбранный из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-FITC; DSPE-PEG-малеимида; холестерина; и HSPC. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома дополнительно содержит окисленный фосфолипид, такой как ОхРАРС. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит ОхРАРС, который представляет собой окисленный фосфолипид, содержащий фрагментированные окисленные sn-2 остатки, окисленный фосфолипид, содержащий полноразмерные окисленные sn-2 остатки, и/или окисленный фосфолипид, содержащий пятиуглеродный sn-2 остаток, несущий омега-альдегидные или омега-карбоксильные группы. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит ОхРАРС, выбранный из HOdiA-PC, KOdiA-PC, HOOA-PC и KOOA-PC, или указанный ОхРАРС представляет собой эпоксиизопростансодержащий фосфолипид. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит ОхРАРС, выбранный из группы, включающей 1-пальмитоил-2-(5,6-эпоксиизопростан E2)-sn-глицеро-3-фосфохолин (5,6 PEIPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксициклопентенон)-sn-глицеро-3-фосфорилхолин (PEPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксиизопростан E2)-sn-глицеро-4-фосфохолин (PEIPC), 1-пальмитоил-2-глутароил-sn-глицеро-3-фосфохолин (PGPC); 1-пальмитоил-2-(9'-оксоноаноил)-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-арахидоноил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-миристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-гексадецил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-азелаоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; и 1-пальмитоил-2-ацетоил-sn-глицеро-3-фосфохолин. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит PGPC. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ОхРАРС внутри липидного бислоя липосомы составляет 0%-100% от общего количества липидов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит таргетирующий фрагмент, имеющий специфическое сродство к поверхностному антигену на клетке-мишени, представляющей интерес. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы, причем необязательно указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы ковалентной связью. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой полипептид. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий

фрагмент представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома дополнительно содержит иммуностимулирующий агент (например, 1,6-бета-глюкан). В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит стерический стабилизатор. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный стерический стабилизатор представляет собой полиэтиленгликоль (т. е., указанная липосома является пэгилированной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ПЭГ имеет среднечисловую молекулярную массу ( $M_n$ ) от 200 до 5000 Дальтон. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома является анионной или нейтральной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет дзета-потенциал менее или равен нулю. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет дзета-потенциал от -150 до 0 мВ, от -50 до 0 мВ, от -40 до 0 мВ, от -30 до 0 мВ, от -25 до 0 мВ, от -20 до 0 мВ, от -10 до 0 мВ, от -9 до 0 мВ, от -8 до 0 мВ, от -7 до 0 мВ, от -6 до 0 мВ, от -5 до 0 мВ, от -4 до 0 мВ, от -3 до 0 мВ, от -2 до 0 мВ, от -1 до 0 мВ или от -8 до 2 мВ, или любой диапазон между этими значениями. В других вариантах реализации изобретения указанная липосома является катионной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит липосому, которая имеет дзета-потенциал более нуля. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный дзета-потенциал липосомы равен от 0,2 до 150 мВ, от 1 до 50 мВ, от 1 до 40 мВ, от 1 до 30 мВ, от 1 до 25 мВ, от 1 до 20 мВ, от 1 до 15 мВ, от 1 до 10 мВ, от 1 до 5 мВ, от 2 до 10 мВ, от 3 до 10 мВ, от 4 до 10 мВ или от 5 до 10 мВ, или любой диапазон между этими значениями.

[0159] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая кальций транс-норбиксинат (CTN), инкапсулированный в липосому. Указанный CTN может существовать в линейной и/или циклической форме (показанной ниже).

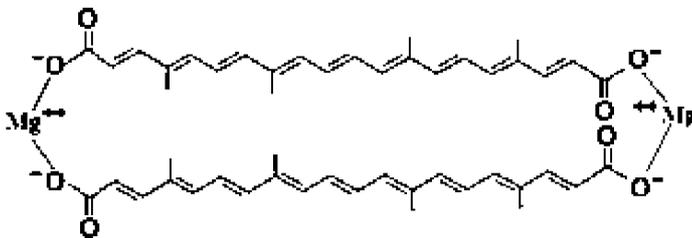


В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000 или менее 10000 молекул транс-норбиксина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул транс-норбиксина, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение транс-норбиксина/липида в указанной композиции липосом составляет от 1 г/моль до 1000 г/моль или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение транс-норбиксина/липида представляет собой 10-150 г/моль, 10-100 г/моль, 30-200 г/моль, 40-200 г/моль или 50-200 г/моль, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит, по меньшей мере, от 0,1 % до 97 % транс-норбиксина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет диаметр от 20 нм до 500 нм, от 20 нм до 200 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет диаметр от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома сформирована из компонентов липосом. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один из анионного липида и нейтрального липида. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один, выбранный из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-малеимида; HSPC; HSPC-PEG; холестерина; холестерин-PEG; и холестерин-малеимида. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один, выбранный из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-FITC; DSPE-PEG-малеимида; холестерина; и HSPC. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома дополнительно содержит окисленный фосфолипид, такой как OxPAPC. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит OxPAPC, который представляет собой окисленный фосфолипид, содержащий фрагментированные оксигенированные sn-2 остатки, окисленный фосфолипид, содержащий полноразмерные оксигенированные sn-2 остатки, и/или окисленный фосфолипид, содержащий пятиуглеродный sn-2 остаток, несущий омега-альдегидные или омега-карбоксильные группы. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит OxPAPC, выбранный из HOdiA-PC, KOdiA-PC, HOOA-

РС и КООА-РС, или указанный ОхРАРС представляет собой эпоксиизопростансодержащий фосфолипид. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит ОхРАРС, выбранный из группы, включающей 1-пальмитоил-2-(5,6-эпоксиизопростан Е2)-sn-глицеро-3-фосфохолин (5,6 PEIPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксициклопентенон)-sn-глицеро-3-фосфорилхолин (PEPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксиизопростан Е2)-sn-глицеро-4-фосфохолин (PEIPC), 1-пальмитоил-2-глутароил-sn-глицеро-3-фосфохолин (PGPC); 1-пальмитоил-2-(9'-оксононаноил)-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-арахидоноил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-миристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-гексадецил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-азелаоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; и 1-пальмитоил-2-ацетоил-sn-глицеро-3-фосфохолин. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит PGPC. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ОхРАРС внутри липидного бислоя липосомы составляет 0%-100% от общего количества липидов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит таргетирующий фрагмент, имеющий специфическое сродство к поверхностному антигену на клетке-мишени, представляющей интерес. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы, причем необязательно указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы ковалентной связью. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой полипептид. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома дополнительно содержит иммуностимулирующий агент (например, 1,6-бета-глюкан). В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит стерический стабилизатор. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный стерический стабилизатор представляет собой полиэтиленгликоль (т. е., указанная липосома является пэгилированной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ПЭГ имеет среднечисловую молекулярную массу ( $M_n$ ) от 200 до 5000 Дальтон. В дополнительных вариантах

реализации изобретения указанная липосома является анионной или нейтральной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет дзета-потенциал менее или равен нулю. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет дзета-потенциал от -150 до 0 мВ, от -50 до 0 мВ, от -40 до 0 мВ, от -30 до 0 мВ, от -25 до 0 мВ, от -20 до 0 мВ, от -10 до 0 мВ, от -9 до 0 мВ, от -8 до 0 мВ, от -7 до 0 мВ, от -6 до 0 мВ, от -5 до 0 мВ, от -4 до 0 мВ, от -3 до 0 мВ, от -2 до 0 мВ, от -1 до 0 мВ или от -8 до 2 мВ, или любой диапазон между этими значениями. В других вариантах реализации изобретения указанная липосома является катионной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит липосому, которая имеет дзета-потенциал более нуля. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный дзета-потенциал липосомы равен от 0,2 до 150 мВ, от 1 до 50 мВ, от 1 до 40 мВ, от 1 до 30 мВ, от 1 до 25 мВ, от 1 до 20 мВ, от 1 до 15 мВ, от 1 до 10 мВ, от 1 до 5 мВ, от 2 до 10 мВ, от 3 до 10 мВ, от 4 до 10 мВ или от 5 до 10 мВ, или любой диапазон между этими значениями.

[0160] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая магний транс-норбиксинат (MTN), инкапсулированный в липосому. Указанный MTN может существовать в линейной и/или циклической форме (показанной ниже).



В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000 или менее 10000 молекул транс-норбиксина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 1000 до 5000 молекул транс-норбиксина, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение транс-норбиксина/липида в указанной композиции липосом составляет от 1 г/моль до 1000 г/моль или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соотношение транс-норбиксина/липида представляет собой 10-150 г/моль, 10-100 г/моль, 30-200 г/моль, 40-200 г/моль или 50-200 г/моль, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах

реализации изобретения указанная липосома содержит, по меньшей мере, от 0,1 % до 97 % транс-норбиксина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет диаметр от 20 нм до 500 нм, от 20 нм до 200 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет диаметр от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома сформирована из компонентов липосом. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один из анионного липида и нейтрального липида. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один, выбранный из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-малеимида; HSPC; HSPC-PEG; холестерина; холестерин-PEG; и холестерин-малеимида. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере один, выбранный из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-FITC; DSPE-PEG-малеимида; холестерина; и HSPC. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома дополнительно содержит окисленный фосфолипид, такой как ОхРАРС. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит ОхРАРС, который представляет собой окисленный фосфолипид, содержащий фрагментированные оксигенированные sn-2 остатки, окисленный фосфолипид, содержащий полноразмерные оксигенированные sn-2 остатки, и/или окисленный фосфолипид, содержащий пятиуглеродный sn-2 остаток, несущий омега-альдегидные или омега-карбоксильные группы. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит ОхРАРС, выбранный из HOdiA-PC, KOdiA-PC, HOOA-PC и KOOA-PC, или указанный ОхРАРС представляет собой эпоксиизопростансодержащий фосфолипид. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит ОхРАРС, выбранный из группы, включающей 1-пальмитоил-2-(5,6-эпоксиизопростан E2)-sn-глицеро-3-фосфохолин (5,6 PEIPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксициклопентенон)-sn-глицеро-3-фосфорилхолин (PEPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксиизопростан E2)-sn-глицеро-4-фосфохолин (PEIPC), 1-пальмитоил-2-глутароил-sn-глицеро-3-фосфохолин (PGPC); 1-пальмитоил-2-(9'-оксононаноил)-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-арахидоноил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-миристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-гексадецил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-азелаоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; и 1-пальмитоил-2-ацетоил-sn-глицеро-3-фосфохолин. В некоторых

вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит PGPC. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный OхРАРС внутри липидного бислоя липосомы составляет 0%-100% от общего количества липидов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит таргетирующий фрагмент, имеющий специфическое сродство к поверхностному антигену на клетке-мишени, представляющей интерес. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы, причем необязательно указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы ковалентной связью. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой полипептид. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный таргетирующий фрагмент представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит менее 500000 или менее 200000 молекул транс-норбиксина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит от 10 до 100000 молекул транс-норбиксина, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома дополнительно содержит иммуностимулирующий агент (например, 1,6-бета-глюкан). В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома содержит стерический стабилизатор. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный стерический стабилизатор представляет собой полиэтиленгликоль (т. е., указанная липосома является пэгилированной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ПЭГ имеет среднечисловую молекулярную массу ( $M_n$ ) от 200 до 5000 Дальтон. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная липосома является анионной или нейтральной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет дзета-потенциал менее или равен нулю. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная липосома имеет дзета-потенциал от -150 до 0 мВ, от -50 до 0 мВ, от -40 до 0 мВ, от -30 до 0 мВ, от -25 до 0 мВ, от -20 до 0 мВ, от -10 до 0 мВ, от -9 до 0 мВ, от -8 до 0 мВ, от -7 до 0 мВ, от -6 до 0 мВ, от -5 до 0 мВ, от -4 до 0 мВ, от -3 до 0 мВ, от -2 до 0 мВ, от -1 до 0 мВ или от -8 до 2 мВ, или любой диапазон между этими значениями. В других вариантах реализации

изобретения указанная липосома является катионной. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная композиция липосом содержит липосому, которая имеет дзета-потенциал более нуля. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный дзета-потенциал липосомы равен от 0,2 до 150 мВ, от 1 до 50 мВ, от 1 до 40 мВ, от 1 до 30 мВ, от 1 до 25 мВ, от 1 до 20 мВ, от 1 до 15 мВ, от 1 до 10 мВ, от 1 до 5 мВ, от 2 до 10 мВ, от 3 до 10 мВ, от 4 до 10 мВ или от 5 до 10 мВ, или любой диапазон между этими значениями.

#### Составление и Введение

[0161] Предложенные композиции могут быть составлены в целом или частично в качестве фармацевтических композиций. Фармацевтические композиции могут содержать одну или более композиций наночастиц. Например, фармацевтическая композиция может содержать одну или более композиций наночастиц, содержащих один или более различных терапевтических или профилактических агентов. Фармацевтические композиции могут дополнительно содержать одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ или дополнительных ингредиентов, таких как описанные в данном документе. Общие руководящие принципы для составления и изготовления фармацевтических композиций и агентов доступны, например, в Remington's The Science and Practice of Pharmacy, 21<sup>st</sup> Edition, A. R. Gennaro; Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, Md., 2006. Обычные вспомогательные вещества и дополнительные ингредиенты могут использоваться в любой фармацевтической композиции, за исключением того, что любое обычное вспомогательное вещество или дополнительный ингредиент может быть несовместим с одним или несколькими компонентами композиции наночастиц. Вспомогательное вещество или дополнительный ингредиент может быть несовместимым с компонентом композиции наночастиц, если его комбинация с данным компонентом может привести к любому нежелательному биологическому эффекту или иным образом вредному эффекту.

[0162] В некоторых вариантах реализации изобретения один или более вспомогательных веществ или дополнительных ингредиентов могут составлять более 50 % от общей массы или объема фармацевтической композиции, содержащей композицию наночастиц. Например, один или более вспомогательных веществ или дополнительных ингредиентов могут составлять 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или более от фармацевтической композиции. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество имеет чистоту по меньшей

мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%. В некоторых вариантах реализации изобретения вспомогательное вещество одобрено для применения у людей и для ветеринарного применения. В некоторых вариантах реализации изобретения наполнитель одобрен Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США. В некоторых вариантах реализации изобретения вспомогательное вещество является вспомогательным веществом фармацевтического качества. В некоторых вариантах реализации изобретения вспомогательное вещество соответствует стандартам Фармакопеи США (USP), Европейской Фармакопеи (EP), Британской Фармакопеи и/или Международной Фармакопеи.

[0163] Стандартные методы получения липосом включают, но не ограничиваются ими, методы, описанные в *Liposomes: A Practical Approach*, V. P. Torchilin, Volkmar Weissig Oxford University Press, 2003 и хорошо известны в данной области техники.

[0164] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена композиция липосом и физиологически (т. е., фармацевтически) приемлемый носитель. Как используется в данном документе, термин «носитель» относится к как правило инертному веществу, применяемому в качестве разбавителя или несущей среды для препарата, такого как терапевтический агент. Данный термин также охватывает как правило инертное вещество, которое придает композиции когезионные качества. Как правило, физиологически приемлемые носители присутствуют в жидкой форме. Примеры жидких носителей включают физиологический раствор, фосфатный буфер, забуференный солевой раствор (135-150 mM NaCl), воду, забуференную воду, 0,4 % солевой раствор, 0,3 % глицин, гликопротеины для обеспечения повышенной стабильности (например, альбумин, липопротеин, глобулин, и т. п.) и тому подобное. Так как физиологически приемлемые носители частично определяются конкретной вводимой композицией, а также конкретным способом, применяемым для введения композиции, существует широкий спектр пригодных составов фармацевтических композиций, предложенных в данном документе (См, например, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17<sup>th</sup> ed., 1989).

[0165] Предложенные композиции могут быть стерилизованы обычными известными способами стерилизации или могут быть изготовлены в стерильных условиях. Водные растворы могут быть упакованы для применения или отфильтрованы в асептических условиях и лиофилизированы, причем

лиофилизированный препарат объединяют со стерильным водным раствором перед введением. Указанные композиции могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, необходимые для приближения их к физиологическим условиям, такие как регулирующие pH агенты и буферные агенты, регулирующие тоничность агенты смачивающие агенты и тому подобное, например, ацетат натрия, лактат натрия, хлорид натрия, хлорид калия, хлорид кальция, монолаурат сорбитана и олеат триэтаноламина. Сахара также могут быть включены для стабилизации композиций, такие как стабилизатор для лиофилизированных композиций липосом. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит изотонический агент в концентрации более 0,1% или в концентрации от 0,3% до 2,5%, от 0,5% до 2,0%, от 0,5% до 1,5%, от 0,5% до 1,5%, от 0,6% до 1,1% или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит изотонический агент, такой как декстроза, маннит, глицерин, хлорид калия или хлорид натрия. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит декстрозу, маннит, глицерин, хлорид калия или хлорид натрия в концентрации более 0,1% или в концентрации от 0,3% до 2,5%, от 0,5% до 2,0%, от 0,5% до 1,5%, от 0,5% до 1,5%, от 0,6% до 1,1% или любой диапазон между этими значениями.

[0166] Составы, пригодные для парентерального введения, например, внутрисуставным (в суставах), внутривенным, внутримышечным, внутрисуставным, внутрикостным, внутрибрюшинным и подкожным путем, включают водные или неводные, изотонические стерильные инъекционные растворы, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостатические и растворенные вещества, которые делают композицию изотонической с кровью предполагаемого реципиента, и водными и неводными стерильными суспензиями, которые могут содержать суспендирующие агенты, солюбилизаторы, загустители, стабилизаторы и консерванты. Инъекционные растворы и суспензии также можно готовить из стерильных порошков, гранул и таблеток. В некоторых вариантах реализации изобретения предложенные композиции липосом вводят, например, внутривенной инфузией, местно, внутрибрюшинно, интравезикально или интратекально. В конкретных вариантах реализации изобретения, указанные композиции липосом вводят парентерально или внутривенно. Предпочтительно, фармацевтические композиции липосом вводят парентерально, т. е. внутрисуставно, внутривенно, подкожно или внутримышечно. В

других вариантах реализации изобретения указанный фармацевтический препарат можно вводить местно.

[0167] В некоторых вариантах реализации изобретения предложенные фармацевтические композиции (например, композиции липосом представлены в единичных дозах или в герметичных контейнерах на несколько доз, таких как ампулы и флаконы.

[0168] В некоторых вариантах реализации изобретения указанные фармацевтические препараты вводят в виде единичной дозированной формы. В такой форме препарат подразделяется на единичные дозы, содержащие соответствующие количества активного компонента, например, композиции липосом. Указанная единичная дозированная форма может представлять собой упакованный препарат, упаковка, содержащая дискретные количества препарата. При желании, указанная композиция может также содержать другие совместимые терапевтические агенты (например, как описано в данном документе).

[0169] В некоторых вариантах реализации изобретения указанные композиции липосом, содержащие терапевтический и/или диагностический агент, применяемый в фармацевтических композициях, предложенных в данном документе, можно вводить при начальной дозировке от около 0,001 мг/кг до около 1000 мг/кг в сутки. Диапазон суточной дозы, который может быть использован составляет от около 0,01 мг/кг до около 500 мг/кг, или от около 0,1 мг/кг до около 200 мг/кг, или от около 1 мг/кг до около 100 мг/кг, или от около 10 мг/кг до около 50 мг/кг. Дозировки, однако, могут варьироваться в зависимости от требований пациента, тяжести состояния, подвергаемого лечению и применяемой композиции липосом. Например, дозировки могут быть эмпирически определены с учетом типа и стадии заболевания, нарушения или состояния, диагностированного у конкретного пациента. Доза, вводимая пациенту в контексте предложенных фармацевтических композиций (например, композиций липосом), должна быть достаточной, чтобы влиять на полезный терапевтический ответ у пациента с течением времени. Размер дозы также будет определяться наличием, характером и степенью любых неблагоприятных побочных эффектов, которые сопровождают введение определенной композиции липосом у конкретного пациента. Определение правильной дозировки для конкретной ситуации находится в компетенции практикующего врача. Как правило, лечение начинается с меньших доз, которые меньше оптимальной дозы композиции липосом. После этого дозировка увеличивается небольшими приращениями до достижения оптимального эффекта при

обстоятельствах. Для удобства, общая суточная дозировка может быть разделена и ее можно вводить по частям в течение дня, при желании.

#### Загрузка в Липосомы

[0170] Предложенные композиции каротиноидов могут быть загружены в липосомы с использованием активных или пассивных приемов.

[0171] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ получения композиции липосом, содержащей ионизируемый кроцетин (например, по пп. [1]-[97])

данный способ включает следующие стадии:

- (a) образование смеси, содержащей: компоненты липосом в растворе;
- (b) гомогенизация смеси с образованием липосом в растворе; и
- (c) обработка смеси с образованием липосом, содержащих ионизируемый каротиноид.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанная стадия обработки включает одну или более стадий: гидратация тонкой пленки, экструзия, прямоточное смешивание, методика инъекции этанола, методика замораживания-оттаивания, обращенно-фазовое испарение, динамическая микрофлюидизация высокого давления, микрофлюидное смешивание, двойное эмульгирование, лиофилизационное двойное эмульгирование, 3D принтинг, методика мембранного контактора и перемешивание. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная стадия обработки включает одну или более стадий модификации размера липосом одной или более из стадий экструзии, микрофлюидизации высокого давления и/или обработки ультразвуком.

[0172] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен активный способ загрузки для получения соли каротиноида внутри состава липосом с использованием градиента концентрации растворимых ацетатных солей металлов (ацетата кальция или ацетата магния).

[0173] Поливалентные противоионы, применяемые в соответствии с данным описанием, могут быть инкапсулированы в липосомы в соответствии с методами, описанными в данном документе или иным образом известными в данной области техники. Это включает методы пассивной инкапсуляции, описанные ниже или иным образом известные в данной области техники.

[0174] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ получения фармацевтической композиции, содержащей:

- (a) получение раствора липосом, содержащего липосомы в растворе соли слабой кислоты поливалентного металла;
- (b) добавление ионизируемого каротиноида к указанному раствору липосом; и
- (c) выдерживание ионизируемого каротиноида в растворе липосом в течение достаточного времени для проникновения каротиноида в липосомы.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой ионизируемый каротиноид в композициях по любому из пп. [1]-[28] (например, транс-кроцетин и транс-норбиксин). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный каротиноид представляет собой каротиноид, описанный на любой из ФИГ. 1A-1D. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная слабая кислота выбрана из уксусной кислоты, глюконовой кислоты, винной кислоты, глутаминовой кислоты, лимонной кислоты, муравьиной кислоты и глициновой кислоты. В некоторых вариантах реализации изобретения указанную соль слабой кислоты поливалентного металла применяют в концентрации от 0 мМ до 2000 мМ или от 50 мМ до 500 мМ, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный поливалентный металл выбран из  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения указанная слабая кислота представляет собой уксусную кислоту, и указанный поливалентный металл представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$  (т. е., указанная соль слабой кислоты поливалентного металла представляет собой ацетат кальция). В некоторых вариантах реализации изобретения указанная слабая кислота представляет собой уксусную кислоту, и указанный поливалентный металл представляет собой  $\text{Mg}^{2+}$  (т. е., указанная соль слабой кислоты поливалентного металла представляет собой ацетат магния). Фармацевтические композиции, полученные в соответствии с указанными предложенными способами, также охватываются данным изобретением. Указанный раствор липосом предпочтительно представляет собой забуференный раствор. Однако указывается, что для получения и использования предложенных композиций может быть использован любой пригодный растворитель. Предпочтительный раствор липосом имеет рН около физиологического рН и содержит буфер, который имеет диапазон буферизации, включающий физиологический рН. Неограничивающий пример пригодного буфера для раствора липосом представляет собой HEPES (например, забуференный 5 мМ HEPES солевой раствор с рН 6,5). Фармацевтические

композиции, полученные в соответствии с указанным способом, также охватываются данным изобретением.

Поливалентные металлы, применяемые в соответствии с предложенными способами, могут быть инкапсулированы в липосомы в соответствии с обычными методами, известными в данной области техники. Данные способы включают, например, методы пассивной инкапсуляции, описанные в данном документе или иным образом известные в данной области техники. Загрузка ионизируемого каротиноида, такого как транс-кроцетин, может быть произведена путем выдерживания ионизируемого каротиноида в растворе липосом в течение подходящего количества времени при подходящей температуре. В зависимости от композиции липосом и температуры, рН и химической природы ионизируемого каротиноида, загрузка ионизируемого каротиноида может происходить в течение периода времени нескольких минут или часов. В некоторых вариантах реализации изобретения загрузку осуществляют при температуре, например, от 0 °С до 95 °С или от 20 °С до 75 °С, или любой диапазон между этими значениями, предпочтительно, от около 40 °С до около 80 °С или любой диапазон между этими значениями.

В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании дополнительно предложена стадия (d) удаление неинкапсулированного ионизируемого каротиноида из препарата липосом, полученного в соответствии с (c). В некотором варианте реализации изобретения указанное удаление осуществляют путем прохождения данного препарата липосом через колонку гель-фильтрации, уравновешенную со вторым водным забуференным раствором, центрифугированием или диализом, или связанными методами. После удаления неинкапсулированного ионизируемого каротиноида степень загрузки ионизируемого каротиноида может быть определена путем измерения уровней ионизируемого каротиноида и липидов в соответствии с обычными методами. Концентрации липида и лекарственного средства могут быть определены с использованием любого подходящего способа, известного в данной области техники, такого как сцинтилляционный подсчет, спектрофотометрические анализы и высокоэффективная жидкостная хроматография. Замена раствора препарата липосом для удаления неинкапсулированного каротиноида и противоиона, такого как ацетат натрия, может быть достигнута с использованием любого из различных методов, известных в данной области техники, включающих, но не ограничиваясь ими, хроматографию препарата липосом через длинную колонку гель-фильтрации, уравновешенную со вторым водным забуференным раствором,

центрифугирование, основательный или повторяющийся диализ, обмен препарата липосом, обработку препарата липосом хелатирующими агентами или связанные методы. Фармацевтические композиции, полученные в соответствии с указанными предложенными способами, также охватываются данным изобретением.

[0175] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ получения фармацевтической композиции, содержащей:

- (a) получение раствора липосом, содержащего липосомы в растворе соли слабой кислоты поливалентного металла;
- (b) добавление транс-кроцетина к указанному раствору липосом; и
- (c) выдерживание ионизируемого каротиноида в растворе липосом в течение достаточного времени для проникновения каротиноида в липосомы.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанная слабая кислота выбрана из уксусной кислоты, глюконовой кислоты, винной кислоты, глутаминовой кислоты, лимонной кислоты, муравьиной кислоты и глициновой кислоты. В некоторых вариантах реализации изобретения указанную соль слабой кислоты поливалентного металла применяют в концентрации от 0 мМ до 2000 мМ или от 50 мМ до 500 мМ, или любой диапазон между этими значениями. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный поливалентный металл выбран из  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения указанная слабая кислота представляет собой уксусную кислоту, и указанный поливалентный металл представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$  (т. е., указанная соль слабой кислоты поливалентного металла представляет собой ацетат кальция). В некоторых вариантах реализации изобретения указанная слабая кислота представляет собой уксусную кислоту, и указанный поливалентный металл представляет собой  $\text{Mg}^{2+}$  (т. е., указанная соль слабой кислоты поливалентного металла представляет собой ацетат магния). Фармацевтические композиции, полученные в соответствии с указанным способом, также охватываются данным изобретением. Указанный раствор липосом предпочтительно представляет собой забуференный раствор. Однако указывается, что для работы с предложенными композициями или способами может быть использован любой пригодный растворитель. Предпочтительный раствор липосом имеет рН около физиологического рН и содержит буфер, который имеет диапазон буферизации, включающий физиологический рН. Неограничивающий пример пригодных буферов для раствора липосом представляет собой забуференный 5 мМ HEPES солевой раствор

с рН 6,5. Фармацевтические композиции, полученные в соответствии с указанным способом, также охватываются данным изобретением.

Загрузка транс-кроцетина может быть произведена путем выдерживания транс-кроцетина в растворе липосом в течение подходящего количества времени при подходящей температуре. В зависимости от композиции липосом и температуры, рН и химической природы транс-кроцетина, загрузка транс-кроцетина может происходить в течение периода времени нескольких минут или часов. В некоторых вариантах реализации изобретения загрузку осуществляют при температуре, например, от 0 °С до 95 °С или от 20 °С до 75 °С, или любой диапазон между этими значениями, предпочтительно, от около 40 °С до около 80 °С.

В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании дополнительно предложена стадия (d) удаление неинкапсулированного транс-кроцетина из препарата липосом, полученного в соответствии с (c). В некотором варианте реализации изобретения указанное удаление осуществляют путем прохождения данного препарата липосом через колонку гель-фильтрации, уравновешенную со вторым водным забуференным раствором, центрифугированием или диализом, или связанными методами. После удаления неинкапсулированного транс-кроцетина степень загрузки транс-кроцетина может быть определена путем измерения уровней транс-кроцетина и липидов в соответствии с обычными методами. Концентрации липида и лекарственного средства могут быть определены с использованием любого подходящего способа, известного в данной области техники, такого как сцинтилляционный подсчет, спектрофотометрические анализы и высокоэффективная жидкостная хроматография. Замена раствора препарата липосом для удаления неинкапсулированного транс-кроцетина и противоиона, такого как ацетат натрия, может быть достигнута с использованием любого из различных методов, известных в данной области техники, включающих, но не ограничиваясь ими, хроматографию препарата липосом через длинную колонку гель-фильтрации, уравновешенную со вторым водным забуференным раствором, центрифугирование, основательный или повторяющийся диализ, обмен препарата липосом, обработку препарата липосом хелатирующими агентами или связанные методы. Фармацевтические композиции, полученные в соответствии с указанными предложенными способами, также охватываются данным изобретением.

[0176] Фармацевтические композиции, содержащие соль ионизируемого каротиноида, полученные в соответствии с указанными предложенными способами,

также охватываются данным изобретением. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой ионизируемый каротиноид в композициях по любому из пп. [1]-[28] (например, транс-кроцетин и транс-норбиксин). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой каротиноид, описанный на любой из ФИГ. 1A-1D. В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая липосому, инкапсулирующую ионизируемый каротиноид, причем указанный ионизируемый каротиноид загружен в липосому в присутствии внутрилипосомальных поливалентных противоионов (например,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$ ). В некоторых вариантах реализации изобретения указанные поливалентные противоионы включают  $\text{Ca}^{2+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения указанные поливалентные противоионы включают  $\text{Mg}^{2+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения указанные поливалентные противоионы включают  $\text{Fe}^{3+}$ .

[0177] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая липосому, инкапсулирующую соль транс-кроцетина, где транс-кроцетин загружен в липосому в присутствии внутрилипосомальных поливалентных противоионов (например,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$ ). В некоторых вариантах реализации изобретения указанные поливалентные противоионы включают  $\text{Ca}^{2+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения указанные поливалентные противоионы включают  $\text{Mg}^{2+}$ . В некоторых вариантах реализации изобретения указанные поливалентные противоионы включают  $\text{Fe}^{3+}$ .

#### Способы лечения и Применения

[0178] Предложенные фармацевтические композиции, такие как композиции липосом, имеют применения, которые обеспечивают преимущества над предшествующими способами лечения заболеваний и нарушений, которые включают, без ограничения, такие, как инфекция и инфекционные заболевания, такие как ВИЧ/СПИД: вирус иммунодефицита человека-1 (ВИЧ-1), туберкулез, малярию и ее осложнения, такие как церебральная малярия, тяжелая анемия, ацидоз, острая почечная недостаточность и ОРДС, сепсис, воспаление (например, хронические воспалительные заболевания), ишемию (включающую ишемическое состояние, такое как ишемический инсульт, заболевание коронарных артерий, периферические сосудистые заболевания, сосудистые заболевания головного мозга, почечные патологии, связанные с ишемией и

ишемия, связанная с ранами); шок (например, геморрагический шок), инсульт, сердечно-сосудистые заболевания, почечные патологии, заживление ран, метаболические заболевания, гиперпролиферативные заболевания, такие как рак и нарушение иммунной системы, сердечно-сосудистой системы, пищеварительной, нервной, дыхательной и эндокринной системы. В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]). Применение фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]), в производстве лекарственного средства для лечения заболевания, нарушения или состояния у субъекта также предложено в данном документе. Как есть, фармацевтические композиции по любому из пп. [1]-[79] для применения в медицинском препарате.

[0179] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния, связанного с эндотоксемией, у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]).

[0180] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния, связанного с сепсисом, у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный субъект страдает от слабо выраженного эндотоксемического заболевания.

[0181] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения или предупреждения риска развития сепсиса у субъекта, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]). В некоторых вариантах реализации изобретения субъект

является иммунодефицитным или иммуносупрессивным. В некоторых вариантах реализации изобретения субъект критически болен. В некоторых вариантах реализации изобретения субъект является пожилым или неонатальным. В некоторых вариантах реализации изобретения субъект страдает от лихорадочной нейтропении. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный субъект страдает от инфекции.

[0182] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния, связанного с ожоговой травмой, у субъекта, являющегося жертвой ожога, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]).

В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния, связанного с инфекцией, у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]). В некоторых вариантах реализации изобретения указанная инфекция представляет собой бактериальную инфекцию (например, инфекцию *P. aeruginosa*, инфекцию *S. aureus* (например, МРЗС), инфекцию *Mycobacterium tuberculosis*, энтерококковую инфекцию (например, VRE) или состояние, связанное с ней. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная инфекция представляет собой грибковую инфекцию (например, кандидозную инфекцию, такую как инвазивный кандидоз) или состояние, связанное с ней. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная инфекция представляет собой паразитарную инфекцию (например, шистосомоз и африканский трипаносомоз человека) или состояние, связанное с ней. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная инфекция представляет собой малярию или состояние, связанное с ней, такое как церебральная малярия, тяжелая анемия, ацидоз, острая почечная недостаточность и ОРДС. В некоторых вариантах реализации изобретения указанная инфекция представляет собой вирусную инфекцию (например, лихорадка Эбола, Денге и Марбург) или состояние, связанное с ней, такое как грипп, корь и вирусная геморрагическая лихорадка.

[0183] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или

состояния, связанного с ишемией или гипоксией, у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние, связанное с ишемией или гипоксией, связано с операционным или травматическим повреждением. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние представляет собой ишемическое реперфузионное повреждение, переходящая ишемия головного мозга, ишемия-реперфузия головного мозга, ишемический инсульт, геморрагический инсульт, черепно-мозговая травма, мигрень (например, хроническая мигрень или тяжелая мигрень), желудочно-кишечная ишемия, болезнь почек, эмболия легочной артерии, острая дыхательная недостаточность, неонатальный респираторный дистресс-синдром, акушерские чрезвычайные ситуации для снижения перинатальной коморбидности (такие как, пре/эклампсия и состояния, которые приводят к церебральному параличу), инфаркт миокарда, острая ишемия конечностей или брыжейки, цирроз сердца, хроническое заболевание периферических сосудов, застойная сердечная недостаточность, атеросклеротический стеноз, анемия, тромбоз, эмболия, дегенерация желтого пятна, нейродегенеративное заболевание (например, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона и боковой амиотрофический склероз (БАС)), апноэ во время сна, а также операционное или травматическое повреждение. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние, связанное с ишемией или гипоксией, представляет собой инфаркт миокарда или застойную сердечную недостаточность с или без цирроза сердца. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние представляет собой эмболию легочной артерии, острую дыхательную недостаточность, хроническое заболевание периферических сосудов, атеросклеротический стеноз, анемию, тромбоз или эмболию. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние, связанное с ишемией или гипоксией, представляет собой дегенерацию желтого пятна или онкологическое состояние, связанное с гипоксией. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние представляет собой заболевание почек. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние представляет собой индуцированное липополисахаридным препаратом или токсином острое повреждение почек (ОПП) или конечную стадию заболевания почек.

[0184] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния, связанного с шоком, у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние связано с кардиогенным шоком. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние связано с гиповолемическим шоком. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние связано с септическим шоком или другими формами дистрибутивного шока. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние связано с нейрогенным шоком. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние связано с анафилактическим шоком.

[0185] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния, связанного с дефицитом оксида азота, у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или нарушение представляет собой серповидноклеточную болезнь, пароксизмальную ночную гемоглобинурию (ПНГ), гемолитическую анемию, талассемию, другое нарушение красных кровяных клеток или состояние, связанное с ними. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или нарушение представляет собой пурпуру, такую как тромботическая тромбоцитарная пурпура (ТТП), гемолитический уремический синдром (ГУС), идиопатическая тромбоцитопения (ИТП) и другое нарушение тромбоцитов или состояние, связанное с ними. В некотором варианте реализации изобретения указанное заболевание или нарушение представляет собой аномалию коагуляции, такую как диссеминированная внутрисосудистая коагулопатия (ДВК), молниеносная пурпура, гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ), гиперлейкоцитоз и синдром гипервязкости или состояние, связанное с ними.

[0186] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или

состояния, связанного с воспалением, у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние, связанное с воспалением, представляет собой слабо выраженное воспаление. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние, связанное с воспалением, представляет собой системное воспаление. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние, связанное с воспалением, представляет собой острое воспаление или хроническое воспалительное заболевание.

[0187] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния, связанного с сердечно-сосудистым заболеванием или состоянием, у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное сердечно-сосудистое заболевание или состояние представляет собой ишемическую болезнь сердца. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное сердечно-сосудистое заболевание или состояние представляет собой инфаркт миокарда, внезапную сердечную смерть, остановку сердца и дыхания, гипертонию, артериальную гипертензию легких, атеросклероз, окклюзионное заболевание артерий, болезнь Рейно, болезнь периферических сосудов, другие васкулопатии, такие как болезнь Бюргера, артрит Такаясу и синдром после остановки сердца (СПОС), хроническую венозную недостаточность, болезнь сердца, застойную сердечную недостаточность или хроническую язву кожи.

[0188] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния, связанного с заболеванием или состоянием печени, у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние печени представляет собой цирроз. В некоторых вариантах реализации изобретения

указанное заболевание или состояние печени представляет собой неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП) или неалкогольный стеатогепатит (НАСГ). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние печени представляет собой алкогольную болезнь печени. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние печени представляет собой острое поражение печени.

[0189] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния, связанного с заболеванием или состоянием легких, у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние легких представляет собой острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние легких представляет собой хроническую обструктивную болезнь легких. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние легких представляет собой легочный фиброз. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние легких представляет собой легочное кровотечение. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние легких представляет собой астму. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние легких представляет собой повреждение легких. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние легких представляет собой рак легких. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное состояние представляет собой муковисцидоз.

[0190] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния, связанного с заболеванием или состоянием почек, у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние почек представляет собой индуцированное липополисахаридным препаратом острое

повреждение почек (ОПП). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние почек представляет собой хроническую почечную недостаточность с или без конечной стадии заболевания почек.

[0191] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния, связанного с сосудистым заболеванием, у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние представляет собой ишемическую болезнь сердца. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние представляет собой гипертонию. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние представляет собой атеросклероз. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние представляет собой синдром после остановки сердца (СПОС). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние представляет собой окклюзионное заболевание артерий, болезнь периферических сосудов, хроническую венозную недостаточность, хронические язвы кожи или болезнь Рейно. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание, нарушение или состояние, связанное с сосудистым заболеванием, представляет собой заболевание сердца. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанное заболевание, нарушение или состояние представляет собой застойную сердечную недостаточность. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание, нарушение или состояние, связанное с сосудистым заболеванием, представляет собой ишемическое заболевание кишечника.

[0192] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния, связанного с сердечным приступом или инсультом, у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, и/или имеющего риск сердечного приступа или инсульта, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание, нарушение или состояние представляет собой ишемический инсульт. В некоторых вариантах реализации

изобретения указанное заболевание, нарушение или состояние представляет собой геморрагический инсульт.

[0193] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния, связанного с нервной системой, у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние представляет собой боль (например, хроническую боль). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание или состояние представляет собой нейродегенеративное заболевание (например, болезнь Альцгеймера или болезнь Паркинсона). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание, нарушение или состояние, связанное с нервной системой, представляет собой повреждение нервов.

[0194] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния, связанного с воспалительным заболеванием кишечника, у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание, нарушение или состояние представляет собой болезнь Крона. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание, нарушение или состояние представляет собой язвенный колит.

[0195] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния, связанного с диабетом 2 типа или предрасположенностью к диабету, у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание, нарушение или состояние представляет собой метаболическое заболевание. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание, нарушение или состояние представляет собой резистентность к инсулину. В некоторых вариантах реализации

изобретения указанное заболевание, нарушение или состояние представляет собой диабетическое сосудистое заболевание (например, микрососудистое заболевание, такое как ретинопатия и нефропатия). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание, нарушение или состояние представляет собой диабетическую нейропатию. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание, нарушение или состояние представляет собой язвы, диабетический некроз или гангрену.

[0196] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния, связанного с аутоиммунным нарушением, у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное аутоиммунное нарушение представляет собой псориаз. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное аутоиммунное нарушение представляет собой муковисцидоз. В некоторых вариантах реализации изобретения указанное аутоиммунное нарушение представляет собой ревматоидный артрит.

[0197] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния, связанного со склерозом, у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]). В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание, нарушение или состояние, связанное со склерозом, представляет собой системный склероз.

[0198] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ лечения эндотоксемии у субъекта, нуждающегося в таком лечении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]). В некоторых вариантах реализации изобретения указанная эндотоксемия связана с состоянием, таким как периодонтальная болезнь (например, периодонтит или воспаление десен), хронический алкоголизм, хроническое курение,

трансплантация, неонатальный некротический энтероколит или неонатальная инфекция уха.

[0199] В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен способ снижения системных уровней ЛПС, эндотоксина и/или другого триггера системного воспаления у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту фармацевтической композиции, предложенной в данном документе (например, фармацевтической композиции по любому из пп. [1]-[79]).

#### Комбинированная терапия

[0200] Композиции, предложенные в данном документе, могут быть введены отдельно или в комбинированной терапии с одним или несколькими дополнительными терапевтическими агентами. В некоторых вариантах реализации изобретения указанную композицию вводят в комбинированной терапии с другим терапевтическим агентом. Комбинации могут вводиться либо одновременно, например, скомбинированные в том же средстве доставки (например, липосоме), в смеси друг с другом, отдельно, но одновременно; или последовательно. Это включает предложения, в которых объединенные терапевтические агенты вводят вместе как терапевтическую смесь, а также методики, в которых объединенные агенты вводят отдельно, но одновременно, например, как через отдельные внутривенные линии одному и тому же индивидууму. Введение «в комбинации» дополнительно включает отдельное введение одного из терапевтических агентов, проведенное перед введением второго. Также предложены способы лечения с применением указанной комбинированной терапии.

[0201] В дополнительных вариантах реализации изобретения композицию, предложенную в данном документе, вводят в комбинации с другим терапевтическим агентом. В некоторых вариантах реализации изобретения композицию по любому из пп. [1]-[28] вводят в комбинации с другим терапевтическим агентом. В некоторых вариантах реализации изобретения композицию, содержащую соль каротиноида, предложенную на любой из ФИГ. 1A-1D в данном документе, вводят в комбинированной терапии с другим терапевтическим агентом. В некоторых вариантах реализации изобретения композицию, содержащую поливалентную соль (например, двухвалентную соль или трехвалентную соль) каротиноида, предложенную на любой из ФИГ. 1A-1D в данном документе, вводят в комбинированной терапии с другим терапевтическим агентом. В конкретных вариантах реализации изобретения композицию, содержащую поливалентную соль транс-кроцетина (например, СТС или МТС), вводят в комбинированной терапии с другим терапевтическим агентом. В

других конкретных вариантах реализации изобретения композицию, содержащую поливалентную соль транс-норбиксина (например, CTN или MTN), вводят в комбинированной терапии с другим терапевтическим агентом.

[0202] В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическую композицию, содержащую соль одного или более ионизируемых каротиноидов вводят в комбинированной терапии с каротиноидом, содержащим по меньшей мере одну полярную группу или моноциклическую группу. В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная соль ионизируемого каротиноида является поливалентной солью (например, солью, содержащей двухвалентный, трехвалентный или четырехвалентный противоион). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой каротиноид по любому из пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D. В одном варианте реализации изобретения указанный каротиноид, содержащий по меньшей мере одну полярную группу или моноциклическую полярную группу, является симметричным. В другом варианте реализации изобретения композицию двухвалентной соли ионизируемого каротиноида вводят в комбинированной терапии с по меньшей мере одним каротиноидом, выбранным из: зеаксантина, астаксантина, лютеина и ксантофилла. В другом варианте реализации изобретения указанную композицию двухвалентной соли ионизируемого каротиноида вводят в комбинированной терапии с астаксантином. В другом варианте реализации изобретения указанный каротиноид, содержащий по меньшей мере одну полярную группу или моноциклическую полярную группу, является асимметричным. В другом варианте реализации изобретения композицию двухвалентной соли ионизируемого каротиноида, описанную в данном документе, вводят в комбинации с абсцизовой кислотой (ABA).

[0203] В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическую композицию, содержащую соль ионизируемого каротиноида, предложенную в данном документе, вводят в комбинированной терапии со стандартом оказания медицинской помощи для заболевания, нарушения или состояния, подлежащего лечению. В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная соль ионизируемого каротиноида является поливалентной солью (например, двухвалентной, трехвалентной или четырехвалентной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой каротиноид по любому из пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-кроцетин (например, СТС и

МТС). В других конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-норбиксин (например, СТН и МТН).

[0204] В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическую композицию, содержащую соль ионизируемого каротиноида, предложенную в данном документе, вводят в комбинированной терапии с противомикробным агентом. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный противомикробный агент представляет собой антибактериальный агент. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный антибактериальный агент выбран из, но не ограничиваясь ими, эртапенема, пиперациллина-тазобактама, цефепима, азтреонама, метронидазола, меропенема, цефтриаксона, цiproфлоксацина, ванкомицина, линезолида, тобрамицина, левофлоксацина, азитромицина, цефазолин и ампициллина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный антибактериальный агент выбран из, но не ограничиваясь ими, цефтриаксона, левофлоксацина, цiproфлоксацина, цефазолина, пиперациллина-тазобактама, меропенема, метронидазола, ванкомицина и ампициллина. В других вариантах реализации изобретения указанный противомикробный агент представляет собой противогрибковый агент. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный противогрибковый агент представляет собой каспофунгин или другой противогрибковый препарат. В других вариантах реализации изобретения указанный противомикробный агент представляет собой противомаларийный агент. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный противомаларийный агент выбран из, но не ограничиваясь ими, артемизинина и его аналогов, хлорохина и его аналогов, атоваквона, производного хинина, прогуанила или другого противомаларийного лекарственного средства. В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная соль ионизируемого каротиноида является поливалентной солью (например, двухвалентной, трехвалентной или четырехвалентной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой каротиноид по любому из пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1А-1D. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-кроцетин (например, СТС и МТС). В других конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-норбиксин (например, СТН и МТН).

[0205] В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическую композицию, содержащую соль ионизируемого каротиноида, предложенную в данном документе, вводят в комбинированной терапии с активированным белком С (например, rhAPC) или дротрекогином альфа (активированным) (DAA). В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная соль ионизируемого каротиноида является поливалентной солью (например, двухвалентной, трехвалентной или четырехвалентной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой каротиноид по любому из пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-кроцетин (например, СТС и МТС). В других конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-норбиксин (например, СТН и МТН).

[0206] В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическую композицию, содержащую соль ионизируемого каротиноида, предложенную в данном документе, вводят в комбинированной терапии с кортикостероидом (например, глюкокортикоидом или минералокортикоидом, таким как флудрокортизон). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный кортикостероид представляет собой глюкокортикоид. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный глюкокортикоид выбран из кортизона, этаметасонеба, преднизона, преднизолона, триамцинолона, дексаметазона и метилпреднизолона. В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная соль ионизируемого каротиноида является поливалентной солью (например, двухвалентной, трехвалентной или четырехвалентной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой каротиноид по любому из пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-кроцетин (например, СТС и МТС). В других конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-норбиксин (например, СТН и МТН).

[0207] В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическую композицию, содержащую соль ионизируемого каротиноида, предложенную в данном документе, вводят в комбинированной терапии с внутривенным введением витамина. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный витамин представляет

собой витамин С (аскорбиновую кислоту). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный витамин представляет собой витамин А. В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная соль ионизируемого каротиноида является поливалентной солью (например, двухвалентной, трехвалентной или четырехвалентной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой каротиноид по любому из пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1А-1D. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-кроцетин (например, СТС и МТС). В других конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-норбиксин (например, СТН и МТН).

[0208] В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическую композицию, содержащую соль ионизируемого каротиноида, предложенную в данном документе, вводят в комбинированной терапии с глюкокортикоидом и витамином С (например, внутривенное введение витамина С). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный глюкокортикоид выбран из кортизона, этаметасонеба, преднизона, преднизолона, триамцинолона, дексаметазона и метилпреднизолона. В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный глюкокортикоид представляет собой гидрокортизон. В дополнительных вариантах реализации изобретения по меньшей мере, одну композицию ионизируемого каротиноида, предложенную в данном документе (например, композиция двухвалентной соли, содержащая ионизируемый каротиноид, описанный на ФИГ. 1А, ФИГ. 1В, ФИГ. 1С, и/или ФИГ. 1D), вводят в комбинированной терапии с глюкокортикоидом, витамином С и тиаминном. В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная соль ионизируемого каротиноида является поливалентной солью (например, двухвалентной, трехвалентной или четырехвалентной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой каротиноид по любому из пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1А-1D. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-кроцетин (например, СТС и МТС). В других конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-норбиксин (например, СТН и МТН).

В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическую композицию, содержащую соль ионизируемого каротиноида, предложенную в данном

документе, вводят в комбинированной терапии с вазопрессорным агентом. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный вазопрессорный терапевтический агент представляет собой норэпинефрин или подобные лекарственные средства, или ангиотензин II (например, GIAPREZA™). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный вазопрессорный терапевтический агент представляет собой эпинефрин, фенилнефрин, дофамин или вазопрессин. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный вазопрессорный терапевтический агент представляет собой эфедрин, милринон, изопротеренол, добутамин, изопротеренол или дофамин.

[0209] В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическую композицию, содержащую соль ионизируемого каротиноида, предложенную в данном документе, вводят в комбинированной терапии с тромболитическим терапевтическим агентом. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный тромболитический терапевтический агент представляет собой тканевой активатор плазминогена (tPA). В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная соль ионизируемого каротиноида является поливалентной солью (например, двухвалентной, трехвалентной или четырехвалентной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой каротиноид по любому из пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-кроцетин (например, СТС и МТС). В других конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-норбиксин (например, СТН и МТН).

[0210] В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическую композицию, содержащую соль ионизируемого каротиноида, предложенную в данном документе, вводят в комбинированной терапии с терапевтическим агентом. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическую композицию по любому из пп. [1]-[28] вводят в комбинации с терапевтическим агентом. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическую композицию, содержащую поливалентную соль каротиноида, предложенную на любой из ФИГ. 1A-1D в данном документе, вводят в комбинированной терапии с терапевтическим агентом. В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная соль ионизируемого каротиноида является поливалентной солью (например, двухвалентной, трехвалентной

или четырехвалентной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой каротиноид по любому из пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-кроцетин (например, СТС и МТС). В других конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-норбиксин (например, СТН и МТН).

[0211] В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическую композицию, содержащую соль ионизируемого каротиноида, предложенную в данном документе, вводят в комбинированной терапии с терапевтическим агентом, выбранным из: гепарина, вазопрессина, антидиуретического гормона (ADH) и ингибитора редуктазы 3-гидрокси-3-метилглутарил кофермента А (статины). В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная соль ионизируемого каротиноида является поливалентной солью (например, двухвалентной, трехвалентной или четырехвалентной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой каротиноид по любому из пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-кроцетин (например, СТС и МТС). В других конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-норбиксин (например, СТН и МТН).

[0212] В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическую композицию, содержащую соль ионизируемого каротиноида, предложенную в данном документе, вводят в комбинированной терапии с противовоспалительным терапевтическим агентом. В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная соль ионизируемого каротиноида является поливалентной солью (например, двухвалентной, трехвалентной или четырехвалентной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой каротиноид по любому из пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-кроцетин (например, СТС и МТС). В других конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-норбиксин (например, СТН и МТН).

[0213] В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическую композицию, содержащую соль ионизируемого каротиноида, предложенную в данном документе, вводят в комбинированной терапии с кислородом и/или внутривенными жидкостями для поддержания/увеличения уровня кислорода в крови и/или кровяного давления, или с гипербарической терапией. В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная соль ионизируемого каротиноида является поливалентной солью (например, двухвалентной, трехвалентной или четырехвалентной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой каротиноид по любому из пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-кроцетин (например, СТС и МТС). В других конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-норбиксин (например, СТН и МТН).

[0214] В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическую композицию, содержащую соль ионизируемого каротиноида, предложенную в данном документе, вводят в комбинированной терапии с химиотерапевтическим агентом (например, для улучшения воздействия химиотерапии на раковые клетки и смягчения эффектов миелосупрессии и анемии, вызванных химиотерапией). В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная соль ионизируемого каротиноида является поливалентной солью (например, двухвалентной, трехвалентной или четырехвалентной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой каротиноид по любому из пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-кроцетин (например, СТС и МТС). В других конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-норбиксин (например, СТН и МТН).

[0215] В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическую композицию, содержащую соль ионизируемого каротиноида, предложенную в данном документе, вводят в комбинированной терапии с иммунотерапией. В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная соль ионизируемого каротиноида является поливалентной солью (например, двухвалентной, трехвалентной или четырехвалентной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой каротиноид по любому из пп. [1]-[28]

и/или на ФИГ. 1A-1D. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-кроцетин (например, СТС и МТС). В других конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-норбиксин (например, СТН и МТН).

[0216] В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическую композицию, содержащую соль ионизируемого каротиноида, предложенную в данном документе, вводят в комбинированной терапии с лучевой терапией. В некоторых вариантах реализации изобретения предложенная соль ионизируемого каротиноида является поливалентной солью (например, двухвалентной, трехвалентной или четырехвалентной). В некоторых вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой каротиноид по любому из пп. [1]-[28] и/или на ФИГ. 1A-1D. В конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-кроцетин (например, СТС и МТС). В других конкретных вариантах реализации изобретения указанный ионизируемый каротиноид представляет собой транс-норбиксин (например, СТН и МТН).

#### Наборы для Введения Активных Агентов

[0217] В других вариантах реализации изобретения в данном описании предложен набор для введения предложенной композиции ионизируемого каротиноида субъекту для лечения заболевания, нарушения или состояния. В некоторых вариантах реализации изобретения в данном описании предложен набор для доставки терапевтического агента субъекту, содержащий: (а) первую композицию, содержащую описанную композицию ионизируемого каротиноида (например, липосому, содержащую поливалентную соль транс-кроцетина); и (b) вторую композицию, содержащую, например, реагенты, буферы, вспомогательные вещества или другой терапевтический агент, которая хранится отдельно до введения субъекту. Такие наборы обычно содержат два или более компонентов, необходимых для лечения состояния заболевания, такого как гипоксия или заболевание, относящееся к воспалению. В некоторых вариантах реализации изобретения указанные наборы содержат, например, предложенные композиции липидов, реагенты, буферы, контейнеры и/или оборудование. Указанные композиции и составы липосом могут находиться в лиофилизированной форме, а затем восстановлены перед введением. В некоторых вариантах реализации изобретения указанные наборы содержат

упаковочную сборку, которая содержит один или несколько компонентов, применяемых для лечения состояния заболевания у пациента. Например, указанная упаковочная сборка может содержать отдельные контейнеры, в которых хранятся терапевтические липосомы и другие вспомогательные вещества или терапевтические агенты, которые могут быть смешаны с указанными композициями перед введением пациенту. В некоторых вариантах реализации изобретения врач может выбрать и сопоставить определенные компоненты и/или упаковочные сборки в зависимости от лечения или диагностики, необходимых для конкретного пациента.

### ПРИМЕРЫ

#### Пример 1- Получение липосом кальций транс-кроцетината

[0218] Два разных варианта транс-кроцетина использовали для получения липосом транс-кроцетина, а именно: свободная кислота транс-кроцетина (ТС) и ее натриевая соль, натрий транс-кроцетинат (STC). Транс-кроцетин инкапсулировали в липосомы следующими методиками.

#### Получение Везикул со Множеством Бислоев (Многоламелярных) (MLV):

[0219] Сначала липидные компоненты липидной мембраны липосомы взвешивали и объединяли в виде концентрированного раствора в этаноле при температуре около 65 °С. В одном препарате используемые липиды представляли собой гидрогенизированный фосфатидилхолин сои, холестерин и DSPE-PEG-2000 (1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфоэтанолламин-N-[метокси(полиэтиленгликоль)-2000]). Молярное соотношение HSPC:холестерин:PEG-DSPE было около 3:2:0,15. В другом препарате используемые липиды представляли собой HSPC, холестерин, PEG-DSPE-2000 и 1-пальмитоил-2-глутарил-sn-глицеро-3-фосфохолин (PGPC). Молярное соотношение HSPC:холестерин:PEG-DSPE:PGPC было около 2,7:2:0,15:0,3. Затем ацетат кальция растворяли в водном буфере в концентрации 125 мМ или 250 мМ, с pH 7,0. Раствор ацетата кальция нагревали до 65 °С.

[0220] Раствор липида в этаноле добавляли в раствор ацетата кальция пипеткой. На этой стадии раствор хорошо перемешивали магнитной мешалкой. Смешивание проводили при повышенной температуре (63 °С-72 °С) для обеспечения, чтобы липиды были в жидкокристаллическом состоянии (в отличие от гелевого состояния, которое они принимают при температуре ниже температуры липидного перехода ( $T_m = 51\text{ °С}-54\text{ °С}$ )). В результате указанные липиды были гидратированы и сформировали везикулы со множеством бислоев (многоламелярные) (MLV), содержащие ацетат кальция во внутреннем пространстве.

Снижение размера MLV экструзией фильтром:

[0221] MLV фрагментировали в одноламеллярные везикулы (один бислой) нужного размера путем экструзии высокого давления, используя два прохода через сложенные стопкой (поликарбонатные) мембраны. Сложенные стопкой мембраны имели два слоя с размером пор 200 нм и шесть слоев с размером пор 100 нм. Во время экструзии температуру поддерживали выше  $T_m$  для обеспечения пластичности липидных мембран. В результате экструзии, крупные и гетерогенные по размеру и ламеллярности MLV были превращены в небольшие гомогенные (100-120 нм) одноламеллярные везикулы (ULV), которые секвестрировали ацетат кальция в их внутреннее пространство. Инструмент Malvern Zetasizer Nano ZS (Саутборо, Массачусетс) с детектором рассеяния ( $90^\circ$ ) использовали для измерения гидродинамического размера (диаметра) везикул при  $25^\circ\text{C}$  в пластиковой микрокювете. Образцы разбавляли в 50 раз в матрице состава перед анализом.

[0222] После того, как ULV, содержащие ацетат кальция, были получены, внелипосомальный ацетат кальция удаляли гель-фильтрационной хроматографией (SEC, с колонками PD-10) или TFF (диафильтрация с тангенциальным потоком). Изотонический агент добавляли в липосомы для баланса осмоляльности (конечная концентрация: 5 % декстрозы для липосомы 125 мМ ацетата кальция и 10 % декстрозы для липосомы 250 мМ ацетата кальция). Как только образовывался градиент концентрации ацетата кальция, методику загрузки транс-кроцетина предпочтительно выполняли в течение 24 часов. Содержание липида в полученном растворе липосом определяли анализом фосфата.

[0223] Раствор 1 мг/мл транс-кроцетина получали в 10 % декстрозе (для липосом 250 мМ ацетата кальция) и рН доводили до 8. Раствор транс-кроцетина смешивали с раствором липосом ацетата кальция в различных соотношениях препарата/липиды (100 г/мМ, 80 г/мМ, 60 г/мМ или 40 г/мМ). Затем смесь тщательно перемешивали и нагревали до  $65^\circ\text{C}$  в течение 30 минут, а затем быстро охлаждали до комнатной температуры с использованием ледяной бани. Данную стадию можно заменить на перемешивание смеси при комнатной температуре в течение ночи.

[0224] Движение молекулы транс-кроцетина (незаряженная, нейтральная форма) через липидный бислой липосомы осуществлялось с помощью градиента, генерируемого ацетатом кальция (другими словами, уксусная кислота диффундировала наружу, транс-кроцетин диффундировал внутрь). Затем транс-кроцетин оставался

внутри липосом путем ионизации, а затем образования осадка с кальцием (в виде формы соли кальция (кальций транс-кроцетинат, СТС)).

Очистка Липосом:

[0225] Внелипосомальный транс-кроцетин удаляли гель-фильтрационной хроматографией (колонки PD-10) или TFF. В данном примере буфер, используемый в SEC, представлял собой HBS (солевой раствор забуференный HEPES, pH 6,5). По завершении очистки проводили стерилизацию фильтрованием с использованием фильтра 0,22 микрона. Инструмент Malvern Zetasizer Nano ZS (Саутборо, Массачусетс) с детектором рассеяния (90°) использовали для измерения гидродинамического размера (диаметра) везикул при 25 °С в пластиковой микрокювете. Образцы разбавляли перед анализом.

Таблица 1. Физические характеристики типичных наночастиц, загруженных СТС

	Исходная концентрация	Эффективность инкапсуляции	Конечная концентрация	Соотношение препарата/липидов	Диаметр	PDI	Дзета-потенциал
СТС LP	1 мг/мл транскроцетин динатрия	96,9%	0,24 мг/мл	78,6 г/мМ липидов	105,7 нм	0,05 6	- 2,88 мВ
СТС LP	0,75 мг/мл транскроцетин динатрия	98,32%	3,92 мг/мл	68,23 г/мМ липидов	103,8 нм	0,04 1	- 2,71 мВ
СТС LP	0,75 мг/мл транскроцетин динатрия	99,47%	3,90 мг/мл	66,23 г/мМ липидов	100,8 нм	0,03 1	-3,67 мВ
СТС LP	0,75 мг/мл транскроцетин динатрия	92,59%	2,49 мг/мл	34,74 г/мМ липидов	101,9 нм	0,03 8	-3,83 мВ
СТС LP	0,75 мг/мл транскроцетин динатрия	98,30%	5,34 мг/мл	85,74 г/мМ липидов	95,9 нм	0,04 3	- 3,66 мВ

### Пример 2 Получение Липосом Кальций Ацетата с Nanoassemblr®

[0226] Липосомы, загруженные ацетатом кальция, получали следующей методикой. Сначала липидные компоненты липидной мембраны липосомы взвешивали и объединяли в виде концентрированного раствора в этаноле при температуре около 65 °С. В одном примере используемые липиды представляли собой гидрогенизированный фосфатидилхолин сои, холестерин и DSPE-PEG-2000 (1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфоэтанолламин-N-[метокси(полиэтиленгликоль)-2000]).

[0227] Молярное соотношение HSPC:холестерин:PEG-DSPE было около 3:2:0,15. В другом примере используемые липиды представляли собой HSPC, холестерин, PEG-DSPE-2000 и 1-пальмитоил-2-глутарил-sn-глицеро-3-фосфохолин (PGPC). Молярное соотношение HSPC:холестерин:PEG-DSPE:PGPC было около 2,7:2:0,15:0,3.

[0228] Затем ацетат кальция растворяли в водном буфере в концентрации 125 мМ или 250 мМ, с рН 7,0. Раствор ацетата кальция нагревали до 65 °С. Раствор липида в этаноле и раствор ацетата кальция отдельно переносили в шприцы. Два раствора вносили в микрофлюидный канал и смешивали, пропуская через него устройством NanoAssemblr® от Precision NanoSystems. Смешивание проводили при повышенной температуре (63 °С-72 °С) для обеспечения, чтобы указанные липиды были в жидкокристаллическом состоянии (в отличие от гелевого состояния, которое они принимают при температуре ниже температуры липидного перехода ( $T_m = 51\text{ °С}-54\text{ °С}$ )). Размер липосомы может контролироваться соотношением между липидным раствором и водным раствором, а также скоростью потока смешивания.

### Пример 3- Получение Липосомы МТС и ее Характеристика

#### Получение Липосом Транс-кроцетина Градиентом Ацетата Магния:

[0229] Для получения липосом транс-кроцетината магния использовали два разных варианта данной молекулы, а именно: свободная кислота транс-кроцетина (ТС) и ее натриевая соль, натрий транс-кроцетинат (STC).

[0230] Липосому с ацетатом магния получали следующей методикой. Сначала липидные компоненты мембраны липосомы взвешивали и объединяли в виде концентрированного раствора в этаноле при температуре около 65 °С. В одном примере используемые липиды представляли собой гидрогенизированный фосфатидилхолин сои, холестерин и DSPE-PEG-2000 (1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфоэтанолламин-N-[метокси(полиэтиленгликоль)-2000]). Молярное соотношение

HSPC:холестерин:PEG-DSPE было около 3:2:0,15. В другом примере используемые липиды представляли собой HSPC, холестерин, PEG-DSPE-2000 и 1-пальмитоил-2-глутарил-sn-глицеро-3-фосфохолин (PGPC). Молярное соотношение HSPC:холестерин:PEG-DSPE:PGPC было около 2,7:2:0,15:0,3. Затем ацетат магния растворяли в водном буфере в концентрации 125 мМ или 250 мМ, с pH 7,0. Раствор ацетата магния нагревали до 65 °С. Раствор липида в этаноле добавляли в раствор ацетата магния пипеткой. На этой стадии раствор хорошо перемешивали магнитной мешалкой. Смешивание проводили при повышенной температуре (63 °С-72 °С) для обеспечения, чтобы липиды были в жидкокристаллическом состоянии (в отличие от гелевого состояния, которое они принимают при температуре ниже температуры липидного перехода ( $T_m = 51\text{ °C}-54\text{ °C}$ )). В результате указанные липиды были гидратированы и сформировали многоламелярные везикулы (MLV), содержащие ацетат магния в их внутреннем пространстве (внутреннем растворе).

#### Снижение размера MLV экструзией фильтром:

[0231] MLV фрагментировали в одноламелярные везикулы (один бислой) нужного размера путем экструзии высокого давления, используя два прохода через сложенные стопкой (поликарбонатные) мембраны. Сложенные стопкой мембраны имели два слоя с размером пор 200 нм и шесть слоев с размером пор 100 нм. Во время экструзии температуру поддерживали выше  $T_m$ . В результате экструзии, крупные и гетерогенные по размеру и ламеллярности MLV были превращены в небольшие гомогенные (100-120 нм) одноламелярные везикулы (ULV), которые секвестрировали ацетат кальция в их внутреннее пространство. Инструмент Malvern Zetasizer Nano ZS (Саутборо, Массачусетс) с детектором рассеяния (90°) использовали для измерения гидродинамического размера (диаметра) везикул при 25 °С в пластиковой микроювете. Образцы разбавляли в 50 раз в матрице состава перед анализом.

#### Генерирование градиента:

[0232] После того, как ULV, содержащие ацетат магния, были получены, внелипосомальный ацетат магния удаляли гель-фильтрационной хроматографией (SEC, с колонками PD-10) или TFF (диафильтрация с тангенциальным потоком). Растворы изотонического агента (такие как 50 % декстрозы) добавляли в липосомы для баланса осмоляльности (конечная концентрация: 5 % декстрозы для липосомы 125 мМ

ацетата магния и 10 % декстрозы для липосомы 250 мМ ацетата магния). Содержание липида в полученном растворе липосом определяли анализом фосфата.

#### Загрузка Транс-кроцетина в Липосомы Ацетата Магния:

[0233] Раствор 1 мг/мл транс-кроцетина или натрий транс-кроцетината получали в 10 % декстрозе (для липосом 250 мМ ацетата магния) и pH доводили до 8-8,5 гидроксидом натрия. Раствор натрий транс-кроцетината смешивали с раствором липосом ацетата магния в различных соотношениях препарата/липиды (100 г/моль, 80 г/моль, 60 г/моль или 40 г/моль). Затем смесь тщательно перемешивали и нагревали до 65 °С в течение 30 минут, а затем быстро охлаждали до комнатной температуры с использованием ледяной бани. Данную стадию можно заменить на перемешивание смеси при комнатной температуре в течение ночи.

#### Очистка Липосом:

[0234] Внелипосомальный транс-кроцетин удаляли гель-фильтрационной хроматографией (колонки PD-10) или TFF. В данном примере буфер, используемый в SEC, представлял собой HBS (солевой раствор забуференный HEPES, pH 6,5). По завершении очистки проводили стерилизацию фильтрованием с использованием фильтра 0,2-0,22 микрона. Инструмент Malvern Zetasizer Nano ZS (Саутборо, Массачусетс) с детектором рассеяния (90°) использовали для измерения гидродинамического размера (диаметра) при 25 °С в пластиковой микрокувете. Образцы разбавляли перед анализом.

Таблица 2. Физические характеристики типичных наночастиц, загруженных МТС

	Исходная концентрация	Эффективность инкапсуляции	Конечная концентрация	Соотношение препарата/липиды	Диаметр	PDI	Дзета-потенциал
МТС LP (D/L-80)	0,75 мг/мл транскроцетин натрия	99,98%	5,03 мг/мл	77,22 г/мМ липидов	102,1 нм	0,046	- 2,32 мВ
МТС LP	0,75 мг/мл транскроцетин	98,82%	4,00 мг/мл	58,83 г/мМ	103,4 нм	0,034	- 3,23 мВ

(D/L-80)	тин динатрия			липидов			
MTC LP (D/L-80)	0,75 мг/мл транскроце тин динатрия	98,90%	2,25 мг/мл	35,13 г/мМ липидов	103,7 нм	0,039	-3,23 мВ

Таблица 3: Резюме результатов ФК липосомального STC и MTC

Тестируемое изделие	T <sub>1/2</sub> (ч)	AUC (мг/мл*ч )	C <sub>max</sub> (мг/мл)	Экспозиция в плазме (Увеличение в раз по сравнению со свободным лекарственным средством STC) анализ NCA
Свободное лекарственное средство STC	0,35	0,21	0,36	НД
Свободное лекарственное средство STC	0,47	0,26	НД	НД
STC-LP-80	5,12	8,36	1,26	40
STC-LP-60	4,52	6,4	1,1	35
STC-LP-40	5,8	10,75	1,44	56
MTC-LP-80	2,88	5,29	1,29	25
MTC-LP-60	2,9	6,01	1,44	29
MTC-LP-40	2,67	5,25	1,37	25
Липосома, Меченная Флуоресцентным Красителем	12,2	НД	НД	НД

[0235] Мышей Balb/c (3 мыши/группу) обрабатывали одной дозой препарата свободного STC, STC/MTC-LP (соотношение D/L 80, 60, 40) и липосомами, меченными флуоресцентным красителем через медленный внутривенный болюс, чтобы собрать серию образцов крови в различные точки времени в течение 24 часов (как правило, 5 минут, 1 час, 2 часа, 4 часа, 8 часов и 24 часа).

[0236] 5 мкл каждого образца плазмы смешивали с 395 мкл метанола, содержащего 1 % муравьиной кислоты. Образцы смесей хорошо смешивали на вортексе. Образцы инкубировали при -20 °С в течение 1 часа, а затем уравнивали при комнатной температуре в течение 15 минут. Образцы перемешивали на вортексе, а затем центрифугировали при 10000 об/мин в течение 10 минут при комнатной температуре. 200 мкл супернатанта удаляли из каждого образца не потревожив осадок и анализировали с помощью ВЭЖХ. Если количество плазмы позволяло, данный анализ дублировали.

[0237] Концентрацию STC в образцах плазмы определяли с помощью стандартной кривой, построенной путем анализа образцов плазмы, содержащей известное количество STC. Анализировали профили ФК.

Таблица 4: Стабильность липосомы STC

Тестируемое изделие	Дата анализа	Размер частиц (нм)	PDI	Дзета потенциал (мВ)	Конц. липида (мМ)	Конц. кроцетина (мг/мл)	Результирующее D/L
СТС-LP-80 1-й	Исходная	101,1	0,039	-3,09	63,88	5,01	78,47
СТС-LP-80 1-й	1 месяц	100,3	0,046	-1,56	1,64	0,13	77,73
СТС-LP-80 1-й	2 месяца	99,33	0,049	-3,44	1,25	0,10	76,46
СТС-LP-80 1-й	5 месяцев	99,56	0,046	-2,49	2,03	0,16	78,37
СТС-LP-80 1-й	6 месяцев	103,3	0,06	-2,21	1,73	0,14	78,66
СТС-LP-80 2-й	Исходная	97,3	0,049	-3,44	71,09	5,44	76,57
СТС-LP-80 2-й	3 месяца	99,6	0,037	-2,21	2,22	0,17	78,83

СТС-LP-80 2-й	4 месяца	99,8	0,038	-3,27	2,14	0,17	79,91
СТС-LP-80 2-й	5 месяце в	99,7	0,05	-4,55	1,31	0,10	78,73
СТС-LP-80 3-й	Исходн ая	102,3	0,042	-0,80	70,57	5,48	77,64
СТС-LP-80 3-й	2 месяца	102,9	0,038	-2,11	2,04	0,16	77,72
СТС-LP-80 3-й	3 месяца	102,3	0,042	-2,74	2,01	0,15	76,22
СТС-LP-80 3-й	4 месяца	104,2	0,090	-2,17	1,12	0,09	77,10
СТС-LP-80 4-й	Исходн ая	99,6	0,037	-2,21	70,57	5,58	79,11
СТС-LP-80 4-й	1 месяц	101,6	0,054	-2,00	2,52	0,20	80,76
СТС-LP-80 4-й	2 месяца	100,8	0,042	-3,22	2,05	0,16	77,11
СТС-LP-80 4-й	3 месяца	102,8	0,073	-5,01	1,36	0,11	79,06
СТС-LP-60	Исходн ая	100,8	0,0	-3,7	58,91	3,90	66,23
СТС-LP-60	4 месяца	104,0	0,0	-1,9	2,12	0,14	68,12
СТС-LP-60	5 месяце в	103,2	0,037	-2,63	1,70	0,12	68,89
СТС-LP-40	Исходн ая	101,9	0,0	-3,8	71,54	2,49	34,74
СТС-LP-40	4 месяца	106,1	0,0	-2,1	2,54	0,09	36,58

СТС-LP-40	5						
	месяце						
	в	103,1	0,038	-2,28	2,21	0,08	36,41

[0238] Стабильность липосом СТС дополнительно оценивали путем характеристики раствора липосом после того, как данные липосомы были очищены от потенциально вымытого препарата колонкой гель-фильтрации после определенного периода хранения (до 6 месяцев). Методы характеристики были такими же, как описанные ранее.

[0239] Указанные липосомы СТС показали почти одинаковое соотношение препарата/липидов в пределах погрешности. Следовательно, было подтверждено пренебрежительно малое вымывание препарата в течение 6 месяцев при условии хранения (4 °С).

Таблица 5: Оценка воспроизводимости и стабильности партий липосом

D/L образцов партии	Мар	Апр	Май	Июн	Июл	Авг	Сен	Окт
СТС-LP-80 (1-й)	76,57	76,37	75,81			75,36	78,10	
СТС-LP-80 (2-й)			76,57			76,41	82,12	77,12
СТС-LP-80 (3-й)				77,64		78,13	77,81	76,54
СТС-LP-80 (4-й)					79,11	82,93	78,92	80,77

[0240] Воспроизводимость и стабильность партий липосом оценивали характеристикой D/L.

[0241] Липосомы СТС показали пренебрежительно малое изменение в данной оценке. Таким образом, липосомы СТС показали стабильность по меньшей мере 6 месяцев.

Таблица 6: Стабильность липосомы МТС

Тестируемое изделие	Дата анализа	Размер частиц (нм)	PDI	Дзета потенциал (мВ)	Конц. липида (мМ)	Конц. препарата (мг/мл)	D/L (г/моль)
МТС-LP-80	Исходная	102,1	0,04 6	-2,32	65,2	5,03	77,22
МТС-LP-80	1 месяц	104,4	0,03 8	-2,84	19,70	1,53	77,72

МТС-LP-80	2 месяца	105,5	0,05 1	-4,78	18,29	1,41	77,22
МТС-LP-60	Исходная	103,4	0,03 4	-3,23	57,96	3,27	56,39
МТС-LP-60	10 дней	105,2	0,05	-2,46	23,14	1,38	59,67
МТС-LP-60	1 месяц	105,4	0,05 6	-4,45	23,31	1,39	59,85
МТС-LP-40	Исходная	103,7	0,03 9	-3,23	64,04	2,25	35,13
МТС-LP-40	10 дней	104	0,03	-2	24,39	0,87	35,76
МТС-LP-40	1 месяц	106,5	0,05 8	-5,74	23,21	0,84	36,27

[0242] Методы определения были такими же, как описанные ранее.

[0243] Указанные липосомы МТС показали почти одинаковое соотношение препарата/липиды в пределах погрешности. Следовательно, стабильность липосомы в течение по меньшей мере 2 месяцев при условиях хранения (4 °С) было подтверждено.

Пример 4- Протокол Исследования Эффективности и Результаты Липосомального СТС

Животные и Скот:

[0244] Самцов и/или самок мышей C57BL/6, приобретенных у Envigo Laboratories или Jackson Lab (Бар Харбор, Мэн) акклиматизировали в условиях содержания и обращались в соответствии с Протоколом обращения с животными (AUP) номер TP-05. Животных акклиматизировали в течение около 1 недели до начала исследования. Только животных, которых посчитали здоровыми, включали в данное исследование. Животных кормили облученной Teklad Global Rodent Diet 2918 и водой ad libitum. Мышей размещали группами 5/клетку в статических клетках с облученной подстилкой из кукурузных початков Teklad 1/8" 7902 в Чистых комнатах bioBubble®, что осуществлялось путем подачи воздуха, отфильтрованного через Н.Е.Р.А в закрытую среду при 100 полных заменах воздуха в час. Окружающую среду контролировали до диапазона температур 74 ° ± 5 °F и диапазона влажности 30-70 %. Группы обработки определяли картой клетки. Индивидуальных мышей определяли по несъедобному маркеру на основании хвоста. Все процедуры, проведенные в данном эксперименте, были проведены в соответствии с законами, нормативными актами и

руководящими принципами национальных институтов здравоохранения и с утверждением Комитета по уходу за животными для лабораторных исследований.

Цекальная Лигатурная Пункция и Послеоперационная Процедура:

[0245] В день 1 самцов и/или самок мышей анестезировали изофлураном и переносили на хирургический стол. Нижние квадранты живота выбривали электрическим триммером. В день 0 мышей анестезировали изофлураном и переносили на хирургический стол. Выбритую поверхность дезинфицировали тремя чередующимися скрабами хирургического скраба хлоргексидина и 70 % изопропанола. Брюшной продольный срединный разрез кожи производили ножницами для иридэктомии, не проникая в брюшную полость. После первоначального разреза небольшими ножницами расширяли разрез на 1,5-2 см, чтобы получить вход в брюшную полость. Срединную белую фасцию мускулатуры брюшной полости идентифицировали и разрезали для междумышечного разреза и разреза фасции и перитонеальных слоев. Слепую кишку выводили за поверхность тела тупыми анатомическими щипцами, оставляя оставшуюся часть тонкого и толстого кишечника внутри брюшной полости и избегая нарушения или повреждения брыжеечных кровеносных сосудов. Слепую кишку лигировали стерильным хирургическим зажимом 9,5 мм из нержавеющей стали ниже илеоцекального клапана в обозначенном положении (лигировали около 70 % слепой кишки). Следили за тем, чтобы не перекрыть кишечник. Перед перфорацией слепой кишки содержание слепой кишки осторожно подталкивали к дистальной слепой кишке. Затем слепую кишку перфорировали иглой 16-калибра для тяжелого сепсиса. Проводили один сквозной прокол посередине между лигатурой и кончиком слепой кишки в направлении от брыжеечного к противобрыжеечному краю. После удаления иглы слепую кишку перемещали в брюшную полость без распределения каловых масс из слепой кишки на рану стенки брюшной полости, но небольшую капельку каловых масс выдавливали как из брыжеечного, так и из противобрыжеечного отверстий проколов. Размер капельки был как можно более воспроизводимым. Брюшина, фасции и мускулатура брюшной полости были закрыты путем наложения простых ходовых швов (4-0 PDS или хирургические швы хромированным кетгутом) И разрез кожи запечатывали 9 мм автоклипами или хирургическим клеем. Сразу после операции мышам вводили подкожную (SC) инъекцию 0,5 мл 0,9% солевого раствора комнатной температуры. Затем животным дали восстановиться после операции в чистой клетке, размещенной на теплой, рециркулирующей нагревательной площадке, со свободным доступом к

воде и гранулам пищи на полу. Нагревательная площадка занимала половину клетки, чтобы животные имели возможность переместиться в более прохладную часть клетки при желании. Мыши оставались в данной среде в сознании и с возможностью передвигаться. Нагревательную площадку удаляли, как только животное было стабильным.

[0246] Животных контролировали постоянно после операции, по крайней мере, каждые 2-3 минуты в течение около 30 минут, пока животные не восстановились и смогли двигаться самостоятельно. После этого животных наблюдали каждый час в течение не менее 6 часов после операции. Животных также тщательно контролировали (каждый час с 7:00 до 18:00 каждый день) в течение всего исследования с дополнительными наблюдениями в 10 часов вечера и 2 часа утра в дни 1-3. Производили послеоперационную запись грызуна (1 запись на животное) во время исследования. При наблюдении записывали аномальные клинические признаки. Любое животное, демонстрирующее признаки надвигающейся смерти, гуманно подвергали эвтаназии. Если животное подвергали эвтаназии, время и дату записывали в послеоперационной записи.

#### Состав и Дозировка:

[0247] Мышам вводили тестируемое изделие ИП-инъекцией начиная с 2 часа после операции и продолжали один раз в сутки до дня 4 включительно (в сумме 5 дней дозирования). Мышей в группах 1-3 дозировали объемом ~10 мкл тестируемого изделия на грамм массы тела мыши (по данным Таблицы 7; данные введенные дозы представляют собой дозу 50 мг/кг на мышь в сутки в течение 5 дней). Мышам в группе 4 вводили раз в сутки 0,9 % физиологический раствор ИП-инъекцией в объеме 0,3 мл в дни 0-4. Мышей взвешивали ежедневно, а объемы доз вводили по данным Таблицы 7.

Таблица 7: Значения доз

Группы 1, 2 и 3 (доза 10 мкл/г)	
Диапазон массы тела	Объем дозы
20-23,9 г	0,2 мл
24-26,9 г	0,25 мл
27-30,9 г	0,3 мл

#### Анализ Конечной точки:

[0248] Эффективность тестовых изделий оценивали путем перечисления тестируемой смертности животных в течение 5 дней после операции ЦЛП. Животных, которые остались живыми на 5 день, гуманно подвергали эвтаназии воздействием CO<sub>2</sub>.

Результаты Исследования:

[0249] В Таблице 8 описаны четыре исследования ЦЛП, используемые для проверки различных составов липосомного СТС. В Исследованиях 1 и 2 рассматривали модель ЦЛП у самцов мышей. В Исследованиях 3 и 4 рассматривали модель ЦЛП у самок мышей. Тестируемые изделия и результаты каждого исследования описаны ниже.

Таблица 8: Типичные исследования ЦЛП эффективности липосомального СТС

	Исследование 1- TP-936	Исследование 2- TP-967	Исследование 3- TP-983
Тип	Эффективност ь	Эффективност ь	Эффективност ь
Пол Мыши	Самец	Самка	Самка
Размер Исследования	30	40	50
Группы	3	4	5

Результаты Исследования 1 (TP-936):

[0250] Все хирургические и дозирующие процедуры выполняли, как подробно описано в протоколе исследования (выше). Животные плацебо продемонстрировали 100 % выживаемость. Мыши, которым проводили ЦЛП и лечили солевым раствором и имипенемом, показали 50% смертности. Животные, получавшие тестируемое изделие 1 и имипенем или тестируемое изделие 2 и имипенем, продемонстрировали 30 % и 10 % смертности, соответственно. Пять из девяти смертей во время исследования были результатом эвтаназии из-за обезвоживания и лежания на боку (ФИГ. 5).

[0251] Вместе эти данные демонстрируют, что цекальное лигирование и пункция с использованием иглы 16-калибра вызывает смертность у мышей C57BL/6J. Тем не менее, оба тестируемых препарата (в комбинации с имипенемом) продемонстрировали тенденцию к снижению смертности по сравнению с контрольной группой, обработанной имипенемом.

Результаты Исследования 2 (TP-967):

[0252] Животные, обрабатываемые солевым средством и имипенемом (Группа 4), продемонстрировали 70 % смертности (ФИГ. 6). Одна из семи смертей была результатом эвтаназии. Мыши, обрабатываемые PGPC-LP и имипенемом (Группа 1), показали 60 % смертности с одной из шести смертей в результате эвтаназии. Группа 2, которую обрабатывали STC-LP-80 и имипенемом, продемонстрировала 30 % смертности (ФИГ. 6). Две из трех смертей были результатом эвтаназии. Мыши, обрабатываемые PGPC-STC-LP-80 и имипенемом (Группа 3), показали 70 % смертности (ФИГ. 6). Две из семи смертей были результатом эвтаназии. Ни одна из групп обработки не показала статистически значимой разницы в смертности по сравнению с группой контроля носителя, но наблюдалась сильная тенденция к улучшению выживаемости.

#### Результаты Исследования 3 (TP-986):

[0253] Мыши, обрабатываемые STC-LP-80 (50 мг/кг) и имипенемом, продемонстрировали 70 % смертности (ФИГ. 8). Три из семи смертей были результатом эвтаназии. Мыши, обрабатываемые STC-LP-80 (25 мг/кг) и имипенемом, показали 40 % смертности (ФИГ. 7). Две из четырех смертей были результатом эвтаназии. Мыши, обрабатываемые STC-LP-80 (5 мг/кг) и имипенемом, показали 20 % смертности (ФИГ. 7). Ни одна из смертей не была результатом эвтаназии. Данная обработка продемонстрировала статистически значимое снижение смертности по сравнению с группой контроля несущей среды ( $P=0,0321$ ). Мыши, обрабатываемые STC-LP-80 (1 мг/кг) и имипенемом, показали 60 % смертности (ФИГ. 7). Ни одна из смертей не была результатом эвтаназии. ФИГ. 7.

[0254] Вместе эти данные демонстрируют, что цекальное лигирование и пункция с использованием иглы 16-калибра вызывает смертность у мышей C57Bl/6. Обработка тестируемым изделием STC-LP-80 (5 мг/кг) и имипенемом продемонстрировала статистически значимое снижение смертности по сравнению с группой контроля физраствора.

#### Пример 5 – Получение липосом STC Пассивной загрузкой

##### Пассивная загрузка натрий транс-кроцетината экструдером:

[0255] Натрия Транс-кроцетинат растворяли в водной фазе при максимальной растворимости в данной водной среде, например, 0,7 мг/мл в 5 % декстрозе. Раствор липида в этаноле, содержащий HSPC, холестерин, PEG-DSPE, с/без PGPC, добавляли в водный раствор пипеткой. На этой стадии раствор хорошо перемешивали магнитной мешалкой. Смешивание проводили при повышенной температуре (63 °C-72 °C) для

обеспечения, чтобы указанные липиды были в жидкокристаллическом состоянии (в отличие от гелевого состояния, которое они принимают при температуре ниже температуры липидного перехода ( $T_m = 51\text{ }^{\circ}\text{C}-54\text{ }^{\circ}\text{C}$ )). В результате указанные липиды были гидратированы и сформировали везикулы со множеством бислоев (многоламеллярные) (MLV), содержащие натрий транс-кроцетинат в водном ядре. У MLV затем снижали размер путем экструзии, как описано ранее.

Пассивная загрузка транс-кроцетина с помощью Nanoassemblr®:

[0256] Натрия Транс-кроцетинат растворяли в водной фазе при максимальной растворимости в данной водной среде, например, 0,7 мг/мл в 5 % декстрозе. Раствор липида в этаноле, содержащий HSPC, холестерин, PEG-DSPE, с/без PGPC и водный раствор натрий транс-кроцетината отдельно переносили в шприцы. Два раствора вносили в микрофлюидный канал и смешивали, пропуская через него устройством NanoAssemblr® от Precision NanoSystems. Смешивание проводили при повышенной температуре ( $63\text{ }^{\circ}\text{C}-72\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) для обеспечения, чтобы липиды были в жидкокристаллическом состоянии (в отличие от гелевого состояния, которое они принимают при температуре ниже температуры липидного перехода ( $T_m = 51\text{ }^{\circ}\text{C}-54\text{ }^{\circ}\text{C}$ )). Размер липосомы может контролироваться изменением соотношения между липидным раствором и водным раствором, а также скорости потока смешивания.

Пассивная загрузка транс-кроцетина методом инъекции этанола:

[0257] Транс-кроцетин (свободную кислоту) растворяли в смеси липидов в этаноле при максимальной растворимости. Затем смесь липидов в этаноле, содержащую транс-кроцетин, либо смешивали с водным раствором (например, раствором буферов, забуференного физиологического раствора или декстрозы) и снижали их размер методом экструзии или смешивали с водным раствором через микрофлюидный канал устройства NanoAssemblr®.

Пассивная загрузка транс-кроцетина методом регидрации тонкой пленки:

[0258] Транс-кроцетин (свободную кислоту) растворяли в летучем органическом растворителе (например, этаноле, метаноле, хлороформе, дихлорметане и др.) наряду с другими липидами: HSPC, холестерином, PEG-DSPE, с/без PGPC. Органический растворитель в смеси транс-кроцетина-липидов полностью высушивали с помощью роторного испарителя с повышенной температурой (например,  $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) в водяной бане и вакуумом. При сушке колба вращалась, и на стенке круглодонной колбы образовывалась высушенная тонкая пленка транс-кроцетина-липидов. К тонкой пленке добавляли водный раствор и вращали/перемешивали при повышенной

температуре (например, 65 °C). Регидратация тонкой пленки в водном растворе образует везикулы со множеством бислоев (многоламелярные) (MLV), содержащие транс-кроцетин в липидном бислое MLV. Затем у MLV уменьшали размер экструзией до желаемых небольших одноламеллярных везикул (SUV).

Пример 6- Получение таргетированных липосом транс-кроцетина: После загрузки

[0259] Антитело или его фрагменты, такие как Fab или scFv, которые содержат остаток цистеина на С-конце, конъюгировали и включали в липосому транс-кроцетина методом «после загрузки». Мицеллы липополимера, реакционноспособного к тиолу (например, DSPE-PEG-малеимид), получали путем растворения в водном растворе при 10 мг/мл. Антитело (или его фрагмент) с концом цистеина растворяли и восстанавливали 10-20 мМ восстанавливающего реагента (например, 2-меркаптоэтиламина, цистеина или дитиозеритрита) при pH <7. Избыток восстанавливающего реагента тщательно удаляли с помощью SEC (гель-фильтрационная хроматография) или диализа. Очищенное и восстановленное антитело (или его фрагмент) затем инкубировали с мицеллами липополимеров, реакционноспособных к тиолу, при молярном соотношении 1:4. В конце реакции избыточные малеимидные группы гасили небольшим количеством цистеина (1 мМ) или меркаптоэтанола. Неконъюгированное антитело (или его фрагмент) удаляли с помощью SEC. Очищенные конъюгированные мицеллы затем инкубировали с липосомами при 37 °C или повышенной температуре при различных соотношениях антитела/липида (данное отношение зависит от антитела).

[0260] Хотя описанные способы были описаны в связи с теми, что в настоящее время считаются наиболее практичными и предпочтительными вариантами реализации изобретения, следует понимать, что способы, охватываемые данным описанием, не должны быть ограничены описанными вариантами реализации, а напротив, предназначены для охвата различных модификаций и эквивалентов, включенных в сущность и объем прилагаемой формулы изобретения.

[0261] Все публикации, патенты, заявки на патенты, интернет-сайты и номера доступа/последовательности баз данных, включая как полинуклеотидные, так и полипептидные последовательности, цитируемые в данном документе, включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме для всех целей в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация, патент, заявка на патент, интернет-

сайт или номер доступа/последовательность базы данных были специально и индивидуально указаны для включения посредством ссылки.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция, содержащая ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу: Полиеновый Каротиноид-Q, где,

указанный Полиеновый Каротиноид содержит

(a) 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 3-5, 6-8, 9-10 или более 9 сопряженных двойных связей,

(b) замещения метилом или низшим алкилом (C2-C3), и

(c) 1, 2, 3 или более 3 ионизируемых групп; и

Q представляет собой поливалентный противоион.

2. Фармацевтическая композиция, содержащая ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу: Q-R<sub>1</sub>-Полиеновый Каротиноид-R<sub>2</sub>-Q, где,

указанный Полиеновый Каротиноид содержит

(a) 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 3-5, 6-8, 9-10 или более 9 сопряженных двойных связей,

(b) замещения метилом или низшим алкилом (C2-C3), и

(c) 1, 2, 3 или более 3 ионизируемых групп;

R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> представляют собой ионизируемые группы (например, одинаковые ионизируемые группы или различные ионизируемые группы; и

Q представляет собой поливалентный противоион.

3. Фармацевтическая композиция по п. 1 или 2, в которой указанный Полиеновый Каротиноид содержит 1, 2, 3 или более 3 анионных ионизируемых групп;

4. Фармацевтическая композиция по п. 3, в которой указанный Полиеновый Каротиноид содержит по меньшей мере одну анионную ионизируемую группу, выбранную из: карбоксильной группы, сульфатной группы, сульфатной группы, фосфонатной, фосфатной группы и гидроксаматной группы.

5. Фармацевтическая композиция по пп. 1 или 2, в которой указанный Полиеновый Каротиноид содержит 1, 2, 3 или более 3 катионных ионизируемых групп (например, первичную, вторичную или третичную аминогруппу, группу четвертичного аммония, холиновую группу, гуанидиновую группу или имидазоловую группу).

6. Фармацевтическая композиция, содержащая ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу: Q-транс-кроцетин-Q, где

Q представляет собой поливалентный катионный противоион.

7. Фармацевтическая композиция, содержащая ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу: Q-норбиксин-Q, где

Q представляет собой поливалентный катионный противоион.

8. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-7, в которой указанный поливалентный противоион (Q) представляет собой поливалентный катион (например, двухвалентный катион, такой как катион двухвалентного металла или двухвалентный органический катион, или трехвалентный катион, такой как  $Fe^{3+}$ ).

9. Фармацевтическая композиция по п. 8, в которой указанный поливалентный катион представляет собой по меньшей мере один двухвалентный катион, выбранный из  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  и  $Fe^{2+}$ , двухвалентный органический катион, такой как протонированный диамин, или трехвалентный катион, такой как  $Fe^{3+}$ .

10. Фармацевтическая композиция по п. 6, которая содержит магний транс-кроцетинат (МТС) или кальций транс-кроцетинат (СТС).

11. Фармацевтическая композиция по п. 7, которая содержит магний транс-норбиксинат (MTN) или кальций транс-норбиксинат (СТН).

12. Средство доставки, содержащее фармацевтическую композицию по любому из пп. 1-11.

13. Средство доставки по п. 12, которое представляет собой липосому.

14. Фармацевтическая композиция, содержащая липосому, инкапсулирующую ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу: Полиеновый Каротиноид-Q, где

указанный Полиеновый Каротиноид содержит

(a) 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 3-5, 6-8, 9-10 или более 9 сопряженных двойных связей,

(b) замещения метилом или низшим алкилом (C2-C3), и

(c) 1, 2, 3 или более 3 ионизируемых групп; и

Q представляет собой (i) поливалентный противоион или (ii) одновалентный противоион.

15. Фармацевтическая композиция, содержащая липосому, инкапсулирующую ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу: Q-R<sub>1</sub>-Полиеновый Каротиноид-R<sub>2</sub>-Q, где

указанный Полиеновый Каротиноид содержит

(a) 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 3-5, 6-8, 9-10 или более 9 сопряженных двойных связей,

(b) замещения метилом или низшим алкилом (C2-C3), и

(c) 1, 2, 3 или более 3 ионизируемых групп;

R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> представляют собой ионизируемые группы (например, одинаковые ионизируемые группы или различные ионизируемые группы; и

Q представляет собой (i) поливалентный противоион или (ii) одновалентный противоион.

16. Фармацевтическая композиция по п. 14 или 15, в которой указанный Полиеновый Каротиноид содержит анионные ионизируемые группы.

17. Фармацевтическая композиция по п. 16, в которой указанный Полиеновый Каротиноид содержит по меньшей мере одну анионную ионизируемую группу, выбранную из: карбоксильной группы, сульфатной группы, сульфатной группы, фосфонатной, фосфатной группы и гидроксаматной группы.

18. Фармацевтическая композиция по п. 14 или 15, в которой указанный Полиеновый Каротиноид содержит катионные ионизируемые группы (например, первичную, вторичную или третичную аминогруппу, группу четвертичного аммония, холиновую группу, гуанидиновую группу или имидазоловую группу).

19. Фармацевтическая композиция, содержащая липосому, инкапсулирующую ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу: Q-транс-кроцетин-Q, где

Q представляет собой (i) поливалентный катионный противоион или (ii) одновалентный катион.

20. Фармацевтическая композиция, содержащая липосому, инкапсулирующую ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу: Q-транс-норбиксин-Q, где

Q представляет собой (i) поливалентный катионный противоион или (ii) одновалентный катион.

21. Фармацевтическая композиция, содержащая липосому, инкапсулирующую ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу: Q-R<sub>3</sub>-Полиеновый Каротиноид-R<sub>4</sub>-Q, где

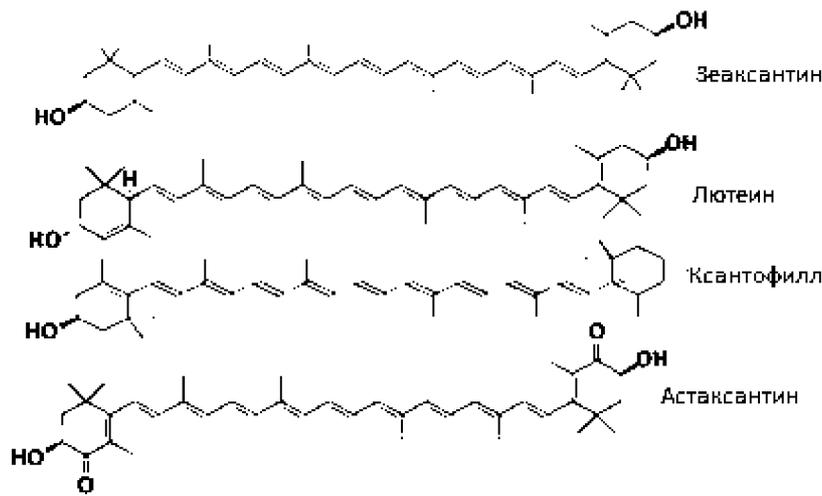
указанный Полиеновый Каротиноид содержит 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 3-5, 6-8, 9-10 или более 9 сопряженных двойных связей, необязательно замещенных от 1 до n метиловыми или низшими C2-C3 алкильными замещениями, где n = от 1 до 4; и

R<sub>3</sub> и/или R<sub>4</sub> представляет собой моноциклическую и/или полярную группу (например, одинаковую или различную моноциклическую и/или полярную группу); и

Q представляет собой (i) поливалентный противоион или (ii) одновалентный противоион.

22. Фармацевтическая композиция, содержащая липосому, инкапсулирующую каротиноид с двумя присоединенными полярными группами, которые могут быть одинаковыми или различными полярными группами, и имеющий формулу: QA-Полиеновый Каротиноид-AQ, где

указанный Полиеновый Каротиноид содержит 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 3-5, 6-8, 9-10 или более 9 сопряженных двойных связей, необязательно замещенных от 1 до n метиловыми или низшими С2-С3 алкильными замещениями, где n = от 1 до 4; и QA взятая вместе и AQ взятая вместе представляет собой моноциклическую функциональную группу, (например, одинаковую или различную моноциклическую функциональную группу), необязательно выбранную из моноциклической функциональной группы, присутствующей в астаксантине, лютеине, ксантофилле и зеаксантине;



23. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 14-21, в которой Q представляет собой поливалентный противоион (например, поливалентный катион, такой как катион двухвалентного металла или двухвалентный органический катион).

24. Фармацевтическая композиция по п. 23, в которой Q представляет собой по меньшей мере один двухвалентный катион, выбранный из  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$ , двухвалентный органический катион, такой как протонированный диамин, или трехвалентный катион, такой как  $\text{Fe}^{3+}$ .

25. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 14-21, в которой Q представляет собой одновалентный противоион (например, катион одновалентного металла или одновалентный органический катион).

26. Фармацевтическая композиция по п. 25, в которой Q представляет собой по меньшей мере один одновалентный противоион, выбранный из  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Li}^+$  и  $\text{K}^+$ , или одновалентный органический катион, такой как протонированный амин.

27. Фармацевтическая композиция по п. 19, которая содержит магний транс-кроцетинат (МТС) или кальций транс-кроцетинат (СТС).

28. Фармацевтическая композиция по п. 20, которая содержит магний транс-норбиксинат (MTN) или кальций транс-норбиксинат (CTN).

29. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 13-28, в которой указанное соотношение ионизируемого каротиноида/липида составляет от 1 до 1000 г/моль, от около 10 до около 150 г/моль, от около 20 до около 100 г/моль или любой диапазон между этими значениями.

30. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 13-29, в которой указанные липосомы содержат, по меньшей мере, от 0,1 % до 97 % по массе (мас./мас.) ионизируемого каротиноида или любой диапазон между этими значениями.

31. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 13-30, в которой указанная липосома имеет диаметр от 20 нм до 500 нм, от 20 нм до 200 нм, от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями.

32. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 13-31, в которой указанная липосома образована из компонентов липосом.

33. Фармацевтическая композиция по п. 32, в которой указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере одно из анионного липида, катионного липида и нейтрального липида.

34. Фармацевтическая композиция по п. 32 или 33, в которой указанные компоненты липосом содержат по меньшей мере одно, выбранное из: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-FITC; DSPE-PEG-малеимида; HSPC; HSPC-PEG; холестерина; холестерин-PEG; и холестерин-малеимида.

35. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 13-34, в которой указанная липосома содержит окисленный фосфолипид, такой как ОхРАРС.

36. Фармацевтическая композиция по п. 35, в которой указанный ОхРАРС представляет собой окисленный фосфолипид, содержащий фрагментированные оксигенированные sn-2 остатки, окисленный фосфолипид, содержащий полноразмерные оксигенированные sn-2 остатки, и/или окисленный фосфолипид, содержащий пятиуглеродный sn-2 остаток, несущий омега-альдегидные или омега-карбоксильные группы.

37. Фармацевтическая композиция по п. 35, в которой указанная липосома содержит ОхРАРС, выбранный из группы, включающей HOdiA-PC, KOdiA-PC, HOOA-PC и KOOA-PC, 1-пальмитоил-2-(5,6-эпоксизопростан E2)-sn-глицеро-3-фосфохолин (5,6 PEIPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксциклопентенон)-sn-глицеро-3-фосфохолин (PEPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксизопростан E2)-sn-глицеро-4-фосфохолин (PEIPC), 1-

пальмитоил-2-глутароил-sn-глицеро-3-фосфохолин (PGPC); 1-пальмитоил-2-(9'-оксононаноил)-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-арахидоноил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-миристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-гексадецил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-азелаил-sn-глицеро-3-фосфохолин; и 1-пальмитоил-2-ацетоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; или указанный ОхРАРС представляет собой эпоксиизопростансодержащий фосфолипид.

38. Фармацевтическая композиция по п. 37, в которой указанная липосома содержит PGPC.

39. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 13-38, в которой указанная липосома содержит от 0 % до 100 %, от 0,1 % до 30 %, от 1 % до 25 %, от 5 % до 20 % или от 7 % до 15 % ОхРАРС (например, около 10 % ОхРАРС), или любой диапазон между этими значениями.

40. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 13-39, в которой указанная липосома содержит HSPE, холестерин, PEG-DSPE-2000 и ОхРАРС при мольном соотношении от 2 до 5, от 1 до 4, от 0,01 до 0,3, от 0,05 до 1,5.

41. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 13-40, в которой указанная липосома является пэгилированной.

42. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 13-41, где один или более компонентов липосом дополнительно содержат стерический стабилизатор.

43. Фармацевтическая композиция по п. 42, в которой указанный стерический стабилизатор представляет собой по меньшей мере один, выбранный из группы, включающей полиэтиленгликоль (ПЭГ); поли-L-лизин (PLL); моносиалоганглиозид (GM1); поли(винилпирролидон) (PVP); поли(акриламид) (PAA); поли(2-метил-2-оксазолин); поли(2-этил-2-оксазолин); фосфатидилполиглицерин; поли[N-(2-гидроксипропил)метакриламид]; амфифильные поли-N-винилпирролидоны; полимер на основе L-аминокислоты; олигоглицерин, сополимер, содержащий полиэтиленгликоль и оксид полипропилена, Поллоксамер 188 и поливиниловый спирт.

44. Фармацевтическая композиция по п. 43, в которой указанный стерический стабилизатор представляет собой ПЭГ, и указанный ПЭГ имеет среднечисловую молекулярную массу (Mn) от 200 до 5000 Дальтон.

45. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 13-44, в которой указанная липосома является анионной или нейтральной.

46. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 13-44, в которой указанная липосома имеет дзета-потенциал от -150 до 150 мВ или от -50 до 50 мВ, или любой диапазон между этими значениями.

47. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 13-45, в которой указанная липосома имеет дзета-потенциал, который менее или равен нулю (например, от -150 до 0 или от -50 до 0 мВ, или любой диапазон между этими значениями).

48. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 13-47, в которой указанная липосома имеет дзета-потенциал более 0 (например, от 0,2 до 150 мВ или от 1 до 50 мВ, или любой диапазон между этими значениями).

49. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 13-45, в которой указанная липосома является катионной.

50. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-49, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемый носитель.

51. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-50, в которой указанный фармацевтически приемлемый носитель включает вещество, регулирующее тоничность, (например, декстрозу, маннит, глицерин, хлорид калия или хлорид натрия), необязательно, при концентрации более 0,1 % или в концентрации от 0,3 % до 2,5 %, или любой диапазон между этими значениями.

52. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-51, содержащая трегалозу или декстрозу.

53. Фармацевтическая композиция по п. 52, которая содержит от 1 % до 50 % трегалозы.

54. Фармацевтическая композиция по п. 51, которая содержит декстрозу, необязательно, от 1 % до 50 % декстрозы.

55. Фармацевтическая композиция по п. 54, которая содержит 5 % декстрозы в растворе с буфером HEPES.

56. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-55, которая содержит буфер, такой как забуференный HEPES солевой раствор (HBS) или подобный раствор в концентрации от 1 до 200 мМ и рН от 2 до 8, или любые диапазоны между этими значениями.

57. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-56, в которой указанный фармацевтически приемлемый носитель содержит общую концентрацию ацетатных солей поливалентных металлов, таких как ацетат магния или ацетат кальция, от 0,1 мМ до 2000 мМ или от 50 мМ до 500 мМ, или любой диапазон между этими значениями.

58. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-57, которая имеет рН 5-8 или рН 6-7, или любой диапазон между этими значениями.

59. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 13-58, в которой указанная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000, менее 10000 или менее 5000 молекул ионизируемого каротиноида.

60. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 13-59, в которой указанная липосома содержит от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 500 до 5000 молекул указанного ионизируемого каротиноида, или любой диапазон между этими значениями.

61. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 13-60, в которой указанная липосома дополнительно содержит таргетирующий фрагмент, и причем указанный таргетирующий фрагмент имеет специфическое сродство к поверхностному антигену на клетке-мишени, представляющей интерес.

62. Фармацевтическая композиция по п. 61, в которой указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы, причем необязательно указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы ковалентной связью.

63. Фармацевтическая композиция по п. 61 или 62, в которой указанный таргетирующий фрагмент представляет собой полипептид.

64. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 61-63, в которой указанный таргетирующий фрагмент представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела.

65. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 61-64, в которой указанный таргетирующий фрагмент связывает поверхностный антиген с константой диссоциации ( $K_d$ ) в диапазоне от  $50 \times 10^{-12}$  до  $10 \times 10^{-6}$ , определенной анализом VIACORE®.

66. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 61-65, в которой указанный таргетирующий фрагмент специфически связывает один или более фолатных рецепторов, выбранных из: фолатного рецептора альфа (FR- $\alpha$ ), фолатного рецептора бета (FR- $\beta$ ) и фолатного рецептора дельта (FR- $\delta$ ).

67. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 61-66, в которой указанный таргетирующий фрагмент включает одно или более, выбранного из следующего: антитело, гуманизированное антитело, антигенсвязывающий фрагмент

антитела, одноцепочечное антитело, однодоменное антитело, биспецифическое антитело, синтетическое антитело, пэгилированное антитело и мультимерное антитело.

68. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 62-67, в которой каждая пэгилированная липосома содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями.

69. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 13-68, дополнительно содержащая одно или более из FАВР, иммуностимулирующего агента, иммуносуппрессирующего агента, детектируемого маркера и малеимида, причем указанный FАВР, иммуностимулирующий агент, иммуносуппрессирующий агент, детектируемый маркер или малеимид присоединен к указанному ПЭГ или наружной части липосомы.

70. Фармацевтическая композиция по п. 69, содержащая по меньшей мере один иммуностимулирующий агент, выбранный из группы, включающей: белковый иммуностимулирующий агент; полинуклеотидный иммуностимулирующий агент; химический иммуностимулирующий агент; гаптен; и адъювант.

71. Фармацевтическая композиция по п. 69 или 70, в которой указанный иммуностимулирующий агент представляет собой по меньшей мере один, выбранный из: флуоресцеина; флуоресцеина изотиоцианата (FITC); DNP; бета-глюкана; бета-1,3-глюкана; бета-1,6-глюкана; резолвина (например, резолвин D, такой как Dn-6DPA или Dn-3DPA, резолвин E или резолвин семейства T); и модулирующего агента Toll-подобного рецептора (TLR), такого как окисленный липопротеин низкой плотности (например, ОХРАС, PGPC) или эриторан-подобный липид (например, E5564).

72. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 69-71, содержащая FАВР.

73. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 69-72, дополнительно содержащая гаптен.

74. Фармацевтическая композиция по п. 73, в которой указанный гаптен включает одно или более из флуоресцеина или бета-1,6-глюкана.

75. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-74, дополнительно содержащая по меньшей мере один криопротектор, выбранный из группы, включающей маннит; трегалозу; сорбит; и сахарозу.

76. Таргетированная композиция, содержащая фармацевтическую композицию по любому из пп. 1-75.

77. Нетаргетированная композиция липосом, содержащая фармацевтическую композицию по любому из пп. 13-60 или 69-75.

78. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-77, для применения в лечении заболевания или состояния у субъекта.

79. Применение фармацевтической композиции по любому из пп. 1-78, в производстве лекарственного средства для лечения заболевания у субъекта.

80. Способ лечения или предупреждения заболевания у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции по любому из пп. 1-79.

81. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние связано с эндотоксемией.

82. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние представляет собой сепсис.

83. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанный субъект представляет собой жертву ожога.

84. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние представляет собой инфекцию (например, бактериальную инфекцию, такую как инфекция *P. aeruginosa*, инфекция *S. aureus* (например, МРЗС) или состояние, связанное с ней, или энтерококковую инфекцию (например, VRE), грибковую инфекцию (например, кандидозную инфекцию (например, инвазивный кандидоз) или состояние, связанное с ней, или паразитарную инфекцию или состояние, связанное с ней, такое как малярия (или связанное состояние, такое как церебральная малярия, тяжелая анемия, ацидоз, острая почечная недостаточность и ОРДС), шистосомоз и африканский трипаносомоз человека, и состояния, связанные с ними; вирусную инфекцию или состояние, связанное с ней, такое как лихорадка Эбола, Денге и Марбург (или связанное состояние, такое как грипп, корь и вирусная геморрагическая лихорадка).

85. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние представляет собой бактериемию.

86. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние представляет собой заболевание или состояние печени (например, цирроз, неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП), неалкогольный стеатогепатит (НАСГ); алкогольную жировую болезнь печени, острое поражение печени и цирроз печени).

87. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние представляет собой заболевание

или состояние легких (например, острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС), легочный фиброз, легочное кровотечение, повреждение легких, рак легких, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) и другие респираторные нарушения).

88. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние представляет собой заболевание почек (например, индуцированное липополисахаридным препаратом или токсином острое повреждение почек (ОПП) и конечная стадия заболевания почек).

89. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние представляет собой аутоиммунное нарушение (например, псориаз, муковисцидоз и ревматоидный артрит).

90. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние представляет собой склероз (например, системный склероз).

91. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанный субъект представляет собой критически больного пациента.

92. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанный субъект имеет риск развития сепсиса.

93. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние представляет собой слабо выраженное эндотоксемическое заболевание.

94. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние представляет собой воспаление (например, системное воспаление, слабо выраженное воспаление, острое воспаление и хроническое воспалительное заболевание).

95. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние представляет собой воспалительное заболевание кишечника (например, болезнь Крона и язвенный колит).

96. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанный субъект является иммунодефицитным.

97. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанный субъект получает химиотерапию и/или является иммуносупрессированным (например, лихорадящие пациенты с нейтропенией).

98. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние представляет собой метаболическое заболевание.

99. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние представляет собой резистентность к инсулину.

100. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние представляет собой диабет или связанные состояния, такие как гангрена, диабетический некроз, диабетическая нейропатия и диабетическое сосудистое заболевание (например, микрососудистое заболевание, такое как ретинопатия и нефропатия, и диабетические язвы).

101. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние представляет собой диабет 2-го типа.

102. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние представляет собой сердечно-сосудистое заболевание (например, заболевание коронарных артерий, такое как инфаркт миокарда, внезапная сердечная смерть, остановка сердца и дыхания, гипертония, артериальная гипертензия легких, атеросклероз, окклюзионное заболевание артерий, болезнь Рейно, болезнь периферических сосудов, другие васкулопатии, такие как болезнь Бюргера, артрит Такаясу и синдром после остановки сердца (СПОС), хроническая венозная недостаточность, болезнь сердца, застойная сердечная недостаточность, хронические язвы кожи).

103. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние характеризуется ишемией или гипоксией (например, ишемическое реперфузионное повреждение, переходящая ишемия головного мозга, ишемия-реперфузия головного мозга, ишемический инсульт, геморрагический инсульт, черепно-мозговая травма, мигрень (например, хроническая мигрень или тяжелая мигрень), желудочно-кишечная ишемия, болезнь почек, эмболия легочной артерии, острая дыхательная недостаточность, неонатальный респираторный дистресс-синдром, акушерские чрезвычайные ситуации для снижения перинатальной коморбидности (такие как, пре/эклампсия и состояния, которые приводят к церебральному параличу), инфаркт миокарда и острая ишемия конечностей или брыжейки, цирроз сердца, хроническое заболевание периферических сосудов,

застойная сердечная недостаточность, атеросклеротический стеноз, анемия, тромбоз, эмболия, дегенерация желтого пятна, нейродегенеративное заболевание (такое как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона или боковой амиотрофический склероз (БАС)), апноэ во время сна, а также операционное или травматическое повреждение).

104. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние представляет собой сердечный приступ или инсульт (например, ишемический и геморрагический инсульт).

105. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние представляет собой шок (например, кардиогенный шок, гиповолемический шок, септический шок, нейрогенный шок и анафилактический шок).

106. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние связано с дефицитом оксида азота (например, серповидноклеточная анемия, пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ), гемолитическая анемия, талассемия, другое нарушение красных кровяных клеток, пурпура, такая как тромботическая тромбоцитарная пурпура (ТТП), гемолитический уремический синдром (ГУС), идиопатическая тромбоцитопения (ИТП), другое нарушение тромбоцитов, аномалия коагуляции, такая как диссеминированная внутрисосудистая коагулопатия (ДВК), молниеносная пурпура, гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ), гиперлейкоцитоз и синдром гипервязкости, или состояние, связанное с ними).

107. Фармацевтическая композиция по п. 78, применение по п. 79 или способ по п. 80, причем указанное заболевание или состояние представляет собой эндотоксемию, такую как эндотоксемия, связанная с состояниями, такими как периодонтальная болезнь (например, периодонтит или воспаление десен), хронический алкоголизм, хроническое курение, трансплантация, неонатальный некротический энтероколит или неонатальная инфекция уха.

108. Способ снижения системных уровней ЛПС, эндотоксина и/или другого триггера системного воспаления у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по любому из пп. 1-78.

109. Способ по любому из пп. 80-108, в котором указанную фармацевтическую композицию вводят в комбинированной терапии с другим терапевтическим агентом.

110. Способ получения композиции липосом по любому из пп. 13-77, включающий: образование смеси, содержащей: компоненты липосом в растворе; гомогенизирование полученной смеси с образованием липосом в растворе; и обработка смеси с образованием липосом, содержащих ионизируемый каротиноид.

111. Способ по п. 110, в котором указанная стадия обработки включает одну или более стадий: гидратация тонкой пленки, экструзия, прямоточное смешивание, методика инъекции этанола, методика замораживания-оттаивания, обращенно-фазовое испарение, динамическая микрофлюидизация высокого давления, микрофлюидное смешивание, двойное эмульгирование, лиофилизационное двойное эмульгирование, 3D принтинг, методика мембранного контактора и перемешивание.

112. Способ по п. 110 или 111, в котором указанная стадия обработки включает одну или более стадий модификации размера липосом одной или более из стадий экструзии, микрофлюидизации высокого давления и/или обработки ультразвуком.

113. Способ получения фармацевтической композиции, включающий:

(a) получение раствора липосом, содержащего липосомы в растворе соли слабой кислоты поливалентного металла или поливалентных органических катионов, таких как протонированный амин;

(b) добавление ионизируемого каротиноида по любому из пп. 1-7, 10 или 11 к указанному раствору липосом; и

(c) выдерживание ионизируемого каротиноида в растворе липосом в течение достаточного времени для проникновения каротиноида в липосомы.

114. Способ по п. 113, в котором указанная слабая кислота представляет собой органическую кислоту (например, органическую кислоту, выбранную из уксусной кислоты, глюконовой кислоты, винной кислоты, глутаминовой кислоты, лимонной кислоты, муравьиной кислоты и глициновой кислоты).

115. Способ по п. 113 или 114, в котором указанный поливалентный металл выбран из двухвалентного металла (например, двухвалентного металла, выбранного из  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$ ) или трехвалентного металла, такого как  $\text{Fe}^{3+}$ .

116. Способ по любому из пп. 113-115, в котором указанная слабая кислота представляет собой уксусную кислоту, и указанный поливалентный металл представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$  или  $\text{Mg}^{2+}$  (т. е., указанная соль слабой кислоты поливалентного металла представляет собой ацетат кальция или ацетат магния, соответственно).

117. Фармацевтическая композиция, полученная способом по любому из пп. 109-115.

118. Способ получения фармацевтической композиции, содержащей липосому, инкапсулирующую транс-кроцетин, включающий:

(a) получение раствора липосом, содержащего липосомы, и раствора, содержащего соль слабой кислоты поливалентного металла;

(b) добавление транс-кроцетина к указанному раствору липосом; и

(c) выдерживание транс-кроцетина в растворе липосом в течение достаточного времени для проникновения транс-кроцетина в липосомы.

119. Способ по п. 118, в котором указанная слабая кислота представляет собой органическую кислоту (например, уксусную кислоту, глюконовую кислоту, винную кислоту, глутаминовую кислоту, лимонную кислоту, муравьиную кислоту и глициновую кислоту).

120. Способ по п. 118 или 119, в котором указанный поливалентный металл представляет собой двухвалентный металл (например, двухвалентный металл, выбранный из  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$ ) или трехвалентный металл, такой как  $\text{Fe}^{3+}$ .

121. Способ по любому из пп. 118-120, в котором указанная слабая кислота представляет собой уксусную кислоту, и указанный поливалентный металл представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$  или  $\text{Mg}^{2+}$ .

122. Фармацевтическая композиция, полученная способом по любому из пп. 117-120.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

для рассмотрения на региональной фазе в ЕАПВ

1. Фармацевтическая композиция, содержащая липосому, инкапсулирующую ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу:  $Q-$

Полиеновый Каротиноид- $Q$ , причем указанный Полиеновый Каротиноид содержит

- (a) 6, 7, 8, 9 или 6-8 конъюгированных двойных связей,
- (b) замещений метилом или низшим алкилом (C2-C3), и
- (c) 2, 3 или более 3 ионизируемых групп; и

$Q$  представляет собой поливалентный противоион.

2. Фармацевтическая композиция, содержащая липосому, инкапсулирующую ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу:  $Q-R_1-$

Полиеновый Каротиноид- $R_2-Q$ , где указанный Полиеновый Каротиноид содержит

- (a) 6, 7, 8, 9 или 6-8 конъюгированных двойных связей,
- (b) замещений метилом или низшим алкилом (C2-C3), и
- (c) 2, 3 или более 3 ионизируемых групп;

$R_1$  и  $R_2$  представляют собой ионизируемые группы (например, одинаковые ионизируемые группы или различные ионизируемые группы; и

$Q$  представляет собой поливалентный противоион.

3. Фармацевтическая композиция по п. 1 или 2, в которой указанный Полиеновый Каротиноид содержит анионные ионизируемые группы или катионные ионизируемые группы (например, первичную, вторичную или третичную аминогруппу, группу четвертичного аммония, холиновую группу, гуанидиновую группу или имидазоловую группу).

4. Фармацевтическая композиция по п. 3, в которой указанный Полиеновый Каротиноид содержит по меньшей мере одну анионную ионизируемую группу, выбранную из: карбоксильной группы, сульфатной группы, сульфатной группы, фосфонатной, фосфатной группы и гидроксаматной группы.

5. Фармацевтическая композиция, содержащая липосому, инкапсулирующую ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу:  $Q$ -транс-кроцетин- $Q$ , где

$Q$  представляет собой поливалентный катионный противоион.

6. Фармацевтическая композиция, содержащая липосому, инкапсулирующую ионизируемую соль каротиноида, имеющую формулу: Q-транс-норбиксин-Q, где

Q представляет собой поливалентный катионный противоион.

7. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-6, в которой Q представляет собой катион двухвалентного металла или двухвалентный органический катион, такой как по меньшей мере один двухвалентный катион, выбранный из  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$ , двухвалентный органический катион, такой как протонированный диамин, или трехвалентный катион, такой как  $\text{Fe}^{3+}$ .

8. Фармацевтическая композиция по п. 5, которая содержит магний транс-кроцетинат (МТС) или кальций транс-кроцетинат (СТС).

9. Фармацевтическая композиция по п. 6, которая содержит магний транс-норбиксинат (МТН) или кальций транс-норбиксинат (СТН).

10. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-9, в которой указанное соотношение ионизируемого каротиноида/липида составляет от около 1 до 1000 г/моль, от около 10 до около 150 г/моль, от около 20 до около 100 г/моль или любой диапазон между этими значениями, или в которой указанные липосомы содержат, по меньшей мере, от 0,1 % до 97 % по массе (мас./мас.) ионизируемого каротиноида или любой диапазон между этими значениями.

11. Фармацевтическая композиция по п. 8, в которой указанное соотношение ионизируемого каротиноида/липида составляет от около 1 до 1000 г/моль или любой диапазон между этими значениями.

12. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-11, в которой указанная липосома имеет диаметр от 20 нм до 500 нм, от 20 нм до 200 нм, от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями.

13. Фармацевтическая композиция по п. 8, в которой указанная липосома имеет диаметр от 20 нм до 200 нм, от 80 нм до 120 нм или любой диапазон между этими значениями.

14. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-13, в которой указанная липосома образована из компонентов липосом, включающих:

по меньшей мере один из катионного липида, анионного липида и нейтрального липида; или

по меньшей мере одно, выбранное из следующего: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-малеимид; HSPC; HSPC-PEG; холестерин; холестерин-PEG; и холестерин-малеимид.

15. Фармацевтическая композиция по п. 13, в которой указанная липосома образована из компонентов липосом, включающих:

по меньшей мере один из катионного липида, анионного липида и нейтрального липида; или

по меньшей мере одно, выбранное из следующего: DSPE; DSPE-PEG; DSPE-PEG-малеимид; HSPC; HSPC-PEG; холестерин; холестерин-PEG; и холестерин-малеимид.

16. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-15, в которой указанная липосома содержит окисленный фосфолипид, такой как ОхРАРС.

17. Фармацевтическая композиция по п. 16, в которой указанный ОхРАРС представляет собой окисленный фосфолипид, содержащий фрагментированные окисгенированные sn-2 остатки, окисленный фосфолипид, содержащий полноразмерные окисгенированные sn-2 остатки, и/или окисленный фосфолипид, содержащий пятиуглеродный sn-2 остаток, несущий омега-альдегидные или омега-карбоксильные группы; или причем указанный ОхРАРС выбран из группы, включающей НОdiА-РС, КОdiА-РС, НООА-РС и КООА-РС, 1-пальмитоил-2-(5,6-эпоксиизопростан Е2)-sn-глицеро-3-фосфохолин (5,6 PEIPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксициклопентенон)-sn-глицеро-3-фосфохолин (PEPC), 1-пальмитоил-2-(эпоксиизопростан Е2)-sn-глицеро-4-фосфохолин (PEIPC), 1-пальмитоил-2-глутароил-sn-глицеро-3-фосфохолин (PGPC); 1-пальмитоил-2-(9'-оксоноаноил)-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-арахидоноил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-миристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-гексадецил-sn-глицеро-3-фосфохолин; 1-пальмитоил-2-азелаоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; и 1-пальмитоил-2-ацетоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; PGPC; или указанный ОхРАРС представляет собой эпоксиизопростансодержащий фосфолипид.

18. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-17, в которой указанная липосома содержит от 0 % до 100 %, от 0,1 % до 30 %, от 1 % до 25 %, от 5 % до 20 % или от 7 % до 15 % ОхРАРС (например, около 10 % ОхРАРС), или любой диапазон между этими значениями.

19. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-18, в которой указанная липосома содержит HSPE, холестерин, PEG-DSPE-2000 и ОхРАРС при мольном соотношении от 2 до 5, от 1 до 4, от 0,01 до 0,3 или от 0,05 до 1,5.

20. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-19, в которой указанная липосома является пэгилированной.

21. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-20, в которой один или более компонентов липосом дополнительно включает по меньшей мере один стерический стабилизатор, выбранный из: полиэтиленгликоля (ПЭГ); поли-L-лизина (PLL); моносиалоганглиозида (GM1); поли(винилпирролидона) (PVP); поли(акриламида) (PAA); поли(2-метил-2-оксазолина); поли(2-этил-2-оксазолина); фосфатидилполиглицерина; поли[N-(2-гидроксипропил)метакриламида]; амфифильных поли-N-винилпирролидонов; полимера на основе L-аминокислоты; олигоглицерина, сополимера, содержащего полиэтиленгликоль и оксид полипропилена, Полоксамер 188 и поливиниловый спирт.

22. Фармацевтическая композиция по п. 21, в которой указанный стерический стабилизатор представляет собой ПЭГ, и указанный ПЭГ имеет среднечисловую молекулярную массу (Mn) от 200 до 5000 Дальтон.

23. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-22, в которой указанная липосома является анионной, нейтральной или катионной.

24. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-23, в которой указанная липосома имеет дзета-потенциал от -150 до 150 мВ или от -50 до 50 мВ, или любой диапазон между этими значениями.

25. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-24, в которой указанная липосома имеет дзета-потенциал менее или равен нулю (например, от -150 до 0 или от -50 до 0 мВ, или любой диапазон между этими значениями).

26. Фармацевтическая композиция по п. 13, в которой указанная липосома имеет дзета-потенциал от -50 до 0 мВ или любой диапазон между этими значениями, и в которой указанная липосома является пэгилированной.

27. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-26, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемый носитель.

28. Фармацевтическая композиция по п. 27, в которой указанный фармацевтически приемлемый носитель включает изотонический агент (например, декстрозу, маннит, глицерин, хлорид калия или хлорид натрия), необязательно, при

концентрации более 0,1 % или в концентрации от 0,3 % до 2,5 %, или любой диапазон между этими значениями;

изотонический агент, такой как декстроза, маннит, глицерин, хлорид калия, хлорид натрия, в концентрации более 1 %;

от 1 % до 50 % трегалозы;

от 1 % до 50 % декстрозы;

5 % декстрозы, суспензированной в забуференном HEPES растворе; или

общую концентрацию ацетата натрия и ацетата кальция от 50 мМ до 500 мМ.

29. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-28, которая содержит буфер, такой как забуференный HEPES солевой раствор (HBS) или подобный раствор в концентрации от 1 до 200 мМ и рН от 2 до 8, или любой диапазон между этими значениями.

30. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-29, которая имеет рН 5-8 или рН 6-7, или любой диапазон между этими значениями.

31. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-30, в которой указанная липосома содержит менее 6 миллионов, менее 500000, менее 200000, менее 100000, менее 50000, менее 10000 или менее 5000 молекул, или от 10 до 100000, от 100 до 10000 или от 500 до 5000 молекул ионизируемого каротиноида или любой диапазон между этими значениями.

32. Фармацевтическая композиция по п. 26, в которой указанная липосома содержит от 100 до 10000 или от 500 до 5000 молекул ионизируемого каротиноида или любой диапазон между этими значениями.

33. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-32, в которой указанная липосома дополнительно содержит таргетирующий фрагмент, и причем указанный таргетирующий фрагмент имеет специфическое сродство к поверхностному антигену на клетке-мишени, представляющей интерес.

34. Фармацевтическая композиция по п. 33, в которой указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы, причем необязательно указанный таргетирующий фрагмент присоединен к одному или обоим из ПЭГ и наружной части липосомы ковалентной связью.

35. Фармацевтическая композиция по п. 33 или 34, в которой указанный таргетирующий фрагмент представляет собой полипептид, антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела.

36. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 33-35, в которой указанный таргетирующий фрагмент связывает поверхностный антиген с константой диссоциации ( $K_d$ ) в диапазоне от  $50 \times 10^{-12}$  до  $10 \times 10^{-6}$ , определенной анализом VIACORE®.

37. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 33-36, в которой указанный таргетирующий фрагмент специфически связывает один или более фолатных рецепторов, выбранных из: фолатного рецептора альфа (FR- $\alpha$ ), фолатного рецептора бета (FR- $\beta$ ) и фолатного рецептора дельта (FR- $\delta$ ).

38. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 33-37, в которой указанный таргетирующий фрагмент включает одно или более, выбранного из следующего: антитело, гуманизированное антитело, антигенсвязывающий фрагмент антитела, одноцепочечное антитело, однодоменное антитело, биспецифическое антитело, синтетическое антитело, пэгилированное антитело и мультимерное антитело.

39. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 33-38, в которой указанная липосома является пэгилированной и содержит от 1 до 1000, от 50 до 750, от 100 до 500 или от 30 до 200 таргетирующих фрагментов, или любой диапазон между этими значениями.

40. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-39, дополнительно содержащая один или более из FАВР, иммуностимулирующего агента, иммуносуппрессирующего агента, детектируемого маркера и малеимида, причем указанный FАВР, иммуностимулирующий агент, иммуносуппрессирующий агент, детектируемый маркер и малеимид присоединен к указанному ПЭГ или наружной части липосомы.

41. Фармацевтическая композиция по п. 40, в которой указанный иммуностимулирующий агент представляет собой по меньшей мере один, выбранный из: флуоресцеина; флуоресцеина изотиоцианата (FITC); DNP; бета-глюкана; бета-1,3-глюкана; бета-1,6-глюкана; резолвина (например, резолвин D, такой как Dn-6DPA или Dn-3DPA, резолвин E или резолвин семейства T); и модулирующего агента Toll-подобного рецептора (TLR), такого как окисленный липопротеин низкой плотности (например, ОХРАС, PGPC) или эриторан-подобный липид (например, E5564).

42. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-41, дополнительно содержащая по меньшей мере один криопротектор, выбранный из группы, включающей маннит, трегалозу, сорбит и сахарозу.

43. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-42, для применения в лечении заболевания или состояния у субъекта.

44. Применение фармацевтической композиции по любому из пп. 1-43, в производстве лекарственного средства для лечения заболевания или состояния у субъекта.

45. Способ лечения или предупреждения заболевания или состояния у субъекта, нуждающегося в таком лечении или предупреждении, включающий введение указанному субъекту фармацевтической композиции по любому из пп. 1-43.

46. Фармацевтическая композиция по п. 43, применение по п. 44 или способ по п. 45, причем указанное заболевание или состояние представляет собой сепсис.

47. Фармацевтическая композиция по п. 43, применение по п. 44 или способ по п. 45, причем указанное заболевание или состояние представляет собой заболевание или состояние легких (например, острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС), легочный фиброз, легочное кровотечение, повреждение легких, рак легких, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) и другие респираторные нарушения).

48. Фармацевтическая композиция по п. 43, применение по п. 44 или способ по п. 45, причем указанное заболевание или состояние характеризуется ишемией или гипоксией (например, ишемическое реперфузионное повреждение, переходящая ишемия головного мозга, ишемия-реперфузия головного мозга, ишемический инсульт, геморрагический инсульт, черепно-мозговая травма, мигрень (например, хроническая мигрень или тяжелая мигрень), желудочно-кишечная ишемия, болезнь почек, эмболия легочной артерии, острая дыхательная недостаточность, неонатальный респираторный дистресс-синдром, акушерские чрезвычайные ситуации для снижения перинатальной коморбидности (такие как, пре/эклампсия и состояния, которые приводят к церебральному параличу), инфаркт миокарда и острая ишемия конечностей или брыжейки, цирроз сердца, хроническое заболевание периферических сосудов, застойная сердечная недостаточность, атеросклеротический стеноз, анемия, тромбоз, эмболия, дегенерация желтого пятна, нейродегенеративное заболевание (такое как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона или боковой амиотрофический склероз (БАС)), апноэ во время сна, а также операционное или травматическое повреждение).

49. Фармацевтическая композиция по п. 43, применение по п. 44 или способ по п. 45, причем указанное заболевание или состояние представляет собой инфекцию (например, бактериальную инфекцию, такую как инфекция *P. aeruginosa*, инфекция *S.*

aureus (например, МРЗС) или состояние, связанное с ней, или энтерококковую инфекцию (например, VRE), грибковую инфекцию (например, кандидозную инфекцию (например, инвазивный кандидоз) или состояние, связанное с ней, или паразитарную инфекцию или состояние, связанное с ней, такое как малярия (или связанное состояние, такое как церебральная малярия, тяжелая анемия, ацидоз, острая почечная недостаточность и ОРДС), шистосомоз и африканский трипаносомоз человека, и состояния, связанные с ними; вирусную инфекцию или состояние, связанное с ней, такое как лихорадка Эбола, Денге и Марбург (или связанное состояние, такое как грипп, корь и вирусная геморрагическая лихорадка); бактериемия; или эндотоксемия, такая как слабо выраженное эндотоксемическое заболевание или эндотоксемия, связанная с состояниями, такими как периодонтальная болезнь (например, периодонтит или воспаление десен).

50. Фармацевтическая композиция по п. 43, применение по п. 44 или способ по п. 45, причем указанное заболевание или состояние представляет собой воспаление (например, системное воспаление, слабо выраженное воспаление, острое воспаление и хроническое воспалительное заболевание); или воспалительное заболевание кишечника (например, болезнь Крона и язвенный колит).

51. Фармацевтическая композиция по п. 43, применение по п. 44 или способ по п. 45, причем указанное заболевание или состояние представляет собой сердечный приступ или инсульт (например, ишемический и геморрагический инсульт), или шок (например, кардиогенный шок, гиповолемический шок, септический шок, нейрогенный шок и анафилактический шок).

52. Фармацевтическая композиция по п. 43, применение по п. 44 или способ по п. 45, причем указанное заболевание или состояние представляет собой сердечно-сосудистое заболевание (например, заболевание коронарных артерий, такое как инфаркт миокарда, внезапная сердечная смерть, остановка сердца и дыхания, гипертония, артериальная гипертензия легких, атеросклероз, окклюзионное заболевание артерий, болезнь Рейно, болезнь периферических сосудов, другие васкулопатии, такие как болезнь Бюргера, артрит Такаясу и синдром после остановки сердца (СПОС), хроническая венозная недостаточность, болезнь сердца, застойная сердечная недостаточность, хронические язвы кожи).

53. Фармацевтическая композиция по п. 43, применение по п. 44 или способ по п. 45, причем указанное заболевание или состояние представляет собой:

заболевание или состояние печени (например, цирроз, неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП), неалкогольный стеатогепатит (НАСГ); алкогольную жировую болезнь печени, острое поражение печени и цирроз печени);

заболевание почек (например, индуцированное липополисахаридным препаратом или токсином острое повреждение почек (ОПП) и конечная стадия заболевания почек);

аутоиммунное нарушение (например, псориаз, муковисцидоз и ревматоидный артрит);

склероз (например, системный склероз);

метаболическое заболевание, резистентность к инсулину или диабет (например, диабет 2 типа) или связанные состояния, такие как гангрена, диабетический некроз, диабетическая нейропатия и диабетическое сосудистое заболевание (например, микрососудистое заболевание, такое как ретинопатия и нефропатия, и диабетические язвы);

заболевание или состояние, связанное с дефицитом оксида азота (например, серповидноклеточная анемия, пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ), гемолитическая анемия, талассемия, другое нарушение красных кровяных клеток, пурпура, такая как тромботическая тромбоцитарная пурпура (ТТП), гемолитический уремический синдром (ГУС), идиопатическая тромбоцитопения (ИТП), другое нарушение тромбоцитов, аномалия коагуляции, такая как диссеминированная внутрисосудистая коагулопатия (ДВК), молниеносная пурпура, гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ), гиперлейкоцитоз и синдром гипервязкости, или состояние, связанное с ними; или

хронический алкоголизм, хроническое курение, трансплантация, неонатальный некротический энтероколит или неонатальная инфекция уха.

54. Фармацевтическая композиция по п. 43, применение по п. 44 или способ по п. 45, причем указанный субъект представляет собой жертву ожога, указанный субъект представляет собой критически больного пациента, указанный субъект имеет риск развития сепсиса, указанный субъект является иммунодефицитным, причем указанный субъект принимает химиотерапию и/или является иммуносупрессированным (например, лихорадящие пациенты с нейтропенией).

55. Способ снижения системных уровней ЛПС, эндотоксина и/или другого триггера системного воспаления у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по п. 43.

56. Фармацевтическая композиция по п. 43, применение по п. 44 или способ по п. 45 или 52, причем указанную фармацевтическую композицию вводят в комбинированной терапии с другим терапевтическим агентом.

57. Способ получения композиции липосом по любому из пп. 1-43, включающий: образование смеси, содержащей: компоненты липосом в растворе; гомогенизирование полученной смеси с образованием липосом в растворе; и обработка смеси с образованием липосом, содержащих ионизируемый каротиноид, причем указанная стадия обработки включает одну или более стадий: гидратация тонкой пленки, экструзия, прямоточное смешивание, методика инъекции этанола, методика замораживания-оттаивания, обращенно-фазовое испарение, динамическая микрофлюидизация высокого давления, микрофлюидное смешивание, двойное эмульгирование, лиофилизационное двойное эмульгирование, 3D принтинг, методика мембранного контактора и перемешивание, или одну или более стадий модификации размера липосом одной или более из стадий экструзии, микрофлюидизации высокого давления и/или обработки ультразвуком.

58. Способ получения фармацевтической композиции, включающий:

- (a) получение раствора липосом, содержащего липосомы в растворе соли слабой кислоты поливалентного металла или поливалентных органических катионов, таких как протонированный амин;
- (b) добавление ионизируемого каротиноида по любому из пп. 1-7, 10 или 11 к указанному раствору липосом; и
- (c) выдерживание ионизируемого каротиноида в растворе липосом в течение достаточного времени для проникновения каротиноида в липосомы.

59. Способ получения фармацевтической композиции, содержащей липосому, инкапсулирующую транс-кроцетин, включающий:

- (a) получение раствора липосом, содержащего липосомы, и раствора, содержащего соль слабой кислоты поливалентного металла;
- (b) добавление транс-кроцетина к указанному раствору липосом; и
- (c) выдерживание транс-кроцетина в растворе липосом в течение достаточного времени для проникновения транс-кроцетина в липосомы.

60. Способ по п. 58 или 59, в котором указанная слабая кислота представляет собой органическую кислоту (например, уксусную кислоту, глюконовую кислоту, винную кислоту, глутаминовую кислоту, лимонную кислоту, муравьиную кислоту и глициновую кислоту).

61. Способ по любому из пп. 58-60, в котором указанный поливалентный металл представляет собой двухвалентный металл (например, двухвалентный металл, выбранный из  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$ ) или трехвалентный металл, такой как  $\text{Fe}^{3+}$ .

62. Способ по любому из пп. 58-61, в котором указанная слабая кислота представляет собой уксусную кислоту, и указанный поливалентный металл представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$  или  $\text{Mg}^{2+}$ .

63. Фармацевтическая композиция, полученная способом по любому из пп. 57-62.

# ФИГ. 1А Типичные Ионизируемые Каротиноиды

Кроцетин: 8,8'-Диапокаротин-8-8'-диовая кислота



Норбиксин: (9Z)-6,6'-Диапокаротин-6-6'-диовая кислота



Микоррадин: 10,10'-Диапокаротин-10,10'-диовая кислота



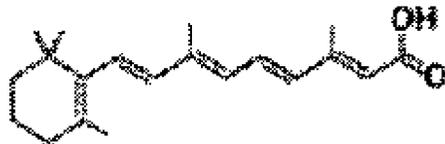
Биксин



Кроцетинсемиальдегид: 8'-Оксо-8,8'-диапокаротин-8-овая кислота



Кроцин 3



4,4'-Диаполикопен-4-4'-диовая кислота



4,4'-Диапокаротин-4-ал-4-овая кислота



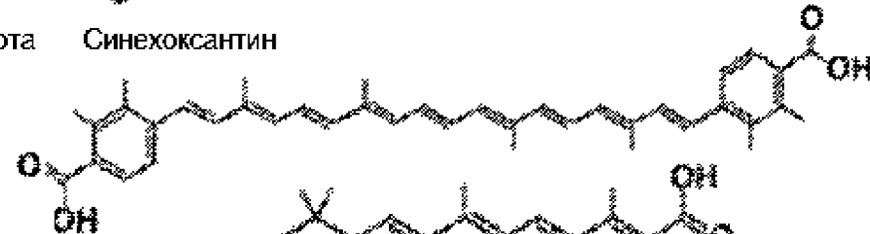
4,4'-Диапокаротиновая кислота



4,4'-Диапонейроспорен-4-овая кислота



Синехоксантин

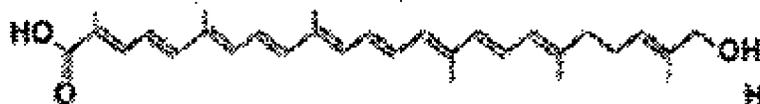


Ретиноат



**ФИГ. 1В**

4'-Гидрокси-4,4'-диапонейроспорен-4-овая кислота



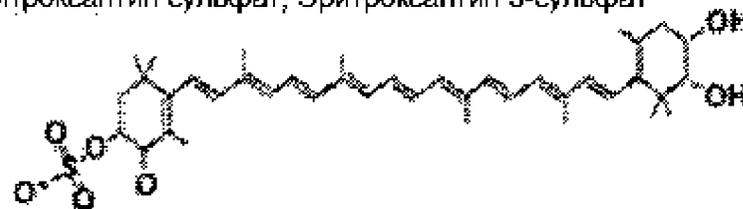
4'(бета-D-Глюкопиранозилокси)-7',8'-дигидро-4,4'-диопо-пси, пси-каротин-4-овая кислота



Метил 4,4'-диополикопендиоат:



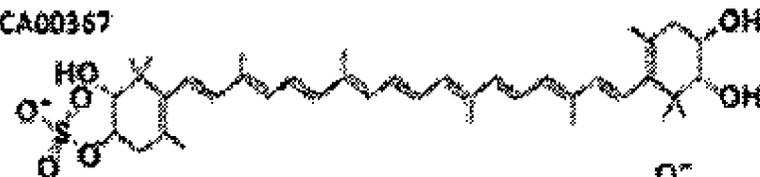
Эритроксантин сульфат; Эритроксантин 3-сульфат



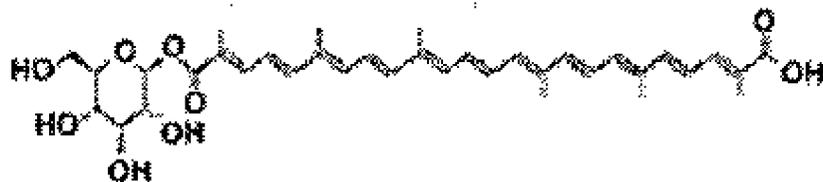
Ацетил-4,4'-диополикопен-4,4'-диоат



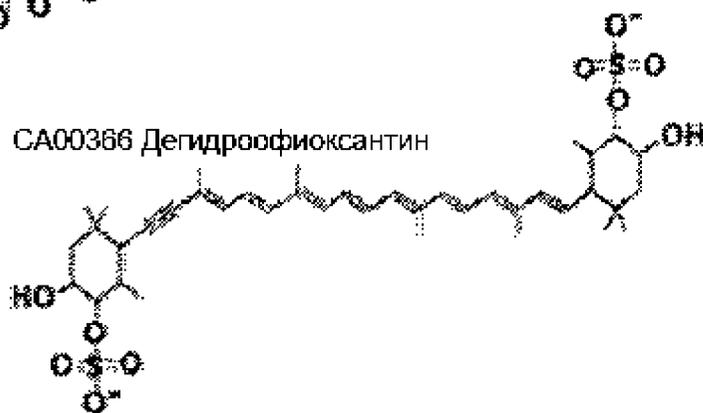
CA00367



Гликозильный сложный эфир диаполикопендиовой кислоты



CA00366 Дегидроофиоксантин



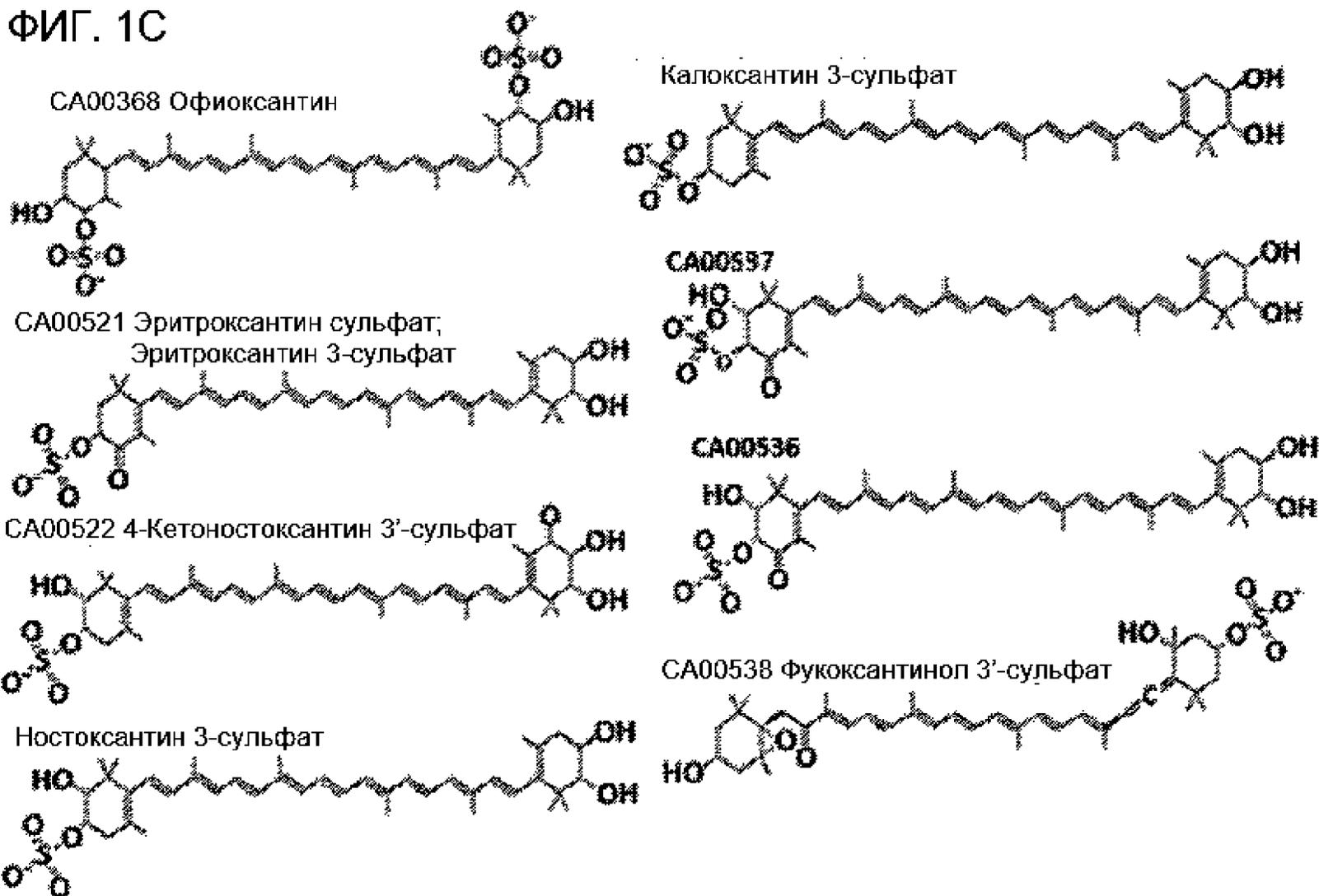
Торулародин



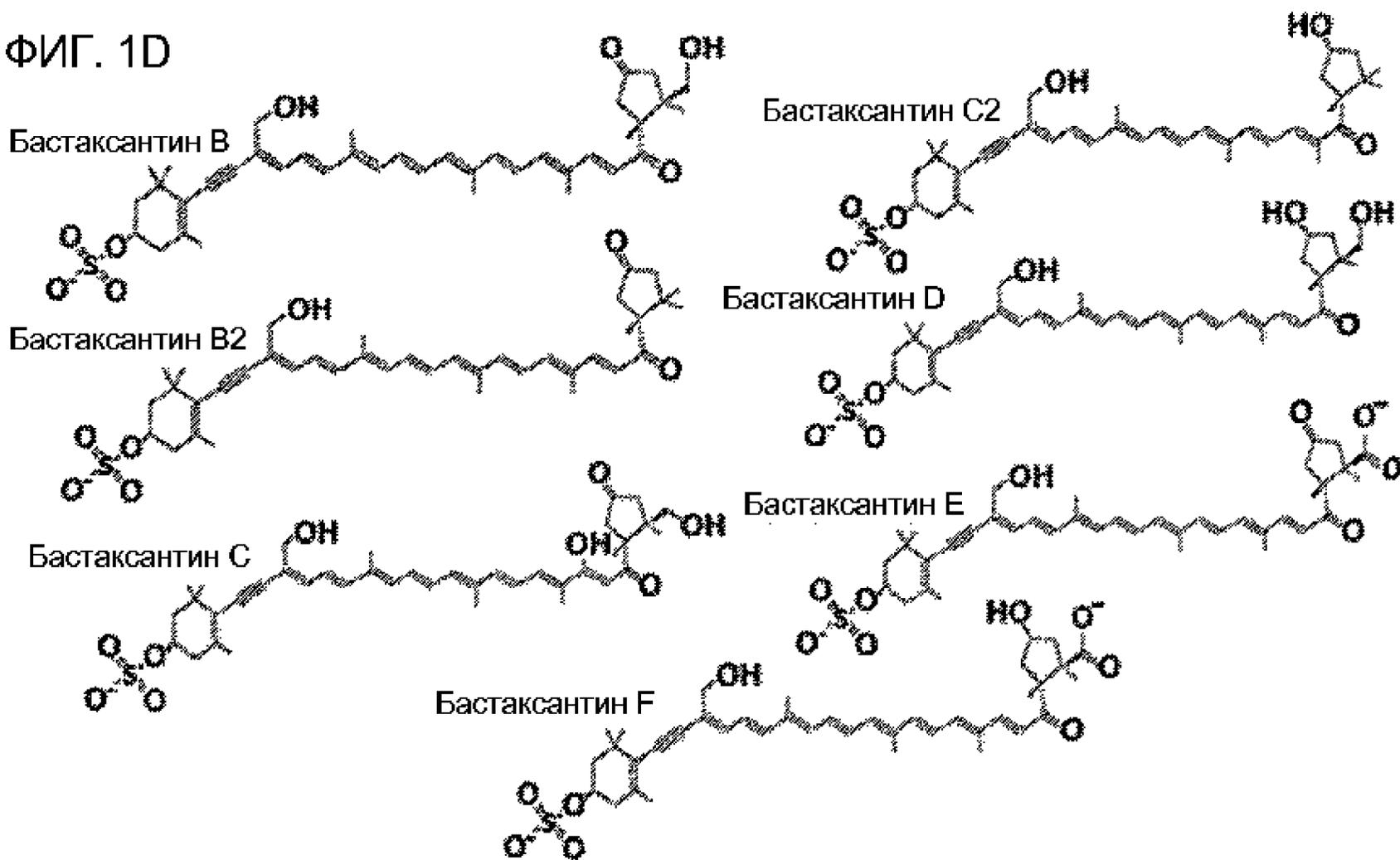
CA00036



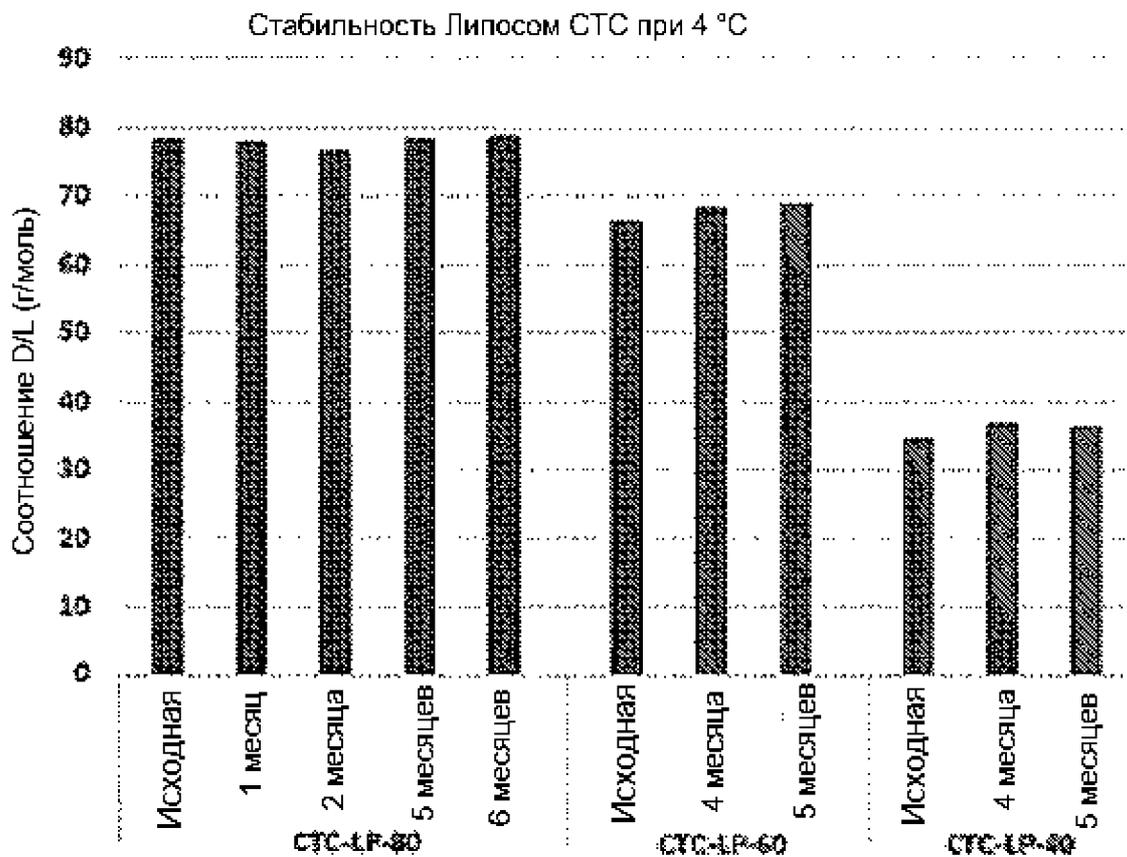
ФИГ. 1С



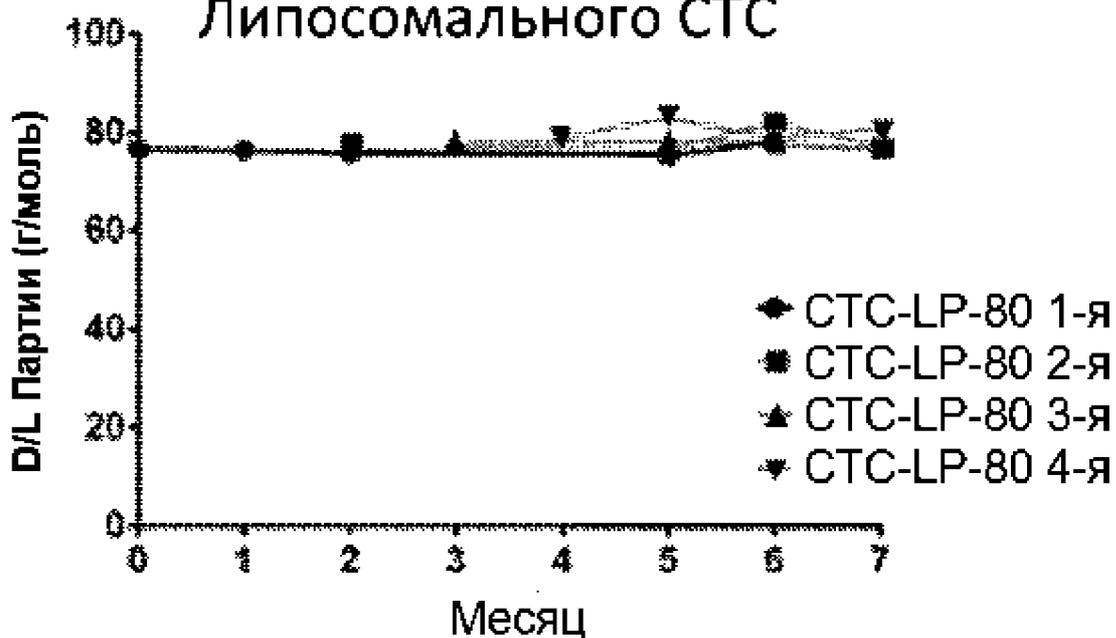
ФИГ. 1D



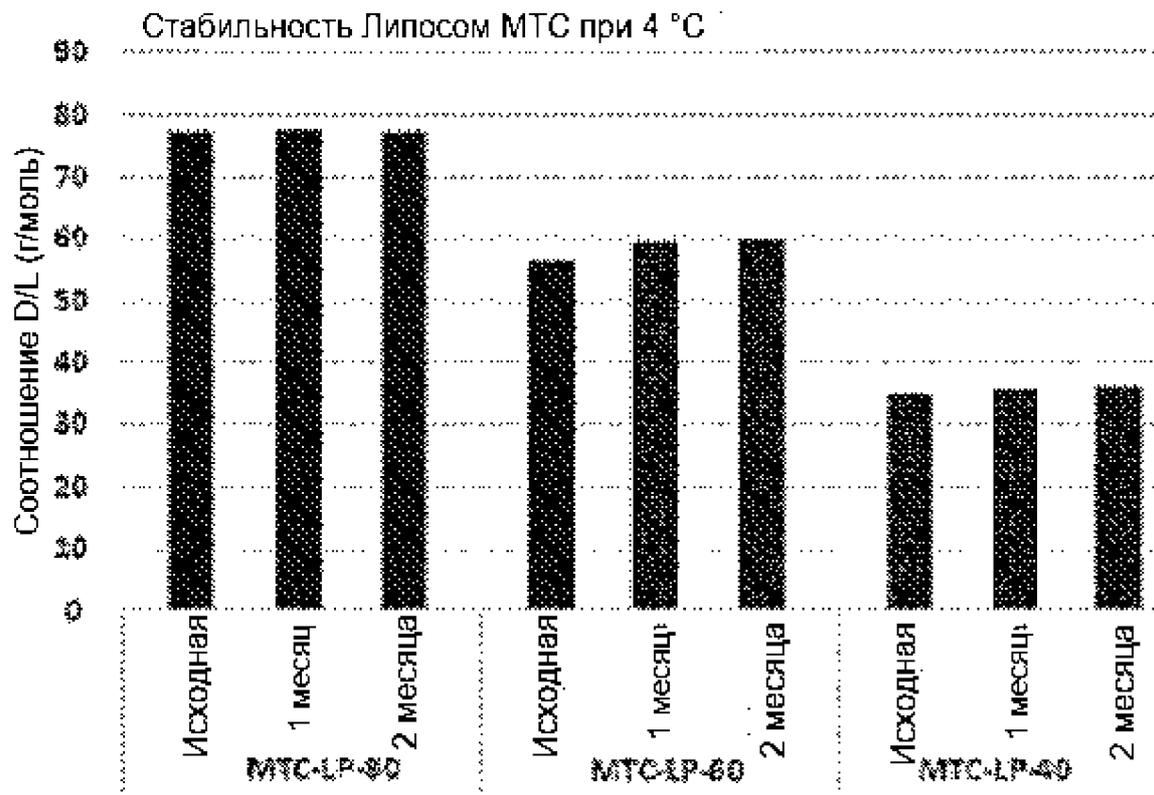
**ФИГ. 2 Стабильность Липосом CTC**



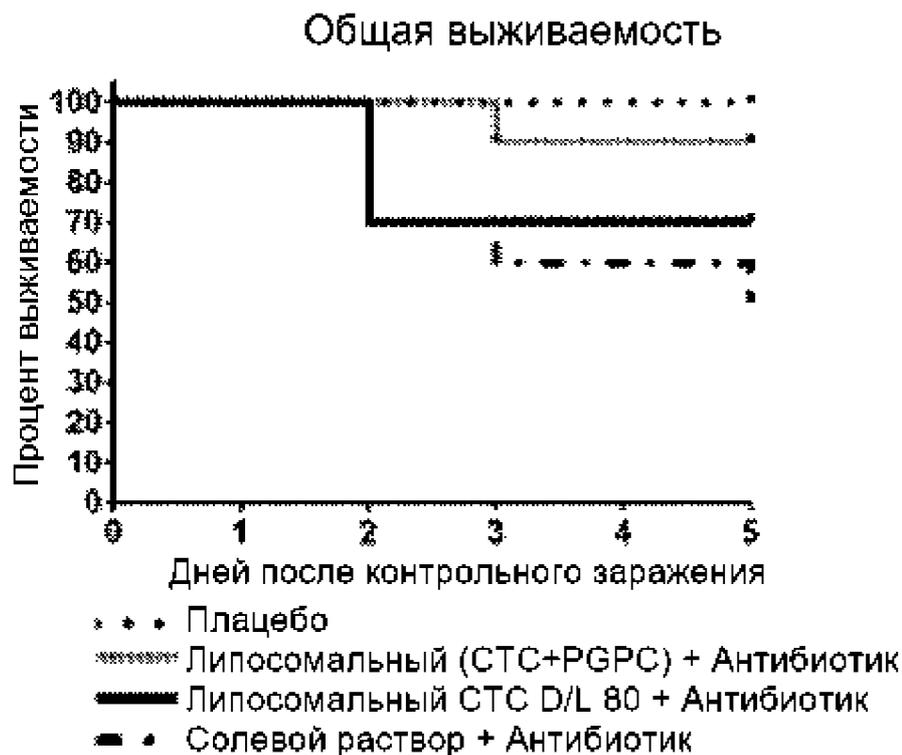
**ФИГ. 3 Воспроизводимость Партий Липосомального CTC**



### ФИГ. 4 Стабильность Липосом МТС



ФИГ. 5 Исследование Выживаемости 1 (Номер Исследования: TP-936)



## КОМПОЗИЦИИ КАРОТИНОИДОВ И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

## ФИГ. 6

Исследование выживаемости 2 (Номер Исследования: TP-967)



## ФИГ. 7

Исследование выживаемости 3 (Номер Исследования: TP-986)

